

**III Congreso Internacional sobre Gestión y Tratamiento Integral del Agua,
6 al 8 de Octubre 2010, Córdoba, Argentina**

**EFFECTOS EN LA SALUD POR EXPOSICIÓN AL AGUA CON
MICROCISTINAS.**

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

¹INA-CIRSA, Ambrosio Olmos 1142- 1º piso, mruiz@ina.gov.ar;

²Laboratorio de Genética, Facultad de Medicina, UCC, Jacinto Ríos 571.

RESUMEN

Las cianobacterias o algas verdes azules son potenciales productoras de cianotoxinas, incluyendo microcistinas. El desarrollo masivo de estas algas trae aparejado un gran número de consecuencias, entre las más importantes se encuentran los efectos nocivos en la salud pública debido a que las microcistinas tienen la capacidad de producir trastornos gastro-intestinales, hepatotóxicos, promotor de cáncer hepático y colon. El Embalse San Roque ubicado en Córdoba (Argentina), presenta floraciones regulares de cianobacterias desde 1997. Estudios previos realizados sobre la calidad del agua del embalse, indican la presencia de algas productoras de toxinas. Poblaciones ubicadas en la zona este del Embalse carecen de agua potable, por lo cual, los habitantes (114 hab. aprox.) utilizan múltiples fuentes de agua para su higiene personal y recreación, incluyendo el agua del embalse. El objetivo de este estudio fue, investigar el grado de exposición a las cianobacterias y evaluar el posible impacto en la salud de los residentes cercanos al paredón del dique. Se realizó un cuestionario a los efectos de establecer el estado de salud general de los expuestos, se tomaron muestras de agua y se realizaron extracciones de sangre. Los resultados muestran que la población está altamente expuesta: desde el punto de vista del consumo como del contacto directo. La concentración de microcistina hallada en el agua del lago varió entre <0.16 a 3µg/L. Las alteraciones en los análisis de sangre y la sintomatología en la población, no pueden vincularse específicamente a efectos crónicos causados por microcistinas, sin embargo el estudio de las inmunoglobulinas específicas resultaron de gran utilidad y se continúa trabajando en ello para poder determinar relaciones causa-efecto.

Palabras claves: microcistinas, salud, Embalse San Roque, toxicidad crónica.

ABSTRACT

Cyanobacteria or blue green algae can potentially produce cyanotoxins, including microcystins. Cyanobacteria blooms and their toxins can cause several problems such as adverse effects on public health. Specifically, microcystins can produce gastrointestinal disorders, hepatotoxic effects; they can also promote cancer in liver and colon. San Roque Reservoir located in Cordoba, Argentina, has experienced algae bloom regularly since 1997. Previous studies on the water quality of the reservoir indicate the presence of toxin-producing algae. The aim of this study was to investigate the exposure of the residents near the lake to cyanobacteria and also to assess the potential impact on their health. Residents in the area (114 inhabitants. approx.) don't have access to drinking water, as a consequence, they use multiple sources of water, including water from the reservoir for personal hygiene and recreation. A questionnaire was developed to assess the general status of the resident's health. Simultaneously, water and blood samples were taken and analyzed. The results show that the population is highly exposed: from the point of view of consumption as well as direct contact. Microcystin concentration ranged from <0.16 to 3µg/L. Alterations found in routine blood tests as well the symptoms described by the population can not be linked specifically to chronic effects caused by microcystins but the study of specific immunoglobulins supported a

possible relationship. At present, further work is carried out in order to determine a cause-effect link.

Key words: microcystins, health, San Roque Reservoir, chronic toxicity.

INTRODUCCIÓN

El embalse San Roque 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 calidad del agua del embalse 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 peligrosos el efecto sobre la salud pública, debido a su capacidad de producir toxinas causantes de daños leves a corto plazo, como dermatitis, alteraciones gastro-intestinales, hasta problemas de toxicidad más graves con efectos agudos como hemorragias, mal funcionamiento hepático y crónicos a bajas dosis como promotor de cáncer hepático.

Estudios realizados sobre la calidad del agua del Embalse San Roque, indican que las algas presentes son productoras de toxinas (Ruibal Conti AL., 2003 y Amé V. 2003).

En la costa del lago, en un área cercana a la presa, habitan 23 familias (114 hab. apróx.) en donde algunos de ellos tienen un tiempo de residencia medio de 20 años; los mismos al carecer de una fuente confiable de agua para beber y cocinar, se abastecen de múltiples fuentes, incluyendo el agua del embalse.

Este proyecto es un trabajo en conjunto de la Universidad Católica de Córdoba (Facultad de Medicina) y el Instituto Nacional del Agua (CIRSA) en el cual se viene trabajando en conjunto desde el año 2005.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El Embalse San Roque (31° 22' S y 64° 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° 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.

Estado de la población

En forma conjunta, entre el personal médico del dispensario del Municipio con alumnos y docentes de la Facultad de Medicina, se hizo relevamiento de la población mediante encuestas, enfocándose en las fuentes de consumo y en el estado sanitario. Los datos de las fuentes de consumo, higiene personal, riego, disposición de efluentes y excretas y consumo de pescado, se realizó a 45 personas de la población (47% aprox.), y fue de carácter voluntario.

Los síntomas más frecuentes que resaltaron en las encuestas fueron picazón, descamación, ronchas, sarpullido, alergias (en axilas y brazos), en mucosas: infecciones de oído (otitis) y conjuntivitis y a nivel gastrointestinal, náuseas, vómitos, cólicos y diarreas,

donde esto último se puede relacionar con la no aptitud bacteriológica y/o la presencia de microcistina, ya que se encontró en un rango de <0.16 a $3 \mu\text{g/L}$ en las fuentes de consumo.

Análisis de agua

A las fuentes de agua más relevantes se le realizó análisis de nutrientes, microcistinas totales, fitoplancton y bacteriológico. El estudio se basó en determinar la calidad de agua consumida: recuento e identificación de fitoplancton (concentración por sedimentación y lectura en cámara de Fuchs Rosenthal), se determinaron microcistinas totales por ensayo inmuno-enzimático (Kit ELISA, Enviroligix USA), las bacterias coliformes totales y termotolerantes (Tubos Múltiples), heterótrofas aerobias (Recuento en placa) y *E. coli* presuntiva (agar Levine para *E. coli*).

Las muestras de agua fueron mensuales, de tipo 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) en el lago, y de otras dos fuentes de consumo de agua alternativas denominada "Vertiente" (nombre dado por los lugareños a una filtración de la pared del dique) y otra "Escuela", usada por el establecimiento educativo, la cual es conducida desde el lago a un tanque y de allí distribuida. El período de estudio fue de 2 años y 8 meses (2004-2007).

Análisis de sangre

En una 2º etapa se realizaron análisis de sangre a los expuestos (consentimiento informado), citológico (glóbulos blancos, glóbulos rojos, índices hematimétricos, hemoglobina, hematocrito), enzimas hepáticas: transaminasa glutámico oxalacética (GOT), Transaminasa glutámico-pirúvica (GPT), Gama glutamil transferasa (GGT), Fosfatasa Alcalina (FAL) y bilirrubina total; estudios de genotoxicidad y desde el año 2009 se comenzaron a hacer estudios de anticuerpos antimicrocistina- LR (IgE e IgG) por medio de ELISA por inmunodifusión en placa (se mide la positividad por DS).

En la actualidad estos últimos son los que continúan evaluándose, donde se evidencia la fluctuación de los mismos en aquellas personas en las cuales se les pudo realizar una 2º y 3º extracción y poder darle validez epidemiológica al estudio.

RESULTADOS

Análisis de agua:

El fitoplancton encontrado en el agua de la Escuela tuvo 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.

Las muestras analizadas para microcistinas (n=32) dieron un 65.6% positivas. La concentración máxima fue de $3 \mu\text{g/L}$. (Fig. N°1), siendo el nivel sugerido por la OMS para agua de consumo, $1 \mu\text{g/L}$ de MC-LR. Esta fuente se utiliza para cocinar siendo ocasionalmente consumida.

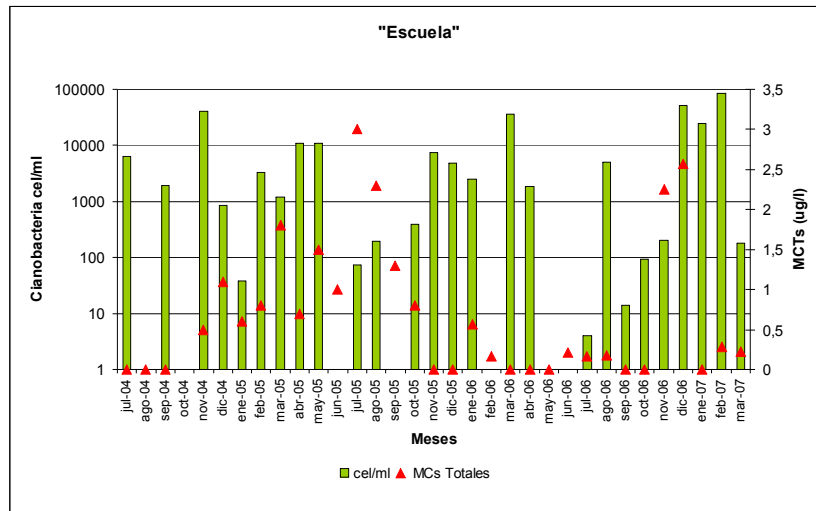


Fig N°1: Cianobacterias y concentración de microcistina la fuente “Escuela”.

En la Vertiente hubo predominio de crisófitas, y cianobacterias. 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.

Esta fuente, no se encuentra en un lugar accesible, pero es la que mayormente consumen, debido a que tiene aspecto límpido y buen sabor. Las muestras analizadas (n=32), fueron positivas 46.8% y su máxima concentración de microcistinas totales fue 2.3 µg/L (Fig. N°2).

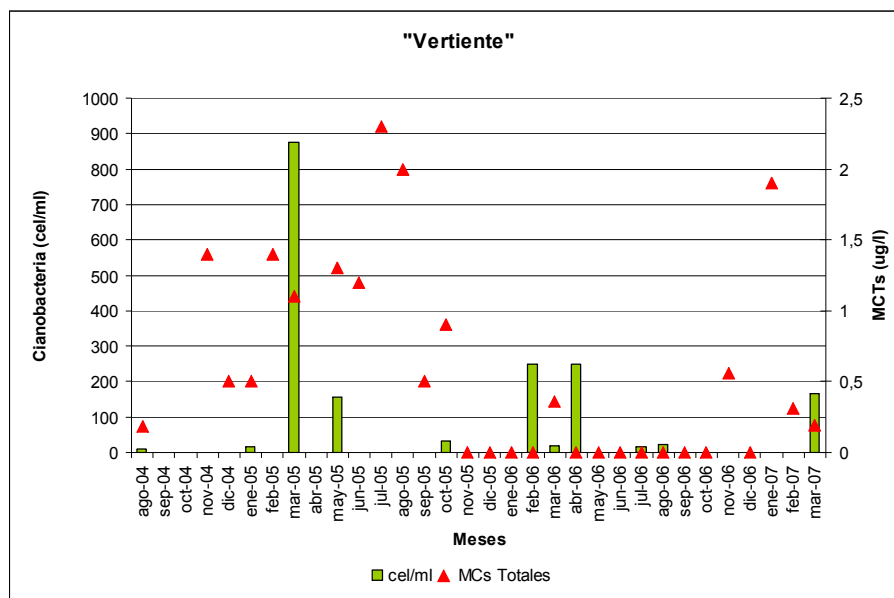


Fig. N°2: Relación entre las cianobacterias y la concentración de microcistina en el agua de la “Vertiente”.

Los otros dos puntos monitoreados, en el lago, fueron los denominados TACsup y TACToma (punto de captación de agua, perteneciente a Empresa Hidroeléctrica (EPEC), para el abastecimiento de la población de Córdoba). Estos puntos son tenidos en cuenta ya que es donde está la captación de agua que va hacia la escuela.

Lo que se demostró en las encuestas es que el 48% consume agua de la vertiente, 72% se higieniza con el agua del embalse y el 60% lo usa al mismo como recreación (nado y pesca).

A nivel de la superficie hubo dominancia de *Microcystis* sp (>60%), alternando con *Anabaena* sp. 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). Hubo fechas con presencia de *Anabaena* y *Microcystis*, pero sin concentración detectable de microcistina (cepas no tóxicas).

En la toma hubo 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.

El análisis bacteriológico, indica que las fuentes Vertiente y Escuela tienen presencia de coliformes totales y termotolerantes, incrementándose en los meses cálidos.

La “Vertiente” presentó menor concentración que la “Escuela”, sin embargo como agua de consumo ambas no son aptas (Normativa provincial según agua de consumo debe ser 0 en 100 ml de Coliformes totales y termotolerantes; DiPAS, 1994). Para uso recreativo los valores de coliformes totales sugeridos son 5000NMP/100ml y para termotolerantes 1000NMP/100ml (DiPAS, 1999). La prueba para *E. coli* (presuntiva), en la “escuela” dio 47% positivo, y en la “vertiente”, 35%.

El valor guía para bacterias aerobias mesófilas en agua potable, es de 500 UFC/ml. En el tiempo estudiado el agua de la “Escuela”, superó ampliamente en el mes de noviembre del año 2006 (16400 UFC/ml).

Análisis de sangre

El estado general de salud de la población resultó ser bueno (Ruiz y col., 2008 y Ruiz. y col. 2009). No se encontró elevadas alteraciones en las enzimas hepáticas (Fig. N°3) aunque estos porcentajes son importantes desde el punto de vista de que la población estudiada es pequeña.

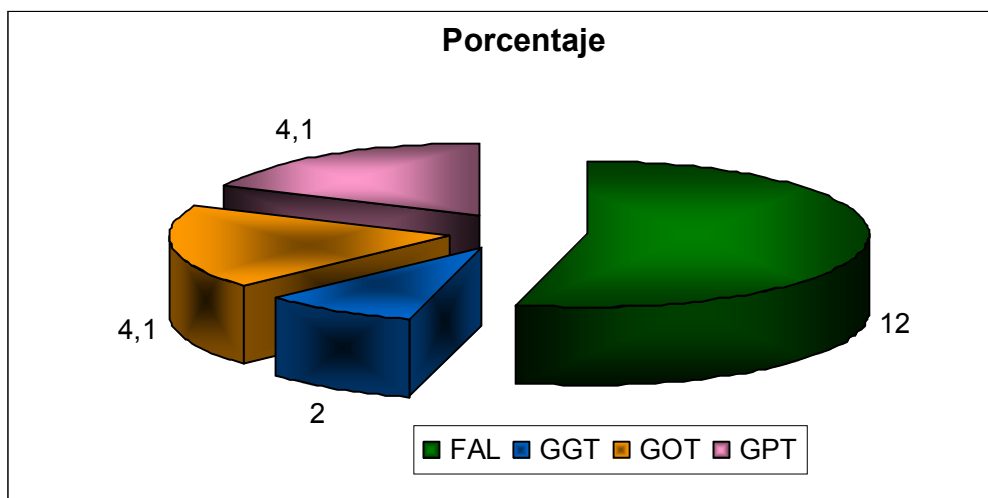


Fig. N°3: Porcentaje de enzimas hepáticas elevadas.

En relación a los otros parámetros (Fig. N°4) lo más relevante fue la presencia de Eosinofilia (aumento de eosinófilos), lo cual es indicativo de parasitosis o estados alérgicos. A raíz de esto y en necesidad de encontrar un parámetro más específico es que se comienza a realizar en algunos pacientes la determinación de anticuerpos antimicrocistina-LR, en donde se estudia en conjunto la IgE y la IgG, confirmando el contacto de esta toxina con el paciente. Los resultados arrojaron un 82,3 % con alteración de la IgE y el 38,2 % de la IgG. Lo más importante de este dato inmunológico, es que los expuestos muestran una respuesta medida a través de las IgE e IgG. La medición de creatinina en sangre fue para descartar alteraciones a nivel renal, contrastando lo determinado a nivel experimental en donde se vio que no se alteraba la misma en ratones (Sedán, 2010).

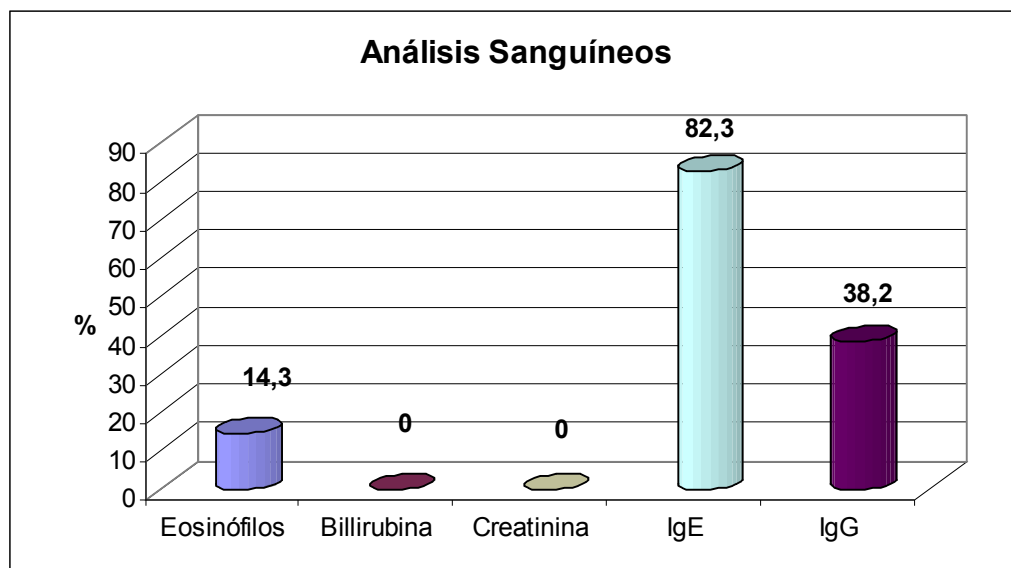


Fig. N°4: Resultados de los análisis sanguíneos más representativos.

En los estudios de genotoxicidad, no se observaron alteraciones en los cromosomas de las personas estudiadas comparadas con una población control.

En pacientes en los cuales se pudo realizar una 2° extracción de sangre se observó que hay fluctuaciones en los valores de las inmunoglobulinas (Fig. N°5), por lo cual se debe seguir estudiando como es el funcionamiento de ambas y su contacto con la microcistina.

Comparación entre IgE e IgG

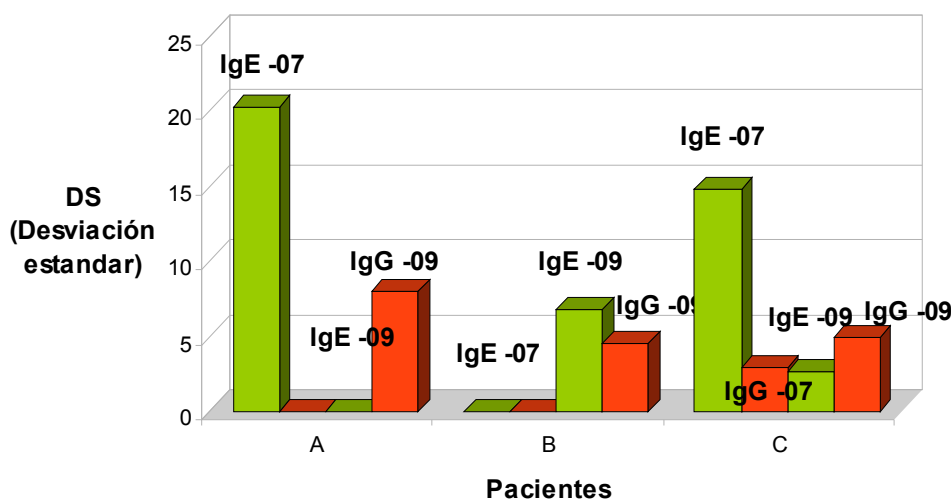


Fig. N°5: Variación de las Igs. en tres pacientes diferentes.

CONCLUSIONES

Las microcistinas son toxinas que pueden causar la muerte de animales como ganado vacuno (Odriozola et al., 1984) . En el hombre no hay datos que afirmen con certeza cual es su efecto, por lo cual es importante el estudio de las mismas, además las cianobacterias tienen lipopolisacáridos por lo cual son alergénicas por contacto dérmico.

Con este estudio se demuestra que la población está expuesta y en contacto de tipo permanente a las cianobacterias, debido al alto contenido de éstas en el lago (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, en donde la WHO (2003) recomienda no exceder los 2 a 4 µg/L para que no sea riesgoso.

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

En el agua que llega a la Escuela, hay presencia de géneros potencialmente tóxicos. Cabe destacar que *Anabaena* y *Oscillatoria* tienen además la capacidad de producir neurotoxinas, como anatoxina- a, la cual se ha demostrado su presencia en el lago (Amé, 2010). Con respecto al agua de consumo también superaron al nivel guía recomendado por la OMS de 1µg/L; sumado a esto que ambas fuentes no son aptas microbiológicamente, siendo potenciales productoras de diarrea y problemas gastro-intestinales.

El estudio de los anticuerpos tipo IgE e IgG específico para microcistina LR, nos permite hacer un seguimiento de la población, desde el punto de vista de la cronicidad, ya que lo crítico es que son promotoras de cáncer sumándose al tiempo de residencia de los pobladores.

Hasta el presente no hay estudios epidemiológicos en nuestro país y sólo se tiene constancia de lo realizado por Pilotto (1997) en Australia, por lo que se considera necesario seguir estudiando esta problemática ambiental y su efecto en la salud, contribuyendo de este modo con información base, ausente hasta el momento, para poder transferirla en un futuro a otras poblaciones con problemática similar.

BIBLIOGRAFIA

- Andrinolo D., Sedán D., Telese L., Aura C.; Masera 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.
- Amé V, Ruiz M., Galanti L.N., Ruibal A.L., Rodríguez M.I. y Wunderlin D.A (2010).** "Microcistinas y anatoxina-a en el Embalse San Roque (Córdoba-Argentina)". III Congreso Argentino de SETAC- 10 al 14 de Mayo- Santa Fe.
- DiPAS (1994).** Normas Provinciales de calidad y control de agua para bebida. Resolución DiPAS 608/93- Departamento Laboratorio- Volumen I- Córdoba- Argentina.
- DIPAS (1999).** Decreto 415/99 Normas para la protección de los recursos hídricos superficiales y subterráneos de la Provincia. Córdoba- Argentina.
- Falconer, Ian Robert (2005).** "Cyanobacterial toxins of drinking water supplies: Cylindrospermopsis and Microcystins". CRC Press – USA.
- Massey Jr., F. (1981).** The Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit. *J. Am. Stat. Assoc.* 46: 68 - 78.
- Odrizola E, Ballabene N & Salamanca A (1984).** Intoxicación en ganado bovino por algas verdeazuladas. *Revista Argentina de Microbiología* 16 (4): 219-224.
- 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; Rodríguez, 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.
- Ruiz, M., Rodríguez, M.I., Ruibal, A. L., Centineo, E., Alasia, V., Lerda, D. & Aguilera, S. (2008).** "Estudio del impacto en la salud de una población expuesta al uso de agua con cianobacterias". Cal 4- Bariloche (Pcia. Río Negro).
- Ruiz, M., Rodríguez, M.I., Ruibal, A. L., Gonzalez, I., Alasia, V., Pellicioni, P. ; Biagi, M. & Lerda, D. (2009).** "Exposición al uso y consumo de agua con cianobacterias". I Congreso de Energía y Ambiente. Villa María (Córdoba)-
- Sedan, D., Andrinolo, D., Telese, L., Giannuzzi, L., Alaniz, M. & Marra, C. (2010)** "Alteration and recovery of the antioxidant system induced by sub-chronic exposure to microcystin-LR in mice: Its realltion to liver lipid composition. *Toxicon* 55: 333-342.
- WHO. 1999.** Toxic Cyanobacteria in Water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. I. Chorus and J. Bartram, eds. Taylor and Francis. New York and London. 416 pp.

WHO, 2003. Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1: Coastal and fresh waters. World Health Organization. Geneva. 219 pp.

WHO, 2004. Guidelines for Drinking-Water Quality. Recommendations. Chemical Fact Sheets, third ed., vol. 1. World Health Organization, Geneva, Switzerland, pp. 407–408.