

Calidad microbiológica y patotipos diarreogénicos de *Escherichia coli* en agua superficial de arroyos afluentes a la Bahía de Asunción – Paraguay

Martínez-Pavetti A.¹, Rojas M.N.¹, Rodríguez F.¹, Galeano M.E.¹, Martínez M.¹, Franco L.X.¹, López T.², Galeano E.², Guillén R.¹

ampave@hotmail.com, rnguillenf@gmail.com.

¹Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción

²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción

Programa de incentivos para la formación de docentes – investigadores – Convocatoria 2015

INTRODUCCIÓN

Planteo de la generalidad del problema, la hipótesis y los objetivos

Escherichia coli es un bacilo gram-negativo presente en la flora intestinal normal de las personas. Sin embargo, ciertas cepas pueden causar enfermedad diarreaica, y son denominadas *E. coli* diarreogénicas (DEC). Las DEC incluyen a los patotipos de *E. coli* enterotoxigénicas (ETEC), enteropatogénicas (EPEC), enteroinvasivas (EIEC), enteroagregativas (EAEC), y productoras de toxina Shiga (STEC)^(1,2). El estudio de los patotipos de *E. coli* y el nivel de contaminantes microbiológicos presentes en aguas superficiales brinda indicadores de riesgo a los que se encuentran expuestos de forma directa los habitantes de las zonas circundantes y la población que recibe agua para consumo a partir de dichas fuentes. Los objetivos de este trabajo fueron: Analizar parámetros microbiológicos de calidad en muestras de agua superficial de dos arroyos que desembocan en la Bahía de Asunción, y aislar *E. coli* y estudiar la presencia de factores de virulencia propios de las variedades diarreogénicas.

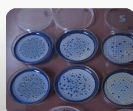
MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio: Observacional descriptivo de corte transversal. Protocolo aprobado por Comités Científico y de Ética en la Investigación del IICS.



Toma de muestras de agua

- Arroyos «Ykua Sati» (YS) y «Las Mercedes» (LM)
- 6 muestras en total, una por arroyo en cada muestreo.
- 3 muestreos (abril, junio y julio de 2015).



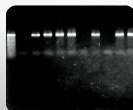
Análisis microbiológico

- Recuento de **Coliformes Totales (CT)** y **Fecales (CF)** por el método de Filtración de Membrana.



Extracción de ADN

- Método de ebullición.



Análisis molecular por PCR

- Confirmación de especie: gen **16S** de *E. coli*
- Detección de genes *elt*, *est*, *eae*, *ipaH*, *aggR* y *stx*.

RESULTADOS

Se observó que el recuento de **CF** sobrepasó el límite establecido por la Secretaría del Ambiente (SEAM) para aguas de **Clase II** (<a 1000 UFC/100mL)³ en el **50% (3/6)** de las muestras de agua estudiadas (Tabla 1).

Tabla 1: Parámetros microbiológicos estudiados en muestras de agua superficial de los arroyos «Ykua Sati» y «Las Mercedes»

Muestreo	CT (UFC/100mL)		CF (UFC/100mL)	
	YS	LM	YS	LM
Abril	2200000	130000	1080000	16500
Junio	1020000	122000	6800	830
Julio	750000	430000	310	160

En relación a los factores de virulencia analizados, se detectó la presencia de *eae* en 83% (5/6) de las muestras de agua, mientras que *aggR* en el 100% (6/6) de las muestras de LM. *est* y *elt* fueron encontrados exclusivamente en el muestreo de junio, y se detectó la presencia puntual de *stx* en YS en el muestreo de julio (Tabla 2).

Tabla 2: Factores de virulencia estudiados en muestras de agua superficial de los arroyos «Ykua Sati» y «Las Mercedes»

Arroyo «Ykua Sati»								
Muestreo	Aislados analizados	<i>E. coli</i>	Factor de virulencia – Patotipo asociado					
			<i>elt</i> ETEC	<i>est</i> ETEC	<i>eae</i> EPEC	<i>ipaH</i> EIEC	<i>aggR</i> EAEC	<i>stx</i> STEC
Abril	146	86	-	-	1 (1,2%)	-	-	-
Junio	197	127	6 (4,7%)	1 (0,8%)	-	-	-	-
Julio	214	202	-	-	4 (2,0%)	-	-	1 (0,5%)
Total:	557	415	6	1	5	-	-	1

Arroyo «Las Mercedes»								
Muestreo	Aislados analizados	<i>E. coli</i>	Factor de virulencia – Patotipo asociado					
			<i>elt</i> ETEC	<i>est</i> ETEC	<i>eae</i> EPEC	<i>ipaH</i> EIEC	<i>aggR</i> EAEC	<i>stx</i> STEC
Abril	267	85	-	-	3 (3,5%)	-	1 (1,2%)	-
Junio	252	150	1 (0,7%)	1 (0,7%)	7 (4,7%)	-	2 (1,3%)	-
Julio	159	111	-	-	2 (1,8%)	-	3 (2,7%)	-
Total:	678	346	1	1	12	-	6	-

CONCLUSIONES

La detección de *stx* en una de las muestras de YS indica la potencial presencia del patotipo STEC, el cual, además del cuadro diarreico, puede dar lugar a cuadros graves como el SUH. El gen más frecuentemente detectado en ambos cauces, y además presente de manera persistente fue *eae*, asociado al patotipo EPEC, que causa diarrea en infantes. Así también, se detectaron puntualmente en las muestras de junio *elt* y *est*, de ETEC; y *aggR* de forma persistente en las muestras del cauce LM. Si bien el recuento de CT y CF fue decreciendo en los sucesivos muestreos, posiblemente por efecto de las crecientes del río, la variedad de patotipos de *E. coli* detectados pone en relieve el riesgo al que se encuentran expuestos los pobladores de zonas aledañas y los consumidores de agua proveniente de dichas fuentes.

REFERENCIAS

1. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 1998;11(1):142-201.
2. Merino LA, Giusiano G. Manual de métodos moleculares para estudios microbiológicos. Primera edición. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología; 2011.
3. SEAM, Resolución N ° 222/02 .POR LA CUAL SE ESTABLECE EL PADRON DE CALIDAD DE LAS AGUAS EN EL TERRITORIO NACIONAL. 18 de Set. 2013. http://www.seam.gov.py/images/stories/seam/resoluciones/resolucion_222_02.pdf