



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
IZTACALA

ESTUDIO DE LA CALIDAD  
BACTERIOLOGICA DE AGUA DE PISCINA  
POR *Pseudomonas aeruginosa*, COLIFORMES  
TOTALES Y COLIFORMES FECALES

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

BLANCA N. MARTINEZ RODRIGUEZ

LOS REYES, IZTACALA

1988



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA

ESTUDIO DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DE AGUA DE PISCINA  
POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA, COLIFORMES TOTALES, Y  
COLIFORMES FECALES

Con cariño

y Agradecimiento...

... A tí por haberme dado la vida y tener la certeza de tu eterna compañía.

... A mis padres Margarita y Alberto así como a mis hermanos, por el apoyo, la comprensión y el amor que me brindaron de manera constante a lo largo de mi desarrollo académico.

... A mis amigos por el impulso que me brindaron.

... A mis maestros y compañeros por su ayuda.

... A Sergio por compartir lo que pasé para lograr el título profesional.

Con gratitud a la ENEP Iztacala por darme  
la oportunidad de aprender y formarme.

Al laboratorio de Conservación y Mejoramiento del Ambiente  
de la Unidad de Investigacion Interdisciplinaria de Ciencias  
de la Salud y Educación (U.I.I.C.S.E.) de la ENEP Iztacala  
y a la dirección del M. en C. Pedro Ramírez García a quien  
doy las más sinceras gracias por su asesoría y apoyo.

A g r a d e z c o :

Las valiosas aportaciones profesionales a

M. en C. Elizabeth Ramírez Flores

Q.F.B. Esperanza Robles Valderrama

M. en C. Victor Rivera Aguilar

M. en C. Juan Rivera Cazarez

Matemático Antonio Labastida Morales

Por la asesoría en el análisis estadístico al

Biól. Agustín Vargas Vera

Con un reconocimiento especial al apoyo otorgado por el PSPA al proyecto "Monitoreo bacteriológico en piscinas recreativas y de terapia en el área metropolitana" (ENEP-Iz-3-86) dentro del cual se realizó esta tesis.

Así como a todas aquellas personas que directa o indirectamente contribuyeron a la elaboración de esta tesis.

A todos ellos muchas gracias

## I N D I C E

<u>Capítulo</u>	<u>Página</u>
RESUMEN .....	1
I INTRODUCCION .....	3
II JUSTIFICACION .....	7
III ANTECEDENTES .....	8
3.1 Antecedentes históricos de los coliformes ....	8
3.2 Revisión bibliográfica de la bacteria <u>Pseudo-</u> <u>monas aeruginosa</u> en relación a su detección en agua de piscina.....	12
3.3 Revisión bibliográfica de los estudios de inmu notificación y fagotipia.....	15
3.4 Generalidades de la bacteria <u>P. aeruginosa</u> ....	19
3.4.1 Clasificación y características.....	19
IV. OBJETIVOS.....	23
V. METODOLOGIA .....	24
5.1 Muestreo.....	24
5.2 Análisis de los parámetros fisicoquímicos.....	26
5.2.1 Temperatura .....	26
5.2.2 pH.....	27
5.2.3 Cloro libre residual.....	27
5.3 Análisis bacteriológicos.....	27
5.3.1 Tratamiento usado con la cepa pura ....	27
5.3.2 Análisis y enumeración de <u>P. aeruginosa</u> ..	29
5.3.3 Determinación de los coliformes totales.....	32
5.3.4 Determinación de los coliformes fecales.....	33

	Página
5.4 Análisis estadístico .....	33
VI RESULTADOS .....	35
6.1 Condiciones particulares de cada piscina .....	35
6.2 Tratamiento estadístico .....	40
VII DISCUSION DE RESULTADOS .....	49
7.1 Parámetros fisicoquímicos .....	49
7.2 Análisis de los parámetros bacteriológicos....	52
7.2.1 Relación numérica de coliformes .....	53
7.3 Análisis de correlación .....	56
7.4 Eficiencia del medio mPa-C.....	67
VIII CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	68
IX BIBLIOGRAFIA .....	71
ANEXO .....	75

INDICE DE TABLAS

<u>Tabla</u> <u>No</u>		<u>Página</u>
I	Calendario de muestreo .....	25
II	Temperatura de las 120 muestras de agua de las piscinas estudiadas .....	42
III	pH de las 120 muestras de agua de las piscinas estudiadas.....	43
IV	Cloro libre residual de las 120 muestras de agua de las piscinas estudiadas .....	44
V	<u>Pseudomonas aeruginosa</u> de las 120 muestras de agua de las piscinas estudiadas.....	45
VI	Coliformes totales de las 120 muestras de agua de las piscinas estudiadas .....	46
VII	Coliformes fecales de las 120 muestras de agua de las piscinas estudiadas .....	47
VIII	Coefficientes de variación de las piscinas .....	48
IX	Coefficientes de variación de los grupos I, II.....	48
X	Matriz de correlación por pares de variables.....	57
XI	Matriz de correlación parcial .....	62
XII	Matriz de correlación múltiple .....	65

## RESUMEN

Después de analizar la literatura existente sobre la presencia de coliformes totales, coliformes fecales y Pseudomonas aeruginosa en el agua de las piscinas y su relación con las infecciones sufridas, a menudo entre los bañistas y nadadores, se conoce que existen numerosos trabajos que señalan que los dos primeros grupos de bacterias no son los microorganismos que pudieran ser los adecuados en el caso de las piscinas ya que en ellas las enfermedades detectadas no son de naturaleza gastrointestinal. Sino más bien de ojos, oído, piel, tracto respiratorio superior y tracto urinario, por ello Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo que con base en una revisión bibliográfica permitió considerar de mayor importancia, su presencia, como riesgo potencial en aguas de piscina.

Además pudo observarse que en México se han publicado escasos estudios que revelan su existencia en las piscinas de uso público y privado, por lo que el propósito de nuestra investigación fue el de hacer un estudio de la calidad bacteriológica del agua de piscina por medio de las pruebas tradicionales de coliformes totales y coliformes fecales y de Pseudomonas aeruginosa como una forma más adecuada de evaluación de la calidad del agua de las piscinas, tomando en cuenta la presencia y el número (cuantificación) de estos tres grupos de microorganismos en 10 piscinas del área metropolitana.

Para ello se realizó el análisis de 120 muestras de agua durante un lapso de 11 meses a partir de octubre de 1985. En cada una de las piscinas se hicieron las siguientes determinaciones: Cloro libre residual, pH, temperatura, análisis de Pseudomonas aeruginosa, determinación de coliformes totales y determinación de coliformes fecales.

Finalmente a través de este estudio se observó que las condiciones de limpieza, la concentración de cloro libre residual, el pH y la temperatura fueron muy variables tanto de una piscina a otra como con respecto de un día a otro de muestreo, por lo cual el número de micro-

organismos investigados fue también muy variable. Encontrándose en el 52.5% de las muestras de 1 - 195 UFC (unidades formadoras de colonias) de Pseudomonas aeruginosa por cada 100 ml de agua, en 71.0% de ellas coliformes totales de 1 - 300 UFC por cada 100 ml. de agua, y en el 12% de estas muestras se encontró coliformes fecales desde 1 - 29 UFC por cada 100 ml de agua; lo que representa un riesgo para la salud de los usuarios, y a su vez considerando de gran importancia implementar medidas que disminuyan o eviten este riesgo.

## I. INTRODUCCION

El uso de piscinas especialmente las de servicio público pueden representar un peligro para la salud ya que diversas enfermedades son transmitidas por el agua y como en este caso particular el contacto es directo (agua-hombre) esta exposición da lugar a la presencia de infecciones, en los nadadores o usuarios casuales; como son conjuntivitis (Weldeberg, 1963), otitis (Scaglio et al 1983; Seyfried et al 1984; Vasconcelos y Anthony 1985), rinofaringitis (Seyfried et al 1985), afecciones de la piel (James, 1979; Scaglio et al 1983) e infecciones del aparato urogenital (King, 1974). Con base en lo anterior es obvio que es importante poner atención a la calidad sanitaria del agua de piscinas que en la mayoría de los casos por desconocimiento está relegada a un término de indiferencia por los usuarios y/o administradores de las mismas. Ambos deberían estar interesados en prevenir la propagación de enfermedades infecciosas, manteniendo así la salud del individuo. Además debería existir un técnico especializado en el control de la calidad del agua y en la implantación de reglas en el uso de las piscinas que ayuden a la prevención de infecciones.

Como es sabido la calidad del agua está determinada por el uso que se le va a dar y como en las piscinas el contacto es directo, es importante que se conozca y a la vez se conserve la calidad bacteriológica y físico-química del agua.

Las pruebas que generalmente se han empleado en la determinación de la calidad bacteriológica del agua son aquellas que permiten conocer la presencia y densidad específica de enterobacterias tales como los coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales. Pues la presencia en un número elevado de estos microorganismos en el agua (lo que ha quedado establecido tanto nacional como internacionalmente), nos indican que existe un alto riesgo para la salud por su asociación con excretas de animales de sangre caliente y con

una variedad de microorganismos patógenos como Salmonella, Shigella, Vibrio, Microbacterium, Pasteurella y virus entéricos (Dutka, 1977; EPA, 1974, CIECCA, 1985).

La validez de usar los coliformes totales o los coliformes fecales en aguas recreacionales (específicamente agua de piscina) se ha discutido con frecuencia debido a que las enfermedades que se han detectado en estas aguas son en su mayor parte de tipo nasofaríngeas, del tracto respiratorio superior y de la piel, más que de tipo gastrointestinal (Dutka, 1977; Esterman et al 1984; James, 1979; Mitchell, 1978; Scaglio et al 1983), por lo que los coliformes totales y los coliformes fecales suelen ser solo una esperanza en la estimación de este tipo de riesgo; así en 1963 el Comité de Salud Pública de la Sociedad Americana de Ingenieros Civiles informaba "Que existen pocas o realmente ninguna prueba de que las enfermedades peligrosas están directamente asociadas con un gran número de coliformes" (Mitchell, 1978).

Garber, 1956 al revisar criterios municipales de algunos estados de la Unión Americana observó que el rango de valor de los coliformes iba de 50 a 3000 en 100 ml siendo que los estándares se expresan en términos de su media geométrica y no exceden de 1000/100 ml.

Posteriormente (en 1968) el Comité de la Secretaría del Interior de E. U. emitió su criterio para la calidad del agua, recomendando que el agua dulce estuarina y marina se utilice con un promedio que no exceda de 2000 coliformes por 100 ml.

La aplicación exitosa de estos criterios en agua potable se debe en gran parte a las relaciones entre la presencia de un determinado número de organismos coliformes y las enfermedades gastrointestinales. Pero en el caso de las aguas de piscina los nadadores manifiestan con mayor frecuencia enfermedades de oído, ojos, nariz y dolores de garganta los cuales representan más de la mitad de todas las enfermedades, podríamos hablar de un 68% aproximadamente (Mitchell, 1978).

La calidad del agua debe ser evaluada por la combinación de una inspección sanitaria con criterios bacteriológicos amplios. Debido a que es poco probable que la ingestión accidental de patógenos intestinales sea una ruta por la cual un nadador puede enfermar, pues puede ser mucho más importante, un patógeno que ingrese a las vías respiratorias superiores o que se aloje en la superficie del cuerpo provocando enfermedades de la piel (Mitchell, 1978).

Sin embargo Dufour (1984), menciona que a partir de 1968 se han usado en E. U. tres grupos de bacterias para indicar la calidad de agua recreacional, el objetivo de ello es tener un indicador microbiológico que pueda suministrar una estimación del nivel de riesgo desde el origen de la contaminación, donde los grupos son: coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos, relacionándolos únicamente con enfermedades gastrointestinales.

Aclara además que es conveniente analizar simultáneamente los tres grupos de indicadores debido a que la ausencia de cualquiera de ellos no necesariamente excluye la presencia de los otros (CIE-CCA, 1985).

Otro punto importante en el manejo de piscinas es el que se refiere a la desinfección y eliminación de sólidos. El método de desinfección general tanto por su efectividad como por su economía es el de la cloración (Seyfried, et al 1980) aunque existen otros métodos y desinfectantes que ofrecen otras ventajas y desventajas para su posible uso en casos particulares (por ejemplo bromo-halógeno, Iodo (Favero y Drake 1966) y en algunas piscinas privadas el uso de dicloroisocianurato de sodio (Favero, et al 1964) los análisis físicoquímicos de rutina se enfocan principalmente a la determinación de cloro libre residual, la temperatura y el pH.

En lo referente a los sólidos su eliminación no tiene mayor problema pues estos sistemas por regla general cuentan con un equipo de bombeo y filtrado. Este equipo sólo mantiene clara el agua, reduce

los nutrientes y la demanda de cloro remueve algunos microorganismos, el parámetro más importante de las piscinas de natación es el nivel de cloro libre residual. Así la limpieza y la cloración de las piscinas puede controlar en buena medida a los microorganismos patógenos, aunque existen otros, que son resistentes ya sea por características propias (por ejemplo la producción de una membrana polisacárida) (Seyfried et al 1980) o por la dinámica misma de la piscina; En particular hablamos de los patógenos de vida libre como P. aeruginosa, la que se multiplica en sitios poco accesibles a la desinfección (Esterman, 1984) y en especial cuando la concentración de cloro es menor de 1.0 ppm (Esterman, 1984). Pues P. aeruginosa es una bacteria cuya resistencia a la cloración es superior a la de otros microorganismos en el agua (Favero y Drake 1966; Merchant y Parker 1961; Mitchell, 1978), se ha aislado de aguas de piscinas desinfectadas con alguicidas de amonio cuaternario estabilizado clorinado y de agua conteniendo menos de 0.3 mg/l de cloro total residual.

## II. JUSTIFICACION

No existe actualmente un indicador bacteriológico específico para determinar la calidad del agua recreacional. Históricamente se han empleado a los coliformes; sin embargo su uso es cuestionable, ya que apenas suministran información del peligro que se puede presentar en las piscinas.

Estudios efectuados en este tipo de agua (King, 1974; Mitchell, 1978; Seyfried et al 1985) demuestran que las infecciones que se adquieren en su mayor parte no son de tipo gastrointestinal, sino que afectan al oído, tracto respiratorio superior, ojos, piel y aparato urinario. Siendo necesario contar con otros microorganismos que indiquen esta clase de infecciones.

Entre los organismos que se han propuesto como mejores indicadores de las infecciones que se presentan en agua de piscina, se encuentra P. aeruginosa. Esta bacteria es el agente etiológico de las infecciones de oídos (Favero y Drake 1966; Mitchell, 1978) que son muy comunes entre los usuarios de piscinas, además puede infectar quemaduras, vías nasofaríngeas, ojos y aparato urogenital (Weldeberg, 1963). Su presencia es indicativa de contaminación por humanos y de desinfección inadecuada (King, 1974).

En algunos países como Estados Unidos, Canadá y Francia se han realizado diversos estudios encaminados a la determinación de un nuevo indicador para las aguas de piscina, a comparación de México en donde los estudios son escasos.

Tomando en cuenta lo anterior y recordando que en México existen diversos centros recreacionales en los que se practica la natación, es importante realizar estudios en este campo para establecer un indicador bacteriológico más adecuado que permita la determinación de la calidad del agua de piscina y de esta forma tomar medidas en la prevención y corrección de estos problemas.

### III. ANTECEDENTES

#### 3.1 Antecedentes históricos de los coliformes

En 1880 se inicia la bacteriología sanitaria cuando Von Frisch describe a Klebsiella pneumoniae y K. rhinoscleromatis como característicos de contaminación fecal humana, después Escherich en 1885, identifica a Bacillus coli (Escherichia coli) como un indicador fecal humano, de esta manera se empezó a integrar el grupo de coliformes, con características bioquímicas y serológicas diversas, estas bacterias o grupos de bacterias serían utilizadas como indicadoras de la presencia de patógenos, esto es, indicadoras de contaminación fecal (Mitchell, 1978). Más tarde se verá que E. coli no solo está presente en las heces humanas sino que se encuentra en otros ambientes como son aguas negras, aguas dulces superficiales, el suelo, la vegetación (CIECCA, 1985) y aguas residuales domésticas (Wheater et al 1980). A Klebsiella sp se le encuentra en desechos industriales como los de pulpa y papel, remolacha y efluentes de elaboración de alimentos, ya que en estos desechos hay gran cantidad de carbohidratos (CIECCA, 1985).

En estados Unidos se hicieron estudios en agua potable por bacteriólogos sanitarios que permitieron la proposición y establecimiento de estándares primitivos utilizando los coliformes (totales) como indicadores. Así a partir de 1914 se adoptó el primer estándar para agua potable, por el Servicio de Salud Pública de los E. U. (Mitchell, 1978).

Un primer intento en el uso de los coliformes (totales) suponía información de la presencia potencial o bien ausencia de patógenos entéricos. Este razonamiento fue la base a la observación de que un incremento en la densidad de coliformes es indicativa de un deterioro en la calidad del agua, y por lo tanto de que existe un alto daño potencial (James, 1979). Ocurrió después una transición hacia el grupo de los coliformes fecales considerando como tales a todos los

coliformes de heces de animales de sangre caliente los cuales se consideran como representativos de una contaminación fecal directa y reciente. Con una diferenciación (temperatura de 44.5°C) y recuperación (en medio EC en 24 horas) sencilla y rápida, finalmente las pruebas de coliformes fecales (CF) se aplican en estudios de la calidad del agua como complemento de la densidad de coliformes totales (CT). ←

Investigaciones posteriores permitieron establecer un concepto definido de lo que es una bacteria indicadora. Las bacterias indicadoras de contaminación son un organismo u organismos que por su sola presencia pueden demostrar que la contaminación ha ocurrido, y después sugerir el origen de la contaminación.

Las propiedades de un indicador ideal de contaminación son:

- 1.- Ser aplicable a todo tipo de agua. --
- 2.- Estar siempre presente cuando estén los patógenos. --
- 3.- Su densidad debe tener alguna relación directa con el grado de contaminación fecal.
- 4.- Debe sobrevivir en el agua más tiempo que los patógenos, pero su desaparición debe ser inmediatamente posterior a la de aquellos ya sea de manera natural o en procesos creados por el hombre.
- \* 5.- Estar siempre ausente en aguas bacteriológicamente potables.
- 6.- Ser inofensivo para el hombre y para los animales domésticos.
- 7.- Las técnicas para su análisis deben ser sencillas, rápidas y aplicables en cualquier tipo de agua, y las pruebas no deben presentar interferencia por otras bacterias (EPA, 1974; CIECCA, 1985).

Al estudiar los diferentes tipos de bacterias de origen intestinal se llegó a la conclusión de que ninguno se ajustaba a todas las características de un indicador ideal, pero se encontraron dos grupos que cumplían con los requisitos más importantes y que fueron

designados como indicadores, estos grupos fueron los coliformes que incluyen los géneros de la familia Enterobacteriaceae (Escherichia, Klebsiella y Enterobacter), y el grupo de los enterococos formado por cinco especies del género Streptococcus (CIECCA, 1985).

Existen, sin embargo, estudios posteriores que muestran que los grupos seleccionados presentan algunas marcadas anomalías, por ejemplo que los grupos de bacterias coliformes son capaces de reproducirse en aguas enriquecidas y de esta manera indican un elevado falso daño potencial (James, 1979).

Con respecto a los coliformes fecales se ha visto que la prueba para ellos puede registrar un conteo elevado pero ello no evidencia con certeza que la contaminación fecal sea debida a humanos o animales de sangre caliente (James, 1979). Además se encontró también a este grupo, en aguas que reciben efluentes industriales y altas concentraciones de carbohidratos. Descubriéndose que una elevada densidad se puede deber específicamente a la presencia de Klebsiella, es decir que ciertos microorganismos pueden reproducirse en condiciones como las de estos efluentes, dándonos falsos positivos en la prueba para coliformes.

Una anomalía en las técnicas para coliformes fecales es la de que en todos los medios empleados para estimar poblaciones, la temperatura de incubación de 44.5°C es inhibitoria para muchas enterobacterias de ambiente acuático.

Otro problema se descubrió al hacer un experimento para establecer si los organismos de cultivo puro (heces) se recuperaban igual que los de agua natural contaminada tanto a temperatura ambiente como a 44.5°C. Observándose que los cultivos puros se recuperaban mejor que los de agua natural contaminada. Debido a que los organismos del cultivo puro están mejor preparados fisiológicamente para un medio específico y la temperatura de incubación de 44.5°C, en cambio los organismos de agua natural contaminada se encuentran tal vez metabólicamente

mente y estructuralmente débiles. Estas anomalías encontradas en las pruebas de coliformes fecales explican las subestimaciones en las poblaciones y las variaciones encontradas en las densidades de las mismas (James, 1979).

Estos son los grupos usados en las pruebas de rutina en todo tipo de agua aún con las anteriores desventajas. Estos grupos se usan debido a la importancia que tiene la detección e identificación de las bacterias patógenas que pueden estar presentes en el agua. Además de que aún cuando se tenían los adelantos en materia de técnicas de análisis y medios de cultivo, no se había logrado simplificar la metodología para la recuperación, aislamiento e identificación de las bacterias patógenas, básicamente porque requieren para su desarrollo medios artificiales complejos, y pruebas bioquímicas para su identificación que requieren mucho tiempo para obtener resultados (CIECCA, 1985).

Limitaciones de estos grupos como indicadores:

- 1.- Algunos de los miembros del grupo coliforme tienen una amplia distribución ambiental en adición a su presencia en los intestinos de animales de sangre caliente.
- 2.- Algunos de los organismos del grupo coliforme pueden multiplicarse en aguas contaminadas de alto valor nutritivo, y este modo aumenta la dificultad de evaluar una contaminación del medio acuático. Mientras que los miembros de la sección de A. aerogenes de los coliformes están comunmente involucrados en este tipo de problemas.
3. Las pruebas para coliformes están sujetas a interferencias debido a otras especies de bacterias. Algunos resultados falsos negativos ocurren cuando especies de Pseudomonas están presentes. Algunos resultados falsos positivos ocurren cuando dos especies producen gas a partir de la lactosa (lo que se conoce como sinergismo).

- 4.- El hecho de que no todos los cuerpos de agua tienen las mismas características.

Por lo que se iniciaron una serie de investigaciones para encontrar otros posibles indicadores que pudieran resultar de mayor aplicación y utilidad, entre ellos se incluye a P. aeruginosa sin descartar a los ya descritos.

Wheater et al 1980 revisa extensivamente la literatura con respecto a P. aeruginosa y considera que puede ser usado como indicador de contaminación fecal, King 1974 menciona que efectivamente la bacteria es indicativa de contaminación fecal por patógenos de origen humano. James, E. 1979 recomienda la clasificación de las aguas de baño tomando como base las densidades de P. aeruginosa, por las relaciones del organismo con las infecciones de oído, ojos, nariz y garganta considerándolo como un indicador de contaminación fecal humano ~~mas~~ útil que los coliformes. A su vez Scaglio 1983; Esterman, 1984 lo sugieren como un indicador de contaminación por su resistencia a la desinfección por cloro en las piscinas. ~~A~~

### 3.2 Revisión bibliográfica de la bacteria Pseudomonas aeruginosa en relación a su detección en agua de piscina.

Robinton et al. (1957) hicieron un estudio de la flora bacteriana encontrada en agua de piscina, observando la efectividad de una alta cantidad de cloro libre residual de 1.0 ppm o más, encontrando que en general la flora bacteriana era baja.

Poniendo además de manifiesto que el uso de los coliformes es inadecuado para este tipo de agua ya que la contaminación microbiana en piscinas es propiciada por los mismos nadadores (Robinton et al 1966).

Favero et al (1964) realizaron un estudio de la flora bacteriana para evaluar la validez de los estándares de la calidad sanitaria del agua obteniendo que los organismos propios de la nariz, garganta y

áreas de la piel son más resistentes que los coliformes, a desinfección común por cloro en piscinas, por lo que resultan más adecuados para indicar la contaminación en ellas, realizaron también un estudio comparativo de la flora microbiana existente en piscinas iodadas y cloradas (Favero y Drake 1966), con el cual mostraron la existencia de microorganismos resistentes a los efectos inhibitorios de los halógenos.

Hoadley et al. (1975) realizaron un estudio de dos albercas no techadas del centro de retrasados mentales de Gainesville, Florida en el cual había alrededor de 1700 hombres y mujeres, y algunos pacientes con infecciones de oído externo; de estos algunos eran nadadores. El método utilizado fue además de bacteriológico y físico-químico de identificación bacteriana mediante tipificación por piocianina e inmunotipificación, de su estudio concluyeron que existió relación entre las infecciones provocadas por P. aeruginosa y su presencia en el agua de las piscinas. Sugirieron también los beneficios de estudios más extensivos de poblaciones de nadadores y de aguas de piscinas para poder determinar las relaciones entre la calidad del agua y la salud del bañista y establecer así criterios para la calidad de las aguas recreacionales.

Cabelli et al (1976) hacen hincapié en la existencia de una amplia controversia con respecto al mejor método de evaluación de la efectividad del cloro en piscinas; los estándares tradicionales basados en el índice de los coliformes muestra que no hay evidencias satisfactorias entre ellos y la presencia de enfermedades en bañistas.

Mitchell (1978) menciona que es probable que las densidades de P. aeruginosa sean tomadas en cuenta debido a que es el agente etiológico de una de las enfermedades más comunes asociadas a los oídos de nadadores. (Cerca del 10% de la población "normalmente" transportan a este organismo en los canales auditivos externos, y estos individuos indudablemente dispersan al organismo en el agua, por lo que

esta asociación no es inesperada.

Seyfried et al (1980) llevan a cabo un estudio mediante el cual observan la presencia de P. aeruginosa en albercas con cloro 0.4 mg/l o menos y con un pH de 6.9-7.8 también estudiaron la baja efectividad en la desinfección por cloro cuando el pH es alcalino.

Wheater et al (1980) observa la incidencia de E. coli en aguas residuales domésticas y aguas de desecho de hospital, con la finalidad de evaluarlos como indicadores de contaminación fecal.

Las dos bacterias están presentes en áreas urbanas mostrando variación en cuanto a número. Los resultados obtenidos y la incidencia dada por el examen de las excretas muestran que P. aeruginosa es ta mucho más asociada con efluentes de origen humano y confirma la revisión de Cabelli et al 1976 de que el conteo de E. coli de 1000 organismos por 100 ml. en ausencia de P. aeruginosa sugiere la posibilidad de que el origen de contaminación sea más animal que humano.

Scaglio et al (1983) en un estudio bacteriológico de nueve piscinas de hoteles reportan que en el tratamiento de agua de piscina, el nivel de cloro residual disponible puede conservarse de manera constante durante el día cuando hay una apropiada cloración y un frecuente vaciado de la piscina. Proponiendo en concreto que los enterococos y P. aeruginosa dada su resistencia a cloración marginal así como también su importancia en patología humana, sean tomados como un índice práctico de aguas de piscina contaminadas.

Esterman et al (1984) realizan estudios en el Sur de Australia en 100 piscinas para evaluar la efectividad de las prácticas de desinfección contra varios microorganismos, entre ellos P. aeruginosa revisando el nivel de cloro y pH recomendados. Encontrando que el valor residual de 1.0 mg/l y pH de rango 7.0-7.6 son los óptimos recomendados por las autoridades de Salud, poniéndose de manifiesto su resistencia a desinfección. Este microorganismo es de

particular importancia porque es muy frecuentemente detectado en el Sur de Australia.

Seyfried et al (1985) llevaron a cabo un estudio epidemiológico entre nadadores y no nadadores durante el verano de 1980 para observar la incidencia entre nadadores y enfermedades. La evaluación se obtuvo mediante los resultados obtenidos en 4.537 llamadas telefónicas las cuales mostraron la proporción de morbilidad que fue de 69.6% por 1000 nadadores versus 29.5% de no nadadores, las experiencias en nadadores fueron achaques respiratorios, infecciones en ojos, oídos, y síntomas de alergia las cuales representaron más de la mitad del conjunto de enfermedades, y detectándose solo algunos casos de síntomas gastrointestinales. Se notó además una marcada incidencia en los nadadores jóvenes de 20 años o menores.

Por investigaciones como las anteriores se ha propuesto a P. aeruginosa por su resistencia a la desinfección por cloración (Guinea et al 1979; CIECCA, 1985). Pero sobre todo por su implicación en una amplia variedad de infecciones entre los nadadores.

### 3.3 Revisión bibliográfica de los estudios de inmunotipificación y fagotipia.

Varios investigadores han reportado el aislamiento de P. aeruginosa de oídos infectados en nadadores y de agua de piscina (Favero y Drake 1964), considerando que la bacteria no es un habitante normal de los canales auditivos sanos (Daguet et al 1978; Favero et al 1964; Rodier, 1981; Scaglio et al 1983).

Debido a ello varios autores han realizado estudios epidemiológicos (estudios de inmunotipificación y fagotipificación). Por ejemplo Seyfried et al 1980 menciona que Cotran y Hatzen en 1962 aislaron a P. aeruginosa de varios bañistas que sufrieron otitis externa y que habían usado albercas con frecuencia y mediante tipificación de la bacteria mostraron que ambos aislamientos, del oído y de las piscinas

correspondían al mismo tipo de fago. Hoadley et al 1975; Seyfried et al 1980 llevaron a cabo estudios epidemiológicos mediante los cuales mostraron que la presencia de P. aeruginosa en piscinas aumenta, el riesgo de infección externa por otitis; encontrándose además predominio de un solo tipo de organismo. Recientemente Seyfried et al 1984 al examinar cinco lagos y dos ríos de Ontario muestra los niveles de P. aeruginosa en cada uno, y mediante serología y Fagotipia a cepas de P. aeruginosa aisladas de los lagos y los ríos se determina que éstos son los agentes etiológicos responsables del comienzo de otitis externa en nadadores; los estudios en cuanto a las relaciones entre los coliformes y P. aeruginosa en albercas y agua que se mantiene en circulación de manera artificial (remolino) indica que no hay un número constante en cuanto a las relaciones de origen (James, 1979). El origen de P. aeruginosa en estas aguas puede estar relacionado con el transporte mismo del agua o en la piel de los bañistas así como en superficies contaminadas con material fecal.

En el ambiente natural se ha incrementado la evidencia de una relación directa entre las actividades del hombre y la incidencia de P. aeruginosa en el agua (James, 1979).

Sin embargo parece ser escasa o no directa la relación numérica entre la densidad de P. aeruginosa y aquellos otros patógenos o indicadores fecales (James, 1979).

Los estudios realizados en la porción central de los grandes lagos Canadá, han revelado la ausencia de estos microorganismos en aguas contaminadas. Sin embargo en las orillas de los grandes lagos donde hay una conexión de ríos y unión de corrientes con las áreas pobladas de estos lagos todos tienen variadas densidades de P. aeruginosa (Seyfried et al 1984). Estos descubrimientos apoyan la aseveración de que la presencia de P. aeruginosa está directamente relacionada con la presencia del hombre (Seyfried et al, 1980;1984), establecen que el valor de Pseudomonas como un indicador de daño

potencial de la salud asociado con agua de piscina puede evaluarse tomando en cuenta su recuperación en laboratorio, como organismo patógeno de agua superficial.

Cuando se iniciaron los estudios de piscina y de las infecciones adquiridas en éstas, se observó la presencia de P. aeruginosa y se consideró de importancia su hallazgo, pero no se contaba con métodos para su recuperación. Sin embargo, el conocimiento de P. aeruginosa para actuar como un patógeno indicador de contaminación (Dutka y Kwan, 1977; Seyfried et al 1980) dió lugar al desarrollo de una variedad de métodos de enumeración y aislamiento (James, 1979; APH Standard Methods, 1975; Dutka y Kwan 1977). Dutka y Kwan evalúan en 1977 algunas de las más prometedoras técnicas del procedimiento de Filtro de membrana para la enumeración de Pseudomonas aeruginosa de agua y de aguas residuales, los resultados de este estudio confirman y apoyan los hallazgos de sobre la gran eficiencia de este método con respecto a la de NMP, para recuperación y enumeración de esta bacteria en aguas contaminadas, los resultados de una versión ligeramente modificada de medio mPa-agar (Martins et al 1982) llamado medio mPa-B, con un incremento en el período de incubación produce una estimación ligeramente mejor de P. aeruginosa, utilizando también la técnica de filtro de membrana.

Recientemente Brosky y Ciebin, 1978 establecen que la reducción de la concentración de sulfapiridina de 176 a 1.76 mg en el medio mPa-B (de Dutka y Kwan, 1977) con una lectura de las placas a las 24 horas, es una modificación del medio mPa-B a la cual se le llamó medio mPa-C. La especificidad del medio mPa-C y el mPa-B fue tal que 99.4% de 768 colonias típicas de P. aeruginosa tomadas de mPa-C y 98.9% de 737 colonias tomadas de mPa-B se confirmaron como P. aeruginosa. De tal manera solo el 3% de las colonias atípicas se confirmaron en ambos medios (Brosky y Ciebin, 1978). Así los resultados muestran que las colonias de P. aeruginosa pueden contarse después de 24 horas de incubación, con la misma ocurrencia, selectividad, especificidad y precisión como mPa-B después de 72 horas de incuba-

ción además el número de microorganismos de P. aeruginosa recuperadas por la técnica de filtro de membrana en ambos medios mPa-C y mPa-B, de aguas de diversos orígenes se encuentra dentro de los límites de confianza que el método del NMP (Brosky y Ciebin; 1978).

En países como Francia donde se han realizado diversos estudios en esta área encaminados precisamente a la determinación de un nuevo indicador para las aguas de piscina, se ha incluso aceptado como norma oficial el uso de P. aeruginosa. En algunos países como E. U. y Canadá se está utilizando a estos microorganismos tentativamente.

(4) [ En México donde hay diversos centros recreacionales en los que se practica la natación, se han realizado pocos estudios en este campo, así Maldonado, 1982 menciona que las piscinas del Distrito Federal constituyen un peligro para la salud de los usuarios, ya que se encuentran altamente contaminadas con microorganismos, pues no existe un control estricto en su limpieza y desinfección y por lo tanto una efectiva prevención de las enfermedades infecciosas.]

Por otra parte en un estudio preliminar realizado por Leal y Ontiveros (1982) en cinco piscinas con aguas cloradas en el Distrito Federal se encontró que de 68 muestras analizadas para coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), estreptococos fecales (EF) y Pseudomonas, el 98.5% presentaron 3/100 ml de CT y CF, y el 1.5%, 4 organismos/100 ml (muestra profunda); para EF el 91% de las muestras presenta < 3 organismos/100 ml, el 90% un promedio de 12 organismos/100 ml. Para P. aeruginosa un 7.5% y para P. putida el 3%.

La calidad bacteriológica de una agua recreativa, como lo es el agua de las piscinas, se puede evaluar mediante la determinación del número de organismos mesofílicos aerobios, de los organismos coliformes de los estreptococos y de P. aeruginosa (APHA Standard Methods; 1980). Pero las investigaciones publicadas ponen de manifiesto que es de mayor importancia la determinación de patógenos

de origen no entérico como son P. aeruginosa ya que éste es un microorganismo potencialmente dañino por ser un patógeno de contacto el cual puede infectar heridas, vías nasofaríngeas, tracto respiratorio superior, ojos, oído, y el sistema urogenital (King, 1974). Estas infecciones se asocian con aguas de piscina con mantenimiento inadecuado, además estos microorganismos son resistentes al cloro agente desinfectante que comunmente se emplea en las piscinas. El microorganismo mencionado es saprófito de la piel, ingle, axilas, zonas húmedas, saliva de individuos sanos (y estas puede ser vías por las cuales pueden llegar a las piscinas) (Mitchell, R. 1978), por lo que constituyen un riesgo importante para la salud pública, siendo su papel epidemiológico importante.

### 3.4 Generalidades de la bacteria P. aeruginosa.

#### 3.4.1 Clasificación y características

Pertenece a la familia Pseudomonaceae y es la especie más representativa del género (Schroeter, 1872), Migula, 1900 (Manual Berguey).

En 1850 Sédillot, y Fordos en 1960, lograron aislar de la ropa de hospital una sustancia cristalina a la que llamaron piocianina y posteriormente en 1882 Gessard logra aislar al microorganismo como tal. La bacteria ha recibido diferentes nombres a través del tiempo Bacterium aeruginosum Schroeter 1872; Bacterium aeruginum Cohn, 1872; Bacillus pyocyaneus Gessard, 1882; Micrococcus pyocyaneus Zopf, 1884; Bacillus aeruginosum (Schroeter) Trevisan, 1885; Pseudomonas pyocyanea (Zopf) Lehman y Neumann, 1896; Pseudomonas aeruginosa Migula, 1900, siendo este último por el que actualmente se le conoce.

Las bacterias que pertenecen a la especie son bacilos Gram-negativos, móviles mediante un flagelo polar, miden aproximadamente

0.5-1.0  $\mu$  x 3.0  $\mu$  se encuentran aislados en pares o en cadenas cortas y son no esporulados y no capsulados. Y son de amplia distribución en la naturaleza y debido a su gran adaptabilidad se les encuentra con frecuencia en la flora normal del intestino humano, en ocasiones en la piel y en la saliva (Vasconcelos y Anthony, 1985), en el suelo, en aguas dulces, en ambiente marino, en la superficie de plantas, en la superficie epitelial de órganos de animales, en el aparato digestivo de rumiantes y en otros sistemas. Se cree que en estos ecosistemas naturales su patogenicidad potencial es debido a su modo de crecimiento en microcolonias más que a su distribución universal (Costerton, W. 1979), menciona además que algunas cepas se multiplican y sobreviven en una amplia variedad de fluidos lo que asegura que en ambientes húmedos encuentran condiciones para sobrevivir quedando así como depósitos potenciales para la transmisión de microorganismos patógenos (Weldberg, S. 1963). Otras cepas están aún capacitadas para metabolizar insecticidas organoclorados, oxidando estos compuestos difíciles de eliminar por los tratamientos usuales (Guinea et al 1979) P. aeruginosa, es capaz de crecer en condiciones de laboratorio a 42°C mientras otras especies del género, solo pueden crecer a temperaturas más bajas (Brook, 1978). Son microorganismos quimiorganotróficos con metabolismo oxidativo, no fijan nitrógeno, utiliza compuestos de carbono de uno o más átomos. Se cultivan fácilmente en un medio nutriente ordinario de laboratorio bajo condiciones aeróbicas pero puede crecer en condiciones anaeróbicas cuando están presentes nitratos. No son ácido-resistentes ni resisten temperaturas mayores de 55°C y de los azúcares solo utilizan la glucosa. Produce dos pigmentos la piocianina que es el pigmento responsable de la coloración azul que se difunde en el medio, éste es soluble en cloroformo y en agua, de donde puede aislarse en forma de grandes cristales azules. Para su formación no requiere de sulfatos ni fosfatos. Aparece en los primeros estadios del desarrollo de estas bacterias y puede oxidarse dando un color vino que puede llegar a ser negro. Otro de los pigmentos que es característico de la especie fluoresceína, la cual es de color verde amarillento y

fluorescente, es insoluble en cloroformo, pero no en agua; requiere de sulfatos y fosfatos para su formación y en los cultivos viejos suele oxidarse dando una coloración pardo amarillenta. La piocianina es la sustancia que proporciona un olor especial en los cultivos, dulzaino aromático de la aminocetofenona, este pigmento solo es producido por P. aeruginosa, mientras que la fluoresceína es producida también por otros microorganismos. Pero ambos pigmentos son producto de la oxidación de sustancias incoloras (Brook, 1978; CIE-CCA 1985 ; Pelczar 1980; Topley 1946).

Es una bacteria oportunista principalmente en personas que sufren quemaduras, fibrosis quística, leucemia y en aquellas que han sido tratadas con drogas inmunosupresoras (Bailey y Scott, 1974 Carson et al 1975; Topley, 1946; Weldeberg, 1963; Starr et al 1981).

Por ejemplo en pacientes quemados la infección de las heridas con P. aeruginosa es capaz de producir la muerte ya que las áreas de la piel quemada brindan las condiciones propicias para la multiplicación de la bacteria debido a la humedad proporcionada por el exudado inflamatorio o por los apósitos (Myrvi y Pearsall, 1977). La infección puede tener su origen en la flora normal del enfermo o ser de procedencia exógena especialmente del ambiente hospitalario. A menudo la infección comienza durante la primera semana de la quemadura y se extiende por la vía linfática hacia el tejido subcutáneo local durante la segunda semana. Durante etapas tardías de la infección los microorganismos pueden llegar a la corriente sanguínea y producir septicemia y choque bacterianémico casi siempre mortal.

Aunque es también posible encontrarla como saprófita de la piel, la boca, las fosas nasales y el tubo digestivo constituyendo uno más de los gérmenes de la flora intestinal.

Estos microorganismos tienen entre sus características el

de ser multiresistentes a los antimicrobianos más comunes (Guil-  
les y Dodds, 1973; Manual de bacteriología médica, 1983; Topley,  
1946; Vasconcelos y Anthony, 1985, Weldeberg, 1963).

La prevención es el mejor método para evitar las infeccio-  
nes por P. aeruginosa, los pacientes o personas expuestas a riesgo  
deben observar y aumentar las medidas asépticas, procurando utili-  
zar lo menos posible antibióticos de amplio espectro. Actualmente  
se investiga en pacientes quemados, un método prometedor para pre-  
venir la infección por este microorganismo.

La terapéutica antibiótica es difícil pero puede ser eficaz  
contra las infecciones por esta bacteria. Entre los antibióticos  
comunmente utilizados encontramos la carbencilina, colisticina y  
gentamicina; la poliximina es efectiva, pero es importante usarla  
con precaución, pues es muy tóxica y puede ocasionar efectos secun-  
darios (King, Ch. 1974).

IV. OBJETIVOSObjetivo general

Realizar un estudio bacteriológico de la calidad del agua de piscina relacionando a Pseudomonas aeruginosa con coliformes totales y coliformes fecales.

Objetivos particulares

Aislar a Pseudomonas aeruginosa, coliformes totales y coliformes fecales de diversas piscinas del área metropolitana.

Determinar en las aguas de piscina los siguientes parámetros físico-químicos: cloro libre residual, temperatura y pH.

Analizar la posible relación entre la presencia de Pseudomonas aeruginosa con coliformes totales y fecales, así como también con los parámetros físicoquímicos determinados, en el presente trabajo (cloro libre residual, temperatura y pH).

## V. METODOLOGIA

[Se hizo un estudio de <sup>9</sup>10 piscinas] de las cuales 9 son propiamente piscinas de uso recreativo y una es de uso terapéutico.

Las piscinas se encuentran localizadas de la siguiente manera: la No. 1 hacia el poniente, la No. 3 hacia el noroeste, la No. 9 hacia el norte y las Nos. 2, 5, 6, 7, 8 y 10 hacia el sur del D. F. de las cuales 3 de estas piscinas son de uso popular (1,3,6), 5 son escolares de nivel medio superior y superior (la 2,4,5,7,8,9) y la 10 de uso terapéutico.

De las piscinas la 5 está aislada de la zona que la rodea por bardas altas además tiene a su alrededor grandes jardines y está directamente expuesta a la radiación solar.

Las piscinas 1, 2, 3, 4, 7 y 9 como no están aisladas de la zona que las rodea, se encuentran expuestas a contaminantes atmosféricos y se hayan expuestas al polvo y a la radiación.

La 10, la 6 y la 8 están construídas dentro de locales cerrados y techados y sólo tienen una puerta de acceso a ellas.

La piscina 2 tiene cerca de alambre, en ella los bañistas permanecen alejados de la alberca mientras no nadan, en cambio en la piscina 3 y en la 1, no están cercadas y tienen alrededor áreas verdes con césped permitiendo a los bañistas permanecer ahí.

### 5.1 Muestreo

Los muestreos se iniciaron el 16 de octubre de 1985 hasta cubrir un período de 11 meses.

En la tabla 1 se muestra el calendario de muestreo.

CALENDARIO DE MUESTREO

Fechas de los muestreos de las piscinas estudiadas

Piscina No.	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 3
1	21 de octubre de 1985 otoño	28 de mayo de 1986 primavera	3 de septiembre de 1986 verano
2	24 de noviembre de 1985 otoño	10 de marzo de 1986 invierno	25 de junio de 1986 verano
3	3 de diciembre de 1985 otoño	18 de marzo de 1986 invierno	2 de julio de 1986 verano
4	27 de enero de 1986 invierno	9 de abril de 1986 primavera	9 de julio de 1986 verano
5	3 de febrero de 1986 invierno	22 de abril de 1986 primavera	16 de julio de 1986 verano
6	10. de febrero de 1986 invierno	28 de abril de 1986 primavera	23 de julio de 1986 verano
7	24 de febrero de 1986 invierno	14 de mayo de 1986 primavera	30 de julio de 1986 verano
8	7 de mayo de 1986 primavera	20 de agosto de 1986 verano	29 de octubre de 1986 otoño
	28 de mayo de 1986 primavera	10 de septiembre 1986 verano	27 de octubre de 1986 otoño
10	5 de marzo de 1986 invierno	7 de mayo de 1986 primavera	20 de agosto de 1986 verano

TABLA No. 1

Se muestreó una piscina diferente cada semana hasta completar las diez. Este ciclo se repitió tres veces, muestreándose en total tres veces cada piscina. Los ciclos realizados de esta forma cubrieron las cuatro temporadas del año primavera, verano, otoño e invierno, lo que permitió observar las variaciones estacionales. El horario de muestreo fue siempre entre las 10.00 y las 11.30.

→ En cada piscina se tomaron muestras de las cuatro esquinas (ya que éstos son los sitios donde existe menos movimiento del agua y son los relativamente menos accesibles a la desinfección), y se tomaron directamente en la superficie (30 cm aproximadamente).

Se tomaron dos tipos de muestra. Una para el análisis bacteriológico y otra para el análisis de los parámetros fisicoquímicos.

La muestra bacteriológica se tomó en un frasco de 1000 ml. estéril con 1.0 ml. de la solución de tiosulfato de sodio al 10% para contrarrestar el efecto bactericida del cloro.

La muestra para el análisis de los parámetros fisicoquímicos se tomó en un frasco limpio de 1000 ml. y el análisis de estas muestras se realizó "in situ", esta muestra se tomó después de la bacteriológica.

## 5.2 Análisis de los parámetros fisicoquímicos.

En las muestras de agua se hicieron las siguientes determinaciones de parámetros fisicoquímicos: temperatura, pH y cloro libre residual.

### 5.2.1 Temperatura

La determinación de la temperatura se hizo directamente en el agua de la alberca al momento de la toma de cada muestra

empleando para ello un termómetro de laboratorio con escala de -10 a 110°C.

#### 5.2.2 pH

Del agua colectada en los frascos de cristal transparente se tomaron aproximadamente 50 ml. en un vaso, de precipitados para determinar el pH, también se hizo la medición in situ con un potenciómetro el que previamente se calibró con una solución reguladora de referencia de pH  $7.0 \pm 0.1$ , a temperatura ambiental el día del muestreo.

#### 5.2.3 Cloro libre residual

El cloro libre residual se determinó tomando 500 ml del agua colectada en el frasco de cristal limpio. La determinación se hizo mediante una titulación yodométrica; de acuerdo con el procedimiento descrito en el Standard Methods, 1980 (ver anexo) efectuándose la determinación en el sitio de muestreo.

### 5.3 Análisis bacteriológicos

En el diagrama (1) se observa, el procedimiento general de análisis de las muestras de agua.

El material que se empleó para llevar a cabo los análisis y determinaciones fue debidamente lavado y esterilizado (1). Los medios fueron preparados de acuerdo a las fórmulas establecidas y esterilizados en la forma adecuada] (Standard Methods, 1980; CIECCA, 1985) (Ver anexo).

#### 5.3.1. Tratamiento usado con la cepa pura

La cepa pura de P. aeruginosa (ATCC 15692 Protótrofa PA01)

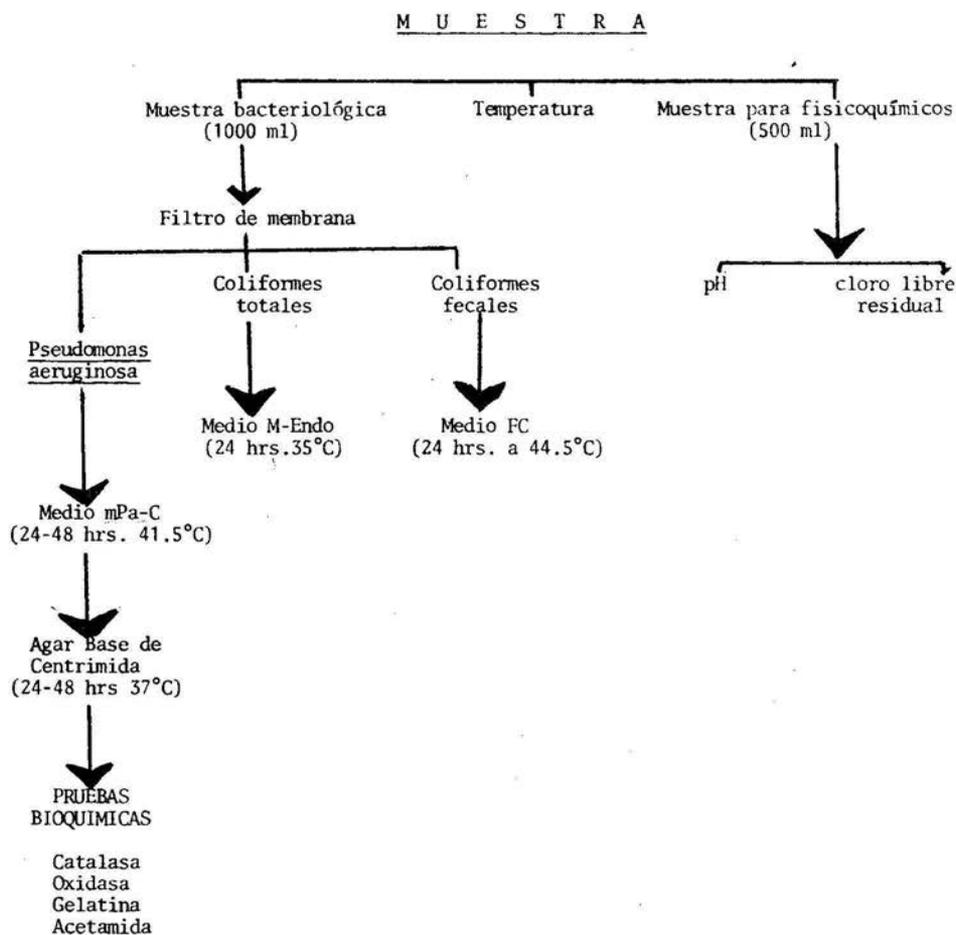


FIGURA I  
Diagrama I

Método General de análisis de las muestras tomadas en las piscinas estudiadas

fue sembrada en agar cetrimida, cada ocho días, para mantenerla joven. Esta cepa fue usada como patrón de referencia y comparación en el aislamiento de P. aeruginosa de agua de piscina.

Con la cepa pura además se probaron varias diluciones para determinar cuáles serían las más adecuadas, es decir que las UFC fueran cuantificables y bien definidas para poder familiarizarse con las características y el comportamiento de la especie, en el medio que se utilizó.

Dichas diluciones se manejaron con una solución amortiguadora y bajo condiciones de esterilidad (Standard Methods 1980; CIE CCA, 1985).

Se filtraron las diluciones elegidas, tomando volúmenes de 100 ml se utilizó también la técnica de filtro de membrana con membrana de 0.45 micras de poro, se hizo un enjuague con la solución amortiguadora y la membrana se colocó en medio mPa-C modificado (Brodsky y Ciebin 1978), bajo las condiciones y el mismo tiempo de incubación que las muestras del agua de piscina las filtraciones se hicieron por duplicado para mejores resultados.

Este procedimiento se llevó a cabo durante todos y cada uno de los muestreos, para comprobación de la efectividad del medio.

De la muestra tomada en los frascos estériles color ambar de 1000 ml se determinó la presencia y el número de P. aeruginosa, coliformes totales y coliformes fecales.

### 5.3.2 Análisis y enumeración de P. aeruginosa

Se utilizó la técnica de filtración por membrana (Fig. 2).

El medio utilizado para su aislamiento fue el medio mPa-C

ANALISIS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA  
(Técnica de filtro de membrana)

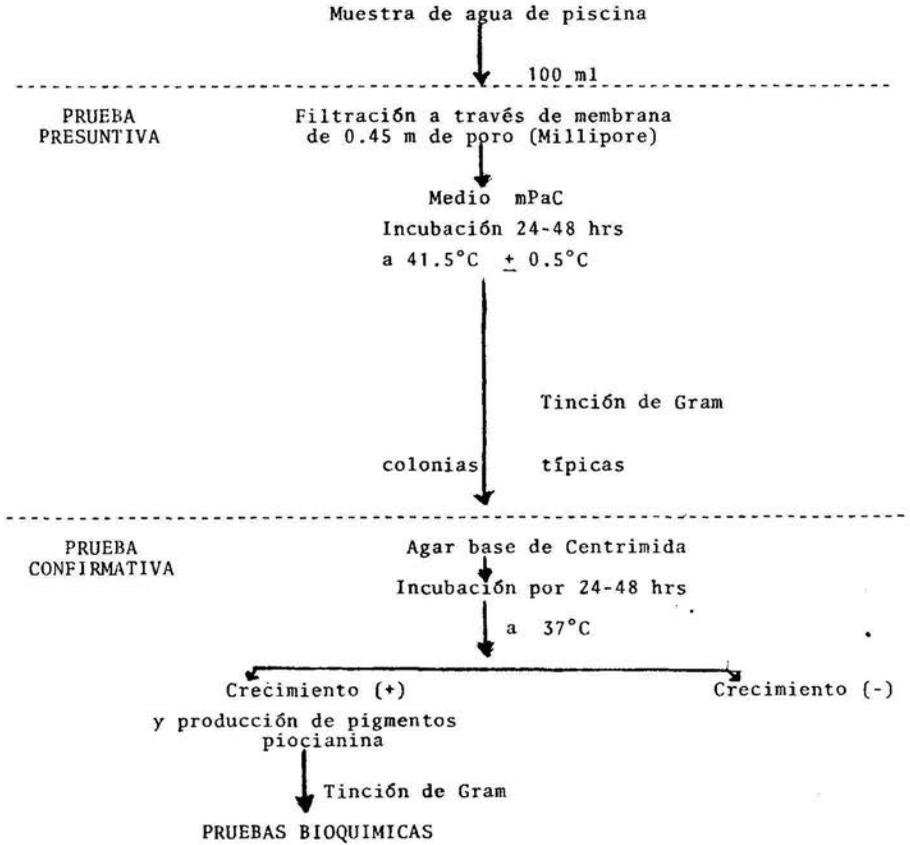


FIGURA 2

Diagrama 2

modificado (ver anexo), el cual es un medio selectivo que permite una buena definición colonial, no es de preparación compleja, permite la lectura de las colonias a las 24 horas de incubación, además de reducir la contaminación del medio por otras bacterias pues a sus componentes se adicionan dos antibióticos (Brodsky y Ciebin, 1978).

En este método se utilizó una prueba presuntiva y una prueba confirmativa.

A) Prueba presuntiva.

Se utilizó una alícuota de 100 ml (Standard methods, 1980; CIECCA, 1985) que es el volumen sugerido para las piscinas, se filtró a través de membranas de acetato de celulosa con un diámetro de 47 mm. y una porosidad de 0.45 micras (Millipore).

Una vez filtrado el volumen, con la ayuda de pinzas estériles se colocó la membrana en una caja de petri de 15 x 65 mm. que contenía aproximadamente 5.0 ml. del medio mPa-C, para la recuperación selectiva de P. aeruginosa. Las placas se incubaron en forma invertida a 41°C durante 24-48 horas + 2 horas, transcurrido el período de incubación se contaron las colonias cuya morfología era circular presentando un color café claro en las orillas y un centro definido en tono más oscuro, presentándose a veces un halo rosa semitransparente, estas colonias alcalinizaron el medio de cultivo, cambiando el color de éste de naranja a bugambilia en nuestro caso.

B) Prueba confirmativa.

Las colonias que nos resultaron sospechosas se sembraron en tubos con tapón de rosca de 10x100 ml. conteniendo medio base de agar cetrimida para favorecer la producción de los pigmentos, piocianina y fluoresceína. El medio Cetrimida antes mencionado

contiene el antibiótico del mismo nombre centrimida que de amplio espectro pero no afecta a P. aeruginosa. Y se incubó de 24-48 horas en una estufa de 37°C 0.5°C.

Las colonias confirmadas como P. aeruginosa produjeron un pigmento azul-verde, difusible en el medio de cultivo.

Para la confirmación del diagnóstico de P. aeruginosa obtenido mediante la prueba confirmativa se seleccionaron algunas pruebas bioquímicas que se aplicaron a las cepas aisladas en el laboratorio así como a los microorganismos de referencia. La cepa de referencia fue P. aeruginosa ATCC 15692 Protótrafa PA01. Y las pruebas bioquímicas seleccionadas fueron las siguientes:

#### PRUEBAS BIOQUIMICAS

Tinción de Gram.- Se hizo el examen microscópico después de la coloración de Gram para asegurarse que las colonias eran de bacilos Gram negativos.

Punción en gelatina.- Para determinar la capacidad del organismo de producir enzimas proteolíticas (gelatinasas) que licuan la gelatina.

Catalasa.- Para comprobar la presencia de la enzima catalasa.

Oxidasa.- Para observación de la reacción de oxidasa.

Acetamida.- Para la producción de amoníaco a partir de la acetamida.

#### 5.3.3 Determinación de los coliformes totales.

Se determinó la presencia de coliformes totales, filtrando volúmenes de 100 ml y se colocaron en medio de cultivo M-Endo,

incubándose por 24 horas a  $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , en posición invertida de acuerdo a lo establecido en el Standard Methods (I).

#### 5.3.4 Determinación de coliformes fecales

Para ello también se filtraron volúmenes de 100 ml que es también la cantidad ideal para aguas de piscina (6). Se colocó la membrana en medio de cultivo M-FC se selló y se protegió contra la entrada de agua, incubándose en baño de agua  $44.5^\circ\text{C}$  durante 24 horas.

Los métodos que se emplearon para la enumeración de P. aeruginosa, coliformes totales y coliformes fecales por filtración por membrana fueron los sugeridos en el Standard Methods (I). Sólo que en el caso del método de filtración, para P. aeruginosa, el volumen del medio mPa-C (que fue probado y seleccionado para P. aeruginosa), fue de 5.0 ml en lugar de los 3.0 ml sugeridos, esto se hizo para evitar la excesiva desecación del medio de cultivo durante la incubación. Y lograr su mejor recuperación. Además el medio utilizado fue siempre de reciente elaboración.

#### 5.4 Análisis estadístico

Con el fin de facilitar el análisis e interpretación, los resultados de las 120 muestras totales fueron divididos en 2 grupos: un grupo mayor "I" formado por 9 de las 10 piscinas estudiadas (con un total de 108 muestras) estas piscinas son de uso propiamente recreativo y un grupo menor "II" formado por el estudio de las tinas de Hidroterapia con condiciones especiales por ser de uso terapéuticos exclusivamente (con 12 muestras en total).

Tanto para el grupo mayor "I" como para el grupo "II" se obtuvieron máximos, mínimos y coeficientes de variación.

También se utilizó un paquete estadístico SPSS versión 8.0, para la cantidad de datos presentes en este trabajo (las 120 muestras to-

tales). Entre los métodos más apropiados para cubrir el último de los objetivos se eligió el análisis de correlación el cual indica la existencia, el grado y el sentido de la relación (Sokal, 1979). Los métodos utilizados fueron la correlación simple, la correlación parcial y la correlación múltiple. Para cada una de las pruebas anteriores se midió el grado de significancia con ( $p = .05$ ).

Estas técnicas están representadas por las siguientes expresiones:

i) Correlación simple. Para obtener los coeficientes de correlación por pares de variables

$$r = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i) (\sum Y_i)}{\sqrt{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2} \sqrt{n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2}}$$

ii) Correlación parcial. Para obtener una medida de la intensidad de la relación entre las variables cuando se ha eliminado el efecto de una de ellas (Wayne W. 1979).

$$r_{y1.2} = (r_{1.2} - r_{y2} r_{12}) / \sqrt{(1-r_{y2}^2) (1-r_{12}^2)}$$

iii) Correlación múltiple. Para medir la dependencia entre una variable Y y las variables  $X_i$

$$R = \sqrt{1 - \frac{\sum e_i^2}{\sum Y_i^2}} \quad \text{con } e_i = Y - Y^a$$

Donde:

- r = coeficiente de correlación
- R = coeficiente de correlación múltiple
- n = número de datos
- $X_i$  = suma de las  $X_i$
- $Y_i$  = suma de las  $Y_i$

## VI. PRESENTACION DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados que se obtuvieron a partir de las determinaciones fisicoquímicas y bacteriológicas de las piscinas estudiadas (Ver tablas II, III, IV, V, VI, VII). Y tratamiento estadístico de los mismos.

### 6.1 Condiciones particulares de cada piscina

Piscina No. 1. Durante otoño y primavera la temperatura y el pH se mantuvieron con valores constantes: 20°C y pH 7.3-8.0. En el verano el pH disminuyó a 6.8 la temperatura aumentó a 23°C y el cloro se presentó en concentraciones bajas o no existió.

Durante el otoño se presentaron coliformes totales, coliformes fecales y P. aeruginosa (300, 15, 35 organismos en promedio respectivamente) en mayor cantidad que en las temporadas de primavera y verano.

En verano el grupo de coliformes totales nuevamente aumentó, el de coliformes fecales siguió ausente y el número de P. aeruginosa aumentó también aunque en esta temporada no llegó a ser tan alto como en la temporada de otoño.

En este caso el comportamiento y presencia de coliformes totales con respecto a P. aeruginosa fue similar, ya que aumentaron y disminuyeron en las mismas temporadas.

Piscina No. 2. Presentó un pH de 7.0-7.9 con un promedio de 7.5 y una temperatura de 22-27°C con un valor promedio de 23°C y una concentración de cloro libre residual de 0.88-1.92 mg/l con un promedio de 1.25 mg/l, el valor mínimo se detectó en invierno temporada en la cual la temperatura también fue baja de 22°C y el valor máximo de 1.92 mg/l se presentó durante el otoño.

Con respecto a coliformes fecales y P. aeruginosa no se observó la presencia de ellas en ninguna temporada.

En esta piscina se observó la presencia de coliformes totales en otoño y verano (con un promedio de 95 y 20 respectivamente), aunque no en la temporada de invierno.

La presencia de coliformes totales en la temporada de otoño fue detectada particularmente solo en dos estaciones y específicamente en mayor número en la estación de muestreo 4, lo cual puede deberse a que no existen condiciones de circulación y desinfección homogéneas en la piscina, la detección de estos organismos en verano fue en menor número pero más uniforme porque se observó su presencia en las cuatro estaciones.

Piscina No. 3. Las concentraciones de cloro libre residual fueron adecuadas e incluso excesivas por arriba de 2.5 mg/l durante el otoño. Además de que la temperatura promedio de 21.6°C y el valor de pH de 5.7-7.3 con un valor promedio de 6.57 condiciones todas ellas que no favorecieron la presencia de los microorganismos.

A lo anterior se debe seguramente la baja población encontrada de coliformes totales e incluso su ausencia durante el otoño. En invierno se observó su presencia pero de forma casi nula, por lo escaso del número de microorganismos (en promedio 2 organismos). Durante el verano se observó su presencia más marcada en la estación 1, encontrándose un promedio de 18 organismos coliformes totales.

Con respecto a los coliformes fecales y a P. aeruginosa no estuvieron presentes en ninguna de las temporadas estudiadas (otoño, invierno, verano).

Piscina No. 4. Presentó una temperatura de 20-23°C con promedio de 21.6°C observándose que fue aumentado paulatinamente a lo largo

de las tres temporadas, y un pH de 6.8-8.4 el cual disminuyó en general desde 8.4-7.1. La concentración de cloro libre residual fue baja de 0.0-0.53 mg/l.

En cuanto al número de microorganismos coliformes totales es escaso en invierno, en primavera disminuye aún más y en verano su número aumenta un poco (8,1, 15 respectivamente), P. aeruginosa es nulo en invierno y escaso en primavera y verano. Mientras que los coliformes fecales siempre están ausentes.

En general las constantes variaciones en los valores de los parámetros fisicoquímicos aunados a las variaciones naturales de las diferentes temporadas no permitieron la sobrevivencia.

Piscina No. 5. Presentó condiciones de temperatura de 14-22°C con un promedio de 18.6°C, la temperatura más baja (14°C) se presentó en la temporada de invierno aumentando en las temporadas de primavera y verano.

El pH fue de 4.0-8.15, en invierno este parámetro alcanzó su máximo valor de 8.15, disminuyendo en primavera y verano, en esta última temporada tuvo un valor mínimo de 4.0. El cloro inicialmente tenía un valor adecuado de 1.6 mg/l pero sufre un descenso a lo largo de las dos temporadas posteriores. En invierno como se mencionó el cloro tuvo un valor adecuado (sin embargo el pH tan alto pudo afectar la acción bactericida del cloro) esto por un lado y por otra parte se puso de manifiesto la resistencia de los microorganismos a la desinfección.

Pues en invierno estuvieron presentes en escasa cantidad, coliformes totales (en promedio 1 organismos), coliformes fecales estuvieron ausentes y P. aeruginosa en número mayor que coliformes totales (en promedio 4 organismos).

En primavera y verano se encuentran coliformes totales en número escaso, coliformes fecales se mantiene en cero y P. aeruginosa esta presente en ambas temporadas en número variable (5,2 respectivamente).

Piscina No. 6. El pH fue bajo 5.2-6.5 con un promedio de 6.0. Mientras la temperatura y la concentración de cloro fueron aumentando en el transcurso de las temporadas (23-27°C con un promedio de 24.6°C (y de 1.6-2.28 mg/l con un promedio de 1.9 mg/l). En verano el cloro alcanzó un valor de 2.28 mg/l.

Sin embargo, a pesar de los valores de cloro y aun cuando el pH y la temperatura no fueron los más idóneos se obseró la presencia de los microorganismos.

Los coliformes totales se detectaron en 2 temporadas primavera y verano en número variable (151, 12 respectivamente). P. aeruginosa estuvo presente en invierno y verano (1, 8 respectivamente) y los coliformes fecales estuvieron ausentes en las tres temporadas invierno-primavera-verano.

Piscina No. 7. Las condiciones de temperatura (18-26°C con un promedio de 22°C) fueron ascendiendo a través de cada una de las tres temporadas (invierno-primavera-verano).

El pH sufrió un descenso de 7.3-6.9. El cloro estuvo ausente en invierno y verano mientras que en primavera se le detectó con un valor promedio de 0.68 mg/l.

Sin embargo, se observó la presencia de los coliformes totales 300 en ambas temporadas. P. aeruginosa (17-22 respectivamente) e incluso coliformes en invierno y verano.

Mientras que en la segunda temporada de primavera se presentaron coliformes totales y P. aeruginosa (4 organismos en promedio)

pero no coliformes fecales.

Por el comportamiento observado puede decirse que a niveles de cloro residual de menos de 1.0 mg/l se espera la presencia de microorganismos en la piscina. Además de que aquí también pudo observarse la similitud en comportamiento del grupo coliformes totales con respecto a P. aeruginosa.

Piscina No. 8. La temperatura y el pH tuvieron un rango de variación amplia pH 6.2-7.9 y la temperatura de 17.0-29°C. La concentración de cloro fue muy alta durante la temporada de primavera 1.7 mg/l mientras en las dos temporadas posteriores la concentración de cloro libre residual fue de cero.

En cuanto a la presencia de microorganismos se detectó la presencia de coliformes totales en primavera, verano y otoño en cantidades elevadas de hasta 300 colonias de organismos. P. aeruginosa estuvo también presente en las tres temporadas en número de hasta 51 colonias. Los coliformes fecales se detectaron solo en verano, pero no en primavera ni otoño.

Piscina No. 9. Las condiciones de temperatura fueron de 20-22°C con un promedio de 21.3°C y un pH de 6.8-9.3 con un promedio de 8.4. La concentración de cloro fue muy alta de 3.7 mg/l aunque solo en primavera, pues en las dos temporadas posteriores fue de cero.

En primavera los microorganismos no se detectaron, ni coliformes totales ni coliformes fecales, ni P. aeruginosa ya que la elevada concentración de cloro lo impidió seguramente. En verano y otoño debido seguramente a la ausencia de cloro se encontraron coliformes totales (300) y P. aeruginosa en número variable (7.3 respectivamente). Los coliformes fecales estuvieron ausentes.

Piscina No. 10. Las condiciones de temperatura fueron de 26-40°C con un promedio de 34.5°C y el pH 6.8-7.8 con un valor promedio de

7.4. La concentración de cloro libre residual fue baja con un promedio de 0.170 mg/l.

Los microorganismos del grupo coliformes totales encontrados en la temporada de invierno fueron en número elevado (300 colonias). El de P. aeruginosa fue de un promedio de 17, siendo coliformes fecales de cero.

Durante primavera única temporada donde se encontró cloro en el agua de la piscina, no se encontró ni coliformes totales ni coliformes fecales. Sin embargo, si se observó la presencia de P. aeruginosa.

Para el verano la cantidad de coliformes totales fue de incontables, la de coliformes fecales fue escasa, y el número de P. aeruginosa fue escaso también (de nueve).

## 6.2 Tratamiento estadístico

Ahora bien en la tabla VIII pueden observarse los resultados que se obtuvieron mediante el cálculo de los coeficientes de variación (C.V.), los cuales nos indican que las piscinas 3,2,6 resultaron estar en condiciones de mayor homogeneidad en cuanto a los parámetros fisicoquímicos determinados en estas piscinas las condiciones de higiene son más constantes.

En contraposición con las piscinas 8, 5 y 7 que presentaron coeficientes de variación de los mismos parámetros anteriores, pero con los valores más altos, es decir tuvieron mayor heterogeneidad, lo cual puede confirmarse con las tablas de resultados (Ver tablas II, III, IV) las cuales muestran la variabilidad tanto dentro de una misma piscina como de un día a otro, en estas piscinas las condiciones de higiene no son constantes.

En cuanto a los parámetros bacteriológicos (CT, CF y P. aeruginosa)

los C.V. de las piscinas 8 y 5 fueron los más bajos presentando una mayor homogeneidad. Estas son las piscinas en que se encontró más contaminación.

En cambio en la piscina 6, 7 y 2 se obtuvieron valores mayores, presentando mayor heterogeneidad. Estas piscinas se encontraron menos contaminadas.

Cabe mencionar el caso específico de los coliformes fecales en la piscina 2, 3, 4, 5, 6 debido a su total ausencia, por lo que en realidad no se puede establecer su valor de homogeneidad o heterogeneidad.

Análisis de correlación. Con la finalidad de hacer más objetiva la presentación del análisis de correlación se presentaron las tablas junto con su análisis en la sección 7.3 de discusión de resultados.

## TEMPERATURA DE LAS 120 MUESTRAS DE LAS PISCINAS

Piscina	No. de estación	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 3
1	1	20	20	23
	2	20	20	23
	3	20	20	23
	4	20	20	23
2	1	27	22	22
	2	27	22	22
	3	27	22	22
	4	27	22	22
3	1	21	21	23
	2	21	21	23
	3	21	21	23
	4	21	21	23
4	1	20	22	23
	2	20	22	23
	3	20	22	23
	4	20	22	23
5	1	14	22	20
	2	14	22	20
	3	14	22	20
	4	14	22	20
6	1	23	24	28
	2	23	24	26
	3	23	24	27
	4	23	24	27
7	1	18	22	26
	2	18	22	26
	3	18	22	26
	4	18	22	26
8	1	29	27	18
	2	29	27	18
	3	29	26	17
	4	29	26	17
9	1	22	22	20
	2	22	22	20
	3	22	22	20
	4	22	22	20
10	1	26	36	37
	2	26	36	37
	3	36	38	35
	4	40	34	34

TABLA II

+En grados centígrados

## pH de las 120 muestras de las piscinas

Piscina	No. de estación	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 3
1	1	8.0	8.1	6.8
	2	7.9	8.0	7.8
	3	8.0	7.3	6.7
	4	7.1	7.7	6.7
2	1	7.5	7.8	7.4
	2	7.6	7.8	7.3
	3	7.3	7.8	7.4
	4	7.7	7.9	7.0
3	1	5.8	7.1	6.6
	2	5.7	7.2	6.3
	3	5.8	7.3	6.9
	4	6.0	7.3	6.9
4	1	8.3	7.2	6.8
	2	8.4	7.2	7.3
	3	8.3	7.3	7.4
	4	8.2	7.1	7.6
5	1	7.8	6.6	4.1
	2	8.0	6.9	3.9
	3	8.4	6.7	4.0
	4	8.4	6.7	4.0
6	1	5.7	6.4	6.0
	2	5.3	6.5	6.3
	3	5.2	6.5	6.4
	4	5.2	6.5	6.4
7	1	6.9	6.1	6.9
	2	7.3	7.4	6.9
	3	7.3	7.5	6.9
	4	7.4	7.6	6.9
8	1	7.4	6.2	7.4
	2	7.4	6.2	7.5
	3	7.4	7.9	7.6
	4	7.4	7.9	7.6
9	1	6.9	9.3	9.2
	2	6.8	9.3	9.2
	3	6.9	9.3	9.2
	4	6.7	9.3	9.2
10	1	7.4	7.1	7.2
	2	7.4	7.3	7.2
	3	7.8	7.5	6.8
	4	7.8	7.7	7.8

TABLA III

## Cloro libre residual de las 120 muestras de las piscinas

Piscina	No. de estación	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 3
1	1	0.183	0	0
	2	0.183	0	0
	3	0.183	0	0
	4	0.183	0	0
2	1	1.639	1.240	0.886
	2	1.639	1.063	1.186
	3	1.926	1.240	1.186
	4	1.926	0	1.186
3	1	2.754	1.063	1.772
	2	2.387	1.740	1.595
	3	2.387	0.709	1.595
	4	2.938	0.709	1.595
4	1	0.177	0	0.537
	2	0.177	0	0.354
	3	0.177	0	0.537
	4	0.177	0	0.354
5	1	1.469	0.886	0
	2	1.836	0.709	0
	3	1.652	0.886	0
	4	1.469	0.709	0.177
6	1	2.027	1.949	2.363
	2	1.071	1.772	2.363
	3	1.559	1.481	2.363
	4	1.871	2.127	2.067
7	1	0	0.590	0
	2	0	1.181	0
	3	0	0.393	0
	4	0	0.590	0
8	1	1.701	0	0
	2	1.701	0	0
	3	1.701	0	0
	4	1.701	0	0
9	1	3.300	0	0
	2	3.700	0	0
	3	3.400	0	0
	4	3.200	0	0
10	1	0	1.191	0
	2	0	0.510	0
	3	0	0.340	0
	4	0	0	0

TABLA IV

\*Concentraciones en mg/l

Pseudomonas aeruginosa de las 120 muestras de las piscinas

Piscina	No. de estación	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 3
1	1	0	2	76
	2	76	12	9
	3	65	1	15
	4	0	1	11
2	1	1	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
3	1	1	0	0
	2	0	0	1
	3	0	0	0
	4	0	0	0
4	1	0	3	2
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
5	1	5	2	5
	2	4	11	3
	3	3	3	0
	4	6	5	0
6	1	0	0	11
	2	4	0	6
	3	0	0	10
	4	0	0	6
7	1	1	5	23
	2	26	0	47
	3	12	3	9
	4	28	0	7
8	1	0	175	13
	2	0	195	13
	3	3	33	12
	4	0	24	13
9	1	0	10	2
	2	0	8	6
	3	0	0	2
	4	0	12	4
10	1	12	1	0
	2	22	4	5
	3	8	20	12
	4	24	53	19

TABLA V

Los datos obtenidos para cada temporada son referentes a cada 100 ml de agua filtrada. Y están tomados como colonias determinadas.

## COLIFORMES TOTALES DE LAS 120 MUESTRAS DE LA PISCINA

Piscina	No. de estación	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 3
1	1	300	4	300
	2	300	17	82
	3	300	14	10
	4	300	25	9
2	1	0	0	36
	2	0	0	20
	3	26	0	10
	4	300	0	16
3	1	0	1	68
	2	0	1	0
	3	0	3	0
	4	0	1	4
4	1	9	0	3
	2	1	0	4
	3	20	3	7
	4	3	0	48
5	1	0	0	1
	2	1	0	0
	3	4	0	0
	4	2	1	0
6	1	0	6	35
	2	0	1	7
	3	0	300	0
	4	0	300	9
7	1	300	2	300
	2	3	11	300
	3	300	5	300
	4	300	0	300
8	1	38	300	300
	2	0	300	300
	3	1	300	300
	4	300	300	300
9	1	0	300	300
	2	0	300	300
	3	0	300	300
	4	0	300	300
10	1	300	1	300
	2	300	0	300
	3	300	0	300
	4	300	0	300

TABLA VI

+ Número de colonias por cada 100 ml.

## COLIFORMES FECALES DE LAS 120 MUESTRAS DE LAS PISCINAS

Piscina	No. de estación	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 3
1	1	11	0	0
	2	20	0	0
	3	9	0	0
	4	4	0	0
2	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
3	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
4	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
5	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
6	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
7	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	4	0	7
	4	2	0	0
8	1	0	10	0
	2	0	7	0
	3	0	21	0
	4	0	29	0
9	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0
10	1	0	0	3
	2	0	0	7
	3	0	0	3
	4	0	0	25

TABLA VII

+ Número de colonias por 100 ml.

PISCINA	PARAMETRO	X	C.V	HOMOGENEIDAD	HETEROGENEIDAD (variabilidad)
3	T	21.66	0.045	+	+
8	T	24.33	0.12		
2	pH	7.54	0.035	+	+
5	pH	6.30	0.171		
6	cl	1.91	0.206	+	+
7	cl	0.23	1.665		
8	CT	228.25	0.570	+	+
6	CT	54.83	3.190		
8	CF	5.583	1.755	+	+
7	CF	1.083	2.062		
5	Ps.a	3.917	0.749	+	+
2	ps.a	0.083	3.481		

TABLA VIII

C.V. coeficiente de variación

En esta tabla puede verse qué piscinas resultaron las más homogéneas o las más heterogéneas por su valor del C.V.

PISCINA	PARAMETRO	X	C.V.	HOMOGENEIDAD	HETEROGENEIDAD (variabilidad)
grupo II	T	34.58	0.125	+	+
grupo I	T	22.11	0.142		
grupo II	pH	7.41	0.043	+	+
grupo I	pH	7.16	0.152		
grupo I	cl	0.885	1.099	+	+
grupo II	cl	0.170	2.135		
grupo II	CT	200.00	0.737	+	+
grupo I	CT	97.44	1.403		
grupo II	CF	3.167	2.275	+	+
grupo I	CF	1.148	3.743		
grupo II	Ps.a	15.0	0.969	+	+
grupo I	Ps.a	9.685	2.87		

TABLA IX

Comparación de C.V del grupo I mayor con el grupo II menor

## VII. DISCUSION DE RESULTADOS

Como ya se mencionó, este estudio se hizo en 10 piscinas de las cuales 9 son propiamente de uso recreativo (grupo I), y una fue la Tina de hidroterapia (grupo II).

### 7.1 Parámetros fisicoquímicos de los grupos I, II

Temperatura del agua de las piscinas.

Grupo I. La temperatura del agua de las piscinas fue variable de piscina a piscina y de día a día de muestreo y aún en la misma piscina, teniéndose valores de 14-29°C. Alcanzándose una temperatura promedio de 22°C. Sin embargo la variación de temperatura en un mismo día en cada una de las albercas fue pequeña o no existió como puede observarse en la tabla II.

Grupo II. La temperatura de las tinas es de 26-40°C con una temperatura promedio de 34.58°C que es la adecuada para la proliferación de microorganismos, como se observa en la tabla II la temperatura fue alta ya que se trata de un ambiente distinto donde la temperatura está regularmente controlada.

Ahora bien, en el caso de las temperaturas al comparar los valores de la media y obtener los coeficientes de variación (C.V) de los grupos I y II pudo observarse que el valor promedio es más alto en la piscina de hidroterapia y su homogeneidad es mayor de acuerdo con el coeficiente de variación obtenido el cual fue de 0.125 (Ver tabla IX).

En cambio en el grupo I formado por las 9 piscinas restantes se pudo observar como se esperaba un promedio de temperatura menor en valor, pero con un coeficiente de variación mayor que nos señala que hay una mayor heterogeneidad es decir presentan mayor variabilidad con respecto al mismo parámetro de temperatura.

## pH del agua de las piscinas

Grupo I. El pH del agua de las piscinas a través del período de muestreo generalmente fue entre 6 y 8 con un promedio de 7.16 y solo algunas muestras rebasaron los límites llegando a tener valores de 3.9 como mínimo y de 9.3 como máximo. Fue notoria la disminución de pH que hubo en las muestras colectadas en la temporada de verano en la piscina 5 pues se detectó un mínimo de 3.9 tal vez debido a las sustancias que se utilizan en el mantenimiento del agua.

De la misma forma también fue notorio el elevado pH detectado en la piscina 9 alcanzando valores de 9.24-9.30 para las temporadas de otoño y verano, se desconoce la razón exacta de ello pero algunos operadores de las albercas agregan al agua carbonato de calcio con lo que hacen más alcalina el agua, otros agregan sustancias como el HCl con las cuales disminuyen el pH se ignora si en este último caso se utiliza con algún criterio para su higienización debido a que no es posible cambiar el agua con frecuente periodicidad, dados los volúmenes que se requieren en cada cambio. Sin embargo este tipo de medidas que se llegan a tomar no son justificables si no se llevan a cabo con los criterios adecuados y debidamente apoyados en pruebas sencillas de laboratorio y con el conocimiento o la debida información del técnico encargado de estas tareas, ya que se pueden causar serias irritaciones en la piel y en las mucosas tabla III.

Grupo II. Debido a que en estas tinas las condiciones son diferentes, el pH se mantuvo en un rango de 7.2-7.8 con un valor promedio de 7.4 a lo largo de las tres temporadas detectándose solo muy ligeras variaciones. Este valor de pH favorece también la sobrevivencia de los microorganismos.

Con respecto a este parámetro puede observarse (Ver tabla IX) que la media geométrica es de un valor más alto en las tinas de hidroterapia y su coeficiente de variación nos indica más homogeneidad en ellas. Por otro lado comparado con el grupo I nos indica que

el valor de la media geométrica es menor pero hay más variabilidad en sus valores de acuerdo con el coeficiente de variación.

#### Concentración de cloro libre residual

Grupo I. La concentración de cloro libre residual en cada una de las piscinas, durante el tiempo de muestreo, fue muy variable, desde 0.0 mg/l hasta 3.7 mg/l con un promedio general de 0.885 mg/l observando que la concentración de cloro libre residual, en las piscinas 1, 5, 4, 7, 8 y 9 generalmente disminuyó a lo largo de las tres temporadas. Esta disminución fue en una proporción variable, lo que hace suponer que dependió de varios factores como son: el pH, la temperatura del agua e intensidad de los rayos solares. En contraste con las piscinas 2, 3 y 6 donde la concentración de cloro residual aumentó en general, pudo deberse a que los operadores suministraron más cloro al agua conforme cambian las estaciones y se van utilizando con mayor frecuencia las piscinas, lo cual resulta fácil cuando las piscinas tienen un sistema automatizado o criterio formado del técnico para adicionar sustancias y recircular agua. Ver la tabla IV de cloro.

Grupo II. Los operadores del mantenimiento de estas tinas informaron que no se agregaba cloro y que el agua se cambiaba semanalmente. Sin embargo, durante la temporada de primavera pudo detectarse cierta cantidad (0.0-1.19) mg/l con un valor promedio de 0.17 mg/l.

En cuanto a este parámetro de cloro libre residual se obtuvo que el valor promedio de la concentración de cloro libre residual para el grupo I fue alto, mientras que el valor del coeficiente de variación fue menor que el obtenido para el grupo II (piscina de hidrotetrapia) por lo que considerando globalmente al grupo I el cloro está más homogéneamente distribuido en estas piscinas.

## 7.2 Análisis de los parámetros bacteriológicos para los grupos I y II.

Número de P. aeruginosa, coliformes totales y coliformes fecales.

En lo que se refiere al número de microorganismos determinados mediante los métodos descritos los resultados en las tablas V, VI, VII indican que en cada una de las piscinas y cada día de muestreo de una misma piscina (es decir considerando los valores globalmente) hubo un número variable de microorganismos.

Los coliformes totales al igual que P. aeruginosa se encontraron en números que no presentaron ningún comportamiento bien determinado por ejemplo los coliformes totales tienen un rango muy amplio que va de 0-300 al igual que P. aeruginosa que va de 0-195.

La variabilidad pudo deberse a los siguientes factores:

- Manejo y/o limpieza de las piscinas y de la periodicidad con que se realizó ésta.
- Número de estos microorganismos que fueron aportados por los nadadores y bañistas que ingresaron a las piscinas.
- Temperatura a que se encontró el agua de las piscinas, ya que hay un intervalo en el cual se ve favorecida la sobrevivencia y la proliferación de estos microorganismos.
- La concentración de cloro libre residual que existió en el agua.
- pH al que se encontró esta agua, pues la mayor actividad bactericida del cloro se encuentra entre 7.2-7.6 ya que a mayor valor disminuye su actividad bactericida (32).

Coliformes fecales.- Se detectó en general un número bajo de estos organismos (0-29) estando ausentes en 97 de las 120 muestras.

Grupo II. Debido a que las condiciones de temperatura y pH fueron las más adecuadas para la proliferación de los microorganismos y,

a que existe una inadecuada o nula cloración de las tinas, el número de microorganismos encontrados fue considerable durante los períodos de muestreo. Alcanzando un rango de 0-300 para coliformes totales con un valor promedio de 200 coliformes de 100 ml. y se detectaron de 9-19 colonias de P. aeruginosa con un valor promedio de 15 colonias por 100 ml. coliformes fecales de 0-9 colonias con un valor promedio de 3 colonias por 100 ml.

En cuanto al valor de sus coeficientes de variación que aparecen en la tabla IX, puede observarse que en el caso de los microorganismos (P. aeruginosa, CT y CF) su valor promedio fue mayor para el grupo II (tinas) presentando mayor homogeneidad que en el grupo I que presenta un valor promedio más bajo con una mayor variabilidad de número en determinadas piscinas.

#### 7.2.1 Relación numérica de coliformes totales y P. aeruginosa.

En este estudio se observaron tres comportamientos diferentes entre estos organismos provocados por las diferencias fisicoquímicas de cada piscina.

-Los datos obtenidos para la piscina No. 6 durante el invierno No. 10 durante primavera y No. 3 en el otoño son casos donde se observó la presencia de P. aeruginosa pero CT, y en las que hubo mayor cantidad de P. aeruginosa que de CT. En todos estos casos se observó que el cloro tenía una concentración aceptable, y el pH era en general ácido lo cual al parecer favoreció la presencia de P. aeruginosa en mayor proporción que CT.

-Por otro lado se observaron los casos de: invierno en la piscina No. 4; primavera en la piscina No. 6; verano e invierno en la piscina No. 3; otoño e invierno en la piscina No. 2 y de verano y otoño en la piscina No. 9; la característica aquí observada fue que en general la concentración de cloro fue aceptable

(a excepción de la piscina 4 y 9 donde dicha concentración fue baja) se encontró la presencia en mayor proporción de CT que de P. aeruginosa cuando el pH tendía hacia valores básicos.

-También se observaron los casos en que las piscinas estaban contaminadas por la presencia de ambos microorganismos lo cual ocurrió en la piscina 1, 7, 8 y 10 en sus tres temporadas debido a que las condiciones fisicoquímicas no fueron las adecuadas.

-Ahora bien las piscinas más contaminadas por la bacteria P. aeruginosa fueron la No. 1 durante las temporadas de otoño e invierno. Con un máximo de 76 colonias. La piscina No. 8 durante el verano con 195 colonias, la piscina No. 7 durante las tres temporadas y la No. 10 (tinas) durante las tres temporadas.

-Las piscinas más contaminadas (en cuanto a número) por CT fueron la No. 1 en otoño y verano, la No. 2 en otoño, la No. 7 durante el invierno y verano, y las 10, 8 y 9 en verano y otoño.

-Las piscinas más contaminadas por la presencia de ambos microorganismos ya que en ellas se detectó el número máximo (195) tanto de P. aeruginosa como de CT (300) y fueron las 1, 7, 10 y la 8 en por lo menos dos de sus tres temporadas.

Se considera de importancia el haber determinado la presencia de la bacteria P. aeruginosa en 8 de las 10 piscinas estudiadas debido a que su existencia revela un gran riesgo para la salud de los usuarios ya que pone de manifiesto lo mencionado por Favero y col. (13) con respecto a que 'El aislamiento de Pseudomonas aeruginosa en 100 ml de agua o menos será un mandato de clausura de la piscina hasta que en ellas se puedan mantener las condiciones óptimas para nadar'.

Además se hace notar que en las albercas estudiadas no existe realmente ningún control estricto que esté encaminado a prevenir la propagación de las enfermedades infecciosas, y ni la limpieza, ni la desinfección se llevan a cabo con la periodicidad y supervisión que se requiere, pues en un buen número de piscinas (6) se encontraron concentraciones de cloro libre residual bajas. Por lo que su efecto desinfectante es mínimo y permite la sobrevivencia y la proliferación de los microorganismos, mientras que por otro lado la mayoría de los operarios, con el propósito de preservar la limpieza de las piscinas, agregan al agua ya sea dosis excesivas de cloro u otras sustancias inhibitorias que pueden provocar irritaciones de la piel o de las mucosas, venciendo así la primera línea de las barreras naturales con que cuenta el cuerpo humano para su defensa (25), lo anterior nos lleva a pensar que en realidad no es nada difícil que en un momento dado se presente un problema serio de salud general entre los nadadores y/o usuarios. El riesgo se incrementaría en niños, jóvenes y personas que se inician, porque son precisamente ellos quienes están mayor tiempo en contacto con el agua de las piscinas.

En cuanto al establecimiento de una evidencia epidemiológica de la relación significativa entre la calidad del agua y la incidencia de enfermedades, recaería en la medida en que exista un esfuerzo por parte de las autoridades de salud para recavar esta información. Ya que dichas acciones permitirían el poder formar las bases para una acción de regulación oficial más adecuada a las necesidades y condiciones reales en nuestro país, que pudieran realmente tener desde beneficio social hasta efectos económicos.

### 7.3 Análisis de correlación

#### 1. Correlación por par de variables

En las tablas X-A, X-B se muestran los resultados obtenidos para los coeficientes de correlación simple.

#### Coliformes totales y P. aeruginosa.

Esta relación como puede observarse es directamente proporcional, es decir cuando el número de P. aeruginosa se incrementa, se incrementa también el número de coliformes totales. Aquí los dos grupos de bacterias sufren variaciones en el mismo sentido, puede decirse que varían conjuntamente.

Pudo observarse que en algunos casos aislados no se observó la variación conjunta como un patrón de correlación siempre definido de la misma forma, ya que en algunos casos dominaba la presencia de alguno de ellos en cuanto a número, o bien alguno de los dos grupos estaba ausente.

#### P. aeruginosa y cloro

Se observa que de acuerdo con el signo del coeficiente de correlación, la relación es inversamente proporcional ya que cuando la concentración de cloro libre residual es alta el número de UFC (unidades formadoras de cloro) disminuye, en cambio cuando la concentración de cloro libre residual disminuye el número de UFC aumenta.

Lo anterior apoya que una deficiente desinfección permite la sobrevivencia de los microorganismos, además de ponerse de manifiesto la resistencia de esta bacteria a altas concentraciones de cloro bajo ciertas circunstancias, como sucede cuando forma colonias mucilaginosas en áreas en donde no hay mucha circulación del agua en las piscinas (Seyfried et al 1980; Estérman, 1984).

## MATRIZ DE CORRELACION SIMPLE PARA 120 DATOS

	<u>P. aeruginosa</u>	Coliformes Totales	Cloro	pH	T°
<u>P. aeruginosa</u>		0.38*	-0.27*	N.S. -0.04	N.S. 0.14
Colif. totales			-0.47*	0.36*	N.G. 0.14
Cloro				N.S. 0.030	-.5*
pH					N.S. -0.07
T°					

TABLA X-A

## MATRIZ DE CORRELACION SIMPLE PARA 108 DATOS

	<u>P. aeruginosa</u>	Coliformes Totales	Cloro	pH	T°
<u>P. aeruginosa</u>		0.4116*	-0.262*	N.S. -0.059	N.S. 0.17
Colif. Totales			-0.44*	0.38 *	N.S. 0.0019
Cloro				-0.295*	.248*
pH					N.S. -0.19
T°					

TABLA X-B

En las tablas X-A y B se observan los valores obtenidos en correlación y su significancia mediante la prueba de hipótesis.

\* Correlaciones significativas ( $P < .05$ )  
 N.S. Correlaciones no significativas ( $P \geq .05$ )

### P. aeruginosa y pH

Aún cuando el valor obtenido para  $r$ , al compararlo con el de tablas no se encontró significativo. Se observó en este caso que la relación es inversamente proporcional por lo que cuando el valor del pH se incrementa (es decir tiende a ser básico) el número de P. aeruginosa es bajo y cuando el pH disminuye (tiende a ser ácido) el número de microorganismos es mayor. Lo que puede observarse en las piscinas Nos. 5 y 9 de las tablas III y V de resultados.

### P. aeruginosa y temperatura

Esta relación es de tipo directamente proporcional y su valor numérico no es significativo al compararse con el de tablas. Esta correlación no pudo determinarse y por lo tanto puede decirse que son parámetros independientes o que por lo menos las temperaturas no fueron lo suficientemente altas como para permitir la existencia de una asociación significativa.

### Coliformes totales y cloro

Aquí se obtiene una relación inversamente proporcional entre los coliformes totales y el cloro libre residual con los valores numéricos significativos. El sentido de este coeficiente de correlación se explica debido a que cuando la concentración de cloro se incrementa el número de microorganismos disminuye y cuando la concentración de cloro disminuye el número de UFC de coliformes totales aumenta.

Y de la misma manera que ocurrió con P. aeruginosa también hubo casos en los cuales se presentaron los coliformes aún con concentraciones de cloro adecuadas.

### Coliformes totales y pH

Cuando se trata del pH la asociación es directamente proporcional con un valor numérico significativo el cual quedaría explicado por-

que cuando el pH aumenta, también se incrementa el número de microorganismos presentes y si el pH disminuye es decir tiende hacia los valores ácidos el número de coliformes totales es menor. En contraposición a lo que ocurre con P. aeruginosa.

#### Coliformes totales y temperatura

La relación es directamente proporcional por el signo, pero con un valor numérico no significativo.

Podría suponerse que cuando la temperatura se incrementa, aumenta también el número de microorganismos y si la temperatura disminuye el número de UFC disminuye pero esto no se observó debido a que las temperaturas no varían en general drásticamente.

#### Cloro y pH

En la matriz de correlación simple puede observarse que para 120 datos el valor de  $r$  no es significativo. Es decir que entre cloro y pH no hay asociación aparentemente, lo que seguramente causó la distorsión de este resultado es el hecho de que las Tinajas de Hidroterapia no se cloran.

En cambio en la tabla X-B podemos observar que la relación fue inversamente proporcional. Lo cual se explica porque se ha visto que cuando el pH tiene valores bajos, tendiendo hacia lo ácido con valores de 5 por ejemplo el cloro es más efectivo ya que se encuentra como HOCl (ácido hipocloroso) en cambio cuando el pH tiende hacia lo básico con valores arriba de 7.8 el cloro disminuye su efectividad porque se encuentra como ión OCl<sup>-</sup> ya no como HOCl.

El valor numérico indica que la relación es significativa comparada con la de tablas.

### Temperatura y cloro

La relación es inversamente proporcional para 120 datos y directamente proporcional para 108 datos lo cual muestra que a temperaturas altas (40°C) el cloro se difunde más rápidamente (CIECCA, 1979).

### Temperatura y pH

La relación es inversamente proporcional lo cual permitiría suponer que a medida que la temperatura aumenta los valores de pH disminuyen (Margalef, R. 1977), pero tomando en cuenta los bajos niveles de asociación encontrados en nuestro estudio lo anterior no se determinó, posiblemente porque los ámbitos de variación en la relación T° y pH no son tan marcados.

En una vista general (tabla X-A, X-B) se observa que los coeficientes de correlación tienen el mismo sentido para 108 y para 120 datos, pero el valor numérico es ligeramente mayor para el grupo de los 108 datos, por lo tanto para este grupo se obtuvo una mayor asociación.

## 2. Correlaciones parciales

- a) Correlaciones parciales *P. aeruginosa* con los factores Cl-pH, T-pH y Cl-T para 108 y 120 datos.

### P. aeruginosa con Cl-pH

Se observa que el Cl-pH se correlacionan con P. aeruginosa de manera significativa, obsérvese que la temperatura no participa en la correlación. Por lo tanto existe asociación entre los parámetros fisiocquímicos con la presencia de los microorganismos.

A diferencia de lo que puede observarse en las tablas X-A y X-B de asociaciones simples donde P. aeruginosa y pH no se relacionan significativamente.

P. aeruginosa con T-pH

En la correlación de T-pH con P. aeruginosa existe un valor no significativo para 120 datos pero si es significativo para 108 datos (aun cuando este valor de asociación es bajo). Lo cual permite corroborar que las temperaturas extremas que se detectaron en las Tinas de Hidroterapia sí fueron un factor de variabilidad en la obtención de los coeficientes de correlación parcial. Pero que la interacción de estos factores fisicoquímicos bajo las condiciones que se encontraron en las piscinas estudiadas no estuvieron asociados con la presencia de P. aeruginosa.

Cabe mencionar que en las correlaciones simples de P. aeruginosa con pH y de P. aeruginosa con temperatura no fueron significativas.

P. aeruginosa con Cl-T

La correlación es de un valor significativo, es decir que los factores fisicoquímicos Cl-T si se asocian con P. aeruginosa y su valor de asociación es ligeramente menor que la de Cl-pH.

Cabe mencionar que P. aeruginosa se asocia significativamente con cloro mientras que con el factor temperatura no hay asociación significativa.

MATRIZ DE CORRELACION PARCIAL PARA 120 DATOS

	Cl pH	T°pH	Cl T°
<u>P. aeruginosa</u>	0.316*	0.14 <sup>N.S.</sup>	0.30 *
Colif. Totales	0.51*	0.39	.539*

TABLA XI-A

## MATRIZ DE CORRELACION PARCIAL PARA 108 DATOS

	Cl pH	T° pH	Cl T°
<u>P. aerugi-</u> <u>nosa</u>	0.368*	0.17 *	0.345*
Colif. Totales	0.50*	0.39 *	0.512*

TABLA XI-B

La tabla XI-A y B muestran los valores obtenidos en las correlaciones parciales y su significancia mediante la prueba de hipótesis.

\* Valores de correlación significativos ( $P < .05$ )

NS Valores de correlación no significativos ( $P \geq .05$ )

Tomando en cuenta el valor de las tres correlaciones parciales anteriores se concluye que efectivamente el pH tiene un papel importante por su acción sobre las concentraciones de cloro, particularmente cuando los valores de pH son extremos es decir tienden hacia lo ácido o hacia lo básico (ver tablas XII-A y B).

Este punto apoya algunos de los casos particulares de piscinas en los que se observa también el peso del factor pH-Cl bajo determinadas condiciones.

De manera general para los 108 datos la correlación fue más alta que cuando se trató de 120 datos, y el factor que participa en mayor proporción a la correlación fue la interacción del Cl-pH. Esta mejor asociación se logró al excluir las Tinas de Hidroterapia.

- b) Correlaciones parciales de coliformes totales con los factores Cl-pH, T-pH y Cl-T para 108 y 120 datos.

#### Coliformes totales con Cl-pH

La correlación fue de un valor significativo, por lo tanto la relación de estos factores fisicoquímicos, sí está asociada con la presencia de coliformes en el agua de las piscinas. Además para 120 datos la asociación es de un valor mayor que para los 108 datos.

Observando las correlaciones simples (tablas X-A y X-B) se tiene que coliformes totales y cloro al igual que coliformes totales y pH si se encuentran asociados.

#### Coliformes totales con T-pH

La asociación es significativa con un valor significativo tanto para 108 como para 120 datos.

Sin embargo las correlaciones simples entre coliformes totales y temperatura y entre pH y temperatura no fueron significativas en cambio coliformes totales con pH si fue significativa (tablas X-A y B).

#### Coliformes totales con Cl-T

La asociación si es significativa, siendo la que presenta un mayor grado de asociación para 120 datos esto pudo deberse a las altas temperatuaras de las Tinas de Hidroterapia (de hasta 40°C) las cuales pudieron dar lugar a la variabilidad marcada que se presentó aún cuando no existe realmente mucha diferencia entre uno y otro resultado final de la correlación.

Para las correlaciones parciales con tres variables tenemos que, la mayor asociación se presentó para 120 datos y no para 108 datos.

Al comparar los valores de correlación globales para los dos grupos de bacterias se obtuvo que los coeficientes de correlación son mejor

res para coliformes totales que para P. aeruginosa.

Sin embargo, sería conveniente un análisis más detallado que permitiera corroborar con más exactitud el peso del Cl-pH sobre la presencia de P. aeruginosa y que permitiera probar también con mayor certeza el peso del Cl-T en la presencia de los coliformes totales.

### 3. Correlaciones múltiples

#### a) Correlación de P. aeruginosa con los factores Cl, T°, pH.

En las tablas XII-A y XII-B se presentan los valores de los coeficientes de correlación los cuales fueron más altos para el grupo de las 108 muestras que para las 120 muestras totales, que es lo esperado debido a que en el caso de las 108 muestras se han descartado a las Tinas de Hidroterapia que tienen condiciones muy especiales y que dan lugar a variaciones en los análisis.

#### b) Correlación de coliformes totales con los factores Cl, T°, pH.

La misma tabla XII-A y XII-B permite comparar el valor de los coeficientes de correlación múltiple de coliformes totales con los factores Cl, pH, y T° obtenido para las 108 muestras y para las 120 muestras totales en donde se obtuvo un valor mayor de 0.54 para las 120 muestras totales mientras que para 108 fue de 0.528.

La variación de estos últimos valores de correlación múltiple se debe probablemente a que en el caso de las 120 muestras se incluye a las Tinas de Hidroterapia, las cuales tienen temperaturas altas debido a su particular uso. Sin embargo podemos considerar que la temperatura es un factor principal pero no de peso real, dada la diferencia en proporciones en que cada uno de los factores contribuye para dar el coeficiente de correlación múltiple.

Ahora bien al comparar los valores globales de las correlaciones múltiples para P. aeruginosa y para coliformes totales, tenemos los mayores valores para coliformes totales y con base a ello podemos decir que la asociación de los parámetros fisicoquímicos con los coliformes totales es mejor que la observada para P. aeruginosa.

MATRIZ DE CORRELACION MULTIPLE PARA 120 DATOS

	Cl T° pH
<u>P. aeruginosa</u>	0.32580*
Coliformes totales	0.54112*

TABLA XII - A

MATRIZ DE CORRELACION MULTIPLE PARA 108 DATOS

	Cl T° pH
<u>P. aeruginosa</u>	0.37367*
Coliformes totales	0.52826*

TABLA XII - B

Las tablas XII-A y B muestran los valores de correlación múltiple y su significancia mediante la prueba de hipótesis.

\* valores de correlación significativos ( $P < .05$ )

Sin embargo en el caso particular de P. aeruginosa debe considerarse que la abundancia en cuanto a número no es un factor determinante de su importancia como indicador de la calidad del agua que el solo hecho de encontrar un microorganismo en el análisis es importante por ser este un organismo patógeno y por lo que se considera de importancia su detección en piscinas y la existencia de asociación con los parámetros fisicoquímicos que se estudiaron.

#### 7.4 Eficiencia del medio mPa-C

Dentro de los propósitos para los cuales se realizó este estudio también está el de la importancia que tuvieron tanto la eficiencia como la sensibilidad de los métodos empleados para determinar la presencia de microorganismos en las piscinas. Así pudo observarse que Pseudomonas aeruginosa estuvo presente en la mayoría de las piscinas. Rosell, 1985 determina que el método de Filtro de membrana empleado para aislar a este microorganismo tuvo una buena eficiencia, lo cual aunado al uso de un medio de cultivo sólido altamente selectivo (mpa-C), incubado a una temperatura de 41.5°C aumentó la eficiencia de recuperación de P. aeruginosa y permitió una buena definición colonial de la misma, y la inhibición del crecimiento de otros microorganismos contaminantes teniendo además la ventaja de permitir la lectura a las 24 horas de incubación. Comprobándose su especificidad, selectividad, eficiencia y precisión cuando se aplica a análisis de agua de piscina.

La técnica de filtro de membrana y los medios utilizados para coliformes totales M-Endo y para coliformes fecales M/FC son los normalizados y estandarizados (Standard Methods, 1980) (Ver anexo).

### VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En el presente estudio se muestra que bajo condiciones de limpieza y desinfección adecuadas (cl, t, pH) y constantes el riesgo de enfermedades infecciosas por contacto directo vía agua puede disminuir en medida considerable.

Puede observarse también que la mayor incidencia por contaminación con bacterias patógenas se aislaron de piscinas con las siguientes características

- Cuando el pH fue ácido y el cloro alto se detectó la presencia de Pseudomonas aeruginosa pero no de coliformes totales o en menor cantidad que Pseudomonas aeruginosa casos concretos pudieron observarse en la piscina 6,3 y 5.
- Cuando el pH es básico (7.9-9.3) y el cloro es bajo o nulo se presentan P. aeruginosa y CT (pero se observa cierta predominancia de la presencia de CT) por ejemplo piscina 4, 9.
- Cuando el cloro es alto y el pH tiende a básico aunque no tan extremo como en el caso anterior se encuentran tanto P. aeruginosa como CT.
- Cuando el pH está en un rango de (6.9-7.8) el cloro es bajo se presentan ambos grupos de microorganismos.

Los resultados que se presentan aquí son los encontrados durante días de uso normal mostrando la variabilidad tanto de parámetros fisicoquímicos como bacteriológicos, por lo que el pH y el cloro son los parámetros que en el presente estudio tuvieron una relación más evidente.

Lo cual corrobora lo mencionado por Paul, A. 1972 de que la contaminación en piscinas está relacionada con ciertos aspectos de uso y operación.

Este estudio demuestra la existencia y el grado de asociación de P. aeruginosa con coliformes totales así como con los parámetros fisicoquímicos estudiados.

Las asociaciones que se determinaron en el caso de estas bacterias y en particular de P. aeruginosa son de importancia por el riesgo a la salud que su sola presencia representa y además poniendo de manifiesto que es necesaria la incorporación de una bacteria indicadora más asociada con las enfermedades adquiridas en piscinas (esta bacteria además de ser un patógeno, presenta resistencia a la cloración cuando ésta no es eficiente, o cuando el pH es demasiado ácido), las cuales son causadas muchas veces por ciertos aspectos en uso y operación (Paul, A. 1972).

Con respecto a su uso y operación se considera que realmente no existen las medidas preventivas adecuadas para evitar la propagación de las enfermedades infecciosas por parte de los administradores de las piscinas, ni por parte de los usuarios de las mismas.

La limpieza y desinfección de las piscinas (higienización) no se lleva a cabo en forma adecuada ni con la periodicidad que debía hacerse.

El nadar en el agua de las piscinas que se sometieron a estudio, se considera que si representa un riesgo para la salud del individuo, siendo mayor este riesgo, para las personas que son aficionadas a la natación.

La evidencia epidemiológica de la relación significativa entre la determinación de los microorganismos y la incidencia de las enfermedades podrá establecerse solamente cuando las autoridades de salud se propagan la recopilación de esta información.

Las autoridades competentes deberían vigilar la construcción y dar autorización a un técnico especializado para el mantenimiento

adecuado y responsable a las piscinas destinadas a uso público. Para exigir las medidas mínimas de seguridad para la conservación de la salud del usuario, como son:

- Que se exija al usuario tomar una ducha con agua y jabón antes de hacer uso de la piscina. Evitando el uso de la piscina a los bañistas que tengan heridas abiertas, o llagas infectadas o quemaduras, o enfermedades de la piel.
- Que la zona que rodea a la piscina sea saneada apropiadamente, prohibiendo a los usuarios ingerir alimentos cerca de la piscina y que de preferencia sea cercada para evitar precisamente la agrupación de los bañistas alrededor de la misma.
- Que el técnico especializado realice muestreos periódicos y rutinarios del agua de las piscinas para llevar a cabo una evaluación tanto bacteriológica como fisicoquímica de la misma ya que estos últimos brindan información sobre aguas contaminadas pero no son lo bastante sensibles y específicos como los bacteriológicos por lo que deben hacerse ambos cuando se hace una buena inspección sanitaria.
- Que el suministro de agua, con la cual se llene y regule el nivel de agua de la piscina, sea de buena calidad, evitando que exista conexión directa entre el sistema de toma de agua y el sistema de agua de la piscina.
- Que la construcción y la ubicación de las piscinas se haga adecuadamente de tal manera que se reduzca en lo posible la contaminación del aire, el polvo, etc.
- Que la capacidad de la piscina sea apropiada tomándose en cuenta siempre el número esperado de los bañistas y nadadores.

Este estudio permitió obtener conclusiones importantes sin embargo se sugiere la realización de estudios posteriores que permitan además de conocer la intensidad de asociación existente, obtener información suficiente para hacer predicciones para la obtención de un modelo que una vez desarrollado pudiera aplicarse rutinariamente en programas de inspección de piscinas.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. APHA, AWWA and WPCF. 1980. Standard Methods for the Examination of Water Water and Wastewater. 15a. Ed. New York pp 780, 781, 787, 790, 871-875.
2. Bailey, W. R. and Scott, E. C. 1974. Diagnosing Microbiology C.V. Mosby company, Saint Louis, pp. 162-165.
3. Brodsky, H. M. and Ciebin, W. B. 1978. Improved Medium for Recovery and Enumeration of Pseudomonas aeruginosa from Water Using Membrane Filters Appl. Environ, Microbiol. 36 (1): 36-42.
4. Brook, T. D. 1978. Biología de los Microorganismos. Omega. Barcelona, pp. 143-145, 594-599.
5. Carson, L. A. et al 1975. Factors Influencing Detection and Enumeration of Pseudomonas aeruginosa by Most-Probable-Number and Membrane Filtration Techniques. Appl. Microbiol. 30(6); 935-942.
6. CIECCA. 1985. Manual de Microbiología de agua. SARH. México 303 p.
7. Costerton, W. J. 1979 Pseudomonas aeruginosa in nature and diseases it causes, and their treatment. D. Sabath, Hans Huber publishers, Bern Stuttgart Vienna pp. 15-25.
8. Daguét, G., et al 1978. Técnicas de Bacteriología L. Aerobios, JIMS Barcelona 333 p.
9. Dutka, B. J. and Kwan, K. K. 1977. Confirmation of the single-step Membrane Filtration Procedure for Estimation Pseudomonas aeruginosa Densities in Water. Appl. Environ. Microbiol. 33 (2) 240-245.
10. EPA. 1974. Current Practices in Water Microbiology. USA 250 p.

11. Esterman, A., et al. 1984. Determinantes of the Microbiological Characteristics of the South Australian Swimming Pools, Appl. Environ, Microbiol. 325-328.
12. Favero, M. S. and Drake, C.H., 1966. Comparative Study of Microbial Flora of Iodinated and Chlorinated Pools, Public Health rept. U.S. 79; 251-257.
13. Favero, M. S., et al 1964. Use de Staphylococcy as indicators of Swimming pollution. Public Health Rept. U.S.79: 61-70.
14. Guilles, R. R., and Dodds, T. C. 1973. Bacteriology Illustrated a Th ed., Churchill Livingstone, London, p. 106-108.
15. Guinea, J., et al. 1979. Análisis microbiológico de aguas. 1a. Ed. Omega Barcelona pp. 30-34.
16. Hoadley W. A., et al. 1975. Preliminary Studies of Fluorescent Pseudomonas capable of Growth at 41°C Swimming pool water. Appl. Microbiol. 29 (4); 527-531.
17. James Evison. 1979. Biological Indicators of water quality john Wiley Sons U.S. pp. 18-23.
18. King Charles (EDS). 1974. Organisms and Biological Communities as Indicators of Environmental quality-a symposium. USA.
19. Manual de Bacteriología Médica. 1983. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN.
20. Martins, M. T. et al. 1982. Comparasion of Methods for Pseudomonas aeruginosa Recoveries from water. Environmental Technology letters. Vol. 3. pp. 405-410 Sao Paulo SP. Brasil.
21. Merchant, I. A., and Parker, R. A., 1961. Veterinary Bacteriology and virology. Iowa State University Press. USA. pp. 313-317.
22. Mitchell, R. 1978. Water Pollution Microbiology. Vol. I. John Wiley and Sons, US. pp 333-345.

23. Mitchell, R. 1978. Water Pollution Microbiology, Vol. 2., John Wiley and Sons, US pp. 243-251.
24. Myrvi, Q. N., and Pearsall, N. M. 1977. Bacteriología y Micología Médicas Interamericana, Méx. p. 270-276.
25. Pelczar, J. M. 1980. Microbiología. Mc Graw Hill. pp. 510-511.
26. Robinton, E. D., et al. 1957. A study of bacterial flora in Swimming pool water treated with high-free Residual Chlorine. Amer J. Public Health 47:1101-1109.
27. Robinton, e.D., et al. 1966. Quantitative Appraisal of Microbial Pollution of water by Swimmers. A preliminary Report. J. Hyg. Cambridge. 64:489-499.
28. Rodier, J. 1981. Análisis de las aguas. Omega. Barcelona p.747-753.
29. Rosell, V. A. 1985. Determinación cuantitativa de Pseudomonas aeruginosa en aguas de piscina, como posible indicador de la calidad bacteriológica de este tipo de aguas. ENEP Iztacala UNAM.
30. Scaglio, M. E., et al. 1983. Indagine bacteriologica E chimica sulle acque di piscina. I. Igiene Moderna. 80, 507-521.
31. Seyfried, P. L. et al. 1984. Otitis Externa Infections related to Pseudomonas aeruginosa Levels in five Ontario Lakes. Can. J. Health 75:83-91.
32. Seyfried, P. L. et al. 1980. Persistence de Pseudomonas aeruginosa in clorinated swimming pools. Can. J. Microbiol. 26:350-355.
33. Seyfried. P. L. et al 1985. A prospective study of swimming-related illness II. Morbidity and the microbiological quality of water. American Journal of Public Health 75:1071-1075.
34. Seyfried, P. L. et al. 1985. A prospective study-related illness I Swimming -associated Health risk.

35. Sokal, R. and Rohlf F. 1979. Biometria. ed Blume pp. 830.
36. Starr, P. L. et al. 1981. The Prokaryotes. Springers-Verlang USA. Vol. 2
37. Topley, W. W., 1946. Bacteriología e inmunidad. 2a. Editorial Nacional, S. A. México pp. 375-381.
38. Uno más uno. 1982. Contaminadas las albercas del Distrito Federal. Un serio problema para los usuarios. pp. Rkvista mensual México.
39. Vasconcelos, G., and N. C. Anthony. 1985. Microbiological quality of recreational waters in the Pacific Northwest Journal WPCF. Vol. 57(5).
40. Wayne, W. Daniel. 1979. Bioestadística. Ed. Limusa, pp. 485.
41. Weldeberg, S. E. 1963. Paramedical Microbiology Reinhold Publishing Corporation, New York, pp. 322-323.
42. Wheeler, F. D.W. et al. 1980. Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli in sewage and Fresh water. Water Research 14:713-721.
43. CIECCA. 1979. Manual plantas de tratamiento para aguas residuales. SARH. México. Vol. III pp. 605-638.
44. Margalef, R. 1977. Ecología. Ed. Omega. pp. 50-52, 119-121.
45. Paul, A. R. et al. 1972. An Environmental Model for Swimming Pool Bacteriology, AJPB. Vol. 62 (6) pp. 770-772.

A N E X O1. MEDIOSMedios mPaC modificado para Pseudomonas aeruginosa

	g/lt
ξ Lisina HCl	5.0
Cloruro de sodio	5.0
Extracto de levadura	2.0
Xilosa	1.25
Sacarosa	1.25
Lactosa	1.25
Rojo de fenol	0.08
Citrato de amonio férrico	0.8
Tiosulfato de sodio	5.0
Agar	12.0
Agua destilada	1000.0 ml
Sulfato de magnesio	1.5

## Antibióticos

Acido nalídixico	0.037
Kanamicina	0.0085

Llevar a ebullición agitando constantemente, dejar enfriar ligeramente el medio a 70-80°C y ajustar el pH a 7.5-7.8, esterilizar inmediatamente durante 10 minutos a 15 lb de presión. Enfriar a 55-60°C, agregar los antibióticos.

Incubación a 41.5°C por 24 horas.

## Medio M-Endo para coliformes totales

Triptona o polipeptona	10.0 g
Tiopeptona	5.0 g
Casitona o tripticasa	5.0 g
Extracto de levadura	1.5 g
lactosa	12.5 g
NaCl	5.0 g
$K_2HPO_4$	4.375 g
$KH_2PO_4$	1.375 g
Lauril sulfato de sodio	0.050 g
Dexoxicolato de sodio	0.10 g
Sulfito de sodio	2.10 g
Fucsina básica	1.05 g

Rehidratar en 1 litro de agua destilada que contenga 20 ml de alcohol al 95%. Calentar a ebullición y retirarlo inmediatamente del calor.

Enfriar a temperatura menor a 45°C. No esterilizar en autoclave. El pH final debe ser de 7.1 a 7.3. Conservar el medio en la oscuridad entre 2 y 10°C, descartarlo después de 96 horas.

Este medio puede hacerse sólido agregando 1.2 a 1.5% de agar.

## Medio M-FC para coliformes fecales

Triptosa	10.0 g
Proteasa, peptona o polipeptona	5.0 g
Extracto de levadura	3.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Lactosa	12.5 g
Sales biliares	1.5 g
Azul de anilina	0.1 g
Agua destilada	1 l

Rehidratar en agua destilada que contenga 10 ml de ácido rosólico al 1% en NaOH 0.2N. Calentar a ebullición y enfriar a temperatura inferior a 45°C. No esterilizar en autoclave. El pH final debe ser de 7.4. El medio debe conservarse de 2 a 10°C, su tiempo de duración es de 96 horas como máximo.

#### Medio base de agar cetrimida

Peptona de gelatina	20.0 g
Cloruro de magnesio	1.4 g
Sulfato de potasio	10.0 g
Cetrimida	0.3 g
Agar-agar	13.6 g
Agua destilada	1000.0 ml

Rehidratar 45.3 g. del medio de cultivo en un litro de agua destilada, agregar 10 ml de glicerol y remojar durante 10 minutos, el pH final debe ser de 7.2.

Calentar agitando hasta ebullición para disolver el medio y se esteriliza a 15 lb de presión, durante 15 minutos.

#### Acetamida

Acetamida	10.0 g
Cloruro sódico	5.0 g
Fosfato dipotásico anhidro	1.39 g
Sulfato magnésico ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.5 g
Fosfato monopotásico anhidro	0.73 g
Rojo de fenol	0.012 g
Agua destilada hasta enrase a	1000.0 ml

Disolver los componentes. Ajustar pH 6.9-7.2 antes de esterilización. Distribuir en tubos de 160 x 16 mm. a razón de 8 a 10 ml por tubo. Esterilizar en autoclave a 15 lb durante 20 minutos.

## Gelatina nutritiva

Peptona de gelatina	5.0 g
Extracto de carne de res	3.0 g
Gelatina	120.0 g

Rehidratar 128 gramos del medio en un litro de agua destilada disolverlo y distribuirlo en tubos.

Esterilizarlo a 15 lb de presión por 15 minutos. El pH final es de 6.8.

## 2. REACTIVOS

### Prueba de oxidasa

1. Reactivo para la prueba de oxidasa (reactivo de Kovacs). Diclohidrato de tetrametil -p- fenilendiamina al 1%.

Se disuelve 1 gramo del reactivo deseado en un poco menos de 100 ml de agua destilada.

2. Se calienta suavemente hasta su disolución.
3. Se pasa a un frasco volumétrico y se agrega un disolvente adecuado.
4. Se deja reposar 15 minutos antes de su empleo.
5. Se guarda en un frasco de vidrio de color ambar.

La reacción ocurre en 10-15 seg. Colocándose de 2-3 gotas de reactivo en el tubo o colonia a que se ha de hacer la prueba. Da un vire a color púrpura negrusco.

### Prueba de catalasa

#### Reactivo

Peróxido de hidrógeno 30% (superoxal)

1. La conservación del reactivo es en un frasco color ambar.
2. Se mantiene constantemente en refrigeración.

#### Técnica

Con una aguja de inoculación se recoge el centro de una colonia de 24 hrs. se coloca en un portaobjetos de vidrio. Se le agrega una gota de  $H_2O_2$  al 30% sobre los microorganismos del portaobjetos. Se observa la inmediata formación de burbujas (liberación de gas).

3. DETERMINACION DE CLORO LIBRE RESIDUAL

## Método yodométrico

En el método yodométrico para la determinación de altas concentraciones (2 mg/l como c/2) de ácido hipocloroso (HOCl) la reacción del cloro y las cloraminas con el ión yoduro ( $I^-$ ) en la solución ácida desprende yodo ( $I_2$ ) que se titula con tiosulfato de sodio.

## Procedimiento

1. A un matraz erlenmeyer de 1000 ml agréguese 500 ml de muestra.
2. Agregar 5 ml de ácido acético glacial.
3. Y aproximadamente 1 g. de KI
4. Titular de inmediato con solución 0.025 N de  $Na_2S_2O_3$  agregando almidón como indicador para la determinación del punto final (titular evitando la luz directa del sol).
5. Hacer una titulación de blanco o testigo con 500 ml de agua destilada 5 ml de ácido acético glacial y 1 g de KI.

Cálculo: Para determinar el cloro residual disponible total

$$\text{mg/l de Cl} = \frac{\text{mg gastados de tiosulfato} \times \text{normalidad de tiosulfato} \times 35,450}{\text{Volumen de la muestra}}$$

#### 4. SOLUCION AMORTIGUADORA

##### a) Solución madre de fosfatos

Disolver 34 g de fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en 500 ml de agua destilada, ajustar el pH a 7.2 con NaOH 1 N y diluir a 1 litro de agua destilada.

##### b) Solución amortiguadora

Agregar 1.25 ml de la solución madre de fosfato y 5 ml de sulfato de magnesio ( $50 \text{ g MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}/1$ ) a un litro de agua destilada y esterilizar 15 minutos.