



Microorganismos emergentes con riesgo sanitario, resistentes a procesos de desinfección y su presencia en aguas naturales y residuales

**Pilar Goñi, M^a Teresa Fernández,
María Benito, M^a Peña Ormad,
Encarnación Rubio**

Área de Parasitología.

Departamento de Microbiología, Medicina Preventiva y Salud Pública.

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

2016

Microorganismos emergentes

- Los que producen enfermedades infecciosas emergentes.
- Enfermedades infecciosas emergentes: aquellas que han aparecido o aumentado su incidencia durante las últimas dos décadas.

Tipos de microorganismos

- Producen nuevas enfermedades por cambios o evolución de otros existentes.
- Microorganismos conocidos que se han dispersado por zonas o áreas geográficas en que antes no se encontraban.
- Microorganismos no conocidos que aparecen en zonas en que se está produciendo una transformación ecológica.
- Microorganismos que se suponían controlados, pero que como consecuencia de la aparición de resistencias o el mal manejo de las medidas de control resurgen en un área determinada.

Factores que influyen en la aparición de enfermedades emergentes

■ Ecológicos:

- ◆ Agricultura
- ◆ Presas/embalses de agua
- ◆ Reforestación/Deforestación
- ◆ Inundaciones/sequias
- ◆ Cambio climático

■ Factor humano:

- ◆ Migraciones
- ◆ Conducta sexual
- ◆ Facilidad de Viajes
- ◆ Globalización de alimentos
- ◆ Utilización de antimicrobianos
- ◆ Fallos en los programas de control



Schistosomosis
Hantavirus
SIDA
Malaria
Microorganismos resistentes
Resurgimiento de tuberculosis
Fiebre Crimea- Congo
Ebola

Procedencia de los microorganismos emergentes en aguas



Directiva 91/271/CEE (tratamiento de las aguas residuales urbanas),
Transposición: R.D. Ley 11/1995, el R.D. 509/1996, que lo desarrolla, y el R.D. 2116/1998 que lo modifica

Las aguas residuales procedentes de zonas de vivienda y de servicios, generadas principalmente por el **metabolismo humano** y las **actividades domésticas** :



Directiva 91/271/CEE (tratamiento de las aguas residuales urbanas),
Transposición: R.D. Ley 11/1995, el R.D. 509/1996, que lo desarrolla, y el R.D. 2116/1998 que lo modifica

- Actividades agrícolas y ganaderas.

-Actividades industriales.

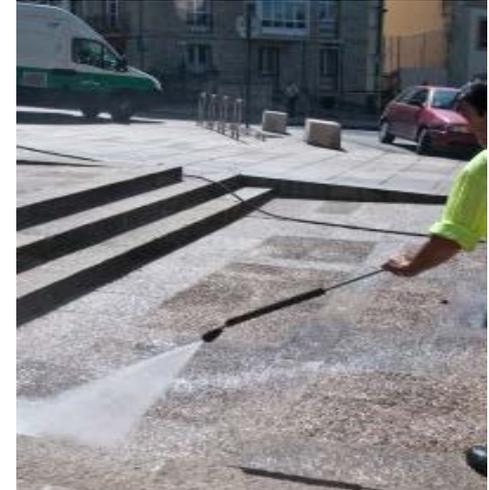
Aguas pluviales:

Directiva 91/271/CEE (tratamiento de las aguas residuales urbanas),
Transposición: R.D. Ley 11/1995, el R.D. 509/1996, que lo desarrolla, y el R.D. 2116/1998 que lo modifica .

Aguas pluviales.



Limpieza de calles



Composición microbiológica de las aguas residuales y naturales

Virus

Bacterias

Protozoos y Parásitos

Hongos y Levaduras

Algas

Pequeños animales microscópicos
(rotíferos, crustáceos, etc)

sensibles Resistentes



Patógenos

No patógenos



Composición microbiológica de las aguas residuales y naturales

Virus

Bacterias

Protozoos y Parásitos

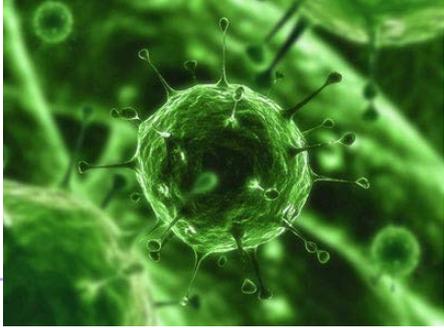
sensibles Resistentes



Patógenos



Virus



- Solo se encuentran los que proceden del tracto intestinal de individuos infectados.
- Hay más de 140 virus que se pueden transmitir a través del agua.
- En bajas concentraciones pueden causar infección.
- Algunos son más resistentes a la desinfección que las bacterias.

Algunos virus en aguas residuales

- Enterovirus: producen síntomas extra-intestinales, comprenden a los causantes de poliomielitis y se han relacionado con múltiples enfermedades.
- Rotavirus: producen síntomas gastrointestinales, diarrea y vómitos, sobre todo en niños menores de 2 años.

Ejemplos de estos virus en aguas residuales

- ◆ Poliovirus: poliomielitis, meningitis
- ◆ Echovirus: Meningitis, encefalitis, diarrea, etc
- ◆ Adenovirus: Diarrea, conjuntivitis, enfermedad respiratoria.
- ◆ Parvovirus: Meningitis, encefalitis, enfermedad respiratoria.
- ◆ Hepatitis A-E
- ◆ Rotavirus, Astrovirus, Norovirus: Gastroenteritis
- ◆ Coronavirus: SARS, diarrea.

Ejemplos de virus aislados en aguas residuales

- Pueden producir desde diarrea a meningitis:
 - ◆ Poliovirus: poliomielitis, meningitis
 - ◆ Echovirus: Meningitis, encefalitis, diarrea, etc
 - ◆ Adenovirus: Diarrea, conjuntivitis, enfermedad respiratoria.
 - ◆ Parvovirus: Meningitis, encefalitis, enfermedad respiratoria.
 - ◆ Hepatitis A-E
 - ◆ Rotavirus, Astrovirus, Norovirus: Gastroenteritis
 - ◆ Coronavirus: SARS, diarrea.

Bacterias en aguas residuales urbanas.

- Constituyen la población más abundante de microorganismos en las aguas residuales urbanas.
- Pueden ser:
 - ◆ Bacterias de origen humano o animal:
 - ★ Comensales
 - ★ Patógenas
 - ◆ Bacterias ambientales

Papel de las bacterias en el proceso de depuración de aguas residuales urbanas

- Las bacterias participan en el proceso de depuración de las aguas.
- Utilizan la materia orgánica disuelta o en suspensión para multiplicarse.

Géneros y especies importantes

- Algunas de estas bacterias se encuentran en pequeñas cantidades en el agua y otras no sobreviven a los procesos de depuración o en el agua durante mucho tiempo.
- Algunas de estas bacterias se encuentran en la piel y las mucosas humanas y de animales. Tampoco es importante su transmisión por la vía hídrica (*Staphylococcus*)
- Ambientales: *Pseudomonas* spp, *Legionella* spp, *Mycobacterium* spp.

Bacteria	Interés o enfermedad que produce
Coliformes	Indicador de contaminación fecal
Enterococos (Streptococos fecales)	Indicador de contaminación fecal
<i>Clostridium</i> spp	Indicador de contaminación fecal
<i>Staphylococcus aureus</i>	Neumonía, abscesos, gastroenteritis, etc
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
<i>Salmonella</i> spp	Salmonelosis (Gastroenteritis)
<i>S. typhi</i>	Fiebre tifoidea
<i>Shigella</i> spp	Disenteria, Gastroenteritis (Shigelosis)
<i>Campylobacter</i> spp	Gastroenteritis
<i>Yersinia</i> spp	Gastroenteritis
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Colitis hemorrágica
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionelosis
<i>Pseudomonas</i> spp	Varias infecciones
<i>Mycobacterium</i> spp	Enfermedades respiratorias

Protozoos y parásitos

Suponen una población grande y variada:

- ◆ Protozoos.
- ◆ Ciliados y flagelados.
- ◆ Nematodos
- ◆ Cestodos

Se alimentan de bacterias y pequeñas partículas de materia orgánica 

colaboran en el proceso de autodepuración.

Nematodos y cestodos



Nematodos de vida libre: muy abundantes en ambientes acuáticos. En nuestra área, problema “estético”.



Nematodos patógenos: aparecen sus huevos *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Uncinarias*, *Enterobius*, *Strongyloides* (larvas y huevos).



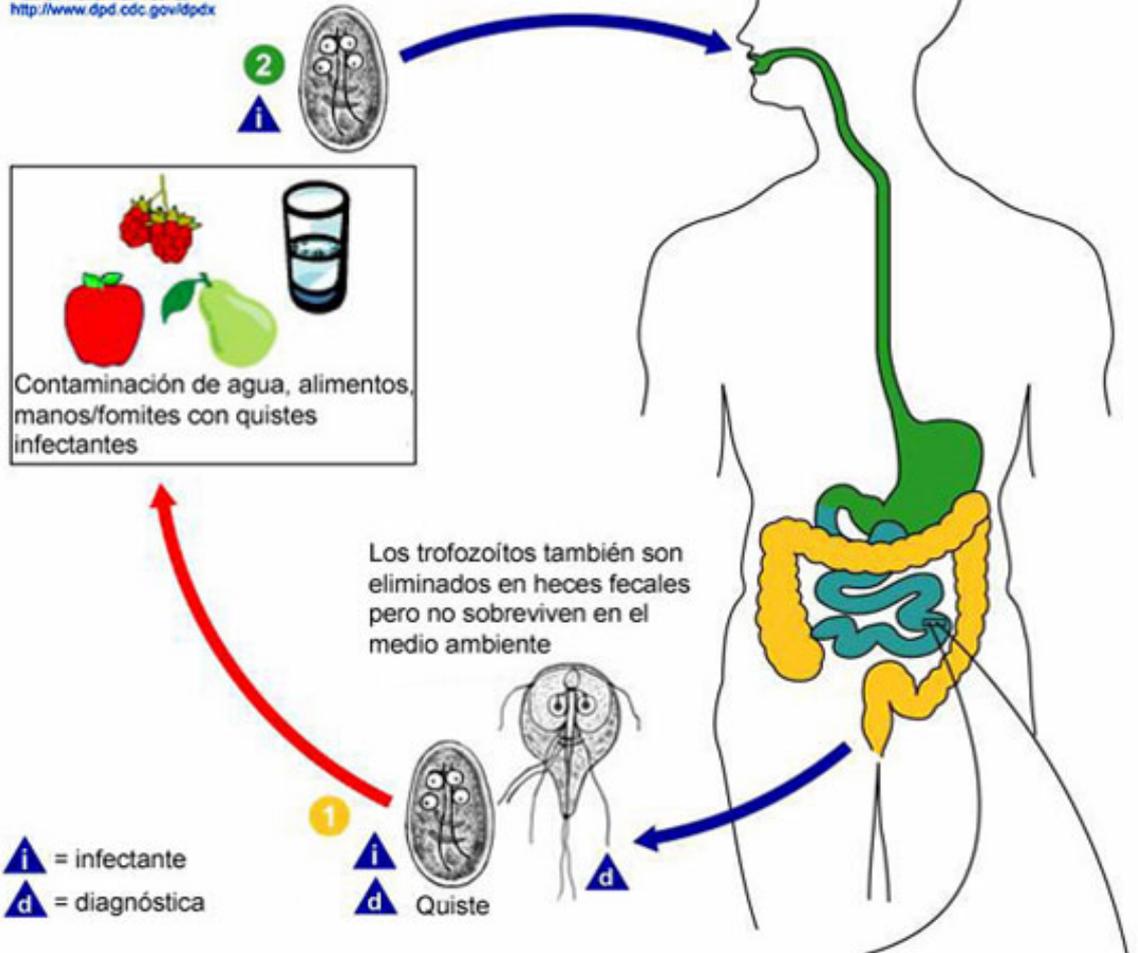
Cestodos como *Taenia saginata* o *solium* o *Hymenolepis nana*. *Hymenolepis nana*, es más frecuentes en países tropicales, mientras que *Taenia* spp tiene distribución mundial.

Resistencia de los virus y bacterias a la desinfección

- Se puede obtener hasta un 99% de eliminación con procesos de coagulación-floculación-sedimentación-filtración y desinfección.
- Casi del 100% con tratamientos de cloro libre, radiación UV, ozono, dióxido de cloro.

Protozoos resistentes a la desinfección

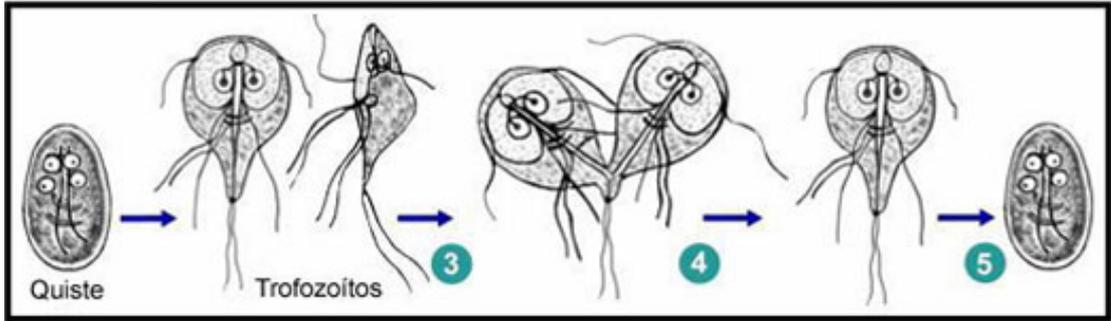
- Entre los protozoos que tienen la vía hídrica como importante mecanismo de transmisión:
 - ◆ *Cyclospora cayetanensis* e *Isospora belli*, más frecuentes en países tropicales
 - ◆ *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, muy frecuentes en países desarrollados. Los tres primeros producen gastroenteritis.
 - ◆ *Entamoeba* spp., sobre todo en algunos países de baja renta.

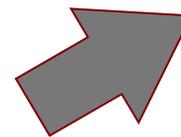
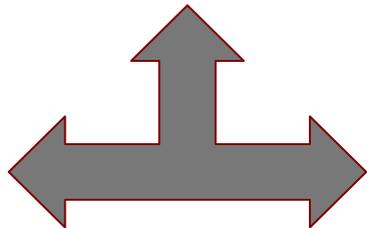
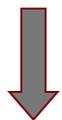
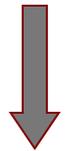
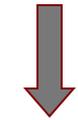
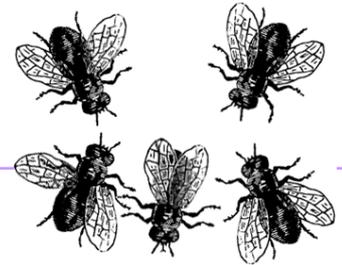
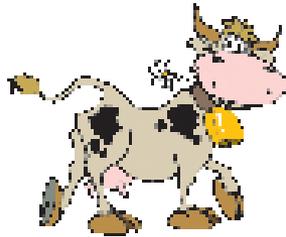


Los trofozoítos también son eliminados en heces fecales pero no sobreviven en el medio ambiente

i = infectante
d = diagnóstica

i
d Quiste

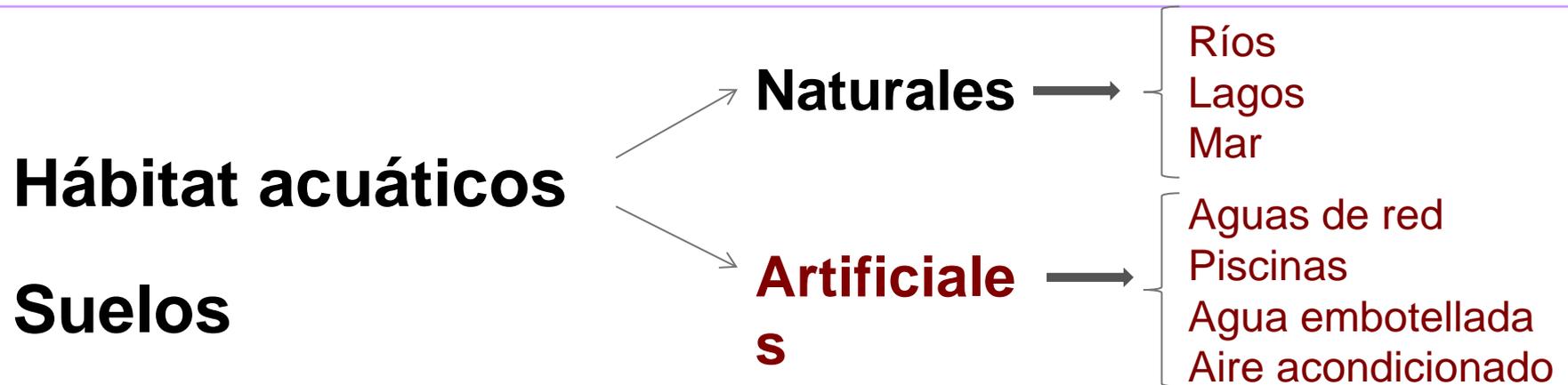




Biofilms



Amebas de vida libre



- Se alimentan de bacterias y otros microorganismos

Beneficiosas para el medio ambiente



- Patógenos oportunistas



Pueden producir infecciones graves.

Agentes y distribución

- **Distribución: Mundial**

- **Agentes:**

- *Naegleria fowleri*
- *Acanthamoeba* spp.
- *Balamuthia mandrillaris*
- *Sappinia (diploidea) pedata*
- *Vermamoeba vermiformis* (*Hartmannella vermiformis*)
- *Paravhalkampfia* spp.



Naegleria fowleri



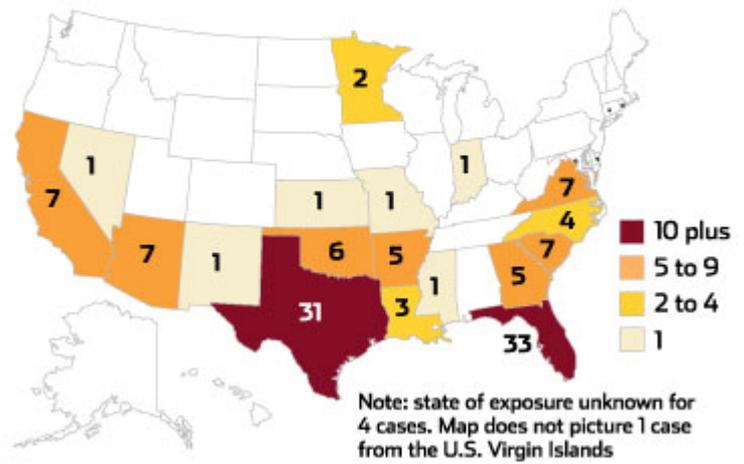
We can't bring back our child.
Protect yours, with nose clips.
Learn more at...

Amoeba-Season.com 

- Cosmopolita
- Muy frecuente en EEUU, donde se la conoce como la “ameba come cerebros”

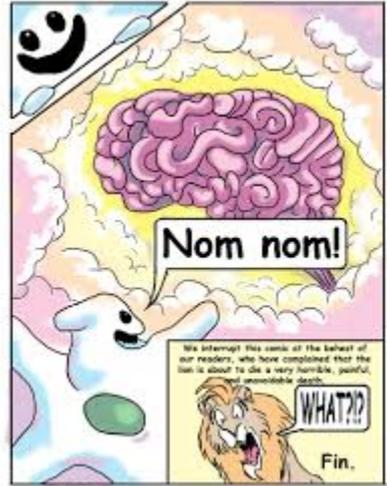
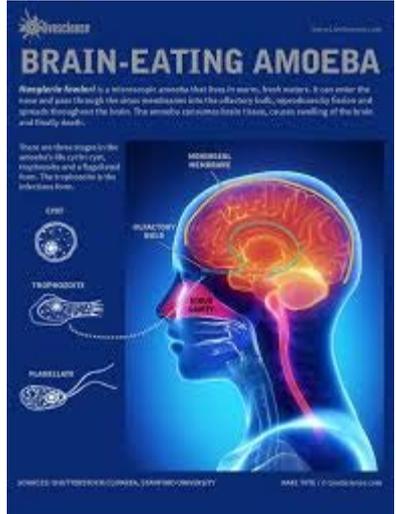
Deadly infections

Between 1962 and 2012 there were 128 confirmed cases of primary amebic meningoencephalitis in the United States. The rare and deadly infection is most common in the south.



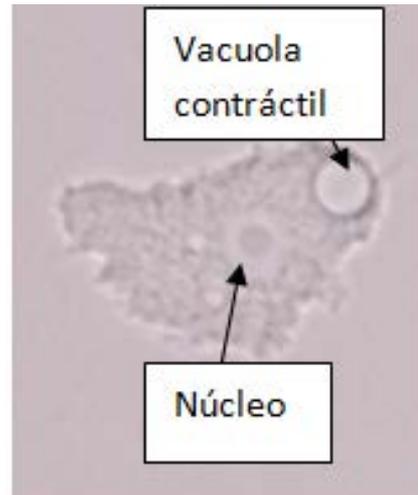
Source: Centers for Disease Control and Prevention PIONEER PRESS

32 casos en 2001-2010
35 casos en 2005-2014
3 casos 2011

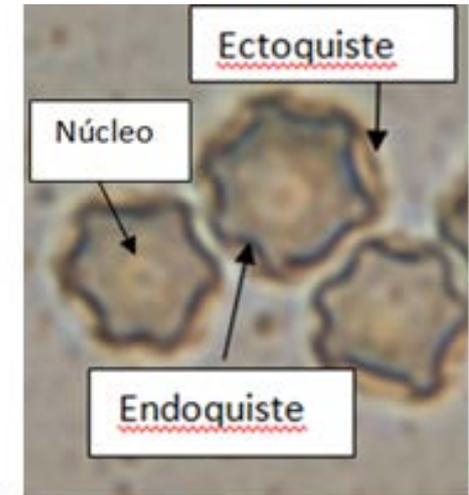


Acanthamoeba spp.: Generalidades

- Ambiental, se ha aislado de: tierra, torres refrigeración, jacuzzis, unidades aire acondicionado, agua de ríos, lagos, mar.
- Puerta de entrada (T/Q)
 - Piel
 - Ap.respiratorio
 - Ojo



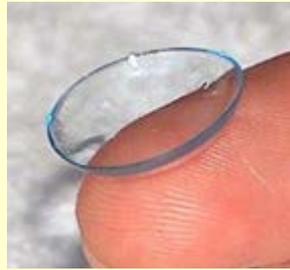
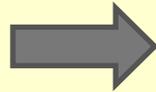
Trofozoíto



Quistes

Queratitis

- En personas sanas e inmunocompetentes
- La infección es por **contacto directo y continuado** de la córnea con amebas.



- **Factor de riesgo:** Uso de lentes de contacto (contaminación) No portadores de lentes de contacto: Trauma corneal.
- Otros géneros: *Vermamoeba (Hartmannella)*, *Paravalhkampfia*

Identification of Free-Living Amoebae and Amoeba-Associated Bacteria from Reservoirs and Water Treatment Plants by Molecular Techniques

Alicia Garcia,[†] Pilar Goñi,^{*,†} Joanna Cieloszyk,[†] Maria Teresa Fernandez,[†] Laura Calvo-Beguería,^{‡,||} Encamacion Rubio,[§] Maria Francisca Fillat,^{‡,||} Maria Luisa Peleato,^{‡,||} and Antonio Clavel[†]

[†]Area of Parasitology and [§]Area of Biomedicine and Public Health (Biostatistics), Department of Microbiology, Preventive Medicine and Public Health, Faculty of Medicine, University of Zaragoza, C/Domingo Miral, s/n 50009 Zaragoza, Spain.

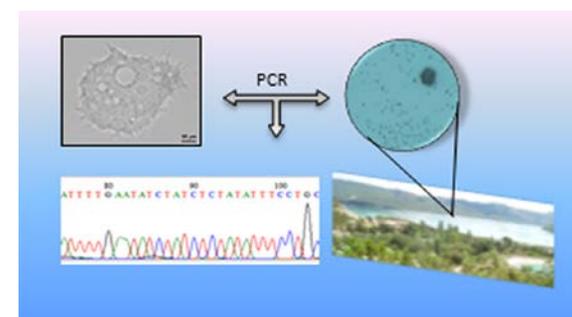
[‡]Department of Biochemistry and Molecular and Cell Biology, Faculty of Sciences, University of Zaragoza, Pedro Cerbuna 12, 50009 Zaragoza, Spain

^{||}Institute for Biocomputation and Physics of Complex Systems, Mariano Esquillor, Edificio I, D 50018 Zaragoza, Spain

 Supporting Information

[dx.doi.org/10.1021/es400160k](https://doi.org/10.1021/es400160k) | *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47, 3132–3140

43 isolates of amoebae by multiplex PCR. Of the isolated amoebae, 31 were *Acanthamoeba* spp., 21 were *Hartmannella vermiformis*, 13 were *Naegleria* spp., and one was *Vanella* spp. T2, T4, and T5 genotypes of *Acanthamoeba* have been identified, and T4 isolates were grouped into five subgenotypes and graphically represented

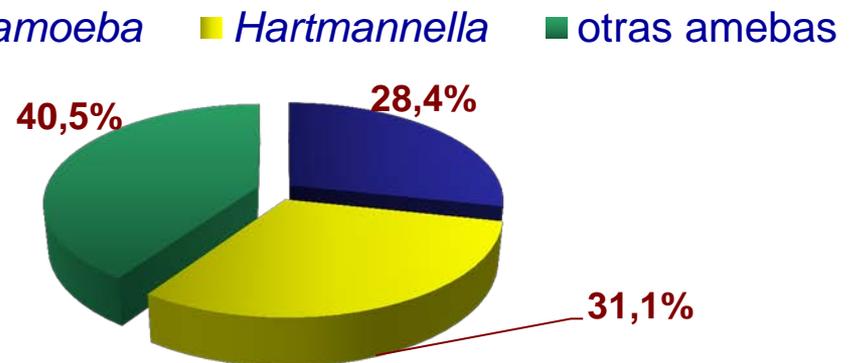
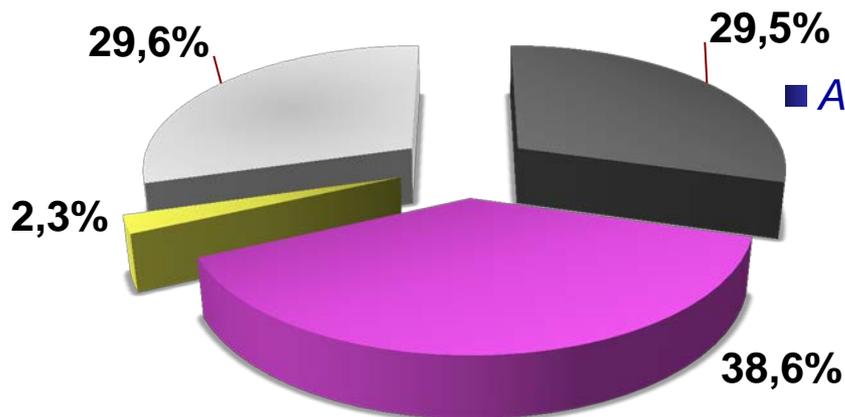


AVL en aguas de red y piscinas

Tesis Dra. MT Fernández

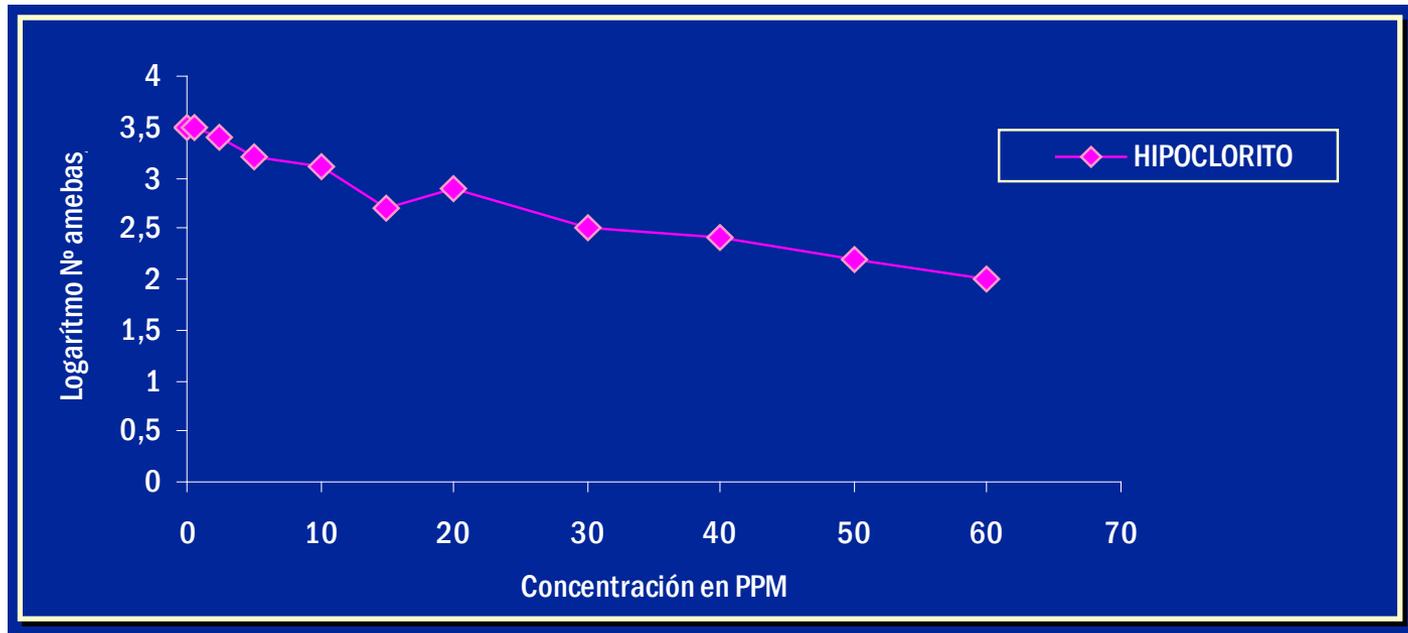
- Aguas de red: De las **1298 muestras estudiadas**, resultaron **positivas 261** por identificación morfológica en cultivo (**20%** del total).
- Piscinas: 53% positivas

■ **Acanthamoeba** ■ *Hartmannella*
■ *Paravahlkamfia* ■ otras amebas



Resistencia de AVL a desinfectantes

Efecto amebicida del hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones y con 1 hora de contacto

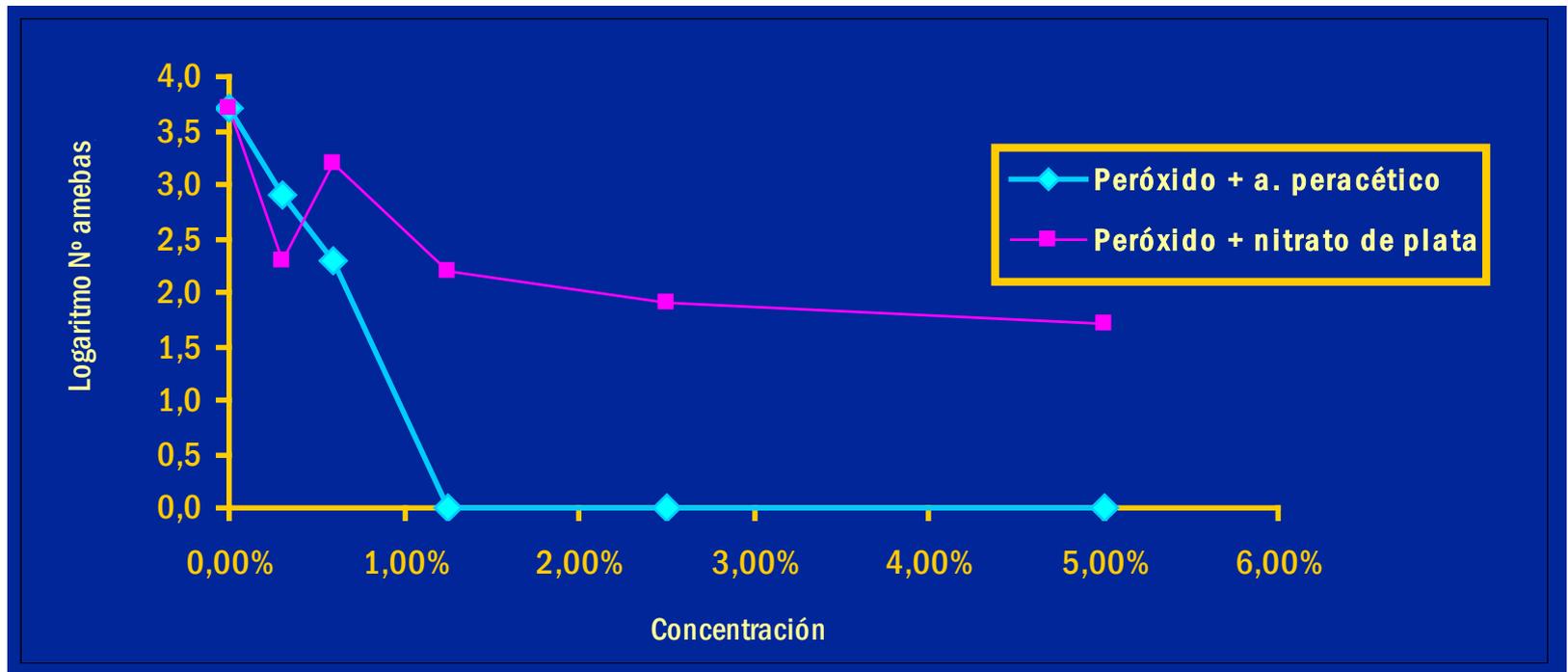


Concentración ppm	Control	0.6	2.5	5	10	15	20	30	40	50	60
Nº amebas/ml 1 Hora de contacto	3533	3500	2700	1900	1483	575	900	350	295	155	100

reducción de 1 log en el número estimado de amebas a partir de 30 ppm hipoclorito de sodio, D= 39.8 ppm

DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD A DESINFECTANTES

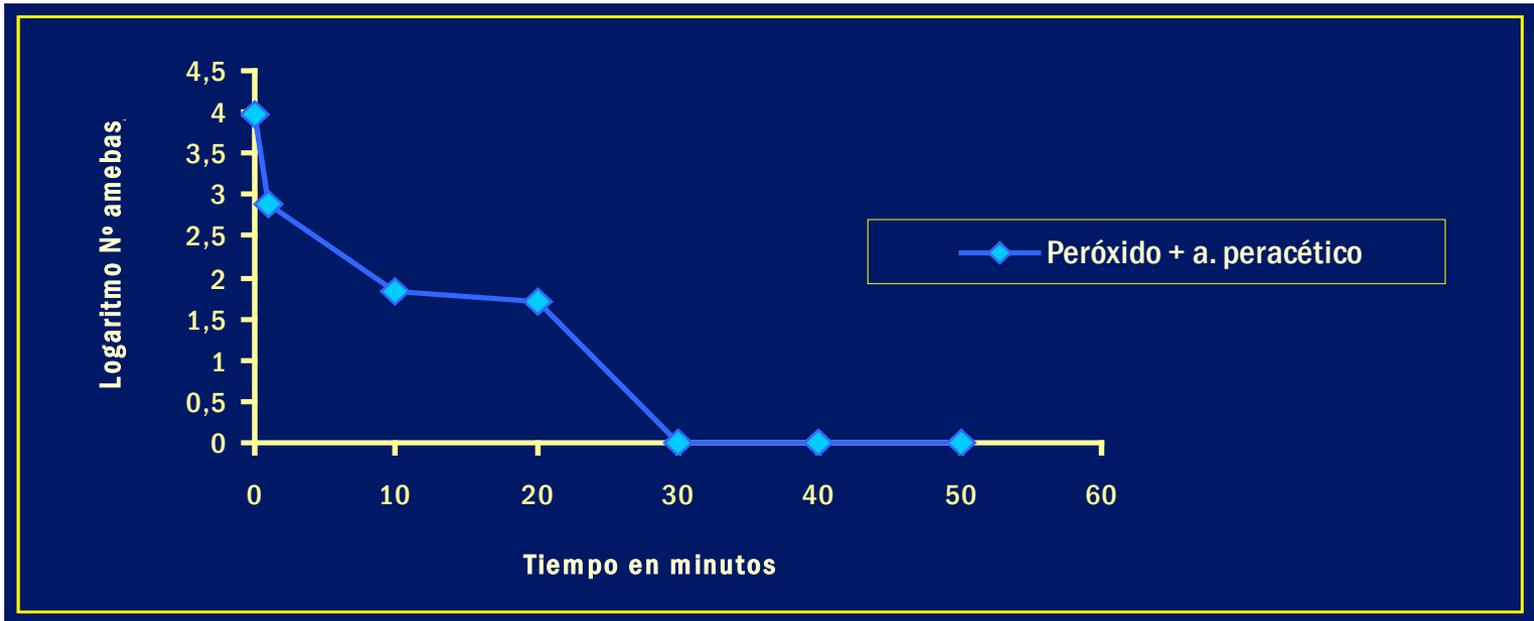
Peróxido de hidrógeno + ácido peracético vs peróxido de hidrogeno + nitrato de plata frente a *Acanthamoeba* spp.



• **Peróxido de hidrógeno + Ac. Peracético:** en 1 log el N° de amebas a partir de 0.65 y en 3.8 al llegar a la concentración de 1.25%. $D = 0.00335\%$ para reducir en 1 log el N° amebas.

• **Peróxido + nitrato de plata:** 2.2 log el No de amebas a la máxima concentración (5%) recomendada

Cinética de actuación del peróxido + ácido peracético frente a *Acanthamoeba* spp.



Tiempo en minutos	Control	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min
N° amebas/ml al 1.25%	9100	750	70	50	<1	<1	<1



Simbiosis ameba-bacterias

- Las internalizan y protegen del medioambiente y desinfectantes.
- El caso más conocido y estudiado es el de *Legionella pneumophila* como consecuencia de los brotes de legionelosis acontecidos por todo el mundo.
- Otros patógenos: *Mycobacterium*, *Pseudomonas* (amebas de queratitis), *Salmonella* spp, *Vibrio* spp, *Giardia* o *Cryptosporidium*.
- Los patógenos superan proceso de depuración ➡ cuerpos de agua, lagos y pantanos; ➡ agua de red (si resisten las condiciones ambientales y las desinfecciones).
- Cuando las condiciones dejan de ser adversas, la bacteria puede salir y colonizar el hábitat en el que se encuentre.

Papeles de las AVL en asociación con bacterias

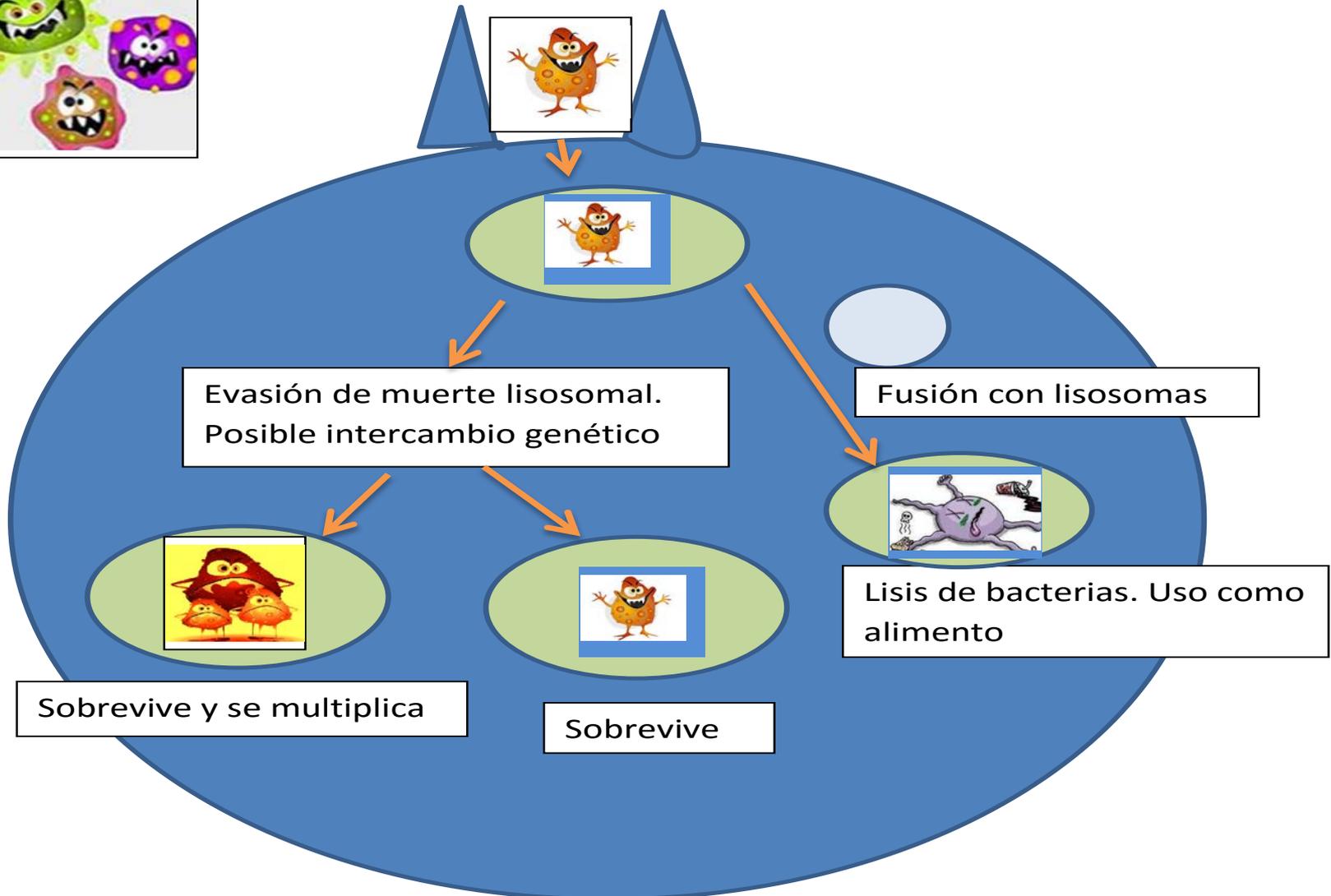
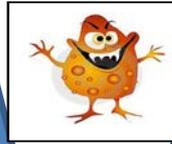
- Depredadores
- Vehículos de transmisión de bacterias “Caballo de Troya”
- Reservorio de bacterias



Bacterias formadoras de esporas o sustancias tóxicas

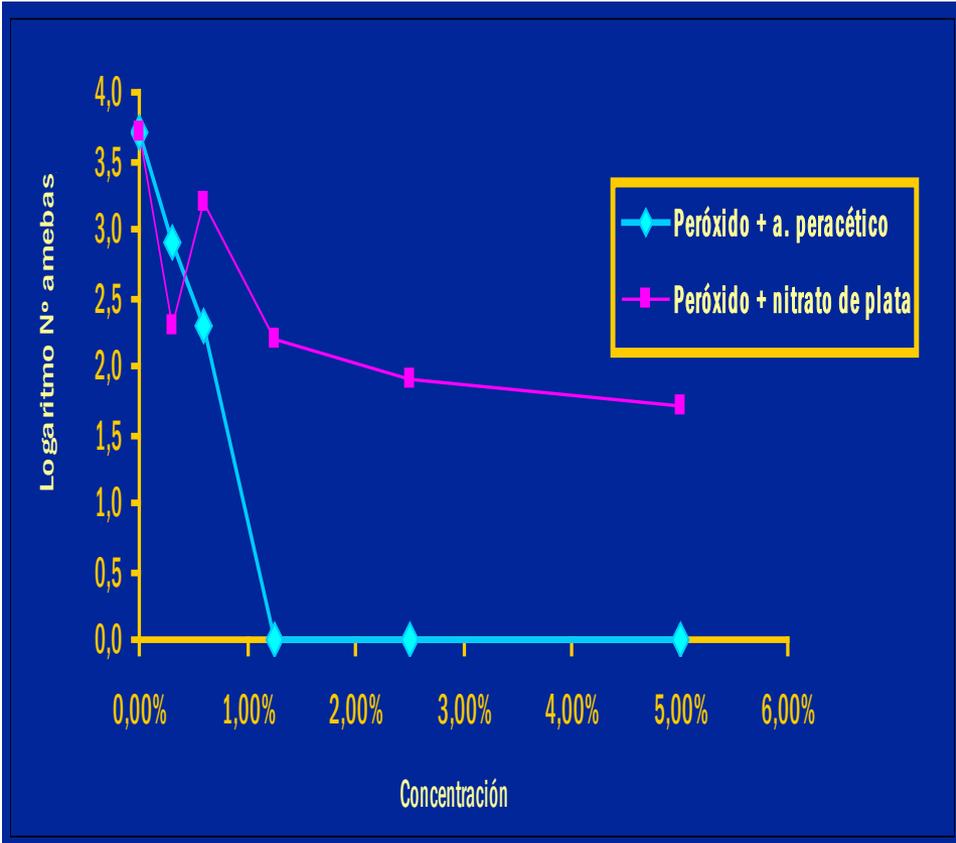
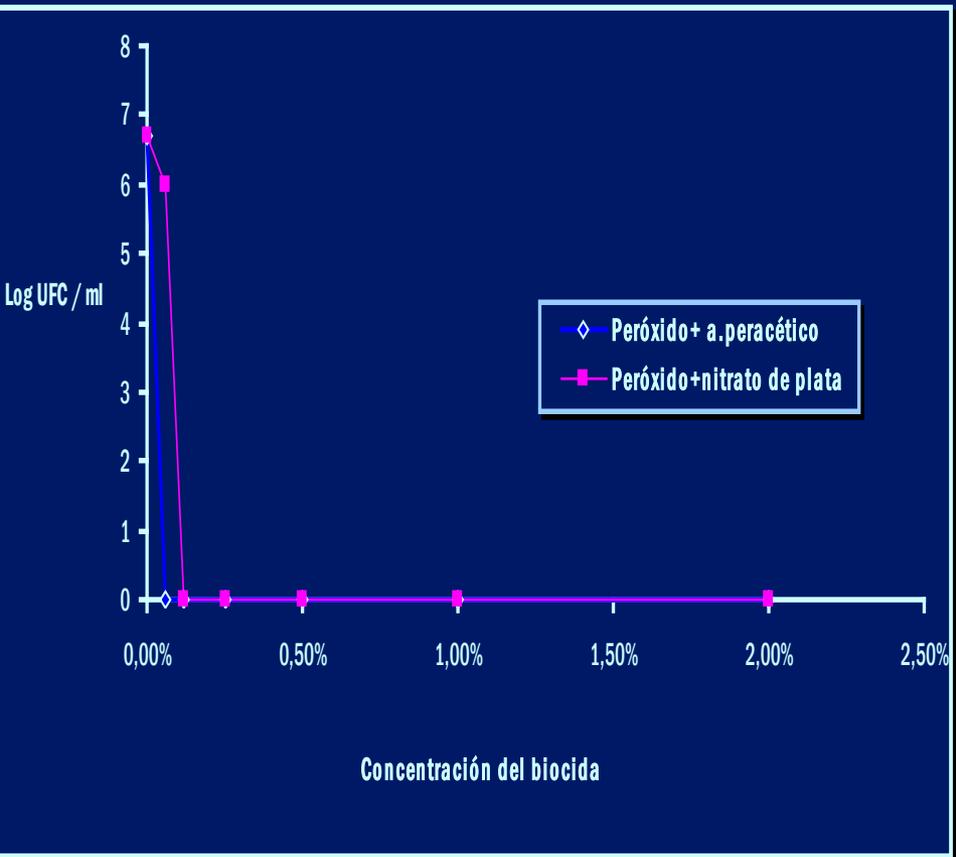


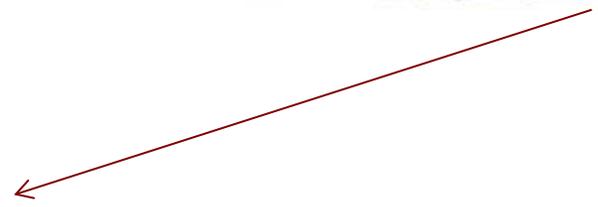
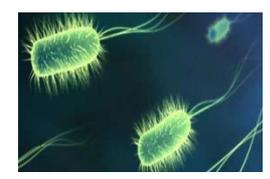
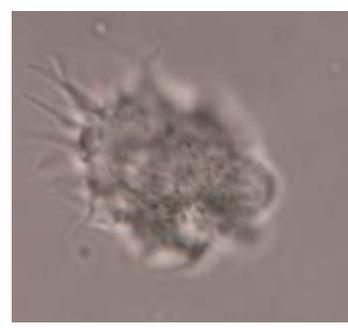
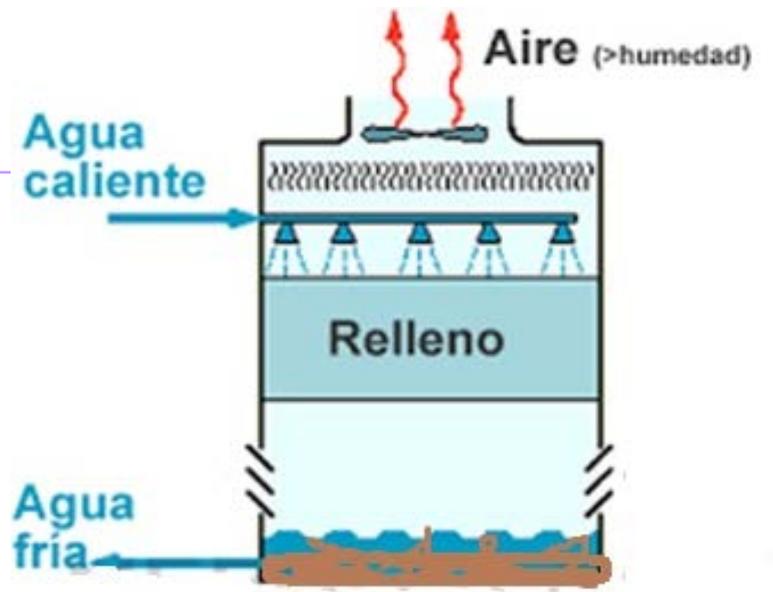
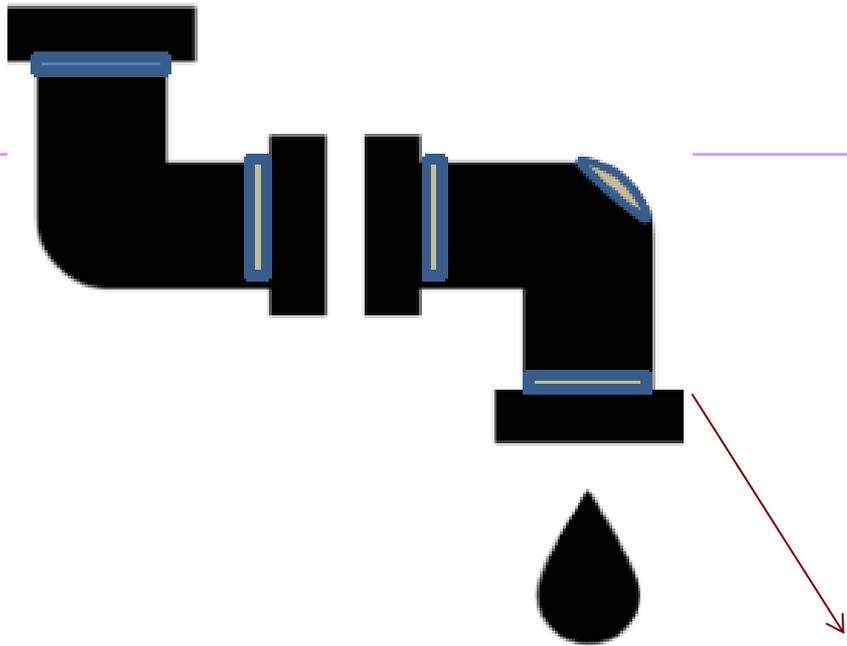
Bacterias no formadoras de esporas o sustancias tóxicas



Actividad de los peróxidos durante 1 hora de contacto frente a *L. pneumophila* serogrupo 1

Peróxidos frente a *Acanthamoeba*





Aguas naturales:

L. pneumophila 13,9%; *Pseudomonas* spp 32%; *Mycobacterium* spp 41,9%



Pseudomonas spp.
Legionella pneumophila
Mycobacterium spp.
Microcystis



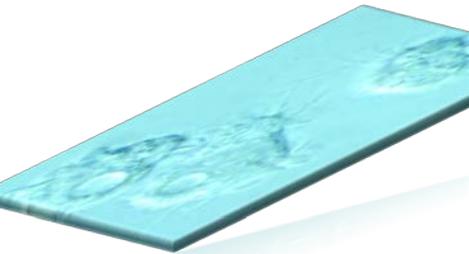
25 muestras



52%

Hartmannella spp.

2 *Pseudomonas* spp
 1 *Mycobacterium* spp



	<i>Acanthamoeba</i>	<i>Hartmannella</i>	Otras amebas	total
<i>Legionella pneumophila</i>	3 (18,8%)	9 (56,3%)	4(25%)	16(100%)
<i>Mycobacterium</i> spp.	0	2(50%)	2(50%)	4 (100%)
<i>Pseudomonas</i> spp.	6 (46,2%)	4(30,8%)	3(24%)	13(100%)
Total	9	15	9	33

Muchas Gracias

Por su atención