

Capítulo 10

INACTIVACIÓN Y RECUPERACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN AGUA DE CONSUMO HUMANO TRATADA CON RADIACIÓN SOLAR

Resumen

Desde hace aproximadamente tres décadas, se ha estudiado el uso de la energía solar como una alternativa para desinfectar el agua en comunidades que no cuentan con servicio de abastecimiento público de agua potable y que por diferentes razones no aplican desinfectantes químicos. En el IMTA, durante 1999 se demostró que la radiación solar es capaz de eliminar niveles de hasta 10^5 microorganismos de origen fecal/100 mL.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar, en una comunidad del estado de Morelos, la efectividad de la desinfección solar para eliminar bacterias indicadoras, enterobacterias, *Vibrio cholerae* y virus, bajo diferentes condiciones de radiación, en agua para consumo humano y en agua recolectada directamente de la fuente de abastecimiento.

El trabajo de campo consistió en determinar la calidad bacteriológica del agua de la fuente de abastecimiento y del agua desinfectada y, en la realización de pruebas de decaimiento y de recrecimiento de bacterias coliformes y *Escherichia coli*. En el laboratorio se determinó: recrecimiento bacteriano; tiempo mínimo de exposición del agua a la radiación solar para eliminar microorganismos de origen fecal y curvas de decaimiento; paralelamente se probaron diversos procedimientos de cultivo en diferentes medios para identificar las bacterias, a fin de asegurar y verificar los resultados.

Tanto en las pruebas de laboratorio como en las pruebas de campo, los resultados bacteriológicos fueron consistentes. Se demostró que el mayor daño a las bacterias lo ejercen las radiaciones y que temperaturas superiores a 45 °C mejoran el efecto desinfectante sobre los microorganismos. Exponer el agua a niveles de radiación no menores de 3000 W-h/m² evita el recrecimiento durante cinco días de almacenamiento. Además, es posible inactivar microorganismos patógenos más resistentes a la radiación solar, como *Salmonella* spp. Otros enteropatógenos estrictos y oportunistas fueron más sensibles. Los resultados del agua desinfectada por las familias de la comunidad variaron ampliamente, pero en general fueron satisfactorios.

Se concluye que la metodología es técnicamente factible y su factibilidad social está limitada por los factores que limitan a otras técnicas de desinfección: usos y costumbres de la comunidad.

Palabras clave: Desinfección, recrecimiento, radiación solar.

Introducción

Cuando la energía solar incide con suficiente intensidad sobre un organismo vivo puede causar daño celular y muerte, en el siglo XIX Downes y Blount reconocieron tales efectos sobre las bacterias. Los rayos ultravioleta, violeta y azules del espectro, tienen un efecto bactericida, en tanto que los verde, amarillos y rojos son menos mortíferos (Margolin, 1997).

Desde hace aproximadamente 30 años, se han realizado diversos trabajos con el objetivo de implementarlos como alternativas efectivas y de bajo costo para desinfectar el agua para consumo humano en situaciones en las que, por diversas razones, no se cuenta con un agua de calidad adecuada, como las que prevalecen en pequeñas comunidades y en situaciones de desastre. La condición para que haya una prevención efectiva de enfermedades gastrointestinales de origen hídrico mediante esta metodología, es que los niveles de radiación promedio sean de al menos 555 W/m^2 (dosis integrada en el rango de longitud de onda de 350 a 450 nm), lo cual corresponde a 5 horas de insolación en verano y en latitud media (Wegelin, *et al.*, 1994). Ésto elimina 3 unidades logarítmicas de *Escherichia coli* y de bacteriófagos $\phi 2$ y rotavirus en órdenes de magnitud semejantes.

En el IMTA, durante 1999, se llevaron a cabo pruebas de desinfección mediante radiación solar, utilizando el efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales (cuyo contenido de coliformes totales es de alrededor de 10^5 NMP/100 mL), agua de la llave estéril inoculada con aproximadamente 10^6 Unidades Formadoras de Placa Viral/100 mL y agua de la llave estéril con 10^3 Unidades Formadoras de Colonia de *Vibrio cholerae*/100 mL (UFC/100 mL). Los resultados fueron alentadores, ya que, utilizando substratos únicos para el cultivo en el laboratorio, no se detectaron organismos viables en el agua tratada (Martín, *et al.*, 1999).

Por lo anterior, la finalidad de este trabajo fue evaluar la recuperación de los microorganismos en el agua almacenada una vez que ésta ha sido desinfectada y, dado que se sabe que la sensibilidad y resistencia de las bacterias ante cualquier desinfectante, depende en gran medida del tipo y de la cepa, y que además estos microorganismos cuentan con estrategias adaptativas y mecanismos de reparación de daño al material genético, fue necesario: a) ampliar la gama de enterobacterias de prueba; b) corroborar su viabilidad mediante el uso de diferentes substratos para la detección en el laboratorio y, c) verificar la capacidad de recuperación que tienen algunas especies bacterianas.

Metodología

Con el objeto de determinar la dosis de exposición mínima a la radiación solar para la total inactivación de diferentes bacterias de prueba, se determinaron curvas de decaimiento exponiendo el agua en botellas de PET transparente o parcialmente pintadas de negro en un concentrador de cuatro paredes (Figura 1), orientado a las 13:00 horas con respecto a la trayectoria del sol (Martín *et al.*, 1999).

Se determinó el tiempo requerido de exposición solar para evitar el recrecimiento de bacterias heterótrofas, coliformes totales, *Salmonella arizonae*, *S. typhi*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* O1 y una mezcla de enterobacterias oportunistas.



Figura 1. Concentrador de energía solar para la desinfección de agua (Martín, *et al.*, 1999).

Los experimentos para determinar la inactivación (curvas de decaimiento o de mortalidad) y recrecimiento de bacterias se realizaron utilizando agua de la planta del IMTA o suspensiones preparadas con cepas de enterobacterias proporcionadas por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE), bajo diferentes condiciones.

Las unidades formadoras de colonias de bacterias heterótrofas por mL (UFC/mL), se determinaron mediante vaciado en placa y bajo condiciones de cultivo estándar. La cuantificación de enterobacterias y *V. cholerae*, se realizó con la técnica de tubos múltiples en medios de enriquecimiento y aislamiento selectivos, e identificación con la técnica miniaturizada API-20E.

En todos los experimentos se evaluó el comportamiento de una muestra, conocida como testigo, la cual consistió en almacenar el agua con los microorganismos de prueba a temperatura ambiente en una botella completamente pintada de negro (PETN OBS). Para evaluar el efecto de la radiación solar bajo distintos aspectos, el agua se expuso en tres diferentes recipientes: una botella transparente (PETT), una botella completamente pintada de negro expuesta al sol (PETN SOL) para medir el efecto de temperatura y, en una botella parcialmente pintada de negro (PET 1/2N) para medir el efecto combinado.

Cabe aclarar que los niveles bacterianos que se probaron en los diferentes experimentos controlados difícilmente podrán encontrarse en fuentes de abastecimiento destinadas al uso y consumo humano.

Resultados

Decaimiento de coliformes totales, *Escherichia coli*, *Salmonella arizonae*, *S. typhi*, *Vibrio cholerae* y bacterias heterótrofas

La prueba se llevó a cabo con el efluente de la planta del IMTA, en concentrador fijo, plano, orientado a las 13:00 horas, con un tiempo de exposición de cuatro horas durante un día soleado.

Los resultados de laboratorio mostraron que con una dosis acumulada de radiación de alrededor de 3,241.15 W-h/m², esto es, aproximadamente 975 W/m² de radiación promedio, se logra eliminar 10⁵ coliformes totales/100 mL (Figura 2), 10⁴ *E. coli*/100 mL (Figura 3), y cuatro unidades logarítmicas de magnitud de bacterias heterótrofas (Figura 4).

Figura 2. Curva de decaimiento de coliformes totales.

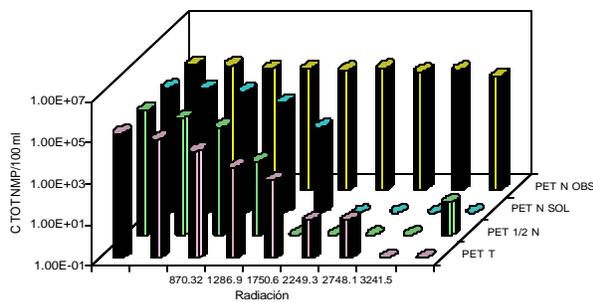


Figura 3. Curva de decaimiento de *Escherichia coli*.

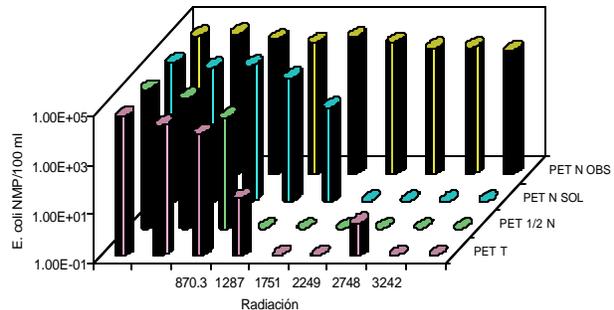
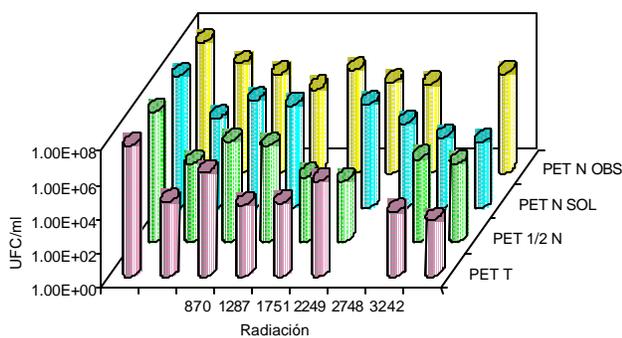


Figura 4. Curva de decaimiento de bacterias heterótrofas



En el caso de las bacterias heterótrofas mesofílicas aeróbicas (cuenta estándar), no se logró la eliminación total, debido a que en este grupo se incluye flora nativa o normal del agua, que tolera siempre altas dosis de radiación, así como elevaciones de la temperatura (Figura 4).

En las curvas se observa que la inactivación ocurre principalmente debido a la radiación solar (PETT) y que la combinación de temperatura y calor (PET ½N), permite eliminar a los microorganismos empleando un menor tiempo de exposición, la temperatura tiene por sí sola un menor efecto (PET NSOL).

En el testigo (PET NOBS), se vio que la concentración de cada uno de los grupos bacterianos presenta poca variabilidad, lo que significa que la muerte se debió a la radiación y la temperatura.

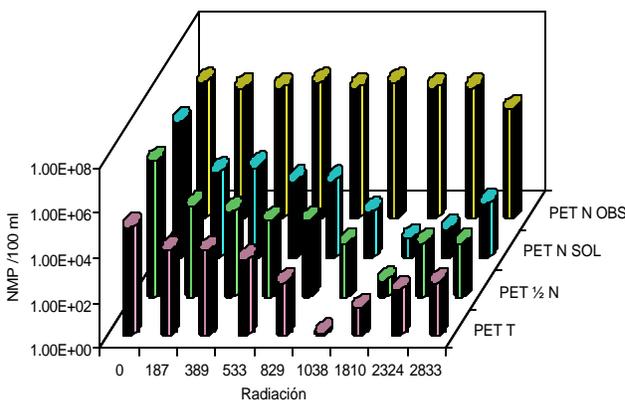


Figura 5. Curva de decaimiento de *Salmonella arizonae* con una dosis de radiación de promedio de 935.9 W/m² bacterias

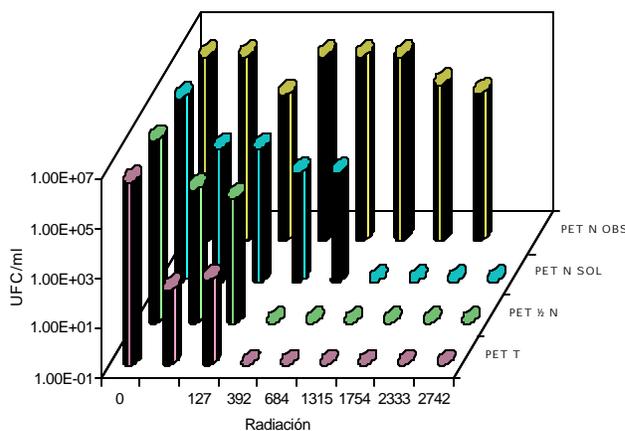


Figura 6. Curva de decaimiento de *Yersenia spp*, *Erwinella americana* y *Pasteurella spp*.

Con 4 h de exposición en un día seminublado, y una dosis total de radiación acumulada de 2790.5 W-h/m², en el PET 1/2N se logró la eliminación de coliformes totales, en donde se alcanzaron temperaturas superiores a 50 °C. La *E. coli* mostró siempre ser más sensible, ya que tanto en el PET 1/2N como en el PET T, se logró inactivar a todos los microorganismos.

Con una dosis total de radiación acumulada de 2832.66 W-h/m², 935.9 Wh/m² (cuatro horas), la *Salmonella arizonae* (Figura 5) se mostró más tolerante que la *E. coli* y que algunos coliformes totales, ya que incluso en el PET 1/2N, con temperaturas superiores a 50 °C, la bacteria sobrevivió, aunque en concentraciones menores.

Lo anterior no ocurre con otras bacterias como la *Yersinia spp*, la *Erwinella americana* y la *Pasteurella spp*, ya que éstas se inactivaron en los PET T y PET 1/2N con una dosis acumulada menor, 392 W-h/m² (30 minutos de exposición), (Figura 6). Excepto para la *Salmonella*, esta sensibilidad a la radiación solar puede considerarse semejante para todas las enterobacterias patógenas.

Para la *Salmonella typhi*, agente causal de la fiebre tifoidea, se requieren al menos 4 horas para su inactivación en un día soleado (Figura 7).

El comportamiento de esta especie es consistente con el de *S. arizonae* (Figura 5), la recuperación bacteriana soporta la necesidad de verificar la presencia de microorganismos durante el almacenamiento.

Aún en un día levemente nublado, la *V. cholerae* O1 Inaba mostró mayor sensibilidad tanto a la radiación solar como a la temperatura, (Figura 8). La inactivación ocurre a los 45 minutos y no hubo recuperación

posterior. En un día soleado, se inactiva completamente en 15 minutos en el PET T y en 30 minutos en el PET 1/2N.

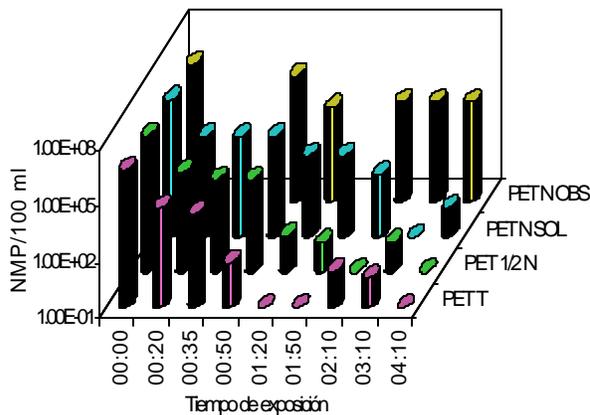


Figura 7. Curva de decaimiento de *Salmonella thypi* en día soleado.

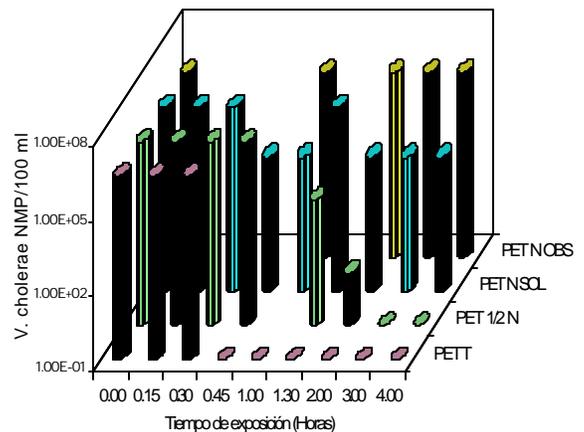


Figura 8. Curva de decaimiento de *Vibrio cholerae 01 Inaba toxigénico*

Recrecimiento de coliformes totales, *Escherichia coli*, *Salmonella arizonae*, *S. typhi*, *Vibrio cholerae*, bacterias heterótrofas y enterobacterias

Debido a que la *Salmonella* mostró la capacidad de recuperarse durante el período de exposición a la radiación solar, se consideró necesario verificar el comportamiento de los diferentes grupos bacterianos de prueba durante el almacenamiento del agua, una vez que ha sido expuesta a la radiación solar durante 3 y 6 horas, en un día soleado y nublado, utilizando el mismo tipo de concentrador manteniéndolo fijo y orientándolo continuamente de acuerdo con la trayectoria del sol (13:00 horas), condiciones utilizadas por Martín *et al*, 1999.

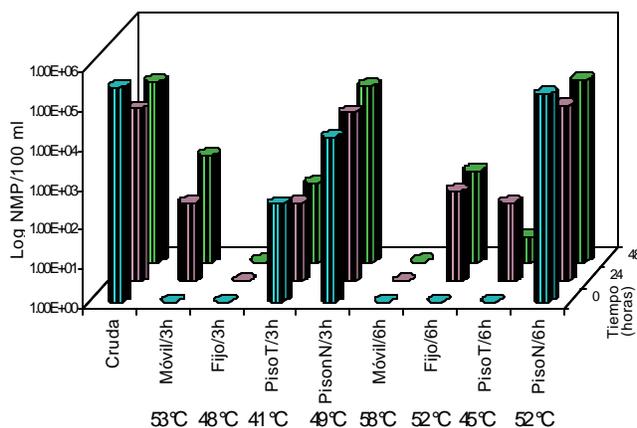
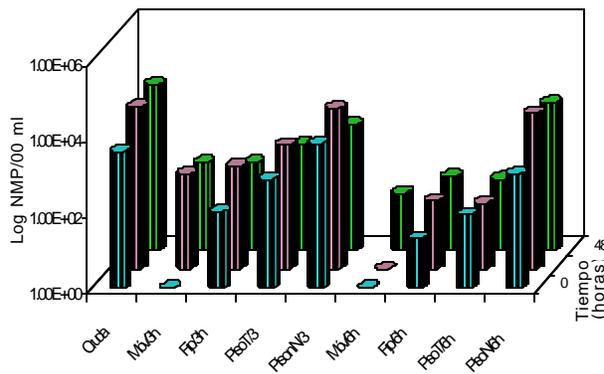


Figura 9. Inactivación y recrecimiento de coliformes totales.

Los coliformes totales pueden ser prácticamente inactivados durante un período de 3 y 6 horas de exposición (Figura 9), en combinación con una temperatura de al menos 45 °C, para el caso de las botellas parcialmente pintadas de negro (PET ½N) y transparentes (PETT), expuestas en concentradores con movimiento (temperaturas de 53 y 58°C) y fijos (48 y 52 °C).

El hecho de que en el agua tratada en botella transparente y colocada en el piso (PETT) durante tres horas a una temperatura de 41 °C y el resultado observado en la botella pintada de negro (PET ½N), en la que no hay incidencia de luz pero existe incremento en la temperatura (49 °C), se elimine el 99.896 % y el 94.71 % de los microorganismos, confirma que la inactivación de microorganismos se debe principalmente a las radiaciones y que el incremento en la temperatura mejora la efectividad del proceso de desinfección.

Lo anterior es soportado también por los niveles de coliformes totales detectados a las 24 y 48 horas de almacenamiento de las muestras tratadas. En las botellas transparentes expuestas durante 6 horas en el concentrador móvil no se detectó recuperación de bacterias y, en las muestras colocadas en el piso, se observó un incremento de dos unidades logarítmicas a las 24 horas y un decaimiento de hasta 4 organismos/100mL a las 48 horas. En general, los mayores recrecimientos se observaron en las botellas expuestas durante 3 horas y/o en posición fija, bajo estas condiciones, los resultados no se consideran satisfactorios (Figura 9).



En días nublados, el recrecimiento de coliformes totales se presentó en todas las botellas sometidas a radiación solar durante 6 horas en condiciones fijas u orientando el concentrador de acuerdo a la trayectoria del sol (Figura 10). Además la temperatura fue en términos generales baja (39 a 47 °C) y no pudo haber efecto sinérgico, lo que corrobora que el principal factor para la desinfección del agua es la radiación.

Figura 10. Recrecimiento de coliformes totales

Para la *E. coli*, fue más evidente el efecto de las radiaciones solares sobre el material genético, dado que después de 24 y 48 horas de almacenamiento, se observó recuperación únicamente en las botellas de PET 1/2N expuestas durante 3 y 6 horas en posición fija.

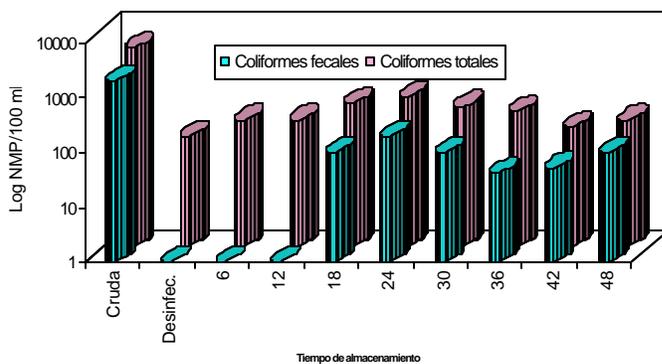


Figura 11. Recrecimiento de coliformes totales y *E. Coli*.

En un seguimiento más detallado que se hizo sobre el recrecimiento en la misma agua tratada bajo las condiciones menos favorables (PETT, en posición fija y 3 horas de exposición) se observó que la *E. coli* requiere mayor tiempo para recuperarse que los coliformes totales (Figura 11).

La población de coliformes totales decayó una unidad logarítmica después de las tres horas de exposición, se duplica a seis horas de almacenamiento, a las 18 horas vuelve a duplicarse, el nivel máximo se alcanza a las 24 horas y a partir de este tiempo se observaron ligeros decrementos (Figura 11). La *E. coli* fue detectada hasta las 18 horas de almacenamiento y en los tiempos subsecuentes presentó un comportamiento similar al de los coliformes totales.

En términos de inactivación de coliformes totales y de *E. coli*, los resultados son consistentes con los obtenidos en las pruebas anteriores. El comportamiento de la *E. coli* fue semejante, pero es claro que la capacidad de recuperación en las botellas transparentes fue menor que para los coliformes, lo que confirma que son las radiaciones las que ejercen mayor efecto letal. (Figuras 12 y 13).

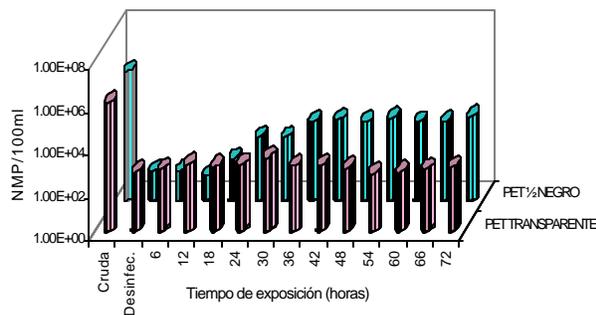


Figura. 12 Recrecimiento de coliformes totales

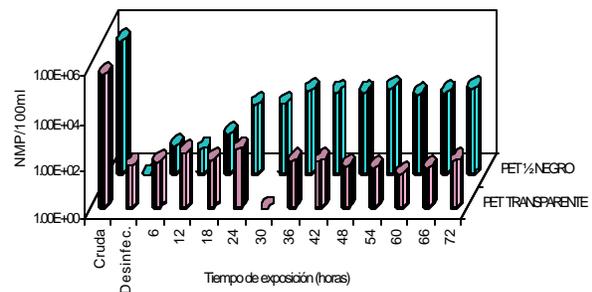


Figura. 13. Recrecimiento de Escherichia coli

Con relación al recrecimiento de las bacterias heterótrofas, se llevó a cabo una caracterización de este grupo, utilizando diferentes medios de cultivo para el aislamiento y la prueba miniaturizada API-20E para la identificación. De los resultados obtenidos las *Pseudomonas*, la *Moraxella* y la *Bordetella* fueron los géneros que persistieron mejor a través del tiempo de almacenamiento, ya que consistentemente con los resultados obtenidos en las pruebas de decaimiento, no fueron eliminadas durante el proceso de desinfección.

Es importante señalar que ninguna de las bacterias aisladas en esta prueba son patógenas estrictas, por lo que para que se presente un problema de salud, el individuo deberá ser susceptible debido a problemas de inmunodeficiencia o inmunocompromiso, por cirugía, o deficiencias en la nutrición; sin embargo, su presencia de alguna manera indica la calidad sanitaria del agua.

De particular importancia son las especies *Citrobacter freundii* y *Pseudomonas spp*, las cuales parecen persistir por largos períodos de tiempo. La *Vibrio fluvialis* parece no tener una capacidad alta de recuperación, bajo condiciones en las que debe competir con otros microorganismos.

Cuando la *V. cholerae* O1 Inaba, en niveles de 10^5 NMP/100 mL, se expuso a dosis de radiación solar superiores a los 3000 W-h/m^2 (día soleado), los vibriones fueron inactivados y perdieron la capacidad de recuperarse, aún después de 48 horas de almacenamiento.

En un día seminublado, aunque después del tiempo de exposición a la radiación solar no se detectaron vibriones, a las 24 h se observó recrecimiento en el PETT (76 NMP/100 mL) y en el PET 1/2N (1 NMP/100 mL), ya que a las 48 horas había 7 y 20 NMP/100 mL. De manera similar al comportamiento que tienen las coliformes fecales y la *E. coli*, a través del tiempo las bacterias contenidas en los PET 1/2N se recuperan mejor que las presentes en los PETT.

Las *S. arizonae* y *S. typhi* mostraron siempre una mayor tolerancia a la radiación solar, ya que además de que se requiere un mayor tiempo para inactivarlas, estos microorganismos fueron capaces de recrecer durante las primeras 24 y 48 horas de almacenamiento del agua, después de que se habían irradiado durante un periodo de tiempo de 3 a 4 horas en condiciones normales de manejo en campo (concentrador fijo, orientado a las 13:00 horas).

Aplicación de la metodología de desinfección solar de agua para consumo humano en una comunidad

El método de desinfección con radiación solar se aplicó en la comunidad de Los Dormidos ubicada en el municipio de Tlaquiltenango, Mor. Esta comunidad se seleccionó en coordinación con la Jurisdicción Sanitaria No. II de la SSA, ubicada en Zacatepec.

La comunidad se encuentra alejada y el tránsito de vehículos a través de sus vías de acceso tiende a dificultarse en la temporada de lluvias. Esta localidad está conformada por 14 familias. De acuerdo con varias de las mujeres del lugar, los

problemas de salud más graves son las infecciones respiratorias, dolor de huesos y diarreas. Con cierta periodicidad son visitados por personal de la jurisdicción de salud.



El agua de abastecimiento procede de un manantial relativamente protegido (Figura 14), pues alrededor de él es posible encontrar excretas de animales, lo que provoca que los recipientes con los que se extrae el agua sean una potencial fuente de contaminación. Durante el período de visitas se observó que el sitio había sido aseado, se dice que la lavan con cepillo o escobas y sustancias que contienen cloro. No obstante, la gente prefiere el agua directa del manantial y rechaza el sabor del cloro. Tampoco les gusta el agua hervida porque consideran que debido a este proceso cambia el sabor; por otro lado, la gente cocina con leña, así que hervir el agua representa trabajo adicional para las mujeres.

Figura. 14. Fuente de abastecimiento de la comunidad “Los Dormidos”.

El manantial está conectado a unos tanques a cielo abierto, en los cuales se lava la ropa y beben agua los animales. Como consecuencia de los cambios en los niveles de agua, suele mezclarse el agua de los tres recipientes y ello puede constituir también un foco de contaminación.

Las viviendas no se encuentran en buenas condiciones y se observan excretas de animales en prácticamente todo el terreno aledaño a las casas. Solamente una vivienda cuenta con letrina y, a pesar de ello, no presenta las mejores condiciones para vivir. Además, la población defeca al aire libre y parte de la basura que generan la queman en sus solares, la restante la tiran a las cañadas o simplemente se encuentra tirada sobre el terreno.

Calidad bacteriológicas del agua en la fuente de abastecimiento

En el hisopo que se sembró en la fuente de abastecimiento de la comunidad no se detectaron patógenos estrictos. Las especies detectadas en la fuente son patógenos oportunistas que llegan a través de las excretas de humanos y de animales de sangre caliente. Dichos microorganismos se enlistan a continuación (Tabla 1).

Tabla 1. Bacterias aisladas en la fuente de abastecimiento de la comunidad “Los Dormidos”

| | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| <i>Aeromonas hydrofila gr</i> | <i>Klebsiella terrigena</i> | <i>Enterobacter sakazakii</i> |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Pseudomonas fluo./pútida</i> | <i>Enterobacter cloacae</i> |
| <i>Klebsiella ornithinolytica</i> | <i>Salmonella spp</i> | <i>Chryseomonas luteola</i> |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | |

Los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia*, se encuentran dentro del grupo de los coliformes, de tal manera que no es raro que se hayan aislado. El análisis de diversos parámetros fisicoquímicos del agua no evidenció ningún tipo de problema, motivo por el cual se decidió que la aplicación de esta metodología de desinfección es técnicamente factible.

Se instalaron dos tipos de concentradores solares diseñados por Martín, *et al.*, 1999, uno con capacidad para desinfectar tres botellas de dos litros (*Figura 1*) y otro para desinfectar ocho (*Figura 15*). Se efectuaron curvas de decaimiento y recrecimiento con el agua de la fuente de abastecimiento.



Figura. 15. Concentrador solar para desinfectar agua en 8 botellas.

Los resultados fueron muy variados, en algunas ocasiones las muestras no presentaron contaminación y, en otras, hubo inactivación menor a una unidad logarítmica de magnitud, posiblemente el agua no se expuso al sol por al menos tres horas; no obstante, en todos los casos, la calidad bacteriológica del agua desinfectada fue mejor que la del agua cruda.

En el concentrador para ocho botellas no se obtuvo la misma eficiencia debido a que la incidencia de luz es diferente para cada una de ellas, por lo cual no se logró inactivar a la población bacteriana en su totalidad. Parte del éxito de esa prueba fue que la concentración de bacterias estuvo en el orden de $10^4/100$ mL de coliformes totales y $10^2/100$ mL de coliformes fecales (*Escherichia coli*).

La prueba de decaimiento, en un día no muy soleado y sin que las botellas se expusieran a la radiación de mayor intensidad, con una exposición de 2 horas 10 minutos, se eliminaron coliformes totales en el orden de $10^3/100$ mL. En el PET ½N la cuenta final fue cero y en el PET T fue de 1 coliforme/100 ml (*Figura 16*). La *Escherichia coli* se inactivó en un menor tiempo tanto en el PET ½N como en el PET T (*Figura 17*). En ambos casos los resultados fueron semejantes a los obtenidos en las pruebas controladas que se realizaron con el efluente de la planta de tratamiento del IMTA.

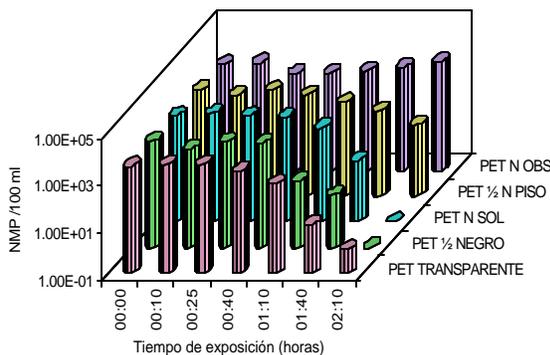


Figura. 16. Decaimiento de coliformes totales de la fuente de abastecimiento en “Los Dormidos”

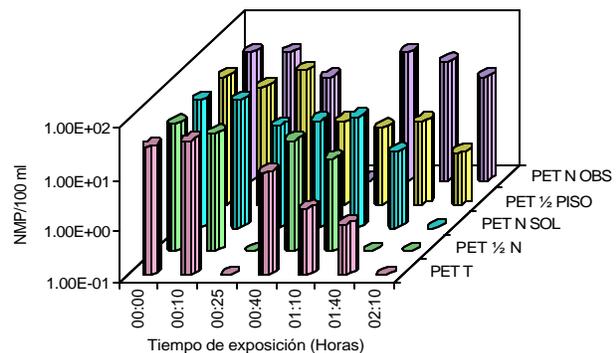


Figura. 17. Decaimiento de *Escherichia coli* de la fuente de abastecimiento en “Los Dormidos”

El mismo día se obtuvo una botella que había sido desinfectada en el concentrador grande, se dijo que el agua había permanecido desde temprano hasta la mañana del día siguiente, en ésta no hubo recrecimiento aún después de 72 horas de almacenamiento.

Partiendo de los resultados de decaimiento, se llevó a cabo una prueba controlada en la comunidad con el objeto de verificar el recrecimiento de coliformes totales y de *Escherichia coli*. Así, las botellas se expusieron durante 2 horas 10 minutos en un día nublado. Excepto en el PET ½N, los coliformes no se eliminaron por completo, motivo por el cual la población bacteriana se mantuvo a través del tiempo de almacenamiento (*Figura 18*), la *E. coli* presentó un pequeño recrecimiento a las 24 y 30 horas en el PET ½N (*Figura 19*).

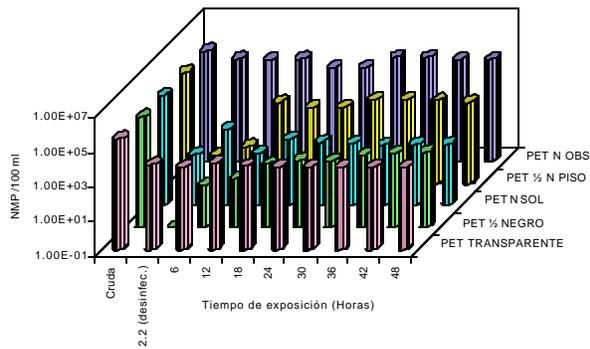


Figura 18. Crecimiento de coliformes totales en agua de la fuente de “Los Dormidos”.

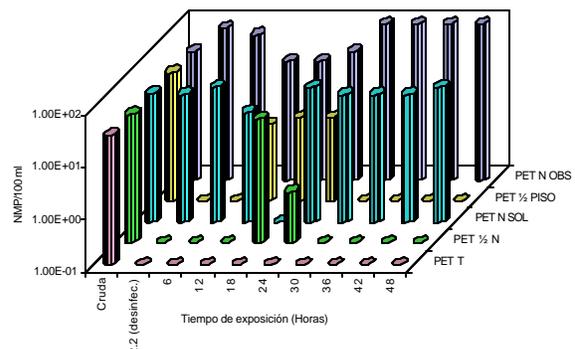


Figura 19. Recrecimiento de *Escherichia coli* en agua de la fuente de “Los Dormidos”.

En las pruebas realizadas durante días soleados, no se detectó recrecimiento en el agua desinfectada (ni en los PET T, ni en los PET 1/2 N), lo cual es consistente con lo obtenido en las pruebas realizadas con el efluente de la planta de tratamiento del IMTA.

Los resultados muestran que el método es técnicamente factible, que mejora la calidad bacteriológica del agua en términos de la eliminación de bacterias de origen fecal y con esto puede contribuir a abatir la incidencia de diarreas bacterianas, pero no se obtiene agua estéril o completamente libre de microorganismos, por lo que es mejor exponer el agua durante toda la mañana a las radiaciones, esto asegura que los patógenos, incluidos los del género *Salmonella*, se inactiven.

Con las pruebas realizadas en el IMTA y en la comunidad, se puede concluir que la muerte de los microorganismos durante la exposición a la luz solar por tiempo suficientemente prolongado, se debe en gran medida a que las radiaciones UV en el rango de 295 a 400 nm, que son las que alcanzan la superficie terrestre, tienen un efecto letal y mutagénico al provocar cambios químicos en las moléculas absorbentes, de modo que aparecen moléculas alteradas denominadas genéricamente fotoproductos. Los fotoproductos originan la inactivación de las macromoléculas, aunque el ADN dispone de mecanismos para disminuir o eliminar estas modificaciones potencialmente dañinas.

Además de la radiación UV, la luz visible de fuerte intensidad (por ejemplo exposición a pleno sol) es capaz de matar a las bacterias debido a que ciertas moléculas de éstas (riboflavinas, porfirinas, citocromos) absorben la energía de los cuantos y se excitan durante 10^{-6} - 10^{-8} s, tras lo cual reemiten la energía a otras moléculas originando fotooxidaciones en residuos His y Trp de las proteínas y en las bases de los ácidos nucleicos. También se puede generar oxígeno singlete (1O_2) que es un radical muy reactivo, oxidante, que puede destruir la célula con rapidez.

Sin embargo, cuando la exposición no es suficiente y la cantidad de microorganismos es muy alta, no se logra que el proceso de inactivación sea 100% efectivo.

Debido al carácter esencial del ADN como molécula central informativa de los seres vivos, la evolución ha desarrollado una serie de mecanismos capacitados para enfrentar los posibles daños ocasionados por la luz ultravioleta. Los principales mecanismos de reparación en bacterias se pueden agrupar en:

1) Mecanismos prerreplicativos:

- Reparación fotoenzimática o fotorreactivación, que permite la reparación directa del daño. La enzima denominada *fotoliasa* o *enzima fotorreactivante*, que muchas bacterias sintetizan de manera constitutiva, repara directamente los dímeros de pirimidina, en una reacción que requiere luz visible de 300 a 500 nm de longitud de onda (luz azul).
- Reparación por escisión y resíntesis. La distorsión en la doble hélice provocada por el dímero es reconocida por un complejo proteico, conocido como *correndonucleasa* o *escinuleasa*. El daño se repara indirectamente

eliminando las bases dañadas (se escinden) formando parte de un oligonucleótido, y el hueco resultante se rellena por resíntesis reparadora de ADN.

2) Mecanismos posreplicativos

- Reparación por recombinación. Cuando la ADN-polimerasa-III bacteriana, que es la enzima que normalmente replica el cromosoma, se encuentra en la cadena que utiliza como molde un dímero de pirimidina, deja de replicar esa zona y salta unos 1000 nucleótidos más adelante para seguir la replicación recurriendo a la proteína *RecA*, que verifica una recombinación con la hebra homóloga intacta.
- Reparación inducible de emergencia (SOS). Cuando los sistemas de reparación no son suficientes, se pone en marcha un nuevo mecanismo que es inducible y que se califica como de emergencia, ya que tiende a salvaguardar la viabilidad de la célula, a costa de acumular mutaciones con alta frecuencia, por lo que también se le llama propenso a error.

De lo anterior, se asume que después de la exposición del agua a la radiación solar, el recrecimiento de las bacterias de origen fecal, ya sea indicadoras o patógenas, puede deberse a que en las células existen mecanismos complementarios de reparación de daño.

Por otro lado, si bien mediante esta tecnología es prácticamente imposible obtener un agua que cumpla siempre con los límites máximos permisibles de coliformes totales y fecales establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA-1-1994 de agua para uso y consumo humano, ausencia o no detectables para ambos grupos de bacterias indicadoras de contaminación, es claro que el agua que ingerirían las comunidades tendrá una mejor calidad bacteriológica que el agua cruda.

Recomendaciones en la aplicación de la metodología de desinfección de agua mediante radiación solar en comunidades rurales

Con base en los resultados de laboratorio y de campo (curvas de decaimiento y recrecimiento de bacterias indicadoras, bacterias heterótrofas mesofílicas aerobias, enterobacterias patógenas oportunistas y estrictas, entre las que se encuentran *Vibrio cholerae* y *Salmonella*), se plantea que esta metodología tiene los alcances y limitaciones presentados en los párrafos subsecuentes.

Una limitación importante es que no será posible erradicar las diarreas en una comunidad, pues para esto debe haber otras actividades de saneamiento básico, como son la disposición adecuada de excretas y basura, cambios en los hábitos higiénicos, y en general, educación para la salud.

La metodología es técnicamente factible y puede aplicarse a comunidades que carecen de servicio de agua desinfectada o que no aceptan los métodos químicos de desinfección, pero siempre será necesario el trabajo social respetuoso, con seguimiento y evaluación periódica de la aplicación.

Para que haya buenos resultados, es decir que se obtenga agua bacteriológicamente segura, es necesario que el concentrador se coloque orientado a la 1:00 PM, con esto se trata de que incida la mayor cantidad de radiación posible.

Como en el campo es difícil tener control estricto del tiempo de exposición, es necesario pedir a los usuarios que coloquen las botellas temprano (por la mañana) y que las retiren hasta que anochezca, o intercambiarlas al siguiente día, esto permitirá que el agua se serene y esté fría cuando se consuma.

Las pruebas de recrecimiento demuestran que para mayor seguridad, el agua no debe almacenarse por más de 24 horas después de la desinfección. Esto impide principalmente la proliferación de bacterias heterótrofas.

También se debe sugerir a los usuarios que mantengan el concentrador limpio, libre de polvo y en buen estado, para evitar en la medida de lo posible, obstáculos para la incidencia de radiación a las botellas.

Aunque las botellas pintadas parcialmente de negro proporcionan en general mejores resultados, si el usuario por razones operativas o de preferencias no desea utilizarlas, puede hacer uso de botellas totalmente transparentes, sólo si

éstas se exponen durante toda la mañana a la radiación solar y se está seguro que el agua se calentó por arriba de la temperatura ambiente.

No colocar botellas sobre otras botellas, ni pasar el agua a otros recipientes. Vaciar la que se beberá en un vaso, o bien beber directamente en la botella.

En días nublados y lluviosos, es mejor usar otro método de desinfección.

Es importante que el agua de la fuente no presente alta turbiedad y contenido de materia orgánica, puesto que el material particulado y disuelto absorben la radiación solar.

En la aplicación de esta metodología de desinfección en comunidades, es necesario contar con una buena caracterización bacteriológica de la fuente, para corroborar que no existen enterobacterias tales como *Salmonella typhi* y *Salmonella arizonae*, que en pruebas de laboratorio han mostrado mayor tolerancia que otras bacterias fecales.

Debido a que no está probado el efecto de las radiaciones en enterovirus ni en quistes de protozoarios parásitos, es necesario continuar el trabajo en este sentido a fin de determinar las condiciones que permitan su inactivación.

Conclusiones

La metodología de desinfección mediante radiación solar es técnicamente factible en pequeñas comunidades y en comunidades rurales, con las limitaciones que tiene cualquier otro método de desinfección debido a los usos y costumbres de la comunidad.

En la desinfección de agua mediante energía solar, el efecto letal sobre los microorganismos se debe básicamente a la radiación.

Temperaturas superiores a los 45 °C mejoran el efecto de inactivación sobre los microorganismos, tanto en laboratorio como en campo.

El grupo bacteriano menos sensible a las radiaciones solares son las bacterias heterótrofas (no son patógenas, son bacterias que se encuentran de manera natural en el agua), con excepción de las del género *Salmonella*, otras enterobacterias y en particular las patógenas y patógenas oportunistas son más sensibles.

Sin excepción, las bacterias de prueba mostraron tener mecanismos de reparación de daño que les permiten sobrevivir y multiplicarse, aún en condiciones de inanición, si las dosis de radiación son menores a 3200 Wh/m². 3000 Wh/m² corresponden a aproximadamente 4 horas de exposición a una radiación promedio de 700 W/m². Un día soleado presenta una radiación promedio entre 700 y 800 W/m² alrededor del medio día.

Con esta metodología no se logrará abatir totalmente la incidencia de diarreas, pero sí disminuirán sensiblemente.

Recomendaciones finales

Para este procedimiento de desinfección, el género *Salmonella* podría ser un buen indicador de la efectividad; sin embargo, su determinación es costosa, por lo que es mejor utilizar coliformes totales como indicador y no a la *Escherichia coli* que es más sensible a la radiación.

Es necesario probar, adaptar y desarrollar métodos de cultivo para la determinación de microorganismos dañados.

Se sugiere realizar pruebas con protozoarios parásitos y algunos enterovirus de origen fecal que sean menos susceptibles a las radiaciones que las bacterias.

Es necesario realizar pruebas sobre los efectos de la radiación en el material del envase y verificar que no haya desprendimiento de compuestos tóxicos de importancia para la salud pública.

Agradecimientos.- Dra. Alejandra Martín Domínguez, M. I. Arturo González Herrera y M. C. Omar Fonseca. Unidad de Programas Rurales de la Comisión Nacional del Agua

Bibliografía

- BROOKS, G., BUTEL, J, JAWETZ, E., MELNICK, J., ORSTIN, N., ADELBERG, E. (1996). Microbiología Médica. El manual Moderno, México. pp. 110-111
- BRYAN, A., BRYAN, CH. A., AND BRYAN, CH. G. (1976). Bacteriología. Principios y Prácticas. CECSA, México. pp 125-139.
- CHANG, J. C., OSSOF, S.F., LOBE, D. C., DORFMAN, M., DUMIS, C. QUALLS, R. AND JOHNSON J. (1985). "UV inactivation of pathogenic and indicator microorganismos." Appl. Environ. Microbiol. **49**: 1361-1365.
- CIOCHETTI, D. AND METCALF, R. (1984). "Pasteurization of naturaled contaminated water with solar energy". Appl. Environ. Microbiol. **47**: 223-228.
- CONROY, R. M., MEEGAN, M., JOYCE, T., MCGUIGAN, K. G. AND BARNES, J. (1996). "Solar disinfection of drinking water and diarrhoea in Maasai children: a controlled field trial". Lancet, **348**: 1695-1697.
- CONROY, R. M., MEEGAN, M., JOYCE, T., MCGUIGAN, K. G. AND BARNES, J. (1999). "Solar disinfection of water reduces diarrhoeal: an update". Arch dis Child. **81**: 337-338.
- JOYCE, T., MCGUIGAN, K., MEEGAN, M., AND CONROY, R. (1996). "Inactivation of fecal bacteria in drinking water by solar heating". Applied and Environmental Microbiology. **62**: 399-402.
- MCGUIGAN, K., JOYCE, T., CONROY, R., GILLESPIE, J., AND MEEGAN, M. (1998). "Solar disinfection of drinking water contained in transparent plastic bottles: characterizing the bacterial inactivation process". J App Microbiol. **84**: 1138-1148.
- ÖRNUC, M., BECKER, D., RAGSDALE, S., AND SANCAR, A. (1998). "Nucleotide excision repair in the third kingdom". Journal of Bacteriology. **180**:5796-5798.
- RECHE, I., PACE, M. L., AND COLE, J. J. (1998). "Interaction of photobleaching and inorganic nutrients in determining bacterial growth on colored dissolved organic carbon". Microbial Ecology. **36**: 270-280.
- REED, R. (1997). "Solar inactivation of faecal bacteria in water: the critical role of oxygen". Lett Appl Microbiol. **24**: 276-280.
- SLIEMAN, T., AND NICHOLSON, W. (1999). "Artificial and solar UV radiation induces strand breaks and cyclobutane pyrimidine dimers en *Bacillus subtilis* spore DNA". Applied an Environmental Microbiology. **66**: 199-205.
- TORANZOS, G., AND MCFETERS, G. (1997). "Detection of indicator microorganisms in environmental freshwater and drinking waters". In: Manual of Environmental Microbiology. Ed. Hurst, C., Knudsen, G., McInerney, M., Stetzenbach, L. And Walter, M. American Society for Microbiology. pp 184-194.
- TORTORA, G. J., FUNKE, B., CASE, CH. (199). "Microbiology. An introduction". The Benjamin/Cumming publishing Co. USA. pp. 167-189
- WEGELIN, M., CANONICA, S., MECHSNER, K., FLEISCHMAN, T., PESARO, F., AND METZLER, A. (1994). "Solar water disinfection: scope of the process and analysis of radiation experiments". J. Water SRT -Aqua. **43**: 154-169