

Va Maria, Cordoba, Argentina

**EXPOSICIÓN AL USO Y CONSUMO DE AGUA CON CIANOBACTERIAS:
EFECTOS EN LA SALUD**

Ruiz, M.¹, Rodríguez, M.I.¹, Ruibal, A. L.¹, Gonzalez, I.¹, Alasia, V.¹, Pellicioni, P.²; Biagi, M.² & Lerda, D.²

¹Cirsa, INA, Ambrosio Olmos 1142- 1º piso, marciaruz74@yahoo.com;

²Dpto. de Citogenética, Facultad de Medicina, UCC, Jacinto Ríos 571.

RESUMEN

El Embalse San Roque (Córdoba, Argentina) presenta condiciones eutróficas que conducen periódicamente al desarrollo masivo de cianobacterias. Esta situación genera problemas en la salud pública ya que las cianobacterias tienen la capacidad de producir toxinas causantes de problemas gastro-intestinales, hepatotóxicos, neurotóxicos y promotor de cáncer hepático. Estudios previos realizados sobre la calidad del agua del embalse indican que las algas presentes son productoras de toxinas. El objetivo de este estudio es investigar el grado de exposición de los residentes que habitan los alrededores del lago a las cianobacterias y evaluar el posible impacto en la salud. Primero se realizó un relevamiento de la población mediante encuestas que incluyeron información sobre grupo familiar, condiciones generales de salud, fuentes de consumo de agua, el estado sanitario, disposición de residuos y efluentes, etc. La zona carece de suministro de agua potable, por lo cual los pobladores (114 hab. aprox.) usan agua de múltiples fuentes, incluyendo el agua del embalse. Segundo, se realizaron análisis de muestras de agua de las fuentes de consumo y de uso para higiene personal y doméstica (nutrientes, microcistina, fitoplancton, bacteriológico) y finalmente se complementaron los datos con análisis de sangre a las personas pertenecientes a la comuna en carácter voluntario (ensayos de rutina, hepático, genotóxico e inmunoglobulinas). Los resultados muestran que la población presenta un alto grado de exposición. Los análisis de agua para consumo indicaron que no es apta bacteriológicamente (presencia de coliformes fecales y E. coli) y esto estaría asociado a los altos índices de gastroenteritis. La concentración media de microcistina varió de <0.16 a 3µg/L (valor recomendado por la OMS de 1µg/L de MC-LR). Debido a la alta morbilidad causada por diferentes enfermedades, las alteraciones halladas en los análisis de sangre de rutina no pueden vincularse específicamente a efectos crónicos causados por microcistinas sin embargo el estudio de las inmunoglobulinas específicas resultaría de gran utilidad y se continúa trabajando en ello. Los estudios genotóxicos no mostraron anomalías.

Palabras claves: microcistinas, salud, Embalse San Roque, calidad de agua.

ABSTRACT

The eutrophic conditions of San Roque Reservoir (Cordoba, Argentina) have led to periodic cyanobacteria blooms. This situation represents a serious risk for public health due to the potential capacity of cyanobacteria to produce cyanotoxins, which can cause several human health problems that range from mild gastrointestinal disorders to acute hepatic- and neurotoxic effects. They have also been reported as promoters of hepatic cancer when consumed at sub-lethal doses over long periods of time. Previous studies carried out in the area have shown risk levels of cyanotoxins (microcystins) in lake water. This study aims to assess the degree of exposure of the population (roughly 114 inh) settled in the surroundings of the lake and to evaluate the impact on its health. A population survey was carried out and the information collected included: number and characteristic of the family members, general health indicators, sources of water, domestic sanitary conditions and final destination of solid waste and waste water. The precarious dwellings lack access to a piped drinking water service hence people use water from different sources including lake water. This information was complemented with water analyses (chemical, biological, toxicological and bacteriological) from different sources and blood tests. Blood samples were taken from volunteers and were subjected to routine biochemical assays including hepatic enzymes, genotoxic and immunoglobulin tests.

The results show that the population presents a high degree of exposure. Water analyses indicate high concentrations of faecal coliforms and E coli that can be associated to the high rate of gastroenteritis. Microcystin concentrations ranged between <0.16 to $3\mu\text{g/L}$ exceeding the limit recommended by WHO ($1\mu\text{g/L}$ of MC-LR) on some occasions. Due to the high morbidity caused by different illnesses, the disorders found in routine blood tests cannot be associated to chronic effects caused by microcystins; however, the specific immunoglobulin assays might be more useful and present studies are focused on this. Genotoxic tests did not show abnormalities.

Key words: microcystins, health, San Roque Reservoir, water quality.

INTRODUCCIÓN

La calidad del agua del Embalse San Roque se encuentra deteriorada presentando condiciones eutróficas que han conducido al desarrollo masivo de algas verde-azuladas o cianobacterias. El crecimiento desmedido de éstas genera múltiples problemas siendo uno de los más graves el efecto sobre la salud pública debido a su capacidad de producir toxinas causantes de problemas de salud leves y de corto plazo (dermatitis y alteraciones gastro-intestinales) hasta problemas de toxicidad más graves con efectos agudos y crónicos (hepatotóxico, neurotóxico y promotor de cáncer hepático).

Estudios realizados sobre la calidad del agua indican que las algas presentes en dicho embalse son productoras de toxinas (Ruibal Conti AL., 2003; Amé V. 2003).

En la costa del lago, en un área cercana a la presa, habitan 114 hab. aprox. (23 familias) que al carecer de suministro de agua potable, se abastecen de agua de múltiples fuentes, incluyendo el agua del embalse.

En modo conjunto con el personal médico del dispensario del municipio, se hizo un relevamiento de la población mediante encuestas, enfocándose en las fuentes de consumo y en el estado sanitario. Se realizaron análisis de las fuentes de agua (nutrientes, microcistina, fitoplancton, bacteriológico) y análisis de sangre a los mismos de índole voluntaria (citológico de rutina, enzimas hepáticas, estudios de genotoxicidad y se comienzan a realizar análisis de IgE e IgG específicos para MC-LR).

Se evidencian altos índices de gastroenteritis lo cual se correlaciona a que no son aptas bacteriológicamente y otra causa posible es la presencia de microcistina, encontrándose en un rango de <0.16 a $3\mu\text{g/L}$ en las fuentes de consumo. En este trabajo se muestran resultados obtenidos, ya que se continúa estudiando el estado sanitario.

ÁREA DE ESTUDIO

El Embalse San Roque ($31^{\circ} 22' S$ y $64^{\circ} 27' O$) se localiza en el Valle de Punilla a 608 m.s.n.m. en la Provincia de Córdoba, Argentina. El clima de la región es templado con una temperatura media anual de $14^{\circ} C$ y vientos predominantes del cuadrante sur y norte, con precipitaciones estivales en el rango de 400 a 1000mm y una media anual aproximada de 720 mm. Al nivel de cota de vertedero (35,3 m), la superficie del embalse es de 15 km^2 , con 201hm^3 de volumen y una profundidad media de 13,4 m. El tiempo de residencia medio aproximado es de 0,1- 0,6 años. La cuenca de drenaje es de 1750 km^2 .

El embalse cumple principalmente la función de provisión de agua potable a la segunda ciudad del país (Córdoba), control de inundaciones, aprovechamiento hidroeléctrico, riego y es a su vez, un ámbito en el que se desarrollan múltiples actividades recreativas.

La población de la Comuna San Roque se ubica en el perillago y suma un total de 114 personas aproximadamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este proyecto es un trabajo en conjunto de la Universidad Católica de Córdoba (Facultad de Medicina) y el Instituto Nacional del Agua (CIRSA).

Los estudios se basaron en 2 aspectos: la calidad de agua consumida y los aspectos sanitarios de la población expuesta. Con este fin, se tomaron mensualmente en el lago, muestras superficiales y a la altura de la toma a 13 m del fondo (de la cual se deriva para proveer de agua potable a la ciudad de Córdoba), y de 2 fuentes de consumo de agua: una denominada "Vertiente" (nombre dado por los lugareños a una filtración de la pared del dique) y otra que denominaremos "Escuela", usada por el establecimiento educativo, la cual es conducida desde el lago a un tanque y de allí distribuida. El período de toma de muestras fue de 2 años y 8 meses (2004-2007). Se realizó recuento e identificación de fitoplancton (concentración por sedimentación y lectura en cámara de Fuchs Rosenthal), se determinaron las microcistinas totales por ensayo inmuno-enzimático (Kit ELISA, Envirologix USA), las bacterias coliformes totales y fecales (Tubos Múltiples), heterótrofas aerobias (Recuento en placa) y E. coli presuntiva (agar Levine para E. coli).

Referido a la salud, se realizaron análisis de sangre: citológico de rutina (glóbulos blancos, glóbulos rojos, índices hematimétricos, hemoglobina, hematocrito, eritrosedimentación); y para el estado hepático se determinaron enzimas: Transaminasa glutámico oxalacética (GOT), Transaminasa glutámico-pirúvica (GPT), Gama glutamil transferasa (GGT), Fosfatasa Alcalina (FAL) y bilirrubina total. Se realizaron estudios de genotoxicidad, para verificar si hay alteración a nivel celular por la exposición crónica a las cianotoxinas. Se realizó el test de la Aberración Cromosómica (AC) con la técnica de Perry & Wolff (1972) y se analizó estadísticamente con el test de Kolmogorov-Smirnov (1981). Y actualmente se comenzaron a hacer estudio de anticuerpos antimicrocistina (IgE e IgG).

La encuesta consistió en antecedentes de salud, fuentes de consumo, higiene personal, riego, disposición de efluentes y excretas, consumo de pescado y fue realizada a 45 personas de la población (47% aprox.), siendo su participación de carácter voluntario.

RESULTADOS

Fuente de consumo: "Escuela".

Fitoplancton

En el fitoplancton encontrado en esta fuente de consumo (Fig N°1), hay presencia de cianobacterias, crisófitas, clorófitas, pirrófitas y criptofíceas, con predominio de las dos primeras. Dentro de las cianobacterias se encontró una alta presencia de *Anabaena* sp y *Microcystis* sp, en los meses de verano. También se evidencia la presencia de *Oscillatoria* sp y *Lyngbya* sp, especies potencialmente tóxicas.

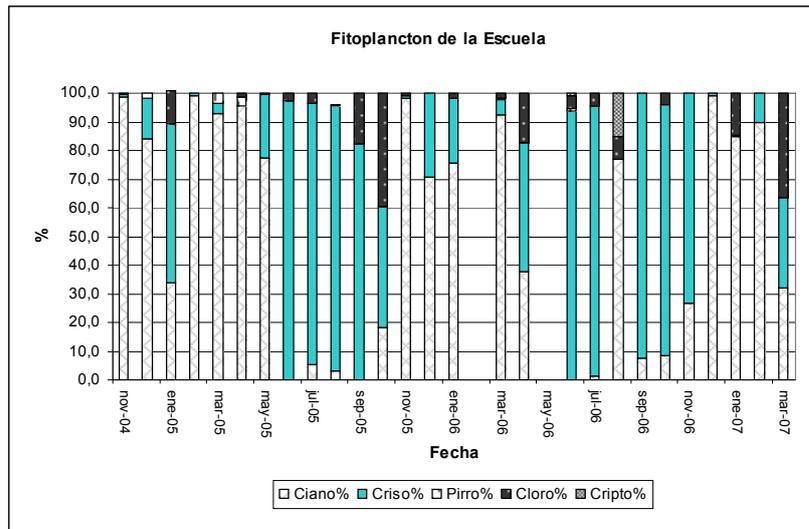


Fig N°1: Diversidad de fitoplancton de la fuente "Escuela".

Microcistina

Se relaciona la presencia y concentración de microcistina con las cianobacterias (Fig N°2). Fueron analizadas 32 muestras de las cuales un 65.6% dieron resultados positivos. La concentración media fue de 0.75 µg/L, llegando a un máximo de 3µg/L. El nivel recomendado por la OMS como nivel guía para agua de consumo, es de 1µg/L de MC-LR. Esta agua se utiliza para cocinar siendo ocasionalmente consumida.

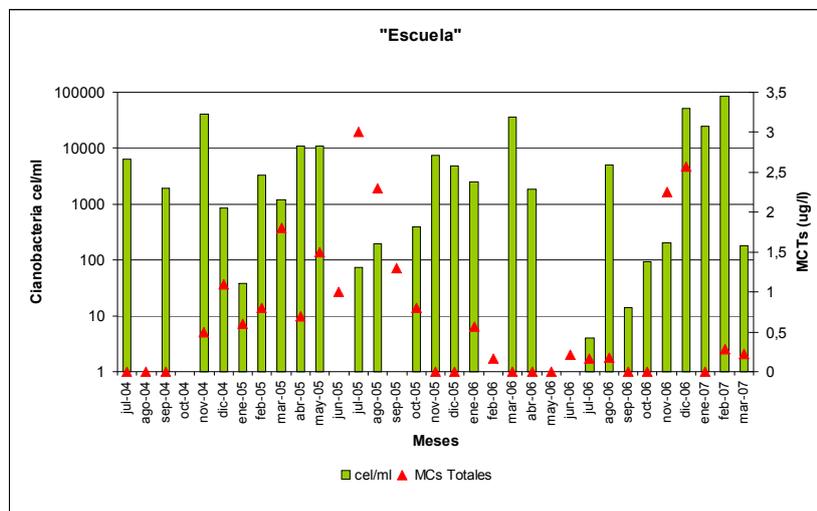


Fig N°2: Cianobacterias y concentración de microcistina la fuente "Escuela".

Fuente de consumo: "Vertiente".

Fitoplancton

Se observó un predominio de crisófitas, y cianobacterias (Fig. N°3). Los valores de abundancia fueron bajos. Los géneros que aparecen dentro de las cianobacterias fueron *Microcystis sp*, *Oscillatoria sp*, *Chroococcus sp* y *Lyngbya sp.*. En varios meses del período de estudio, no se registró presencia de algas, lo que se atribuye a una acción de "filtro" del paredón del dique.

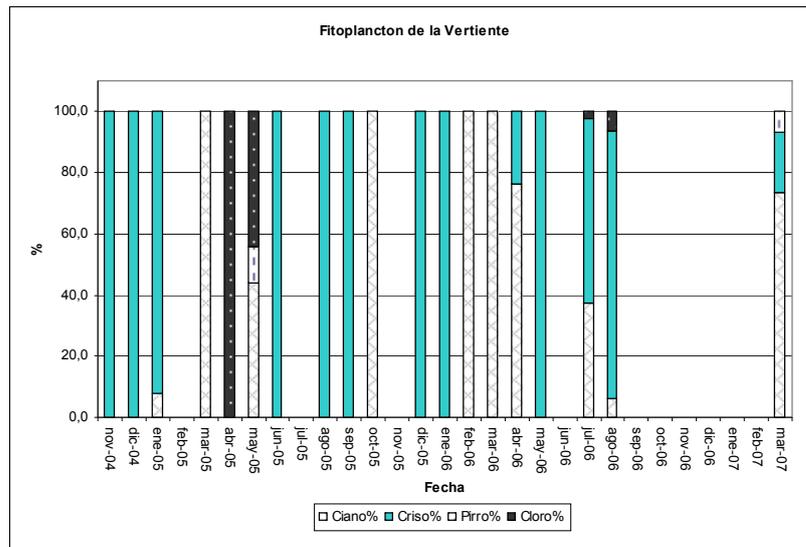


Fig N°3: Diversidad de fitoplancton de la fuente de agua "Vertiente".

Microcistina

Esta fuente, es de uso frecuente aunque no se encuentre en un lugar accesible. De 32 muestras analizadas, 46.8% fueron positivas. La media fue de 0.59 µg/L, con un máximo de 2.3 µg/L.

En la Fig. N°4, se pone en evidencia, que es una filtración del agua del dique, en donde hay presencia de algas, y sí pasa la toxina. Según los límites propuestos por la OMS, esta agua no es apta para consumo. Su uso frecuente es considerado potencialmente riesgoso y productor de efectos crónicos sobre la salud de la población.

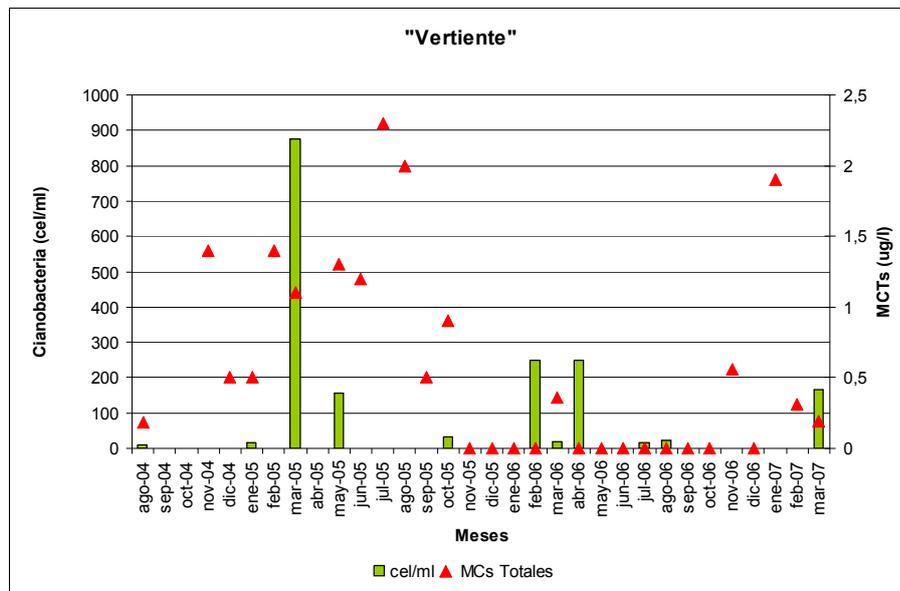


Fig. N°4: Relación entre las cianobacterias y la concentración de microcistina en el agua de la "Vertiente".

Análisis bacteriológico de ambas fuentes de consumo.

El análisis bacteriológico, indica que ambas fuentes tienen presencia de coliformes totales y fecales, con un marcado incremento en los meses más cálidos. Coincidente con lo hallado por Rossen et al, 2006 donde se encuentra un marcado aumento en el número de bacterias cuando hay aumento de la temperatura en la columna de agua.

La calidad microbiológica del agua de "Vertiente" (Fig. N°6) presenta menor concentración de coliformes totales y fecales que el agua de la "Escuela", sin embargo como agua de consumo ambas no son aptas. Según la normativa provincial el agua de consumo debe ser 0 en 100 ml de Coliformes totales y fecales (DiPAS, 1994). No se señalan valores guía de coliformes para uso doméstico, como referencia se puede mencionar que para uso recreativo los valores de coliformes totales sugeridos son 5000NMP/100ml y para fecales 1000NMP/100ml (DiPAS, 1999). La prueba para E. coli (presuntiva), en la "escuela" de un n=19, 47% fueron positivas, y en la "vertiente", de un n=20, 35%.

La población en los meses de verano, suele tener problemas reiterados de diarrea, siendo esta una de las posibles causas.

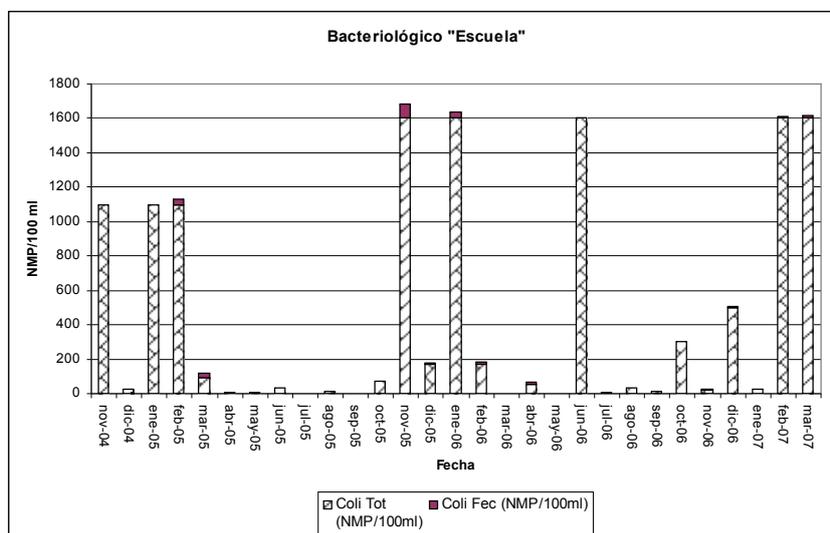


Fig N°5: Coliformes totales y fecales de la Escuela.

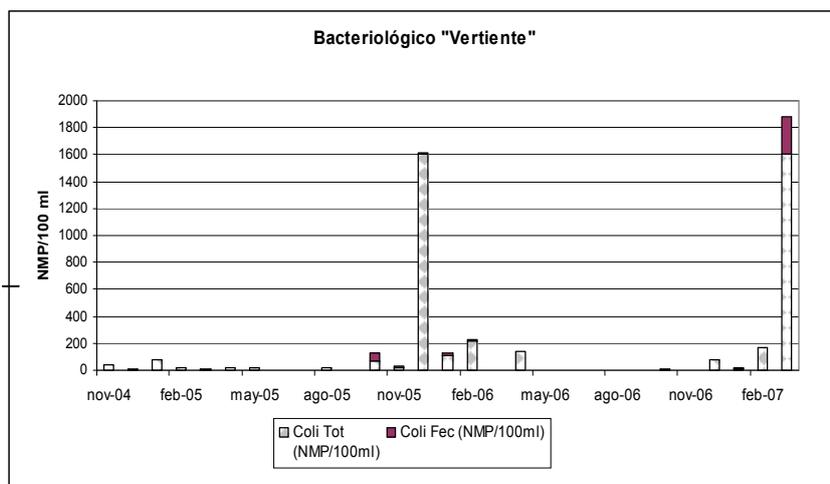


Fig N°6: Coliformes totales y fecales de la "Vertiente".

El valor guía para bacterias aerobias mesófilas en agua potable, es de 500 UFC/ml. la “Vertiente”, no excedió el límite, en el tiempo estudiado pero si el agua de la “Escuela”, superado ampliamente en el mes de noviembre del año 2006 (16400 UFC/ml).

Toma de Aguas Cordobesas S.A. (TAC).

El dique, como ya se mencionó, es fuente de consumo y de uso recreativo. Se tomaron muestras en la zona de la Toma de Agua (TAC), dentro del perfil vertical, se analizó la superficie y el punto de la toma, como puntos más importantes, hasta marzo del año 2007, en donde se encuentran los datos en forma completa. Se eligen estos puntos, porque en superficie se encuentran las algas en mayor cantidad (siguen la luz del sol) y en la toma debido a que es el punto de captación de agua (perteneciente a EPEC), para el abastecimiento de la población de Córdoba.

TAC superficie

En el período estudiado (julio del 2004 hasta marzo del 2007) hubo dominancia de *Microcystis* sp, alternando con *Anabaena* sp, dominante en los meses de septiembre, octubre y noviembre del 2005 y marzo del 2006. En la mayoría de las fechas en donde se encuentra *Microcystis* está en más del 60%. En algunos meses no hubo presencia de ninguno de los dos géneros, pero lo que si se observa que la ocurrencia de las mismas ya no depende únicamente de los meses cálidos, si no que se encuentran en meses fríos también.

La concentración de microcistinas es moderada, con una concentración máxima de 1.94 µg/L (coincidente con un bloom de cianobacterias, Fig N° 7). Hubo fechas con presencia de *Anabaena* y *Microcystis*, pero sin concentración detectable de microcistina (cepas no tóxicas).

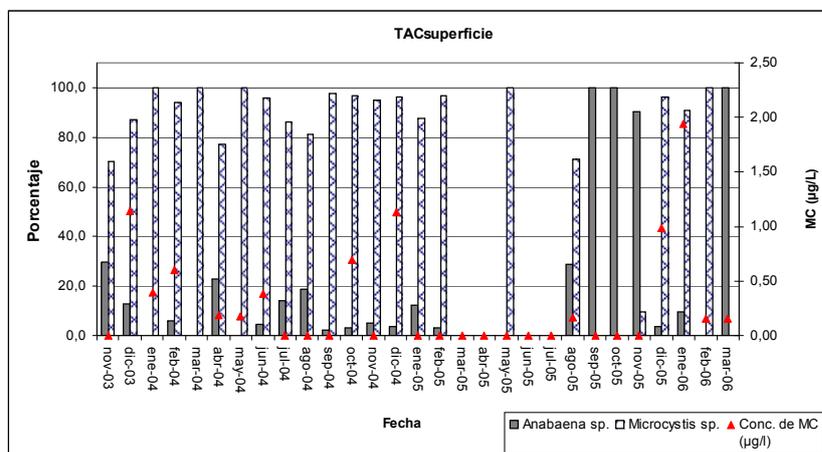


Fig N°7: Relación *Anabaena*/*Microcystis* y microcistina.

TAC toma

Predominio de *Microcystis* sp, igual que en superficie. En algunos meses monitoreados, no hubo registro de cianobacterias. La concentración de microcistina fue muchísimo menor que en superficie, no superando los 0.89µg/L (Fig N°8).

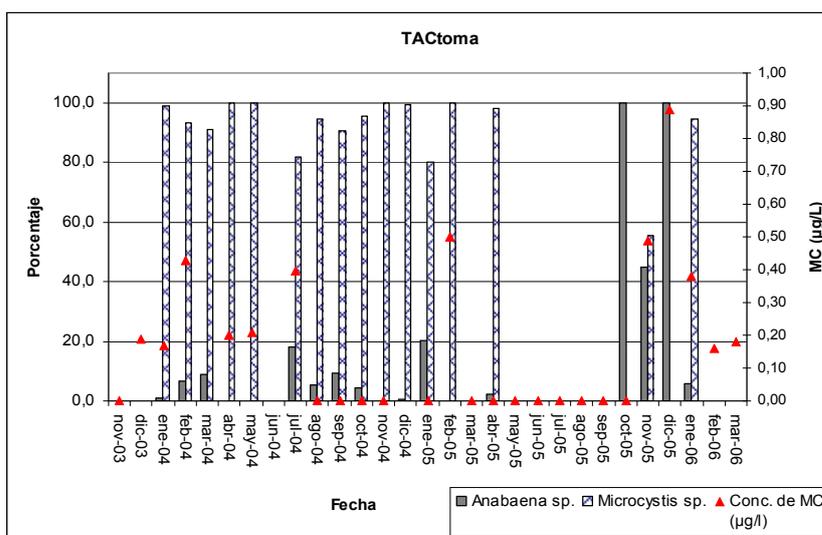


Fig N°8: Relación *Anabaena*/*Microcystis* y microcistina.

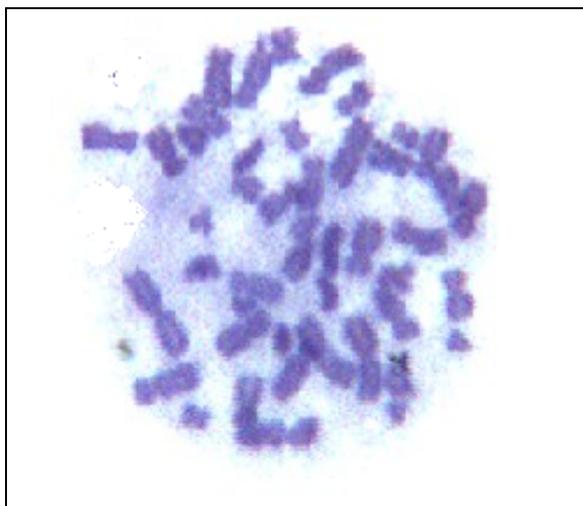
Salud

Como marcadores de disfunción hepática son estudiadas enzimas como GPT, GOT y FAL. Estudios realizados en ratón (Andrinolo, 2008), indicaron que estas enzimas no fueron marcadores apropiados en la exposición crónica con MC-LR, sólo se vio un aumento de GOT, pero GPT no tuvo cambios significativos (más específica de daño celular hepático).

En general hay un estado sanitario bueno. Sólo un 12% tenía la FAL elevada, lo cual no es del todo indicativo, debido a que esta enzima no es específica de hígado, también se halla presente en hueso. Un 2% presentó alterada la GGT, la cual es indicadora de obstrucción biliar y un 4.1% presentó alterada la GOT y la GPT. Estos porcentajes si son representativos porque la población en estudio es pequeña.

Otro resultado importante fue que el 14.3% tiene Eosinofilia, lo que indica que puede ser causa de parasitosis o estados alérgicos. Se han realizado en algunos pacientes la determinación de anticuerpos antimicrocistina LR, en donde se estudia en conjunto la IgE y la IgG. El 82,3 % presenta alteración de la IgE y el 38,2 % de la IgG. Estos datos indican que la microcistina ha penetrado en la población expuesta. Lo más importante de este dato inmunológico, es que los expuestos muestran una respuesta medida a través de las IgE e IgG.

En el test de genotoxicidad se contaron aproximadamente por muestra un promedio de 113 metafases. Luego se calcularon porcentajes de aberraciones cromosómicas estructurales (cromátidas rotas, cromosomas rotos, fragmentos acéntricos, fragmentos cromatídicos, exceptuando los gaps). No se observó un incremento de las aberraciones cromosómicas (AC) en los individuos expuestos comparados con los controles no expuestos. Estos resultados indican que a la concentración a que estuvieron expuestos los individuos, no muestran diferencias en la presencia de aberraciones cromosómicas. Se observa una muestra con metafases normales en la Foto N°1, y en N°2 una rotura cromosómica:



FotoN°1: Metafase normal de individuos expuestos. 40 x.



Foto N°2: Aberración cromosómica (AC): Se observa una rotura cromosómica.

CONCLUSIONES

El análisis de las muestras de agua indica que la población estaría altamente expuesta y en contacto de tipo permanente a las cianobacterias, debido al alto contenido de cianobacterias en el lago. Las mismas, están presentes en más de un 70% del total del fitoplancton con una concentración celular muy elevada en la mayoría de los muestreos realizados. El uso recreativo de aguas con este contenido de algas produce irritación de la piel y altas probabilidades de síntomas gastrointestinales.

Se observa que los valores hallados en época estival superan ampliamente las 5000 cel/ml. Los efectos adversos generados por el uso recreativo de las algas resultarían ser una combinación de efectos de metabolitos cianobacterianos y de bacterias asociadas (Falconer I. et al. 1999).

El análisis, indicó un rango de concentración entre no detectable y 3 µg/l. Se considera que para que haya problemas de salud asociados a las microcistinas en contacto recreativo la concentración de las mismas debería exceder los 10 µg/l.

En el agua que llega a la Escuela, se observa que el porcentaje de dominancia de las cianobacterias y el número de células se mantiene elevado. Hay presencia de géneros potencialmente tóxicos. A través de las encuestas realizadas a la población, se observó que cuando se la utiliza para fines domésticos e higiene personal produjo problemas de prurito en la piel e irritación de mucosas (ojos y oídos), sin embargo su consumo sería altamente riesgoso ya que podrían estar ingiriendo microcistinas. Cabe destacar que *Anabaena* y *Oscillatoria* tienen además la capacidad de producir neurotoxinas. Si bien, la "Vertiente" demuestra no tener un alto contenido de cianobacterias, y en la mayoría de las muestras no hubo evidencia de las mismas, sí se encontró microcistina y en muchos de los casos, su concentración superó al nivel guía recomendado por la OMS, como agua de consumo. Se suma también que ambas fuentes no son aptas microbiológicamente, siendo potenciales productoras de diarrea y problemas gastro-intestinales.

En cuanto al dosaje de enzimas hepáticas en personas expuestas, no se encontró grandes alteraciones, pero extrapolándolo a una población tan pequeña, los porcentajes hallados no dejan de ser importantes. Aunque en la población en estudio, hay muchas patologías que pueden producir un aumento de las mismas. Como ya se mencionó se

comenzó el estudio de los anticuerpos tipo IgE e IgG específico para microcistina LR, dando altamente positivos los de tipo IgE en algunos de los pacientes, pero se debe continuar con un seguimiento para poder sacar una conclusión. En pacientes que se les pudo realizar dos extracciones y en donde había sido positiva la IgE, comenzó la misma a bajar y a tomar más relevancia la IgG específica para MC-LR. Pero se debe continuar estudiando esta relación. El test de genotoxicidad no demostró incremento de aberraciones cromosómicas, por lo cual no se han evidenciado alteraciones a este nivel.

Actualmente se siguen realizando estudios, pero sólo a nivel salud. Se les recomendó el consumo de una fuente alternativa de agua, no muy fácil llevar a cabo, porque no tienen poder adquisitivo para comprar agua envasada o adquirir otra fuente alternativa segura.

Este trabajo se generó con la idea de contribuir con información base, ausente hasta el momento, sobre los efectos en la salud de personas expuestas continuamente a toxinas algales a los fines de establecer un futuro esquema de manejo del riesgo en la zona de estudio.

REFERENCIAS

- Andrinolo D., Sedán D., Telese L., Aura C.; Maserá S., Giannuzzi L., Marra C. A. & Alaniz M. T. (2008). Hepatic recovery after damage produced by sub-chronic intoxication with the cyanotoxin microcystin-LR. *Toxicon* 51 (3), 457-467.
- Ame V., (2003). Microcistinas en el Embalse San Roque (Córdoba). Presencia, Ecotoxicidad, Regulación y Biodegradación. Tesis doctoral. 144 pp. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- DiPAS (1994). Normas Provinciales de calidad y control de agua para bebida. Resolución DiPAS 608/93- Departamento Laboratorio- Volumen I- Córdoba- Argentina.
- Falconer, Ian Robert (2005). "Cyanobacterial toxins of drinking water supplies: *Cylindrospermopsis* and Microcystins". CRC Press – USA.
- Helmbrecht J, López Fabián, (2000): "Predictores Físicos de la Calidad del Recurso en el Lago San Roque". Memorias del XIX Congreso Latinoamericano de Hidráulica. Tomo I, 75-84.
- Massey Jr., F. (1981). The Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit. *J. Am. Stat. Assoc.* 46: 68 - 78.
- Morillo, S; Dasso, C; Bustamante, M A; Granero, M y López, F. (2002) Modelación unidimensional de la limnología física del Embalse San Roque, Córdoba, Argentina, XIX Congreso Nacional del Agua, Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina.
- Pilotto, L.S., Douglas, R.m., Burch, M.d., Cameron, S.k Beers, M., Ruch, G.R. Rbinson, P., Kira, M., Cowie, c.t., Hardiman, S., Moore, C. and Attewell R.G. 1997 Health effects of recreational exposure to cyanobacteria (blue-green-algae) during recreational water-related activities. *Aust.N. Zeland J.Public Health*, 21, 562-566)
- Rossen, A; Rodriguez, M.I.; Ruibal Conti, A.L.; Fortunato, M.S.; Bustamante, M.A.; Ruiz, M.; Melero, V.; Angelaccio, C. & Korol, S. (2007) "Evaluación del estado sanitario del lago San Roque (Córdoba) empleando indicadores microbiológicos" I. Tucumán- Argentina.
- Ruibal Conti A.L, (2003). Seasonal Variation of Microcystins in Argentinean Inland Waters. pp 88. Tesis de Maestría. Universidad de Kyoto. Japón.
- Ruiz, Marcia (Julio- Diciembre 2006). "Caracterización integral de la calidad de los recursos hídricos: Eutrofización y algas tóxicas". Informe técnico. Dir: Ruibal Conti, Ana Laura.