

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



MONITOREO E IDENTIFICACIÓN DEL
Vibrio cholerae 01 EN DESCARGAS DE AGUAS
RESIDUALES EN EL ESTADO DE TAMAULIPÁS.

Tesis Profesional

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A:

Arturo Julián Rojas Rodríguez

201
5
1

San Luis Potosí, S.L.P.

1992



R201

C5

6

.1

T
OR
.O
R
C.



1080075661

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



**MONITOREO E IDENTIFICACION DEL
Vibrio cholerae 01 EN DESCARGAS DE AGUAS
RESIDUALES EN EL ESTADO DE TAMAULIPAS.**

Tesis Profesional

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A:

Arturo Julián Rojas Rodríguez

San Luis Potosí, S L.P.

1992



T
QR 201
CS
R 4





LA PRESENTE TESIS
SE IMPRIMIO CON EL APOYO
DE LA COMISION NACIONAL DEL AGUA



ASESOR: QFB. ROSARIO LEDESMA VERA.

LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

**LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA DEL DEPARTAMENTO DE CALIDAD DEL
AGUA EN TAMPICO, TAMAULIPAS.
DEPENDIENTE DE LA COMISION NACIONAL DEL AGUA, GERENCIA REGIONAL
NORESTE. CON SEDE EN SAN LUIS POTOSI, S.L.P.**

"Sin teoría el trabajo práctico no es más que una rutina enjendrada por la costumbre. Sólo la teoría es capaz de entusiasmar y desarrollar el espíritu descubridor"...

PASTEUR.

"Gracias a que pienso, pregunto y escucho, sé lo que soy y a dónde voy"...

L. RIO DE LA LOZA.

"Los Hombres sin imaginación sólo aportan rutina"...

BALZAC.

ESTE TRABAJO LO DEDICO CON RESPETO Y ADMIRACION A MI PAPA.

GRACIAS...

AGRADECIMIENTOS:

-De manera muy especial a mi familia que con su apoyo, confianza y comprensión he logrado conseguir una de mis metas más anheladas.

-Gracias a la Comisión Nacional del Agua (CNA) por todas las facilidades prestadas y por lo que aprendí para la realización de este trabajo.

-A Elia Margarita Sanchez C. por que en todo momento puso en mi esa confianza y ese gran cariño que me ayudaron a seguir adelante.

-A la QFB. Eliza Zarate B. por su apoyo y los comentarios que aportó en este trabajo.

-A todos mis amigos con los cuales he compartido momentos inolvidables en mi vida de estudiante. Y que de cierta manera siempre me apoyaron.

INDICE

Pag.

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
GENERALIDADES.....	4
Morfología.....	4
Fisiología.....	5
Taxonomía.....	6
Biotipos del <u>V. cholerae</u>	7
Estructura Antigénica.....	8
Enterotoxina.....	9
Adherencia.....	11
Sobrevivencia del <u>V.cholerae</u> en agua.....	12
Aguas Residuales y sus Características.....	14
Tratamiento de Aguas Negras.....	15
Disposición de Aguas Negras.....	15
OBJETIVOS.....	18
MATERIAL Y REACTIVOS.....	19
METODOLOGIA DE MUESTREO.....	24
Recolección y transporte de muestras.....	25
METODOLOGIA DE ANALISIS.....	27
RESULTADOS.....	30
GRAFICAS.....	31
DISCUSION.....	40
CONCLUSIONES.....	42
BIBLIOGRAFIA.....	43

INDICE DE FIGURAS.

Estructura Antigénica (Fig.1).....	8
Mecanismo de Acción de la Toxina (Fig.2).....	10
Sistemas Lagunares. (Fig.3).....	17
Fermentación (cambio de pH en TCBS) .(Fig.4).....	27
Formación de Indol y Putrescina a partir de Triptófano y Ornitina. (Fig. 5).....	28
Descarboxilación de lisina (Fig. 6).....	28
Descarboxilación de Arginina (Fig. 7).....	28
Reacción de Coloración para Indol (Fig. 8).....	29
Reacción de la Citocromo Oxidasa y su identificación (Fig. 9).....	29

INDICE DE CUADROS

Taxonomía (Cuadro No.1).....	6
Aspectos Diferenciales de los biotipos (Cuadro No.2).....	7

RESUMEN.

En el año de 1991, ocurrió en Perú un brote epidémico de Cólera, lo que obligó a las autoridades de salud pública en México, a organizar un rastreo general y constante de V. cholerae en zonas propensas del país, principalmente el medio acuático; de esta forma, el presente trabajo expone cómo se debe proceder para realizar una estrategia práctica de monitoreo de zonas, evitando analizar puntos que no sean de referencia o representativos, ya que, aunque se tiene un amplio conocimiento sobre el V. cholerae, todavía es un grave problema de rápida difusión, que puede provocar importantes brotes epidémicos.

Los puntos analizados en el estado de Tamaulipas suponían gran presencia de V. cholerae O1, sin embargo, el porcentaje obtenido de este serogrupo fue por debajo de lo esperado, por lo que se dio otro giro a la interpretación de los resultados, tomando en cuenta la presencia de V. cholerae no O1 y al identificado como Vibrio sp. (sin especie). En base a los estudios efectuados para este trabajo, se determinó que son de importancia los dos anteriores, por presentar características que permiten la presencia de cuadros diarreicos severos.

En el trabajo de muestreo se utilizó un medio de enriquecimiento como medio de transporte, adecuándolo a las condiciones ideales (baja temperatura y un tiempo corto para ser procesado en el laboratorio).

La identificación fue llevada a cabo por medio de una marcha bacteriológica usando los medios principales para su identificación, realizando el trabajo en coordinación con brigadas de trabajo en campo, que recolectaban y transportaban las muestras, así como también de colocar nuevos hisopos para el siguiente análisis, teniendo en constante vigilancia la zona, en periodos de ocho días. Esto se realizó bajo un previo estudio ambiental y socioeconómico.

INTRODUCCION

"ANTECEDENTES HISTORICOS"

A nivel mundial las enfermedades diarreicas constituyen la principal causa de morbilidad y mortalidad, superando en áreas populares, a enfermedades del corazón, cáncer o enfermedades vasculares cerebrales. La mayor mortalidad por enfermedades diarreicas e infecciones entéricas ocurre en niños lactantes y preescolares; el más de la mitad de los casos la diarrea es causa de muerte en forma directa o indirecta. (14)

Existen gran variedad de agentes implicados en casos de infecciones entéricas bacterianas; sin embargo este estudio refiere al V. cholerae O1 como agente causal de ésta enfermedad gastrointestinal, muy importante y de actual preocupación en el mundo, denominada Cólera.

El Cólera es una infección intestinal aguda, grave, provocada por un bacilo productor de toxinas, que se caracteriza por la presentación brusca de diarrea acuosa abundante, vómitos, deshidratación severa, acidosis y que pueden llevar al colapso circulatorio; en los casos no tratados se produce la muerte en las primeras 24 horas de su aparición. (14)

El agente causal de ésta enfermedad denominado V. cholerae fue descrito por primera vez por F.Pazzini en el año de 1854. En éste mismo año Jhon Snow demostró el papel del agua contaminada en la diseminación del Cólera. Pero fue hasta 1884 cuando Robert Koch aisló el microorganismo causante, el V. cholerae bacilo gram negativo y de metabolismo fermentativo. (6)

Durante un tiempo se pensó que debido a los avances en la medicina y salud pública no había riesgos de que el Cólera se extendiera más allá del delta de los ríos Ganges y Brahmaputra en la India y Paquistán donde ha sido endémico desde el comienzo de su historia. Antes de 1817 no hay registros de epidemias de Cólera que involucren otras partes del mundo. Sin embargo a partir de ésta fecha salió de su lugar de origen, extendiéndose por todas las rutas del comercio establecido. (6)

La primera noticia de su presencia en America data de 1832 cuando se presentó una epidemia en Québec (Canada) y más tarde, en Nueva York. (6) México también fue blanco de esa epidemia en el año de 1833, teniendo señalados como sitios de entrada los estados de Tamaulipas, Nuevo Leon, Yucatán y Campeche, propagándose a San Luis Potosí y Guanajuato, presentándose el primer caso el 24 de junio de ese año en Guadalajara, Jal. En 1856 nuevamente se presentó un brote epidémico en los estados de Oaxaca, Chiapas, Veracruz y Tabasco. (12) El cual se controló por mecanismos de salud pública.

Posteriormente, América Latina vuelve a ser afectada por el V. cholerae siendo Perú el país que sufre las consecuencias de un brote epidémico en Enero de 1991, con gran morbilidad y gran extensión. Para el 21 de Abril del mismo año se habían reportado casos de Cólera en Colombia, Ecuador, Chile y posteriormente en Brasil. (6)

El 17 de Junio de 1991 se recibió en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicas (INDRE), una muestra para confirmar un posible brote de Cólera en México proveniente de un paciente de 68 años de edad, sexo masculino y residente de San Miguel Totolmayola, municipio Sultepec, Edo. de México. (4) Para el 29 de Julio se habían reconocido públicamente 226 casos de Cólera en los Estados de México, Hidalgo, Puebla y Veracruz. (6)

Nuevamente en Mayo de 1992, en el municipio de Minatitlán, Estado de Veracruz, se dio la alarma de brotes confirmados de Cólera, presentando 297 casos; en el municipio de Alvarado, zona Norte del Estado se presentaron 283 casos confirmados; en Gutiérrez Zamora, 51 casos. Todos los casos mencionados fueron reportados por laboratorios locales. (12)

La situación epidemiológica actual correspondiente al brote confirmado de Cólera en México se sitúa en torno a una hipótesis de que el bacilo pudo haber llegado a través de un portador que ingresó a la zona clandestinamente por vía aérea, ya que en el área afectada se han detectado pistas utilizadas presumiblemente por narcotraficantes. (4)

Basándonos en lo anterior y como la principal fuente de infección relacionada con la diseminación de esta enfermedad es la contaminación fecal por excretas en el agua de consumo, ya sea potable o de riego, necesariamente se requiere de un estudio en los depósitos de descargas de agua residual considerando altas posibilidades de encontrar al V. cholerae O1 en dichas muestras asegurando así, el control de calidad del agua con respecto a este microorganismo patógeno.

GENERALIDADES

La familia Vibrionacea fué inicialmente propuesta por Verón en 1965. (8)

En ésta familia se incluyen tres géneros que son de importancia clínica: *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas* (18).

Todos los miembros de ésta familia son microorganismos facultativos, gram negativos, oxidasa positivos y cuando se mueven lo hacen por medio de flagelos polares y no peritricales (17). Esto no implicaba necesariamente que existiera una estrecha relación entre éstos géneros, sino por conveniencia para poder diferenciarlos de la familia Enterobacteriaceae (8).

Al *V. cholerae* también se le llamó *Vibrio coma spirillum*, *cholerae asiaticae*, y/o bacilo virgula. Perteneciente a la familia Vibrionacea y al género *Vibrio*. (2)

MORFOLOGIA:

Los Vibriones del cólera son bastones cortos que miden 1.5 a 3 micras de diámetro por 1.4 a 2.6 micras de largo, que en el aislamiento inicial aparece en forma de coma (18), pero también forma agrupamientos celulares aislados y en cadenas.

En los cultivos viejos, especialmente aquellos transferidos en medios de laboratorio (medios selectivos) tienden a hacerse opacos y rugosos (variante rugosa) (18). Los cultivos desarrollados durante algún tiempo (3 días) en medios artificiales pierden la uniformidad original de tamaño y los bacilos tienden a hacerse menos curvos hasta semejar formas cocoides; son frecuentes también las formas bacilares y las de verdaderos espirilos. (2)

Estos microorganismos son móviles por poseer un flagelo polar único y grueso que le confiere motilidad activa a la bacteria (200 micrometros por segundo). No forman esporas y son no capsulados (3). La membrana citoplásmica y pared celular es similar a la estructura que tienen las enterobacterias diferenciándose en los antígenos de superficie. (13)

FISILOGIA:

Las especies de este género son microorganismos quimiosintéticos, heterotróficos; gran número son halófilas, es decir que por lo menos necesitan de 1% de NaCl para desarrollarse en forma satisfactoria, pero pueden crecer en concentraciones de 3 al 7%.

Aunque casi todos los miembros de esta familia son saprófitos que se encuentran en el agua, algunos son parásitos o patógenos del hombre. (13)

El V. cholerae es un microorganismo anaerobio facultativo, de escaso desarrollo en aerobiosis. Su temperatura de crecimiento es de 14 a 42°C, siendo la óptima de 37°C. Su metabolismo es respiratorio y fermentativo. (18)

Es indispensable la reacción alcalina para su desarrollo; la bacteria crecerá en una gama de pH de 6.4 a 9.6, siendo el óptimo 7.2 a 8.6. Esta gran tolerancia para álcalis resulta ventajosa al preparar medios selectivos para aislar al V. cholerae. (3) Son extremadamente sensibles a un pH ácido y con un pH menor de 6 pueden esterilizarse los cultivos. (3)

No plantean problemas de nutrición ya que pueden crecer en medios simples, siempre y cuando se les proporcione un hidrato de carbono utilizable, nitrógeno inorgánico, azufre, fósforo, minerales y un amortiguador adecuado. (3,18)

Las reacciones de fermentación son variables y comprenden diversos carbohidratos como: dextrosa, levulosa, galactosa, maltosa, sacarosa y manitol con producción de ácido pero no de gas.

En casos raros también puede fermentarse la lactosa (la especie Cholerae no fermenta lactosa), pero la inulina y el dulcitol así como la arabinosa no son atacados. (3)

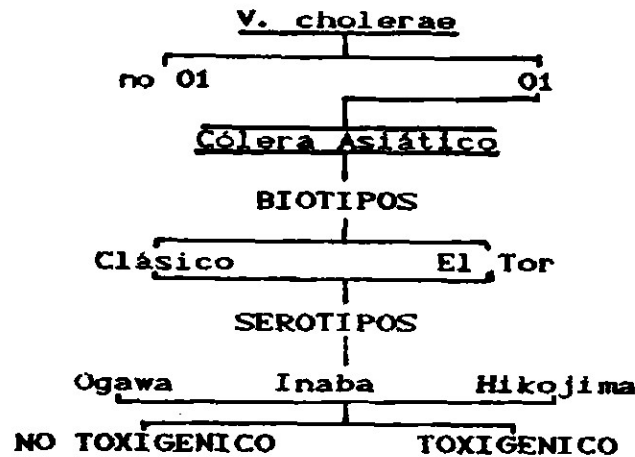
Cuando éstos organismos crecen en un medio a base de peptona que contenga cantidades adecuadas de triptófano y nitrato, se produce indol y los nitratos son reducidos. (10)

La resistencia del Vibrio del Cólera a diversas influencias nocivas es poca. Es destruido por temperaturas moderadamente altas (10 minutos a 55°C) y rápidamente por desinfectantes químicos como el cloro, ácidos o cloruro mercurico. Es particularmente sensible a la desecación, y no sobrevive mucho tiempo en condiciones extremas.

Sobre la superficie de vegetales y frutas conservados en lugares fríos y húmedos, los vibriones pueden ser viables de 4 a 7 días. (17)

TAXONOMIA:

CUADRO No.1 (8)



Hay cierta confusión en cuanto a la taxonomía del *V. cholerae*, ya que éste nombre se emplea para distinguir tres entidades distintas. En el cuadro No.1 se indica el primer grupo: al Cólera epidémico Asiático clásico que es causado por microorganismos que se aglutinan con solución de antisueros dirigidos contra el antígeno O1 y que producen la enfermedad por medio de una enterotoxina. Estos microorganismos pueden diferenciarse aún más bioquímicamente y fisiológicamente en biotipos *cholerae* clásico y El Tor. Un segundo tipo de microorganismos bioquímicamente similares se tipifican con los antisueros O1, pero no producen la clásica enterotóxina del *Cólera*. Un tercer grupo no aglutina con antisueros O1, pero es indistinguible del grupo O1 tanto bioquímica como genéticamente. Este tercer grupo se ha denominado vibriones no aglutinantes (VNA) o vibriones no coléricos (VNC), haciendo referencia a los microorganismos como *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O1 atípico y *V. cholerae* no O1. (18)

BIOTIPOS DEL V. cholerae

La descripción detallada anterior corresponde al V. cholerae clásico aislado por Koch, y que hasta hace relativamente poco tiempo era la causa predominante, quizá exclusiva, del Cólera. Particularmente durante la última década, se ha comprobado que, si bien el carácter general de los vibriones coléricos sigue siendo el mismo, estos vibriones se presentan en diversos biotipos diferenciables. (3)

A principios de siglo (1906), fué identificado en el cadáver de un peregrino, en una estación de cuarentena en el canal de Suez en Egipto, un biotipo poco conocido llamado El Tor. (6) Se denominó así por habersele encontrado en la región El Tur. (3)

Inmunológicamente no podía distinguirse de V. cholerae clásico, pero difería por producir un hemolisina soluble. La hemolisina extracelular era producida en cultivos en caldo y se demostraba por la hemólisis producida después de un período de incubación cuando el caldo se mezcla con glóbulos rojos de carnero. (3)

La diferenciación bioquímica del V. cholerae 01 en los biotipos clásico y El Tor es epidemiológicamente útil y pueden llevarse a cabo las pruebas que se presentan en el cuadro No. 2, (18)

CUADRO No. 2

ASPECTOS DIFERENCIALES DE LOS BIOTIPOS DE V. Cholerae (11)

PROPIEDAD	BIOGRUPO	
	CLASICO	EL TOR
Voges Proskauer	-	+
Zona alrededor de Polimixina B (UI)	+	-
Hemólisis de eritrocitos	-	+
Aglutinación de eritrocitos de pollo	-	+
Bacteriófago clásico IV	+	-
Bacteriófago El Tor V	-	+

ESTRUCTURA ANTIGENICA.

Los antígenos somáticos O termoestables son de naturaleza lipopolisacárida y por lo tanto semejantes a los de las bacterias entéricas, constituyen los antígenos de mayor importancia en el agrupamiento serológico de los vibriones del Cólera. Todos los vibriones del Cólera parecen compartir el mismo antígeno flagelar H termolábil. (17) El serogrupo O tipo 1 (O1) contiene a los biotipos cholerae clásico y El Tor. (17)

Originalmente autores Japoneses demostraron que podían diferenciarse tres tipos de Vibrio del Cólera, según la especificidad de los antígenos termoestables O y son: el "original" J o tipo Inaba; el tipo Hikojima, "medio" o "intermedio" y el tipo Ogawa, "variante" F. (3) Fig. No. 1

El análisis detallado de la estructura antigénica O y H de los vibriones del Cólera y similares, se ha demostrado que un antígeno O específico del grupo, llamado A (por contener un lípido denominado A, una región central de polisacáridos y cadenas laterales O específicas de polisacáridos), (3) es compartido por todos los vibriones del grupo 1, y que los tipos japoneses dependen de antígenos O subsidiarios, B y C, designados arbitrariamente como específicos de tipo. Se ha sugerido que los tipos japoneses se identifiquen por sus fórmulas antigénicas siguientes: por ejemplo, Inaba como tipo AC, Ogawa como tipo AB e Hikojima como tipo ABC. (17) (De ahí las diferencias antigénicas entre la especie). Fig. No. 1

FIGURA No. 1

SEROTIPOS DEL V. cholerae.



DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD.

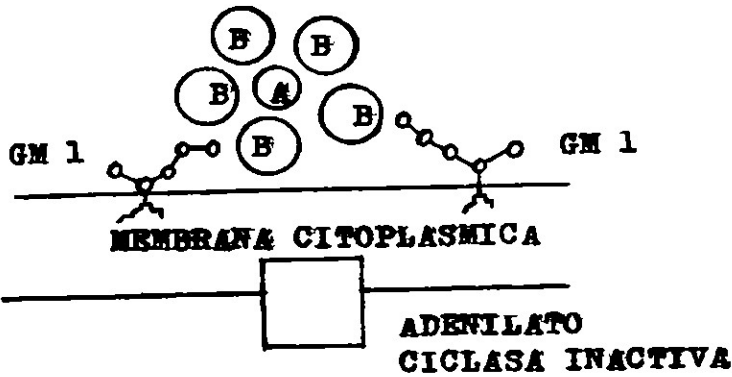
ENTEROTOXINA:

La Enterotoxina termolabil del Cólera, o Colerágeno, es una molécula compleja con un peso molecular de unos 84 000 Daltons. (10) El colerágeno es predominantemente proteína (98%), con aproximadamente 1% de lípidos y 1% de hidratos de carbono. Hay dos subunidades principales de colerágeno: A, que es responsable de la actividad biológica, y B que es responsable de la unión de la toxina con la membrana celular. La subunidad A consiste en dos péptidos desiguales unidos por una sola unión disulfuro. La actividad tóxica reside en A₁ (peso molecular 23 000), mientras que A₂ (peso molecular 5 000) sirve como el vínculo de la subunidad B. La subunidad B consiste en 5 péptidos idénticos, cada uno con un peso molecular de 11 500 Daltons. La subunidad B se une rápida e irreversiblemente con las moléculas de monosialogangliósido GM-1 en el intestino delgado. Luego de la unión, la subunidad A se disocia de la subunidad B y atraviesa la membrana celular. (18) La activación del péptido A₁ eslabonada por enlaces disulfuro ocurre con la reducción de la unión disulfuro. (10) El péptido A₁ es una enzima que transfiere la adenosindifosfato (ADP)-ribosa del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) a una proteína que se une a trifosfato de guanosina (GTP) que regula la actividad de adenilciclasa. Esta unión inhibe el mecanismo de corte del GTP y provoca un aumento de la actividad de adenilciclasa, incrementando el nivel de AMPc intracelular. El aumento de AMPc lleva a la rápida secreción de electrolitos hacia la luz del intestino delgado. (18) (FIG. 2)

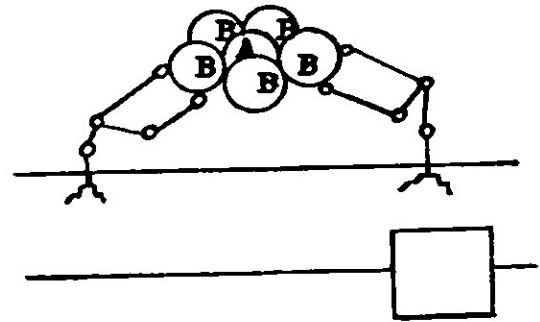
El resultado es la secreción de un líquido isotónico con una concentración de bicarbonato del doble de la concentración plasmática normal y una concentración de potasio de cuatro a ocho veces mayor que la concentración plasmática. La pérdida de líquido puede ser hasta 1 lt/hr. (18)

FIGURA No. 2

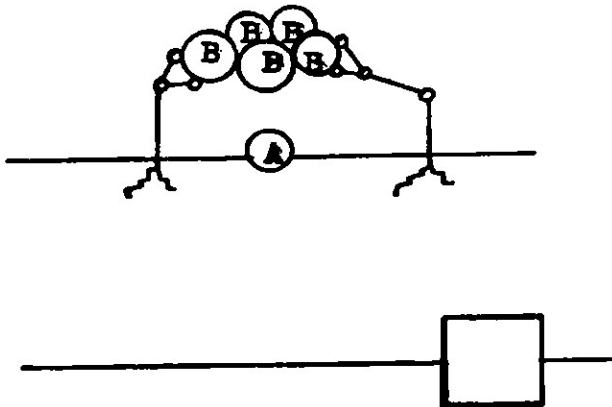
MECANISMO DE ACCION DE LA TOXINA COLERRICA. (B)



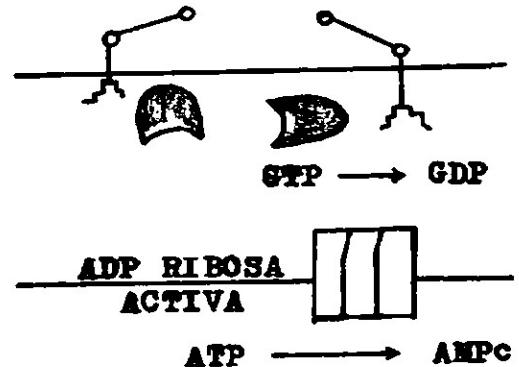
Union de las subunidades B a las moléculas de (GM) en el intestino delgado.



Subunidades A y B de la Toxina colérica.



Disociación de la Subunidad A de las B, atravesando la membrana citoplásmica.



Activación de la adenilato ciclase y un aumento de AMPc .

ADHERENCIA:

Además de la producción de enterotóxina, el V. cholerae virulento debe ser capaz de adherirse a la superficie intestinal; aquí los microorganismos pierden primero su movimiento, después se hinchan y finalmente desaparecen. (13)

Los estudios sobre la adherencia demuestran que las células virulentas penetran en el moco intestinal y se adhieren a las microvellosidades en el ribete en cepillo de las células epiteliales. La motilidad puede estar involucrada en la adherencia del V. cholerae, dado que las variedades inmóviles que producen tóxina en ciertos casos son incapaces de producir alteraciones muy fuertes a nivel intestinal. (18)

La adherencia al intestino delgado puede inhibirse por anticuerpos dirigidos contra lipopolisacáridos (LPS), indicando que los antígenos somáticos o factores adherentes son importantes la enfermedad. (18)

CONSIDERACIONES SOBRE LA SOBREVIVENCIA DEL V. cholerae EN AGUAS.

El V. cholerae con los serotipos 01 y no 01, por su alta relevancia en salud pública, ha merecido un gran enfoque en el ambiente marino, habiendo varios autores reportado la sobrevivencia de ésta bacteria por largos periodos en el ambiente marino, contrariamente a lo que sucede con las bacterias indicadoras de contaminación fecal, (el coliforme) que decae rápidamente en aguas saladas. La sobrevivencia del bacilo en el medio acuático es de gran interés epidemiológico una vez que el agua constituye la principal fuente de diseminación del Cólera y la posible estancia de este agente etiológico en el medio ambiente.

La viabilidad del vibrio en el medio acuático es directamente influenciada por el pH, temperatura, luz solar, presión osmótica, sales, materias orgánicas y presencia de bacterias, pudiendo sobrevivir varios días o semanas.

Los estudios realizados por la Compañía de tecnología de saneamiento ambiental (CETESB) 1983/1984, en convenio con la Organización Mundial de la Salud (OMS), en aguas del estado de San Paulo, Brasil, demostraron que la sobrevivencia del V. cholerae en aguas de mar fué alrededor de 6 a 26 días, en agua dulce de 6 a 19 días y de 5 a 12 días en aguas residuales. Se comprobó también en este estudio, que en aguas contaminadas su sobrevivencia fué menor y las temperaturas de 10°C a 25°C fueron las más favorables.

Trabajos recientes han demostrado que el V. cholerae parece ser una especie autoctona del ambiente estuarino, siendo también aislados de aguas superficiales no contaminadas con materia fecal, o en áreas donde ninguna infección humana fué declarada. El V. cholerae 01 (Inaba) y V. cholerae no 01 han sido aislados en la bahía de Chesapeake y en la Costa de Louisiana (Golfo de México), siendo que esos cultivos fueron capaces de producir toxina.

Este último también ha sido encontrado asociado al zooplancton en aguas de la citada bahía y en aguas superficiales de Bangladesh (Colwell, 1980).

Miyaki y colaboradores (1967), realizaron estudios sobre la viabilidad del V. cholerae 01 El Tor en diferentes ambientes y observaron que el pH, temperatura y presión osmótica eran los factores principales. La bacteria no soportaba pH de 5.0 o inferior. En condiciones óptimas de pH la presión osmótica óptima fué de 250 mOsm a 750 mOsm. Presión superior a 1200 mOsm fue desfavorable para el crecimiento de los microorganismos. (16)

Colwell (1977) aisló más de 46 vibriones por litro con salinidad de 0.3 a 1.7% y temperaturas de 28°C, en varias partes de la bahía de Chesapeake encontrando que no hubo relación entre el V. cholerae, y la presencia de otras bacterias, como los coliformes, Salmonella u otras enterobacterias lo que hace pensar que sea una especie autóctona en ecosistemas estuarinos. Se ha demostrado que la mayoría de las cepas aisladas de agua de mar no son patógenas ni tóxicas. Sin embargo algunas cepas de V. cholerae 01 y V. cholerae no 01 aisladas en la bahía de Chesapeake mostraron producción de toxina. Por lo tanto, deben realizarse más estudios para un mejor esclarecimiento del comportamiento del bacilo en el medio acuático. (16)

En efecto, de vital importancia ha sido y es, el desarrollo científico en cualquier área, por ello, éste trabajo, pretende contribuir en el desarrollo del campo de la salud pública, pues, contempla estudiar un tema que actualmente acosa a la población nacional y sobre todo a la marginada, aquella que padece los estragos de la pobreza y que difícilmente tiene acceso ya no a sistemas de salud pública, sino a los más simples y sencillos sistemas educativos de higiene. Por lo que éste trabajo pretende tratar ésta problemática y desgraciadamente, que mejor lugar que aquel en donde se vive cerca de aguas residuales, lugares en los que la contaminación del vital líquido es parte de nuestro ecosistema.

AGUAS RESIDUALES Y SUS CARACTERISTICAS

Las aguas negras son líquidos turbios que contienen material sólido en suspensión. Cuando son frescas su color es gris y tienen un olor no desagradable. Flotan en ellas cantidades variables de materias, como sustancias fecales, trozos de alimentos, basura, papel y otros residuos de las actividades cotidianas de los habitantes de una comunidad. Con el transcurso del tiempo, el color cambia gradualmente del gris al negro, desarrollándose un olor muy desagradable y sólidos negros aparecen flotando en la superficie. (5)

COMPOSICION DE LAS AGUAS NEGRAS.

Consisten principalmente de agua, de los sólidos disueltos en ella y los sólidos suspendidos. La cantidad de sólidos es generalmente muy pequeña, casi siempre menos del 0.1 % en peso, pero es la fracción que representa el mayor problema para su tratamiento y disposición adecuada. El agua provee solamente el volumen y es el vehículo para transporte de los sólidos. (5)
Las aguas negras pueden ser originadas por :

- a) Desechos humanos y animales
- b) Desperdicios caseros
- c) Aguas de lavado y corrientes pluviales
- d) Infiltraciones de aguas subterráneas
- e) Desechos Industriales

Dentro de estos nombres descriptivos a los diferentes tipos de aguas, según su procedencia, las definiciones que les corresponden son las siguientes:

- a) Aguas negras domésticas Son las que contienen desechos humanos, animales y caseros.
- b) Aguas negras industriales. Son provenientes de procesos industriales.
- c) Aguas negras sanitarias. Igual a domésticas e incluyen industriales.
- d) Aguas pluviales. Formadas por el escurrimiento superficial de lluvia.
- e) Aguas negras combinadas. Las muestras obtenidas corresponden a este tipo, que son una mezcla de aguas negras domésticas o sanitarias y de las pluviales cuando se colectan en las mismas alcantarillas.

TRATAMIENTO DE LAS AGUAS NEGRAS.

Es un proceso por el cual los sólidos que el líquido contiene son separados parcialmente, haciendo que el resto de los sólidos orgánicos complejos muy putrescibles queden convertidos en sólidos minerales o en sólidos orgánicos relativamente estables. La magnitud de este cambio depende del proceso de tratamiento empleado. Una vez complementado todo proceso de tratamiento, aún es necesario disponer de los líquidos y sólidos que se han separado. (5)

DISPOSICION DE LAS AGUAS NEGRAS.

Hay tres métodos a seguir para llevar a cabo la disposición final de las aguas negras:

- 1) Disposición por Irrigación. Consiste en derramar las aguas negras sobre la superficie del terreno, la cual se hace generalmente mediante zanjias de riego.
- 2) Disposición Subsuperficial. Este método consiste en hacer llegar las aguas negras a la tierra por debajo de la superficie, a través de excavaciones y enlozados.
- 3) Disposición por Dilución. Este método consiste simplemente en descargar las aguas negras en aguas superficiales como en las de un río, un lago o mar.

Una planta de tratamiento de aguas negras se diseña para retirar de éstas la cantidad suficiente de sólidos orgánicos e inorgánicos que producen su descomposición.

Los procesos que se usan para el tratamiento siguen estrechamente los lineamientos de autopurificación de una corriente contaminada. Los dispositivos para tratamiento solamente localizan y limitan estos procesos a un área adecuada, restringida y controlada, y proporcionan las condiciones favorables para la aceleración de las reacciones físicas y químicas. (5)

Las descargas de agua residual independientemente del tipo a que correspondan, tienen un tratamiento mediante sistemas lagunares (son las empleadas en la zona que se realizó el estudio). Estos sistemas lagunares son complejos tanto en la eliminación del material voluminoso (cribas o desarenador) así como la disminución considerable en concentración de bacterias patógenas o saprófitas (Laguna aeróbica y/o anaeróbica) (Fig. 3)

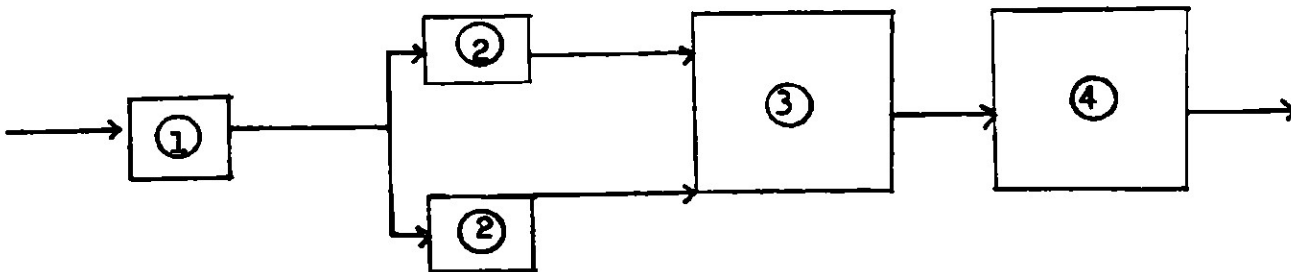
El tratamiento del agua en estos sistemas lagunares proporciona condiciones anaeróbicas de descomposición, aprovechando las bacterias estos nutrientes formados para generar su propio protoplasma celular. Ocurriendo una notable disminución bacteriana; en este proceso la temperatura y el tiempo de retención juegan un papel muy importante. (7)

Otro sistema proporcionado es el aeróbico facultativo, en estas lagunas la descomposición de la materia orgánica se realiza en presencia de oxígeno, produciendo compuestos inorgánicos estables que sirven de nutrientes a las algas que se generan por la acción fotosintética y que a su vez producen más oxígeno, lo que facilita la actividad de las bacterias aeróbicas. En este proceso juega un papel muy importante la luz, temperatura y tiempo de retención. (7) (Fig. 3)

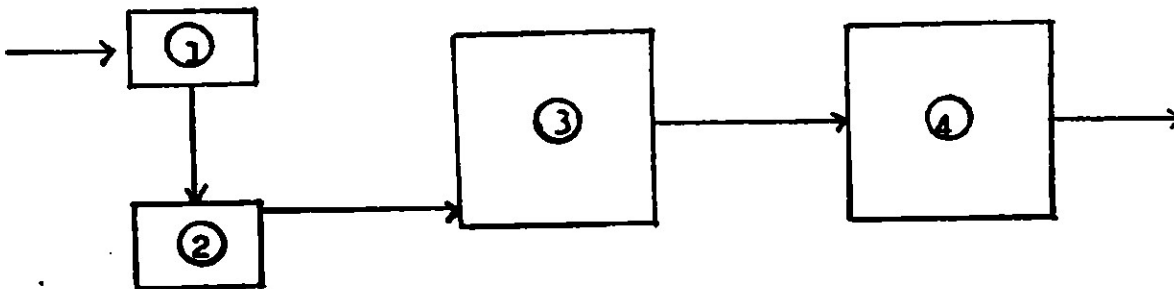
FIGURA No. 3(7)

SISTEMAS LAGUNARES.

- 1) CRIBAS
- 2) LAGUNA ANAEROBICA
- 3) LAGUNA AEROBICA
- 4) LAGUNA DE ACABADO



- 1) CRIBAS
- 2) DESARENADOR
- 3) LAGUNA AEROBICA
- 4) LAGUNA DE ACABADO



OBJETIVO GENERAL:

Detección del V. cholerae O1 en descargas de aguas residuales combinadas, como posible fuente de infección, para tomar medidas preventivas en la zona estudiada.

OBJETIVOS PARTICULARES.

Establecer un control mediante un sistema de monitoreo en zonas donde se localizan las descargas y cuerpos receptores de aguas residuales

Evaluar la calidad de descargas de desechos domésticos, industriales y hospitales en relación al V. cholerae.

Localizar los focos de contaminación del V. cholerae, especialmente en puntos críticos de extrema efluencia e influencia del agente tales como: puertos, estación de autobuses, hospitales, etc..

De acuerdo a los resultados proponer un programa de manejo de efluentes ; si es necesario una vigilancia constante o sólo aplicarse en periodos de incidencia infecciosa.

MATERIAL Y REACTIVOS

MATERIAL DE VIDRIO:

- * Agitador de vidrio
- * Cajas de Petri
- * Frascos de boca ancha
- * Frascos gotero
- * Frascos reactivo
- * Matraz Erlenmeyer
- * Pipetas
- * Pipetas Pasteur
- * Portaobjetos
- * Probetas
- * Tubos de ensaye
- * Vasos de precipitado

REACTIVOS:

- * Agua destilada
- * Aceite mineral
- * Alcohol del 96°
- * Cloruro de sodio
- * Extrán líquido
- * Fenoí
- * Hidróxido de sodio 1N
- * Reactivo de Erlich
- * Reactivo Oxidasa
- * Solución formalinizada al 0.06%
- * Solución salina al 0.85%
- * Suero polivalente 01

EQUIPO:

- * Asa bacteriológica
- * Autoclave
- * Balanza analítica
- * Estufa bacteriológica
- * Horno de calor seco
- * Mechero Fisher
- * Microscopio
- * Refrigerador
- * Termómetro

MATERIAL VARIO: MUESTREO

- * Alambre acerado
- * Botas de hule
- * Cuerda
- * Guantes
- * Gasas (Tela pañalina "venta de cielo")
- * Hielera
- * Mascarilla
- * Pinzas
- * Plomada

MEDIOS DE CULTIVO:

- * Agua Peptonada Alcalina
- * Agar TCBS (TIO-SULFATO-CITRATO-BILIS-SACAROSA)
- * Agar TSI (AGAR TRIPLE AZUCAR)
- * Agar M I O. (MOVILIDAD-INDOL-ORNITINA)
- * Agar lisina.
- * Caldo Arginina

MEDIOS DE CULTIVO

AGUA PEPTONADA ALCALINA: MEDIO DE ENRIQUECIMIENTO

Bacto peptona10g.
Cloruro de sodio10g.

PREPARACION: Las sales se disuelven en 1 lt. de agua destilada, y se esteriliza la solución a 121°C durante 15 minutos. (El pH se ajusta con NaOH 1N a 9.0 de preferencia antes de meter a incubación). (15)

AGAR TCBS: (TIOSULFATO-CITRATO-BILIS-SACAROSA)

PREPARACION: Suspender 89g. de este agar en 1 lt. de agua destilada fría. Calentar hasta disolución completa, sin alcanzar la temperatura de ebullición. Vaciar el medio en cajas de Petri estériles. Dejar enfriar y mantenerlas en refrigeración a una temperatura de 2° a 8° C (15)

MEDIOS DE IDENTIFICACION:

AGAR TSI: (AGAR DE TRIPLE AZUCAR)

PREPARACION: Se disuelven 65 g. del medio deshidratado en 1 lt de agua destilada fría, mezclar bien y calentar sin alcanzar la temperatura de ebullición, durante 1 minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Vaciar en tubos y dejar solidificar en posición inclinada, de forma que sobre una columna de unos 3 cm de altura, se forme una superficie oblicua, elíptica de unos 5 cm de diámetro mayor. (15)

AGAR MIO: (MOVILIDAD-INDOL-ORNITINA)

PREPARACION: Disolver 31 g. por 1 lt. de agua destilada, calentar a ebullición hasta disolución completa, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos, distribuir de 3 a 4 ml en tubos de 13X100, enfriar y dejarlos en reposo en posición vertical, conservar los tubos preparados en refrigeración de 2° a 8°C. (15)

AGAR LISA. (AGAR LISINA + FERRRO)

PREPARACION: Disolver 34.5 g. por 1 lt. de agua destilada, calentar a ebullición hasta disolución completa, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos, distribuir de 3 a 4 ml en tubos de 17X100 y antes que solidifique inclinar los tubos, conservar los tubos preparados en refrigeración de 2° a 8°C. (15)

CALDO ARGININA: (BASE DE MOELLER MAS ARGININA)

PREPARACION: Rehidratar Bacto - descarboxilasa de Moeller disolviendo 10.5 g. en 1 lt. de agua destilada o agua desionizada. Calentar hasta completa disolución, adicionar 10 gr de L-arginina o 20 de D-L-Arginina, y agitar hasta completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos, distribuir de 3 a 4 ml en tubos de 13X100 y conservarlos en refrigeración de 2° a 8°C. (15)

REACTIVOS

REACTIVO DE ERLICH. (DIAZOREACTIVO)

Acido Sulfanílico 1 g.
Acido clorhídrico concentrado 15 ml.
Nitrito de sodio 1 g.
Agua destilada 300ml

SOLUCION A: Disuelva 1 g. de ácido sulfanílico en 100 ml de agua destilada, añada 15 ml de ácido clorhídrico concentrado y diluya a 1 lt.

SOLUCION B: Disuelva 1 g. de Nitrito de sodio en 200 ml de agua destilada. Inmediatamente antes de usarse, mezcle 25 ml de la solución A con 0.75 ml de la solución B.

REACTIVO DE OXIDASA.

Tetra metil de p-fenilendiamina ... 1 g.
Agua destilada 100 ml

PREPARACION: Diluir el reactivo en agua destilada estéril ligeramente tibia, agitar hasta disolución (o calentar ligeramente para disolver).

Dejar reposar 15 minutos antes de su uso o empleo. Evitar la innecesaria exposición a la luz.

SUERO POLIVALENTE.

PREPARACION: Rehidratar con 3 o 5 ml de solución salina al 0.85% suero aglutinante "Antivibrio cholerae Polivalente", presentación de ampula, caducidad Junio de 1993. Marca "Diagnostics Pasteur".

METODOLOGIA DE MUESTREO

La implementación de una estrategia ambiental para el control del Cólera en el sector agua, se basa principalmente en la evidencia de que la transmisión del Cólera es mediante el consumo de agua y alimentos contaminados. (9)

Dado lo anterior, la toma de muestras es por tanto una operación importante que debe ser llevada a cabo con el mayor cuidado, para obtener resultados óptimos en la investigación.

Para efectuar una estrategia ambiental en nuestro estudio se emplean brigadas de muestreo; y éstas brigadas son la clave del sistema de monitoreo.

Las campañas de muestreo se definen como la organización de un grupo de especialistas técnicos y profesionistas cuyo objetivo es la colecta de muestras representativas obtenidas metódica y sistemáticamente en un tiempo y espacio determinado. Para esto se necesita primero definir el área problema, requiriéndose localizar los sitios de muestreo representativos en un área particular. (9) Siendo establecidos los sitios de las redes colectoras de aguas residuales, estaciones de tratamiento y registros de aguas residuales que reciben desechos de partes representativas de la población, y las posibles vías de entrada del V. cholerae, (16). Del estudio los sitios son:

En Tampico: Descarga Colonia Cascajal
Descarga Hospital Civil
Boca Toma COAPA.

En Madero: Descarga Hospital Regional
Descarga IMSS
Laguna de Oxidación, Tampico-Madero

En Altamira: Laguna de Oxidación Altamira
Boca Toma COAPA, Altamira

Es conveniente llevar a cabo un barrido general tomando en cuenta el área ambiental. En ésta área se realizan los estudios: Físico y Socioeconómico. (9) El físico toma en cuenta localización geográfica, clima, división municipal, hidrología, infraestructura hidráulica, usos y disposición del agua (en este caso la mayoría es agua para riego). En el socioeconómico importan la población flotante y la demografía. (9)

RECOLECCION Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

Lo anterior nos sirve como antecedente al muestreo, el cual identificamos como reconocimiento de zona, parte muy importante y previa a la toma de la muestra.

La técnica de muestreo será adaptada principalmente a las condiciones físicas del área de estudio, siendo ésta, agua residual tipo combinada. (9,16)

Para el procedimiento, aún cuando no exista un brote de Cólera se tiene la posibilidad de que el V. cholerae O1 se encuentre en una pequeña cantidad en el agua por analizar y aunque el muestreo involucre la transferencia del agua desde el punto de origen a otro cualesquiera sin causar ningún cambio en sus propiedades, se tiene que recordar que es inútil realizar un análisis detallado de una muestra mal obtenida y sobre todo también utilizando un método que no sea adecuado; en este caso necesitamos uno que concentre las bacterias. La concentración se obtiene por dispositivos que captan las bacterias contenidas en un gran volumen de agua y que permitan aislarlas de este medio líquido. (9) El método de concentración bacteriana elegido para este estudio fue el método del Hisopo de Moore (modificado); que ha sido ampliamente utilizada para la investigación de V. cholerae en muestras de agua residual y aguas superficiales. La principal ventaja de éste método, consiste en la constante vigilancia del líquido a ser estudiado, ya que a medida que se retira la mecha se instala otra. (9,16)

PREPARACION DEL HISOPO DE MOORE.

En este método la preparación del hisopo consiste en cortar tramos de 80 cm de alambre acerado y un metro y medio de pañalina la cual se dobla a la mitad y luego en secciones de tres para finalmente enrollarlo. Atravesar con el alambre por la mitad del rollo de pañalina dejando un extremo de alambre más largo y doblarlo en derredor. Cubrir con papel estraza, luego con papel aluminio y esterilizar a 121°C por 15 minutos.

Una vez preparado el hisopo se lleva a la estación de muestreo ya localizada y definida. Posteriormente se procede a desenvolverlo tomándolo de la punta superior del alambre, mientras que en el extremo inferior se fijan contrapesos para mantenerlo en una posición vertical, colocándolo a 30 cm de la superficie (16) Esto se realiza con el fin de que el hisopo esté contra corriente y atrape la flora microbiana presente en el cuerpo de agua; sin embargo la corriente no debe ser tan fuerte ya que la mecha sería lavada o arrastrada. Por otro lado la colocación del hisopo de Moore debe ser de preferencia al centro del canal o colector en un sitio en el cual la turbulencia asegure una muestra homogénea y representativa, durante un período de uno a tres días o bien 24 horas. (16)

Una vez estandarizado el tiempo y las condiciones, la mecha deberá ser retirada y depositada en frascos que contienen agua peptonada alcalina (APA, medio de transporte, método indirecto a 4°C) que se prepara en el laboratorio y esteriliza, para posteriormente ser colocado en hieleras y llevado al punto de la recolección de la mecha. (9)

Después de la toma de muestra el análisis deberá realizarse en el menor tiempo posible, si esto no se pudiera, se recomienda un lapso de 6 hrs. después de la colecta.

Se hace la aclaración que para que se efectúe este trabajo en campo debe de haber una colaboración previa por el laboratorio para proporcionar lo requerido, tales como medio de transporte, recipientes, material de seguridad, hisopos preparados, con el fin de agilizar el muestreo. (9)

METODOLOGIA DE ANALISIS.

Las muestras son trabajadas por duplicado y recogidas aproximadamente a las 24 horas. Durante el análisis tendrán un tratamiento de temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en un tiempo de 18 a 24 horas dependiendo de la concentración existente en el medio.

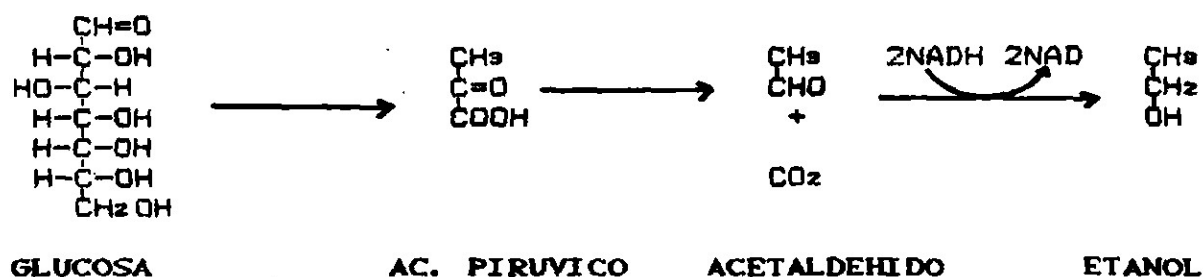
Por cada uno de los análisis, en siembra selectiva se corría un testigo negativo.

Todas las muestras deberán ser trabajadas en condiciones asépticas, para evitar contaminación y a la vez interferencias en su interpretación.

En primer lugar se efectúa la preparación de medios y reactivos para poder llevar a cabo la marcha bacteriológica.

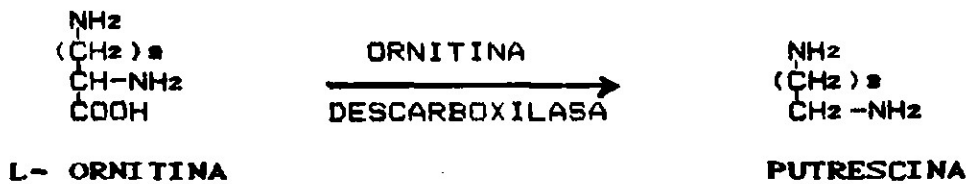
Una vez recibidos los frascos que contienen la muestra en el laboratorio, se procede a ajustar el pH a 9.0 con NaOH 1N. Incubar de 6 a 8 horas a $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ (medio de enriquecimiento).

Sin agitar, tomar la película superficial formada con un asa y sembrar por estria en TCBS, de 18 a 24 horas a $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Si existe crecimiento de colonias típicas (amarillas, pegajosas, planas o poco convexas), sembrar por picadura y estria en TSI por 18 a 42 horas. a 35°C . REACCION: (Fig. 4) (1)

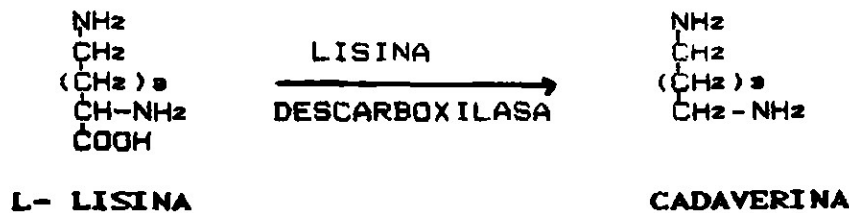


Si TSI es positivo K/A (alcalino-ácido), sin gas ni ácido sulfhídrico, se seleccionan los cultivos con estas características y a partir de TSI se siembra en:

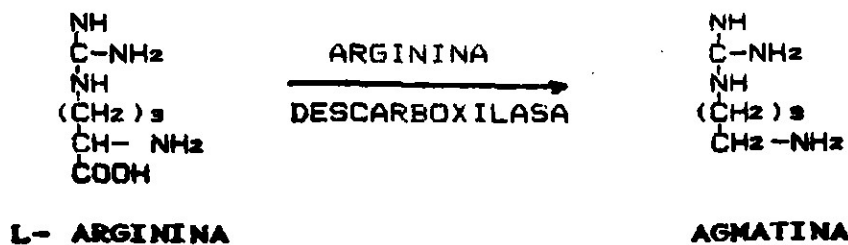
MIO, Por picadura tres cuartas partes de la columna.
 REACCIONES: (Fig. 5) (1)



LIA, por picadura y estria. REACCION: (Fig. 6) (1)

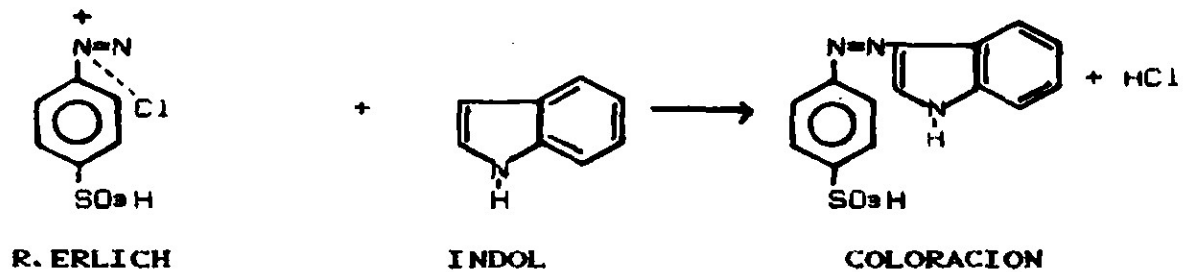


CALDO ARGININA, inocular por resuspensión y sellar con aceite mineral (de 0.5 a 1 ml). REACCION: (Fig. 7) (1)



* Si hay positividad en los 3 tubos se separan de los negativos, desechándose estos.

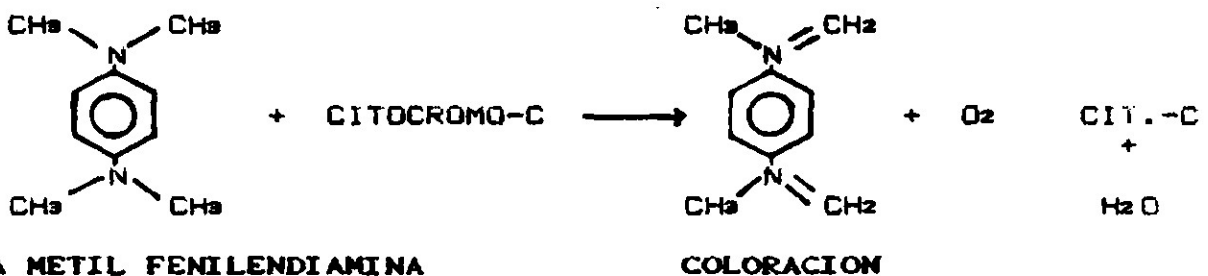
Al tubo que contiene MIO se añaden 3 gotas del Reactivo de Erlich y se verifica el tono rojo en la superficie. Si es negativo se descarta y junto con él, su serie.
 REACCION: (Fig. 8)



Del cultivo LIA se hace la prueba de oxidasa, la cual se efectúa colocándose en un papel filtro 3 gotas del reactivo y dentro de la zona húmeda se extiende una asada de cultivo. (Fig. 8)



REACCION:



Habiéndose corroborado estas pruebas como positivas se procede a las pruebas serológicas (de lo contrario se descartan los tubos).

Del medio ISI se toma una asada del cultivo, se resuspende en una gota de solución salina formalinizada, todo en un portaobjetos, en seguida se coloca una gota de suero polivalente en la parte inferior y se unen con aplicador, se agita en círculo y se deja reposar hasta observar la aglutinación (grumos blancos).

RESULTADOS

Este trabajo comenzó el 7 de Enero de 1992 y se dió por terminado el 10. de Julio del mismo año; la zona asignada para el estudio la zona sur del Estado de Tamaulipas, muestreandose en tres municipios: Altamira, Madero y Tampico. En éstos municipios se definieron 8 puntos de muestreo representativos de las poblaciones y son:

- 1) Hospital Regional de Cd. Madero
- 2) Descarga IMSS, Madero
- 3) Bocatoma COAPA, Tampico.
- 4) Bocatoma, Altamira
- 5) Laguna de Oxidación, Tampico Madero.
- 6) Hospital Regional Civil, Tampico.
- 7) Cárcamo Cascajal.
- 8) Laguna de Oxidación, Altamira.

En periodos de muestreo de cada 8 días.

De esta manera se analizaron 208 muestras, obteniéndose los siguientes resultados:

131 Muestras Vibrio "negativo"
77 Muestras Vibrio "positivo"

De las cuales:

- * 19 muestras fueron "positivas" para V. cholerae no 01
- 2 muestras fueron "positivas" para V. cholerae 01
- 56 muestras fueron identificadas como Vibrio sp.

A continuación se exponen estos resultados en forma gráfica.

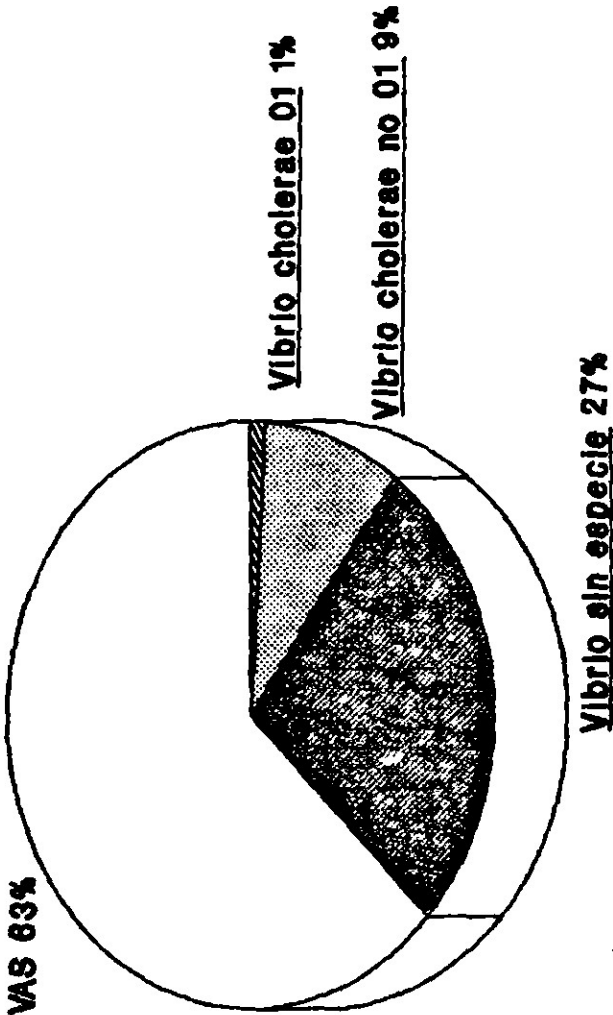
GRAFICA No. 1

RESULTADOS GENERALES OBTENIDOS EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES

De las muestras totales, los resultados se interpretan en por ciento, indicando la proporción de muestras positivas como negativas para el Género Vibrio.

RESULTADOS GENERALES OBTENIDOS EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES (MOSTRADOS EN PORCIENTO)

MUESTRAS NEGATIVAS 63%



Total de Muestras Analizadas: 208

GRAFICA No. 2, 3 Y 4

RESULTADOS SEGUN EL LUGAR DE MUESTREO.

Representación del número de muestras positivas obtenidas en los puntos de muestreo analizados en relación al mes; estos no presentaron resultados constantes por análisis durante los seis meses.

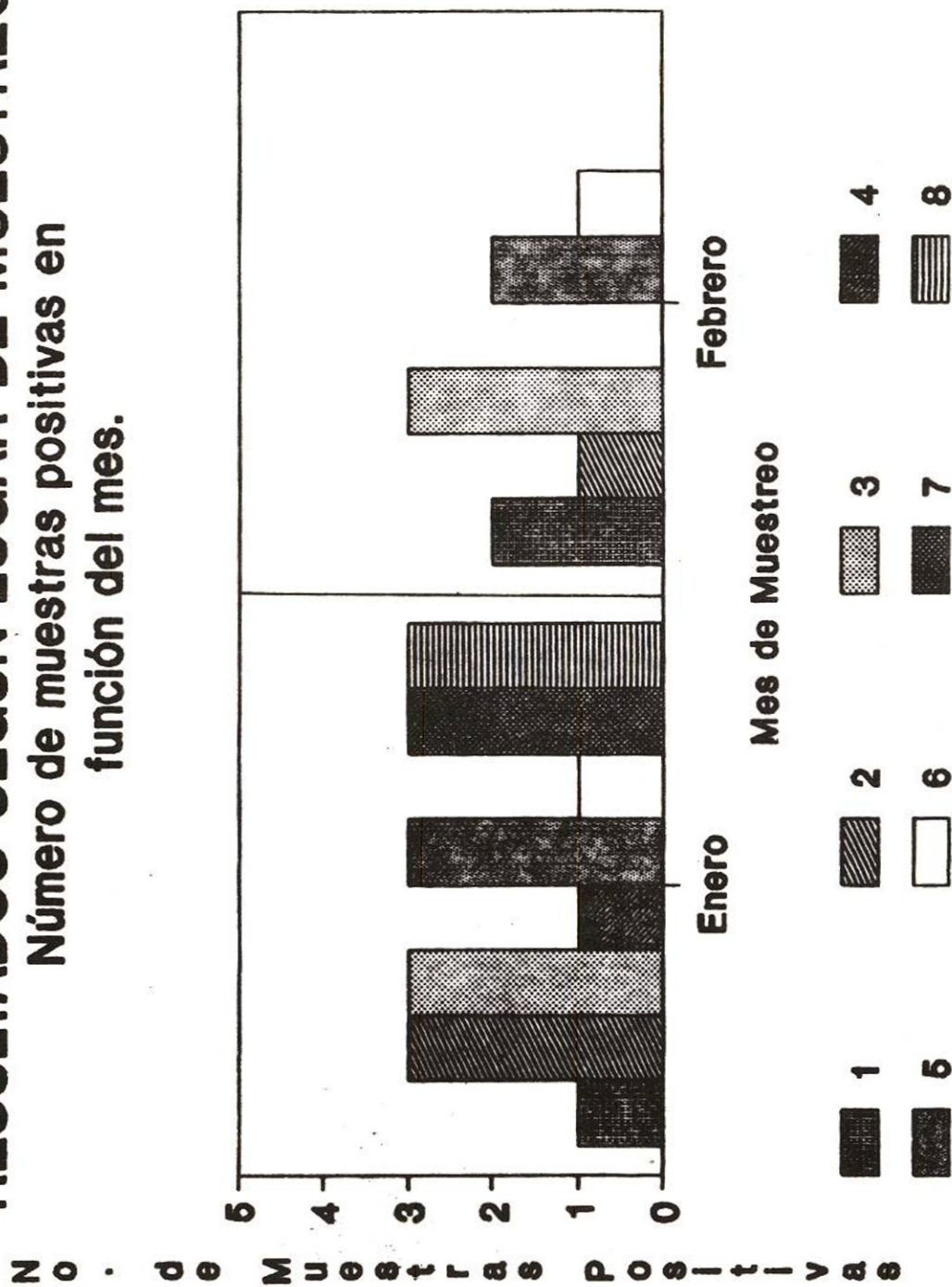
GRAFICA. 2, 3 y 4

NO. DE MUESTRAS POSITIVAS

No. DE AREA	LUGAR DE MUESTREO	MFS.					
		F	F	M	A	M	J
1.-	Hospital Regional Cd. Madero	1	2	2	0	0	0
2.-	Descarga INSS Madero.	3	1	1	2	1	2
3.-	Bocatoma COAPA Tampico.	3	3	3	2	1	0
4.-	Bocatoma Altamira	1	0	1	3	1	4
5.-	Laguna de Oxid. Tampico-Madero	3	2	2	2	2	4
6.-	Hospital Regional Civil, Tampico	1	1	2	3	0	0
7.-	Carramo Colonia Cascajal.	3	0	1	3	1	1
8.-	Laguna de Oxid. Altamira.	3	0	1	2	1	1

RESULTADOS SEGUN LUGAR DE MUESTREO

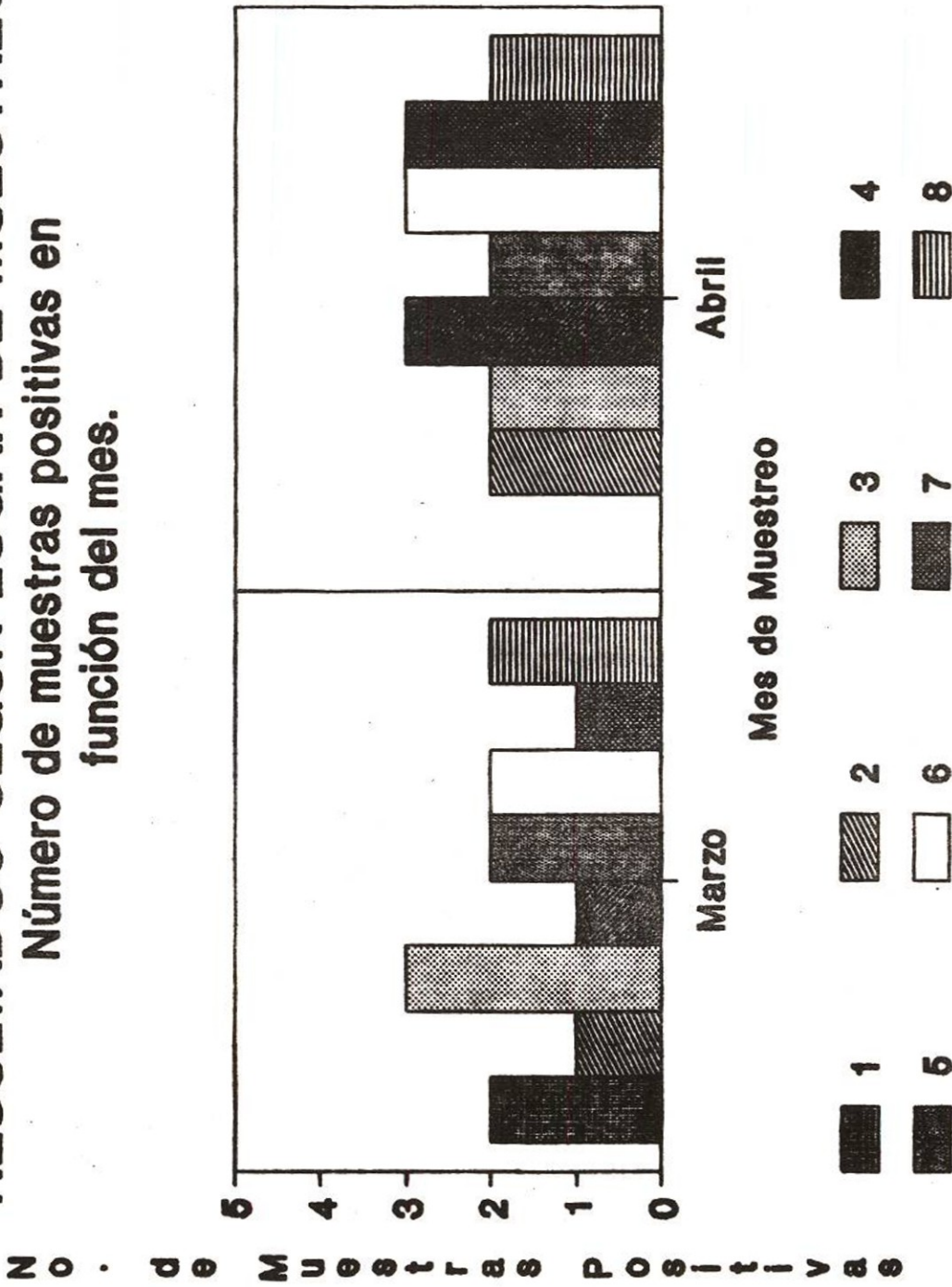
Número de muestras positivas en función del mes.



*Los espacios vacíos indican muestras negativas. Los números corresponden al lugar de muestreo.

RESULTADOS SEGUN LUGAR DE MUESTREO

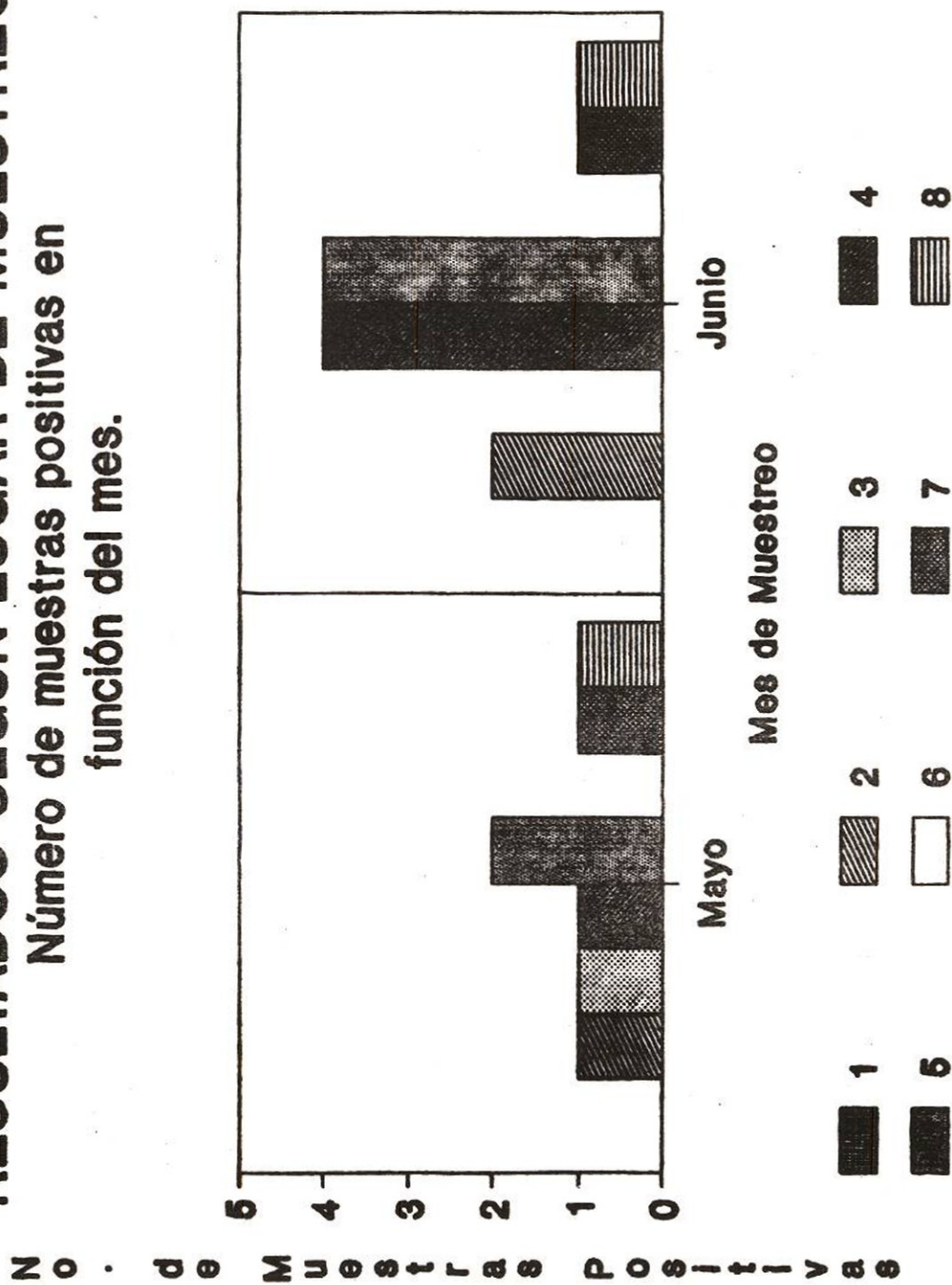
Número de muestras positivas en función del mes.



*Los espacios vacíos indican muestras negativas. Los números corresponden al lugar de muestreo.

RESULTADOS SEGUN LUGAR DE MUESTREO

Número de muestras positivas en función del mes.



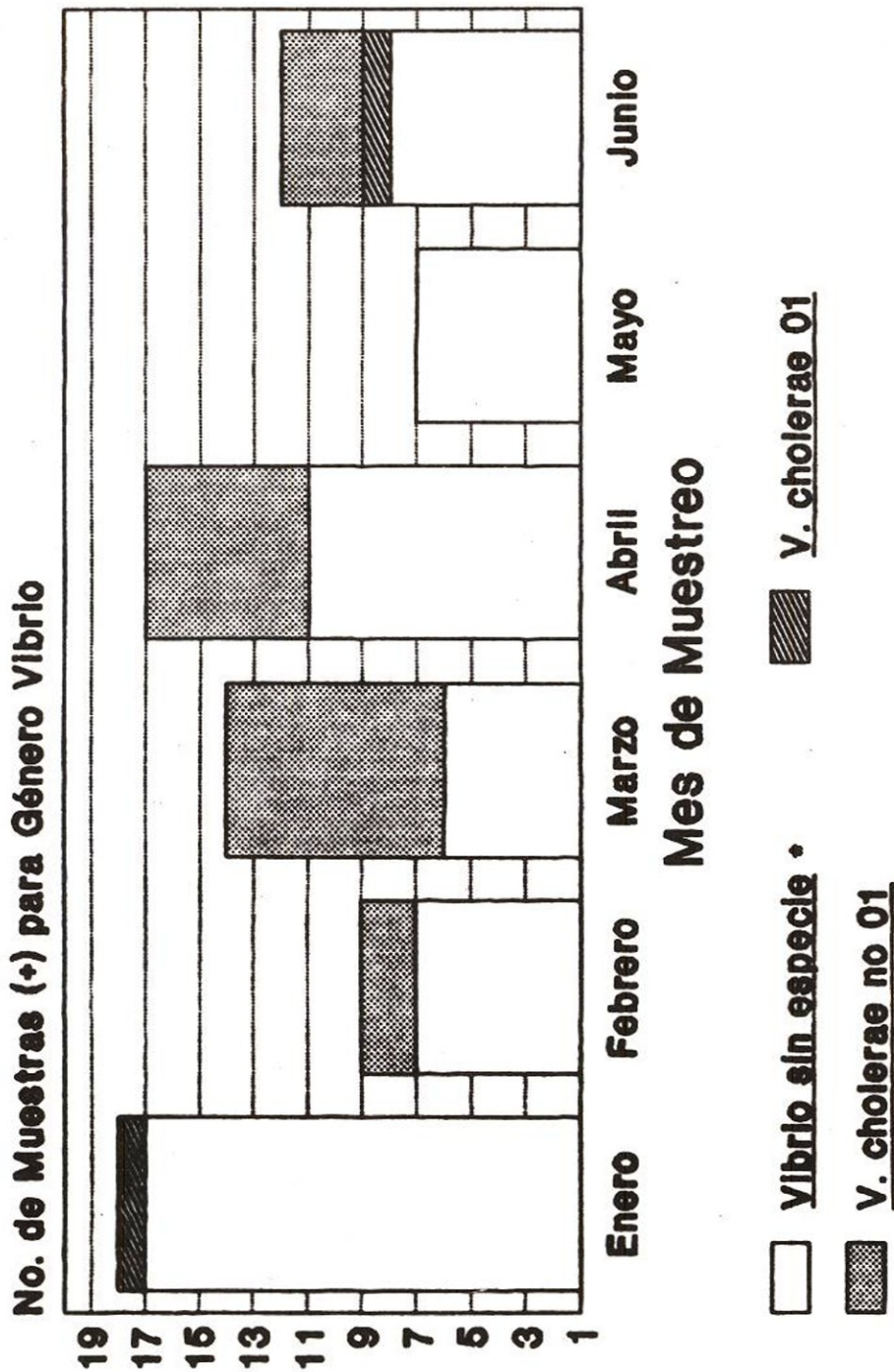
*Los espacios vacíos indican muestras negativas. Los números corresponden al lugar de muestreo.

GRAFICA No. 5

IDENTIFICACION DEL GENERO VIBRIO EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES.

Representa el número de muestras positivas del género *Vibrio* de acuerdo al mes, en todos los puntos de muestreo. Notandose que en los meses de Enero, Febrero y marzo la cantidad de muestras positivas fué mayor y no influyó el mes o temporada.

IDENTIFICACION DEL "GENERO VIBRIO" EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES



• El grupo Vibrio sin especie no incluye los Serogrupos 01 y no 01.

DISCUSION

La información reportada en la bibliografía sobre el Cólera, indica que es una enfermedad de transmisión hídrica y ocurre primariamente a través de la ingestión de agua contaminada y además por alimentos contaminados con heces o vómito de individuos infectados, manipuladores de alimentos y contacto directo con heces del paciente.

Considerando que el medio principal de propagación del Cólera es el agua, en épocas probables de surgimientos de brotes, el monitoreo y control de los principales cursos de aguas superficiales (descargas, ríos, presas, lagos, etc.) deben ser aumentados y merecen cuidadosas investigaciones para asegurar su protección, así como la adopción de medidas preventivas para evitar la propagación de la enfermedad. Por lo tanto será de prioridad la aplicación de principios fundamentales de saneamiento relacionados con la disposición de aguas y garantizar el agua potable a la comunidad.

El seguimiento de V. cholerae 01 en el medio acuático es de suma importancia para localizarle y tomar medidas de emergencia con el fin de eliminar focos de contaminación, realizando rastreos del origen de la contaminación en regiones vulnerables.

La realización de un muestreo sistemático de aquellos componentes ambientales en donde resulta más probable detectar en forma temprana la presencia de V. cholerae 01 en el ambiente, permitirá identificar los factores de riesgo y reforzar de manera inmediata las medidas de control destinadas a interrumpir las vías usuales de transmisión de la enfermedad. (9)

La toma de muestra puede parecer una tarea relativamente simple, mas no sólo es introducir un recipiente en el agua para retirar una muestra, sino que es necesario obtener una muestra representativa y estable del cuerpo de agua muestreado y de las condiciones locales que pueden interferir tanto en la interpretación de los datos como en la propia determinación en el laboratorio.

Así, para asegurar la representatividad y confiabilidad de las muestras y subsidiar la elaboración de informes sobre la calidad del agua, es indispensable la participación de técnicos adecuadamente entrenados y motivados. Estos técnicos precisan observar y anotar cualquier cosa de los fallos y anomalías que pueden interferir en las características de la muestra (olor, color, aspecto extraño, presencia de algas, aceites colorantes, detergentes y material sobrenadante), así como establecer puntos de muestreo alternativos y otros parámetros complementarios para la caracterización de aguas. (16)

Con respecto a los resultados obtenidos por cada uno de los puntos de muestreo, los datos no establecen una relación con respecto al tipo de descarga (Hospital o laguna de oxidación), ni con los meses de muestreo; presentandose en Mayo un número bajo de muestras positivas con respecto a los demás meses; y en la laguna de oxidación Tampico-Madero se obtiene el mayor número de muestras positivas permaneciendo casi constante.

En cuanto al muestreo se refiere, se diseñó un sistema práctico en coordinación con el Laboratorio, tomando en cuenta que la habilitación de éstos programas se realiza cuando comienzan los primeros brotes, por lo que es de opinión que los profesionales de los Laboratorios deben estar equipados para realizar un diagnóstico laboratorial permanente del V. cholerae en muestras de agua para tener una vigilancia epidemiológica exacta y un control sobre la calidad del agua en cuanto a éste tipo de microorganismo patógeno, que tiene gran incidencia en países en vías de desarrollo.

Por otra parte se determinó un porcentaje de V. cholerae 01 muy bajo, pero que se ve incrementado con la suma de V. cholerae no 01 y Vibrion sp.; esto es interesante para tomar en cuenta por que, si nos basamos en los nuevos estudios realizados sobre el V. cholerae, acerca de que el V. cholerae no 01 puede producir una toxina igual de dañina para el organismo como la 01, y que el Vibrion sp provoca cuadros diarreicos no tan agresivos como los anteriores; poniendo en evidencia que es necesario realizar estudios mas intensos y completos sobre esta familia de microorganismos en general y no concretarse solamente al serogrupo que pertenece. Sin embargo, todavía no existen reportes de valor apidemiológico ambiental, de estos estudios y menos en forma aplicativa por sistemas de salud pública.

CONCLUSIONES

La importancia de la metodología de muestreo es evidente, basada en datos demográficos y geográficos, para obtener resultados confiables

Se demostró que la técnica empleada en la identificación proporcionó resultados concretos; fundamentándose en los requerimientos nutricionales esenciales del bacilo. Pero la existencia probable de contaminantes y su manipulación, ocasiona que las reacciones sean confusas, lo que implica recomenzar el análisis para evitar reportar falsos positivos o negativos.

En las aguas residuales es probable identificar y encontrar al género *Vibrio* sin embargo, el de importancia epidemiológica (*V. cholerae* 01), se encontró en menor proporción; lo que no sucedió con el *V. cholerae* no 01 y *vibrio* sp., los cuales se presentaron en mayor cantidad, y que no carecen de importancia a nivel sanitario.

De acuerdo a los puntos de muestreo se obtuvieron resultados intermitentes y no establecieron ninguna relación. Así también, el número de muestras positivas fue muy bajo para el *V. cholerae* 01. y no influyó el mes o temporada, por lo que es necesario mantener un monitoreo constante para detectar *Vibriones*.

BIBLIOGRAFIA

1. A. Harper Harold. "Manual de Química Fisiológica". Editorial El Manual Moderno. 6a. Edición, México, 1978
2. A.H. Bryan, CH. A. Bryan, CH. G. Bryan. "Bacteriología". Editorial CECSA, 8a. Edición, México 1987.
3. A. Freeman Bob Dr. "Tratado de Microbiología de Burrows". Editorial Interamericana. 21a. Edición, México, D.F. 1983
4. Boletín Cólera/Diarrreas Infecciosas. Vol. I. 1991.
Editado por: INDRE Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica.
5. Centro de Información y Actualización de Conocimientos A.C. "Diseño de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales". 1991
Instituto Mexicano de tecnología del Agua.
6. Equihua Lucina, Jiménez Blanca, Ramírez Pedro Saldaña Pilar, Lerdo de Tejada Alicia, Sotomayor Claudia. "Las Enfermedades Diarreicas". Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Coordinación de Tecnología Hidráulica Urbano-Industrial. Subcoordinación de Calidad del Agua. 1a. Edición, 1991.
7. García Ollervides Jesus, Ing., Rico Martínez Mauricio, Ing., García Román Jesus, Profr. "Diseño, Operación y Evaluación de Sistemas Lagunares". CNA. IMTA., México, Octubre 1991.
8. Giono Cerezo Silvia "Manual de Procedimientos para Aislamiento y Caracterización de V. cholerae O1". Publicación Técnica del INDRE No. 10. Laboratorio de Bacteriología Entérica. Departamento de Microbiología. México, D.F.. 1991
9. Gutierrez Eric, García Jesús, Lerdo de Tejada Alicia, Sánchez Javier, Jiménez Blanca. "Organización del Trabajo y Muestreo en Campo". Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Coordinación de Tecnología Hidráulica Urbano-Industrial. Subcoordinación de Calidad del Agua. 1a Edición, 1991.
10. Jawetz Ernest, Dr., L Melnick Joseph Dr., A. Adelberg Edward Dr., "Manual de Microbiología Médica". Editorial El Manual Moderno. 7a. Edición, México 1981
11. Lennette/Balows, Hausler/Shadomy. "Microbiología Clínica". 4a. Edición Editorial Panamericana, 1989.

12. López Cervantes Malaquía, Dr., Sarti Gutiérrez Elsa Dr., López Samano Alejandro, MVZ., González Susana Lic. en Enf. "Vigilancia Epidemiológica Internacional". Colera, Boletín Trimestral. Vol. V, No. 12. Dir. General de Epidemiología. Dr. Jaime Sepúlveda Amor. Sistema Nacional de la Salud. 15 de Abril, 1991.
13. Pelczar/Reid/Chain. "Microbiología". Editorial McGraw Hill. 4a. Edición, México, 1988.
14. Programa Internacional para la Actualización Médica. "Tratado de Medicina Práctica". MEDICINA. 3a. Edición. Patología Infecciosa III.; Marzo, 1992.
15. Sandoval Ana María, Ordóñez Alejandro, Millán Martha. "Identificación y Cuantificación de V. cholerae". Instit. Mexicano de Tecnología del Agua. Coord. de Tecnología Hidráulica Urbano-Industrial. Subcoordinación de Calidad del Agua. 1a. Edición 1991.
16. S. Sánchez Petra, Dr. "Manual de Métodos de Aislamiento e Identificación de V. cholerae en agua". IMTA. Campaña de Tecnología de Saneamiento Ambiental. Organización Panamericana de la Salud. División de Microbiología, CETESB. Sao Paulo, Brasil. 1991
17. Zinser/Joklik/Willett/Amos. "Microbiología." 17a. Edición. Editorial Panamericana, 1983.
18. Zinser/Joklik/Willett/Amos. "Microbiología" 18a. Edición. Editorial Panamericana, 1986.

