

# ***Ciclo Biología Bioquímica: Microbiología 2024***

## **Virus como indicadores de calidad ambiental**

Matías Victoria Montero  
matvicmon@gmail.com

Laboratorio de Virología Molecular  
Departamento de Ciencias Biológicas  
CENUR Litoral Norte, Sede Salto  
Universidad de la República

# Enfermedades de transmisión hídrica

-Enfermedades que son transmitidas predominantemente a través del contacto o consumo de agua contaminada.

La capacidad de causar enfermedad depende de la dosis y la condición del individuo.

Causan 3,5 millones de muertes por año en todo el mundo.

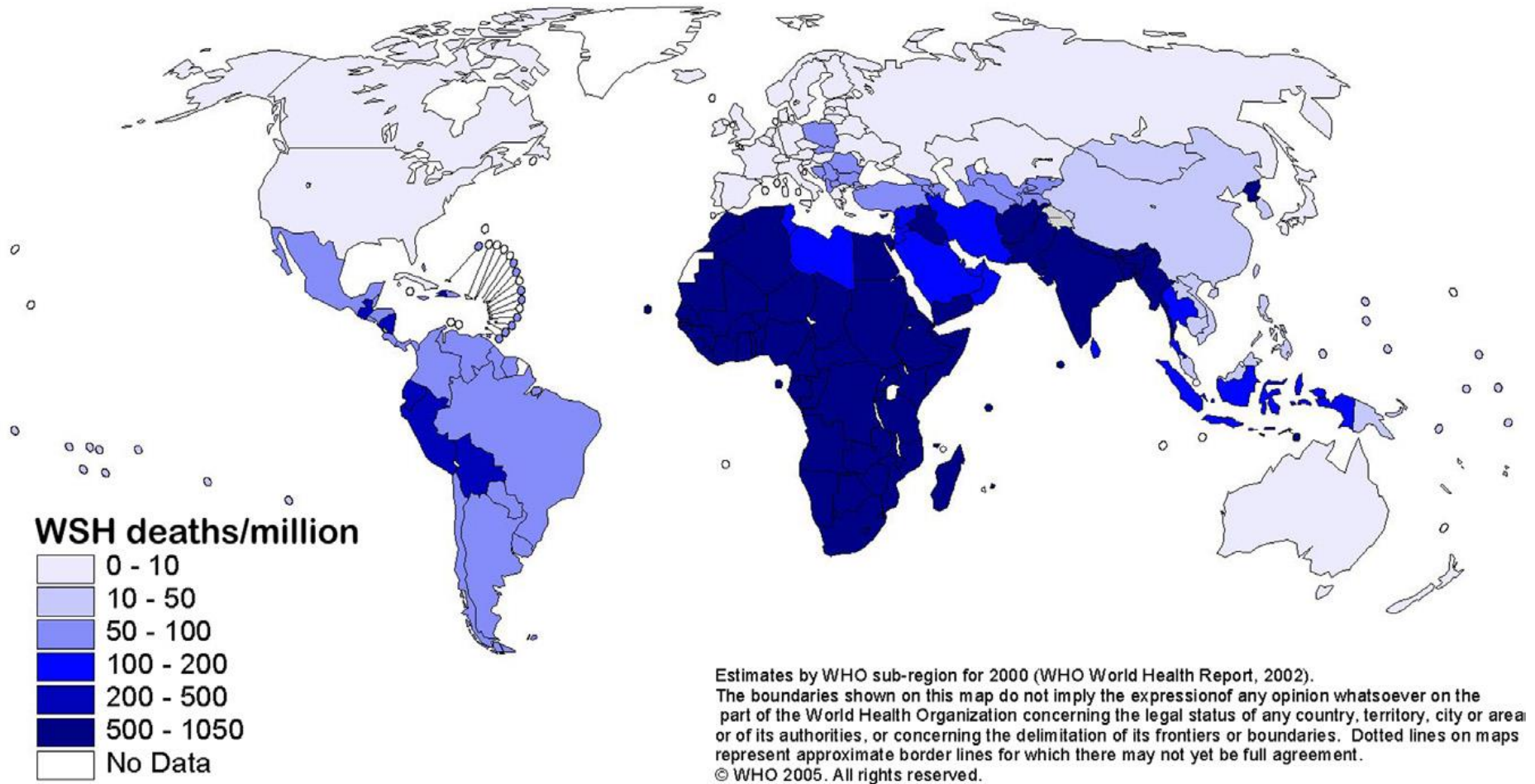
Exposición  $\neq$  Infección

Infección  $\neq$  Enfermedad

# Patógenos de vehiculación hídrica

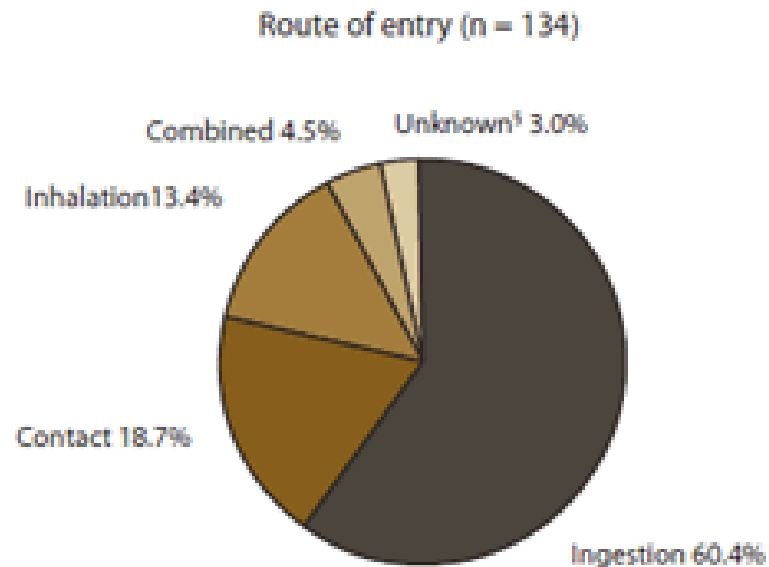
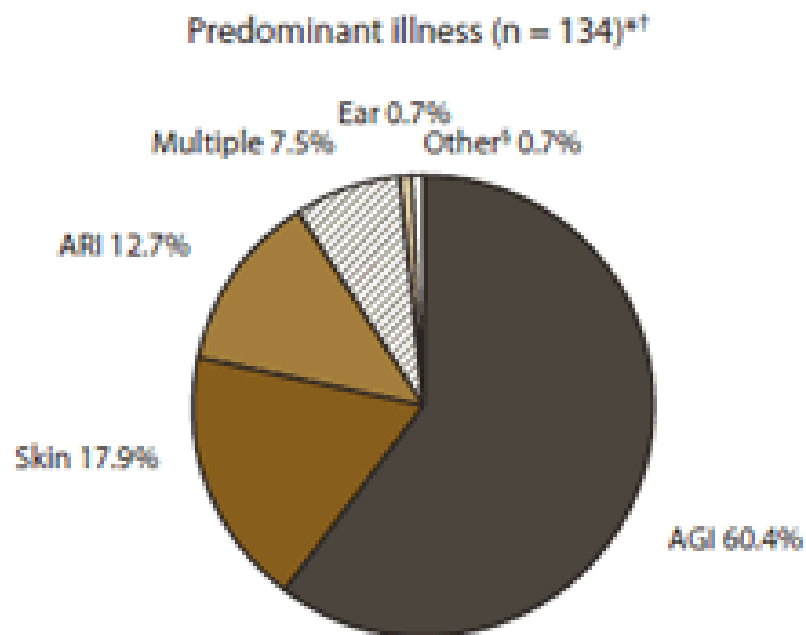
- ✓ Causan efectos agudos y crónicos (miocarditis, gastroenteritis, cáncer de estómago) en la salud.
- ✓ Algunos pueden crecer en el ambiente.
- ✓ Están agregados o adheridos a sólidos en suspensión (su concentración varía en el tiempo).
- ✓ La exposición y enfermedad causada por el patógeno depende de la dosis, virulencia y el estado inmunitario.
- ✓ Los patógenos se multiplican en el hospedero (algunos en la comida o bebidas)
- ✓ No presentan un efecto acumulativo ( $\neq$  a los metales pesados).

# Mortalidad originada por los patógenos de vehiculación hídrica

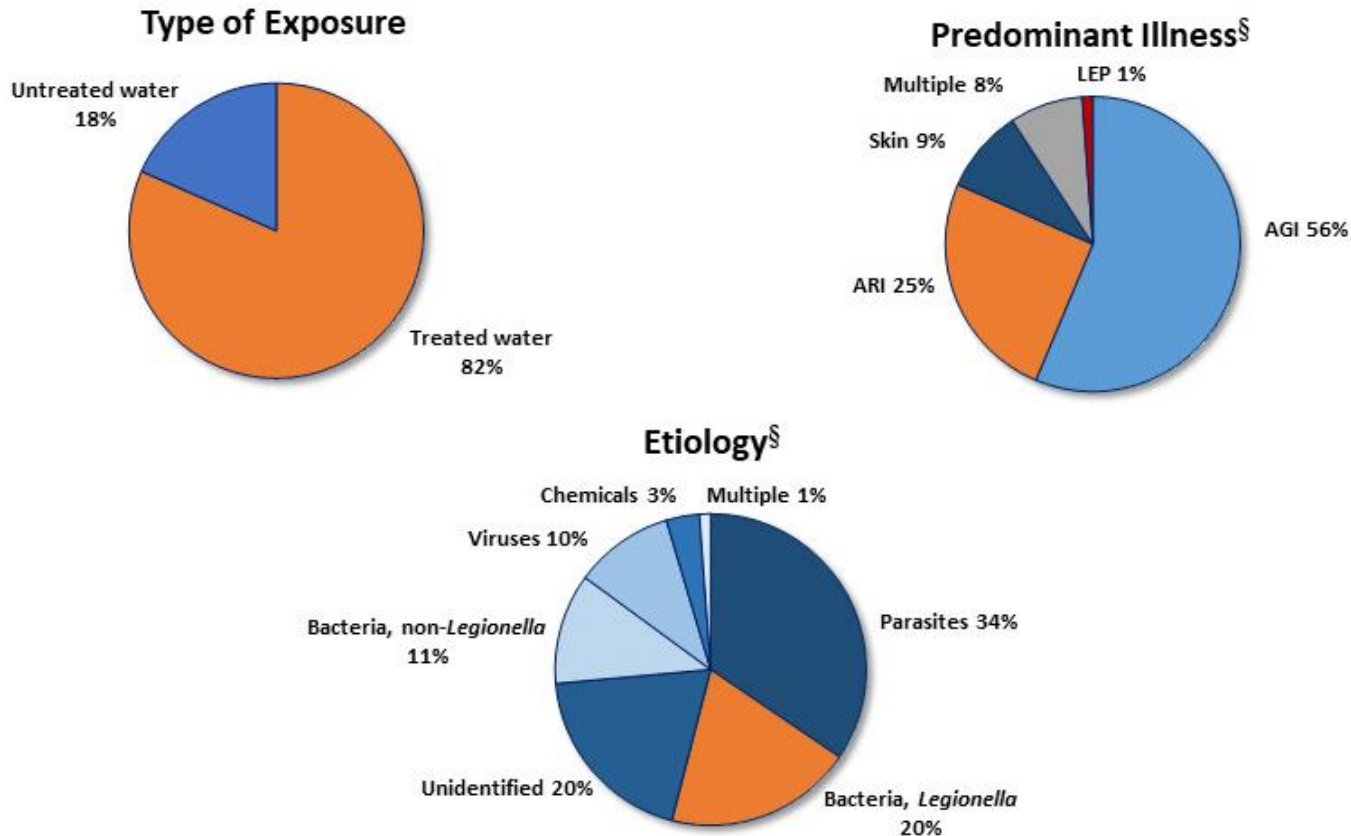


✓ Países de bajos recursos: 3000 muertes de niños cada día por diarreas.

## Brotes en aguas recreacionales por tipo de enfermedad y exposición en EEUU 2007-2008



# Brotes de enfermedades transmitidas por el agua asociados al agua recreacional, EEUU 2013-2014.



Abbreviations: AGI: acute gastrointestinal illness; ARI: acute respiratory illness; LEP: leptospirosis; Multiple: a combination of predominant illnesses; Skin: illnesses, conditions, or symptoms related to skin.

\* n=87

† The category of illness reported by ≥50% of ill respondents. All outbreaks of legionellosis (i.e., Legionnaires' disease and Pontiac fever) are classified as ARI.

§ Percentages do not add up to 100% due to rounding.

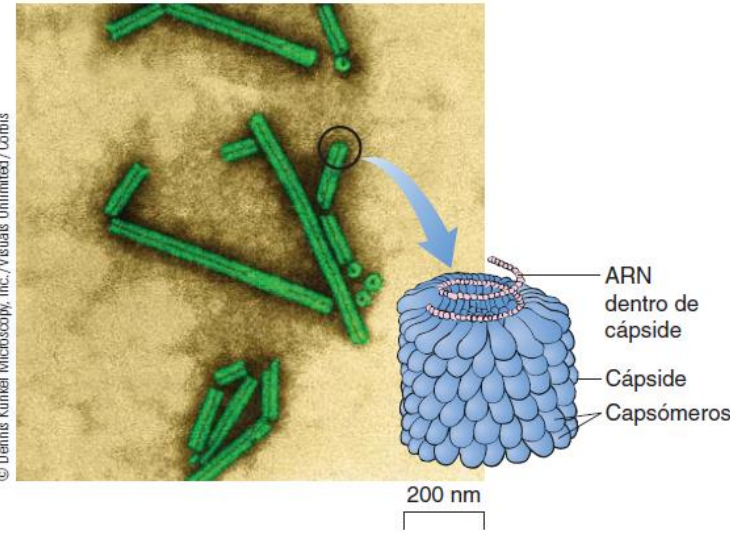
***Tipos de patógenos***  
***(transmisión hídrica)***

- ***Bacterias***
- ***Virus***
- ***Parásitos***
- ***Protozoarios***
- ***Helmintos***



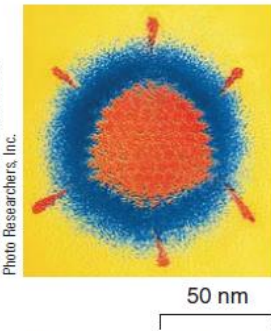
# – Virus

© Dennis Kunkel Microscopy, Inc./Visuals Unlimited/Corbis

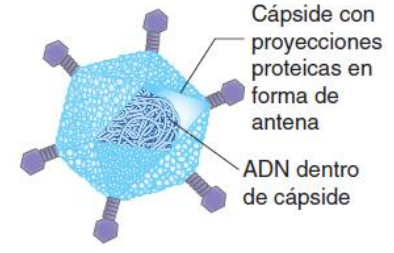


(a) Micrografía obtenida con un microscopio electrónico de transmisión (MET) del virus del mosaico del tabaco. Este virus tiene forma de barra con un arreglo helicoidal de proteínas como cápside.

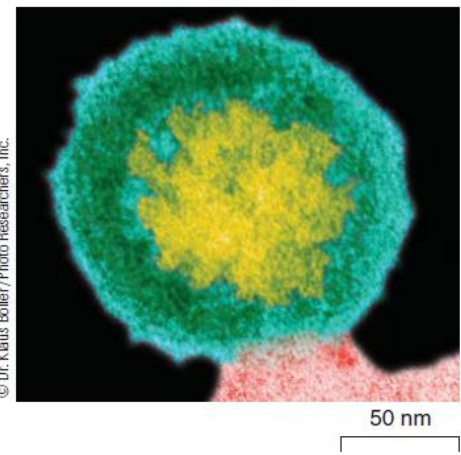
Biozentrum/Science Photo Library/Photo Researchers, Inc.



(b) Micrografía MET coloreada de un adenovirus. El cápside está compuesto de 252 subunidades (visibles como pequeños óvalos) ordenados en poliedros de 20 lados. Doce de las subunidades tienen proyecciones proteicas que le permiten al virus reconocer las células huésped.

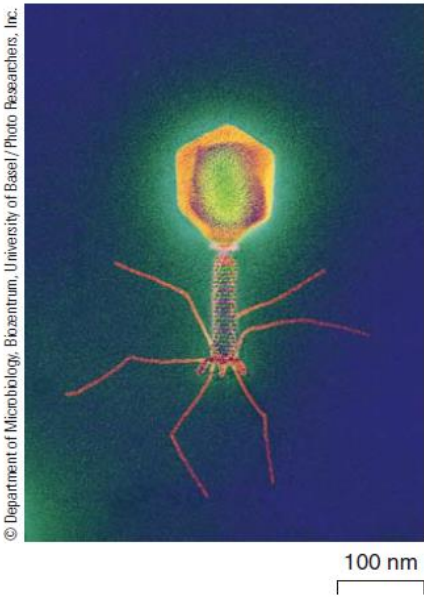


© Dr. Klaus Boller/Photo Researchers, Inc.



(c) Micrografía MET coloreada del VIH, el virus que causa el SIDA. El virus deja una célula huésped (rosa). El virus está encerrado en una envoltura (verde) obtenida de la membrana plasmática del huésped. Desde la envoltura se proyectan proteínas virales. El cápside del virus se muestra en amarillo.

© Department of Microbiology, Biozentrum, University of Basel/Photo Researchers, Inc.



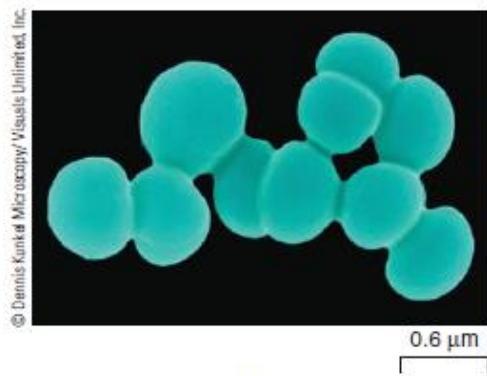
(d) Micrografía MET coloreada del bacteriófago T4. Este virus tiene cabeza poliédrica y cola helicoidal. El virus se adhiere a la pared celular del huésped bacterial mediante sus fibras de la cola.

## FIGURA 24-1 Animada La estructura de un virus

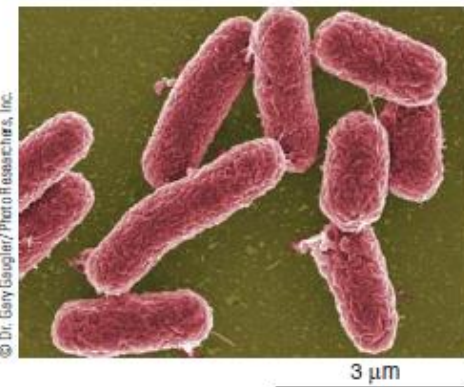
Un virus consiste de un núcleo de ADN o ARN rodeado por un recubrimiento de proteína llamado cápside, el cual está compuesto de subunidades de proteína llamadas capsómeros. Algunos virus tienen una envoltura membrana que rodea el cápside.



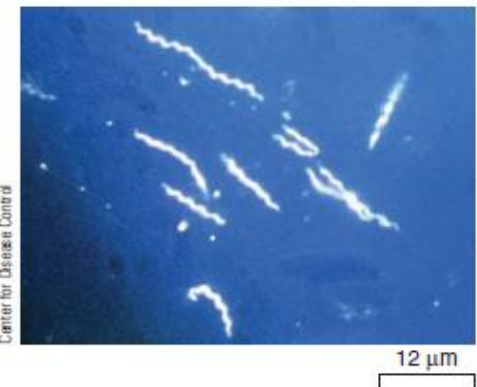
# – Bacterias



(a) **Bacterias cocos.** Micrografía coloreada obtenida con un microscopio electrónico de barrido (MEB) de *Staphylococcus aureus*. Estas bacterias producen infecciones y lesiones en la piel, intoxicaciones por alimentos y síndrome del shock tóxico.



(b) **Bacterias bacilos.** Micrografía MEB coloreada de *Salmonella*. Estos bacilos causan intoxicación por alimentos.

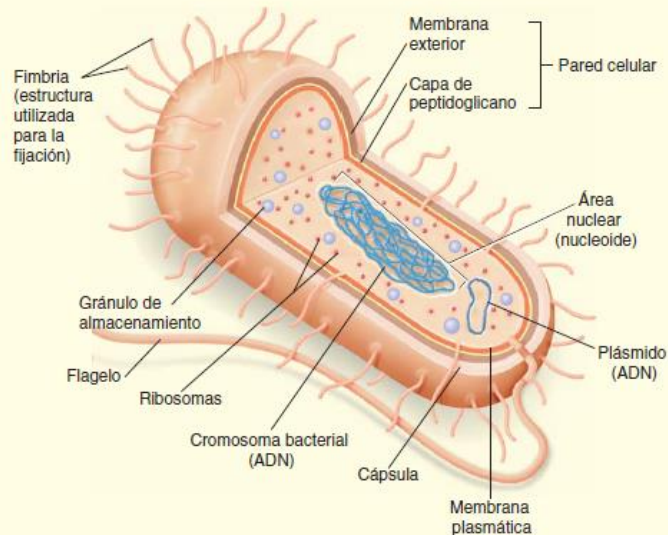


(c) **Bacterias espiroquetas.** Micrografía MEB coloreada de *Borrelia burgdorferi*. Estas espiroquetas causan la enfermedad de Lyme, que es transmitida por garrapatas de ciervo infectadas.

**FIGURA 25-1** Formas comunes de procarlotas

## PUNTO CLAVE

En contraste con las células eucariotas, las células procarlotas no tienen núcleo u otros organelos encerrados por membrana. Por lo general tienen un área nuclear con una sola molécula circular de ADN.



**FIGURA 25-2 Animada** Estructura de una célula procarlota

Este bacilo es una bacteria gramnegativa (consulte el texto). Observe la ausencia de una envoltura nuclear que rodee al ADN bacterial.

## *flagelados*

### *esporozoa*

Cryptosporidium

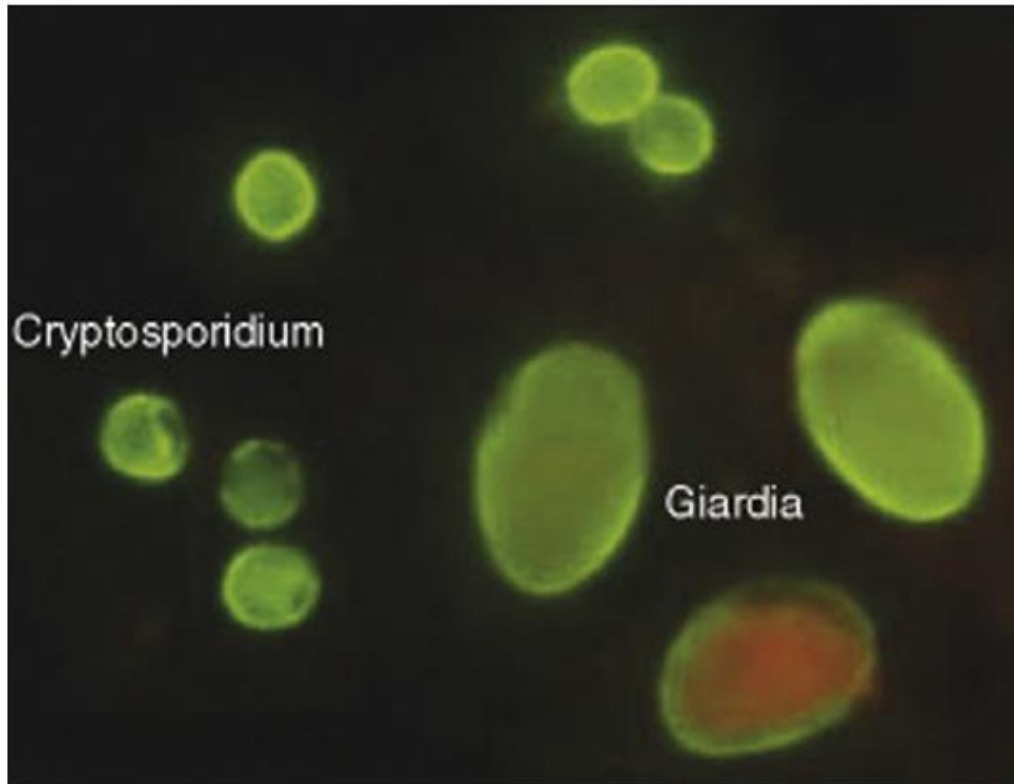


Giardia



### *amebas*

Entamoeba



# Patógenos que pueden causar una enfermedad aguda grave

<u>Patógeno</u>	<u>Síntomas</u>
<i>Campylobacter</i> spp.	Diarrea sanguinolenta, calambres abdominales, fiebre
<i>Salmonella typhi</i>	Calambres abdominales, fiebre tifoidea, delirio, diarrea.
<i>Shigella dysenteriae</i>	Diarrea sanguinolenta, dolor abdominal
<i>Leptospira</i> spp.	Fiebre alta, vómitos, diarrea, dolor de cabeza, ictericia
<i>Giardia</i> spp.	Diarrea aguda, calambres abdominales, pérdida de peso
<i>E coli</i> O157:H7	Diarrea sanguinolenta, calambres abdominales
<i>Cryptosporidium</i> spp.	Diarrea, fiebre leve
Hepatitis A y E	Artralgia, mialgia, fiebre e ictericia
Esquistosomiasis	Hepatomegalia, esplenomegalia, diarrea
<i>Legionella</i> spp.	Fiebre, tos, diarrea.

## Mortalidad: asilos vs. población general.

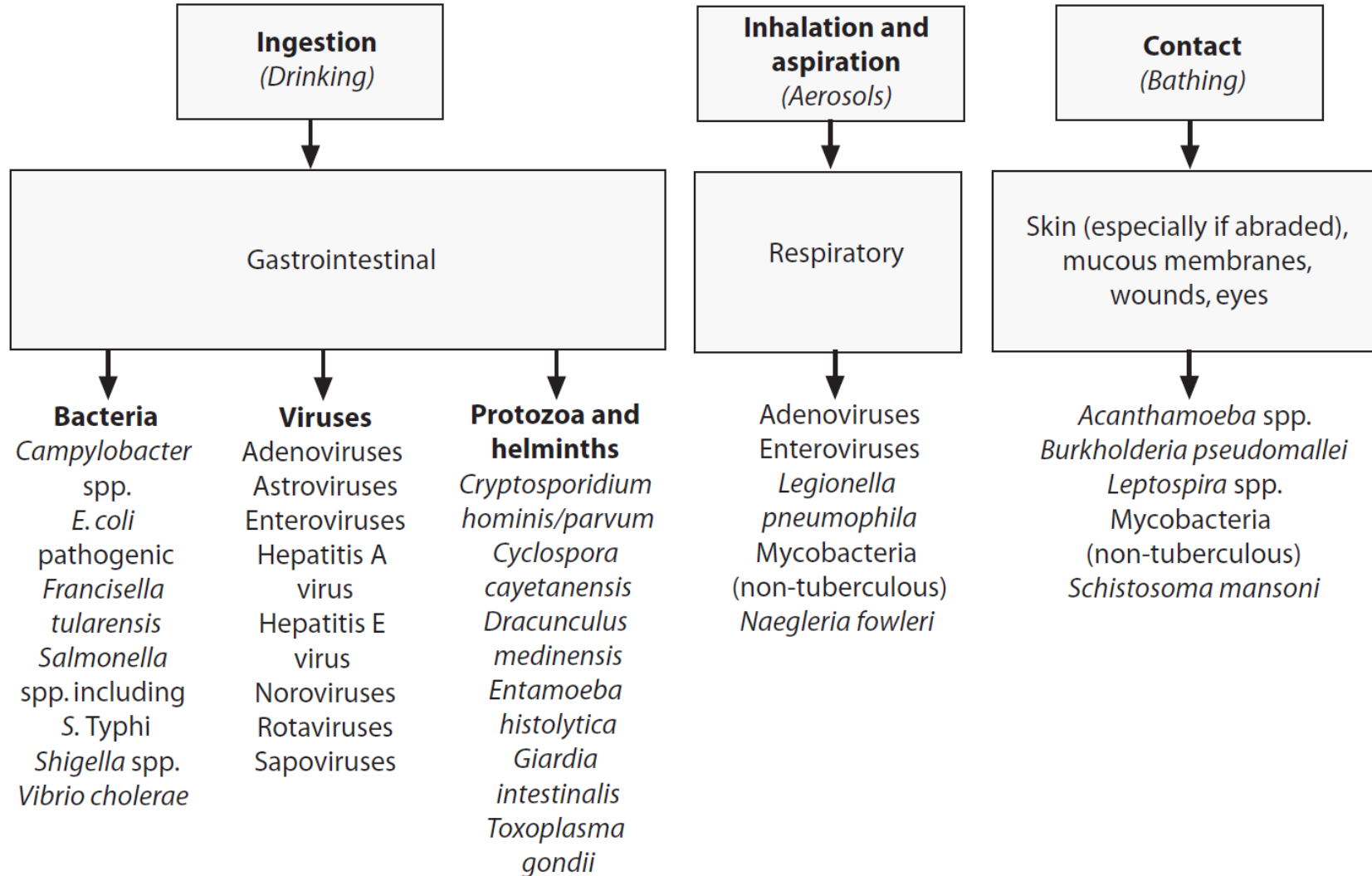
Organismo	Mortalidad (%) Pob. general	Mortalidad (%) Asilos	
<i>Campylobacter jejuni</i>	0.1	1.1	10X
<i>E. coli</i> O157:H7 (enterohemorrágica)	0.2	11.8	50X
<i>Salmonella</i> spp.	0.1	3.8	30X

Gerba et al., 1996

Factores del hospedero impactan en la susceptibilidad a tener una enfermedad grave:  
-Estatus inmune (HIV, cáncer, edad, medicamentos, embarazo).

# Vías de transmisión de los patógenos transmitidos por el agua

**Route of infection**  
Sepsis and generalized infection may occur



# Organismos indicadores

- ✓ Monitoreo de la contaminación fecal.
- ✓ Efectividad de procesos (filtración o desinfección).
- ✓ Integridad y limpieza de los sistemas de distribución.

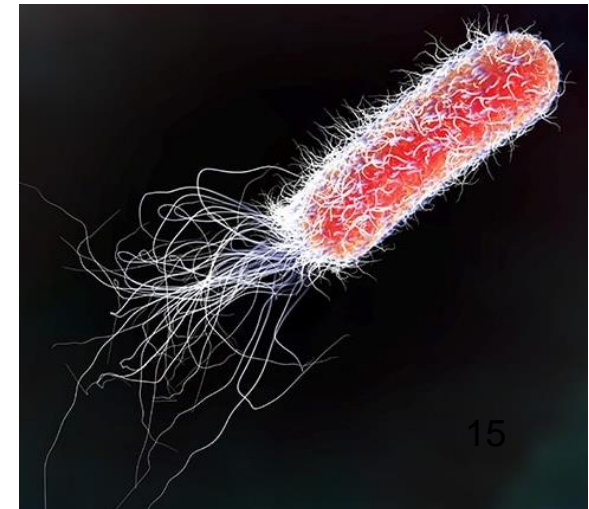
## **Idealmente, el indicador de contaminación fecal debería:**

- ✓ Estar de forma universal en heces de humanos y animales en altas concentraciones.
- ✓ No multiplicarse en aguas naturales.
- ✓ Persistir en las aguas de igual forma que los patógenos fecales.
- ✓ Responder al proceso de tratamiento de forma similar que los patógenos fecales.
- ✓ Ser fácilmente detectado por un método de cultivo barato y simple.
- ✓ Presentar alta especificidad de hospedero.



# Bacterias indicadoras de contaminación fecal

- ✓ Son miembros de la comunidad microbiana del tracto gastrointestinal.
- ✓ Advierten sobre la contaminación fecal o por aguas residuales y del riesgo a la salud humana (presencia de patógenos).
- ✓ No son patogénicas (mayoría) e incluyen a los coliformes termotolerantes (fecales), *Escherichia coli*, enterococci, *Bifidobacteria*, *Bacteroidales* y *Clostridium perfringens*.
- ✓ Ampliamente distribuidas en la materia fecal de humanos y de la mayoría de los animales.
- ✓ Persistencia y/o replicación en hábitats ambientales.
- ✓ Fagos F-RNA (indicadores indirectos).

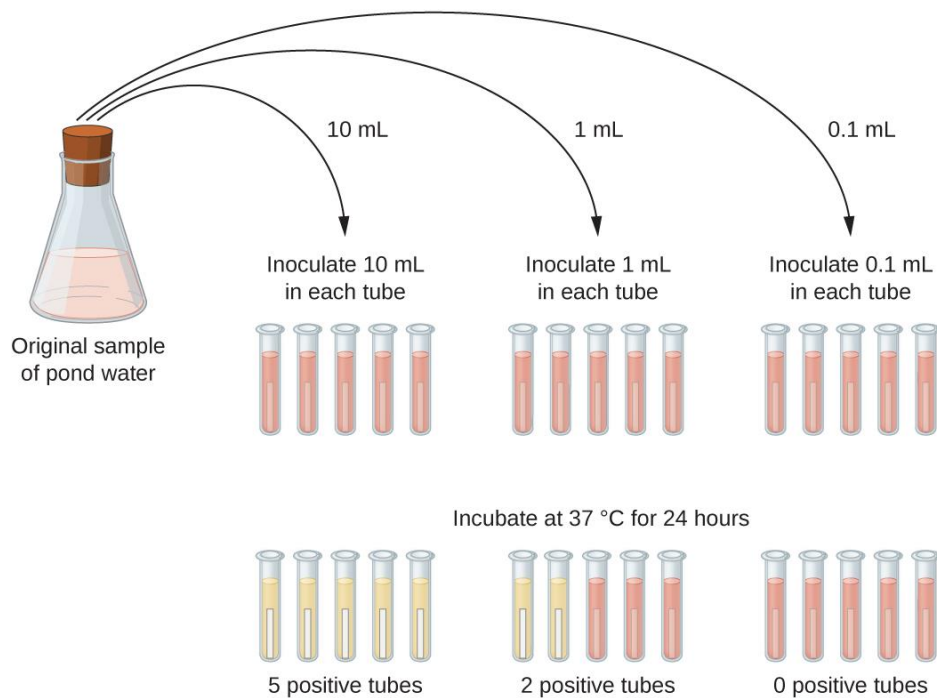
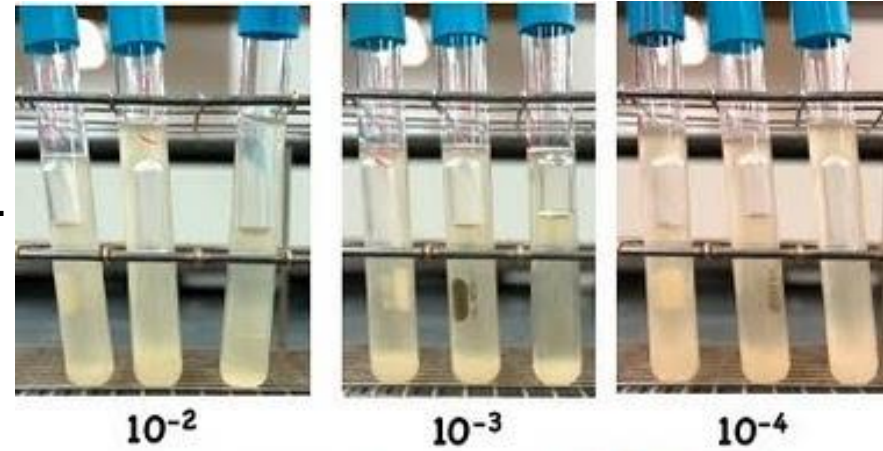




# Métodos de detección de coliformes

## Fermentación en tubos múltiples.

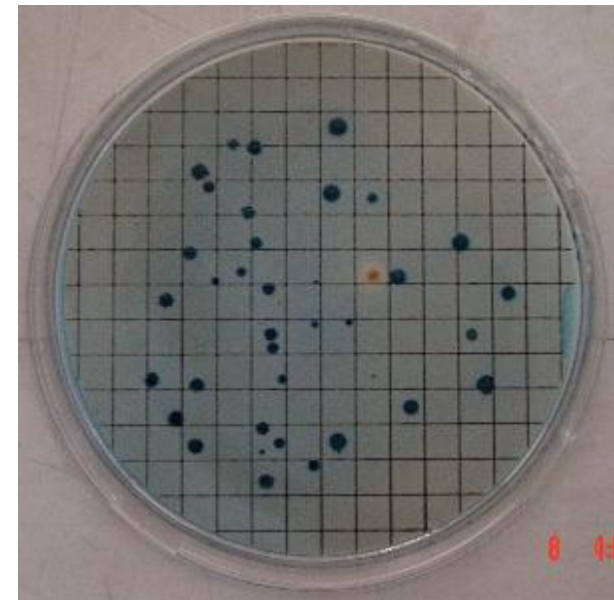
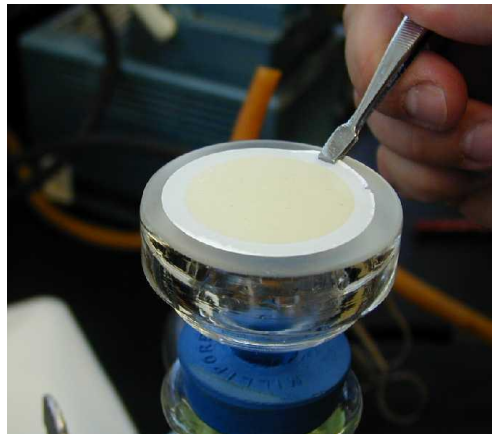
- Inoculación de diluciones seriada en tubos.
- Evaluación del crecimiento y formación de gas.
- Incubación por 48 hrs. a 35 °C.



No. of tubes giving a positive reaction :			MPN (per 100 ml)	95% confidence limits	
5 of 10 ml	5 of 1 ml	5 of 0.1 ml		Lower	Upper
0	0	0	<2	<1	7
0	1	0	2	<1	7
0	2	0	4	<1	11
1	0	0	2	<1	7
1	0	1	4	<1	11
1	1	0	4	<1	11
1	1	1	6	<1	15
2	0	0	5	<1	13
2	0	1	7	1	17
2	1	0	7	1	17
2	1	1	9	2	21
2	2	0	9	2	21
2	3	0	12	3	28
3	0	0	8	1	19
5	2	0	49	17	130

# Filtración en membrana

- Membrana con poro de  $0,45\ \mu\text{m}$ .
- $37\ ^\circ\text{C}$  (CT) o  $44\ ^\circ\text{C}$  (CF) por 24 hrs.
- Grandes volúmenes de agua.
- Numeración cuantitativa.
- Aguas poco turbias.

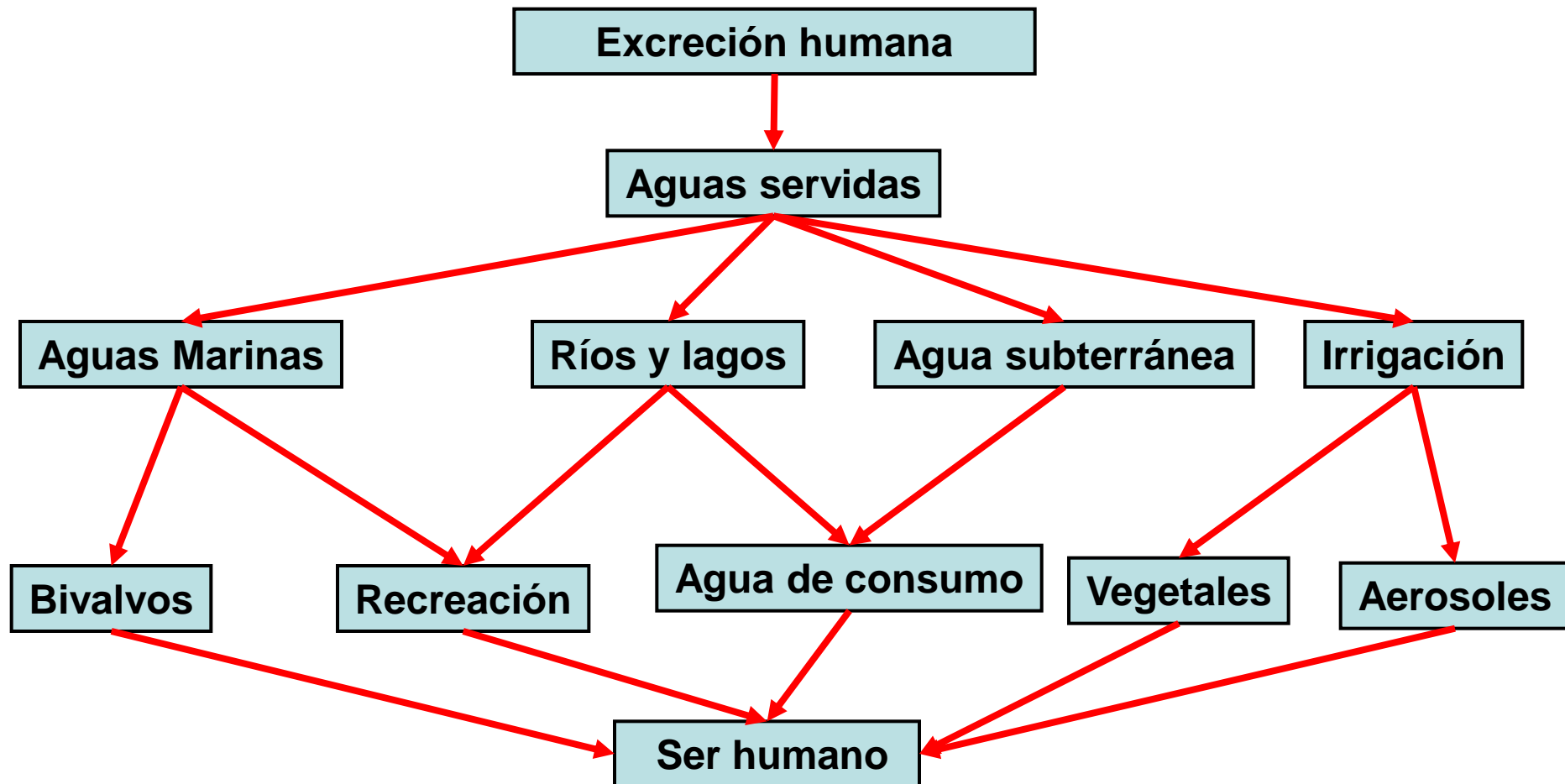


# Virus entéricos humanos de transmisión hídrica

Género	Especie	Enfermedad asociada
<i>Enterovirus</i>	Poliovirus	Parálisis, meningitis, fiebre
	Coxsackievirus A, B	Meningitis, fiebre, enfermedad respiratoria, miocarditis
	Echovirus	Meningitis, fiebre, enfermedad respiratoria, gastroenteritis
<i>Hepatovirus</i>	Virus de la Hepatitis A	Hepatitis
<i>Rotavirus</i>	Rotavirus humano	Gastroenteritis
<i>Mastadenovirus</i>	Adenovirus humano	Gastroenteritis, , enfermedad respiratoria, conjuntivitis
<i>Norovirus</i>	Norovirus	Gastroenteritis
<i>Sapovirus</i>	Sapovirus	Gastroenteritis, fiebre
<i>Hepevirus</i>	Virus de la Hepatitis E	Hepatitis
<i>Astrovirus</i>	Astrovirus	Gastroenteritis
<i>Parvovirus</i>	Parvovirus	Gastroenteritis
<i>Coronavirus</i>	Coronavirus humano	Gastroenteritis, enfermedad respiratoria
<i>Torovirus</i>	Torovirus humano	Gastroenteritis

# Vías de transmisión de los virus entéricos en el ambiente

Ser humano expuesto a múltiples vías de infección



# Persistencia de virus entéricos en el ambiente

Virus eliminados en la materia fecal en alto título:  $<10^{13}$  partículas virales/g.

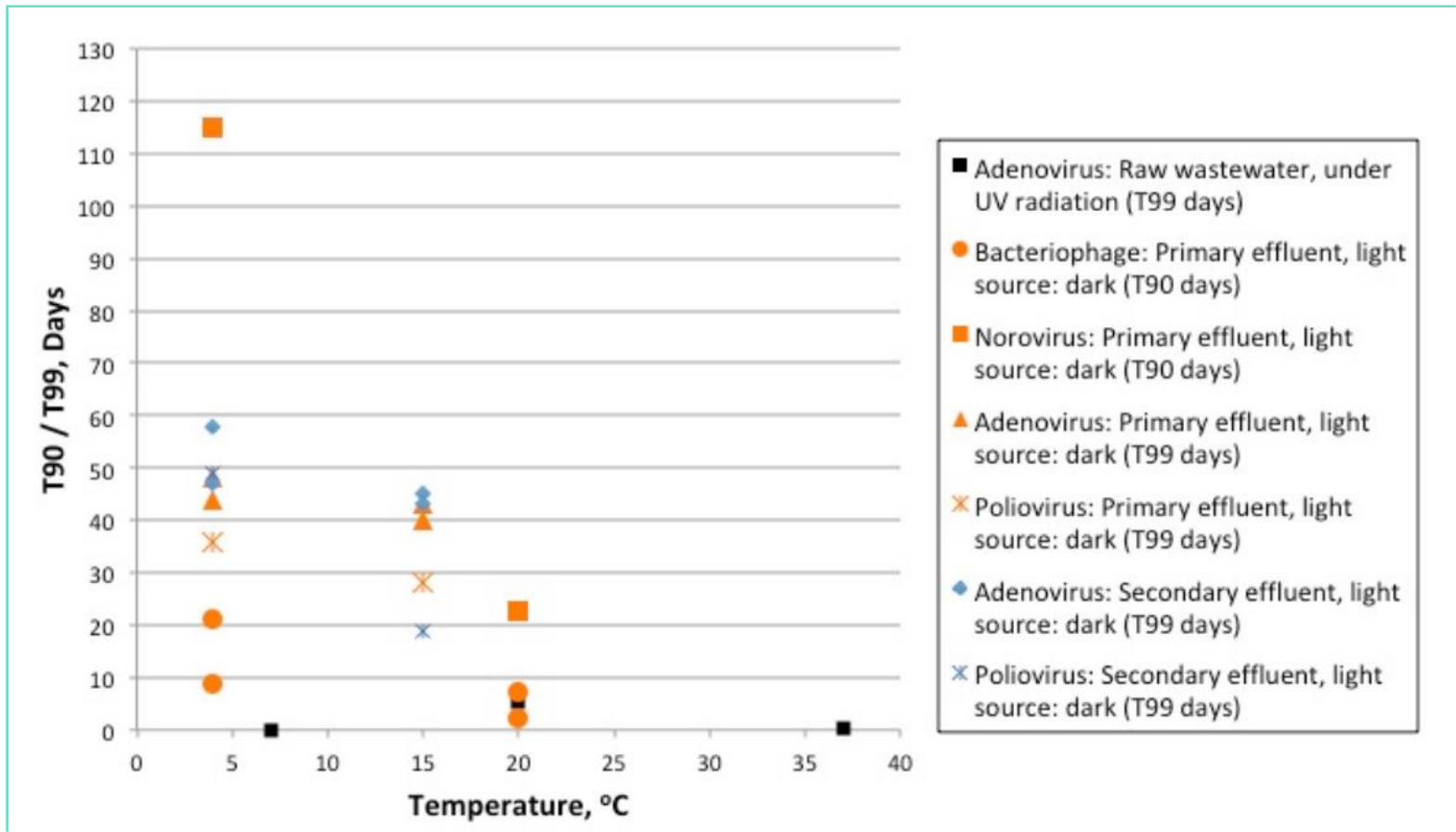
Pueden persistir por largos períodos (meses) en el ambiente.

Tratamiento “convencional” de aguas servidas no permite la eliminación total de los virus en el efluente.



**Através del monitoreo de los virus en el ambiente se puede determinar los riesgos de infección de la población local** <sup>20</sup>

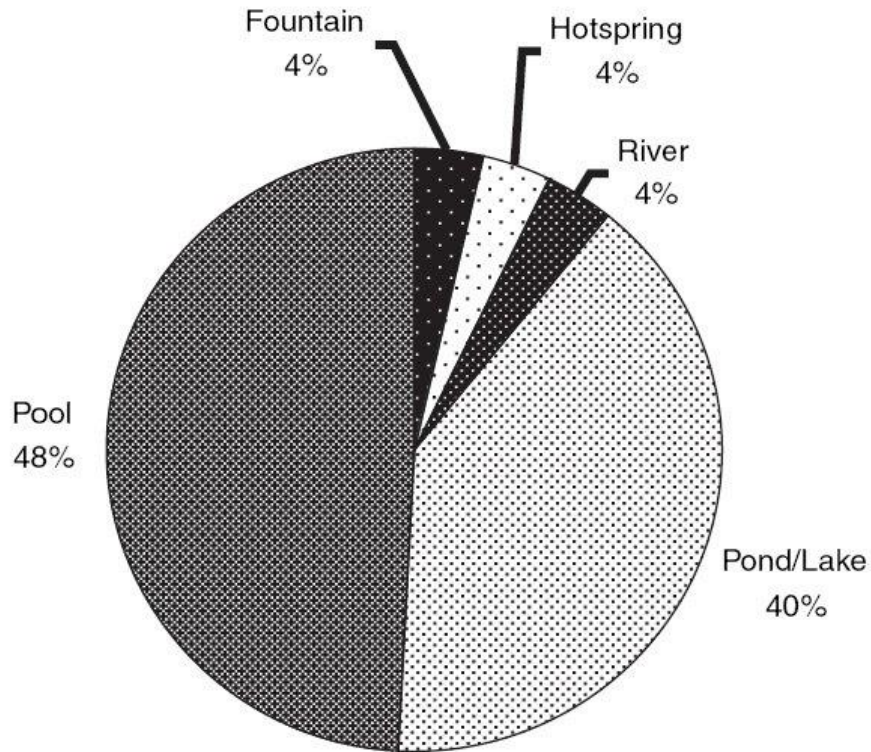
# Persistencia de los virus en aguas residuales, efluentes primarios y secundarios en temperaturas diferentes



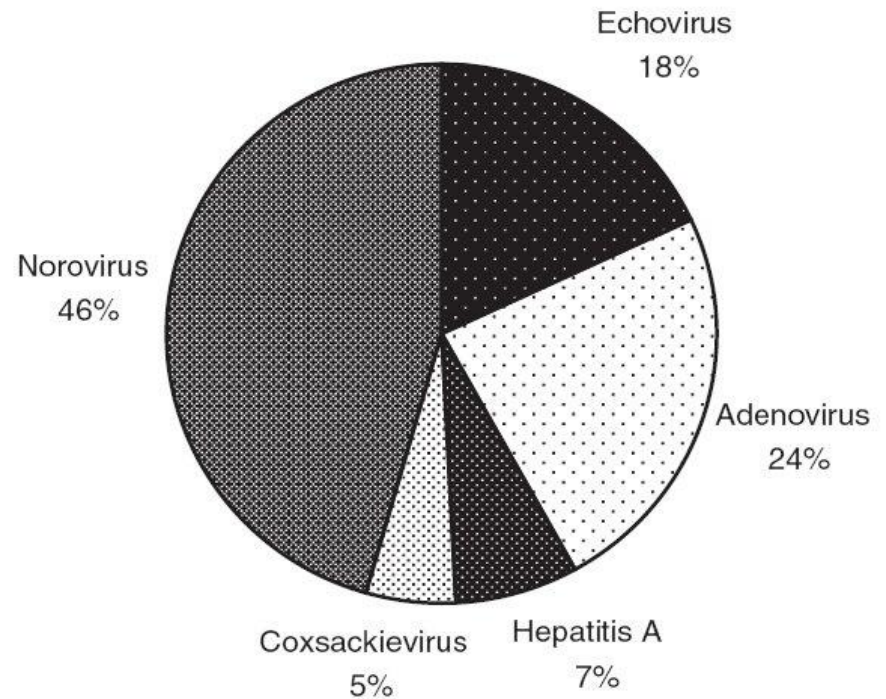


# Brotes en aguas recreacionales

Por tipo de agua



Por tipo de virus



Sinclair et al., 2009



# Norma Interna de Calidad de Agua Potable - OSE

AGUA TRATADA Y DISTRIBUIDA	
Coliformes totales	Ausencia en 100 mL
Coliformes termotolerantes o <i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 100 mL
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia en 10 mL
<b>NOTA:</b> Aunque <i>E.coli</i> es el indicador de contaminación fecal más preciso, el recuento de bacterias Coliformes termotolerantes es una opción aceptable. El volumen a analizar debe ser 100 mL por el método que se especifique en la sección correspondiente.	

Máximo de cloro libre: 2,5 mg/l

## Problemática

**Ausencia de correlación entre contaminación bacteriana y viral.**

**Resistencia de los virus entéricos a la inactivación después del tratamiento con Cloro  $\leq 10$  mg/l por  $\geq 30$  minutos.**

# Pasos básicos en virología ambiental

## MUESTREO

muestreo representativo?  
tipo y cantidad de muestra a estudiar?  
frecuencia, puntos, superficial, volumen

Condición de la colecta no  
debería alterar la muestra

Almacenamiento no debería  
perjudicar la viabilidad del virus



## CONCENTRACIÓN

### El método ideal

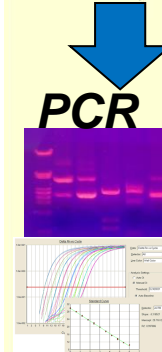
- ⇒ Rápido, fácil ejecución y sensible
- ⇒ Alta tasa de recuperación
- ⇒ Gran variedad de virus retenidos
- ⇒ Procesar grandes volúmenes de agua
- ⇒ Pequeno volume final de concentrado
- ⇒ Económico
- ⇒ Reproducible
- ⇒ No ser citotóxico para las células
- ⇒ Evite la pérdida de viabilidad viral
- ⇒ Inhibidores en baja concentración



## DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN



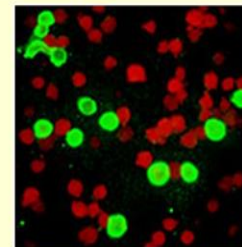
Pre tratamiento para  
eliminar o reducir  
citotoxicidad



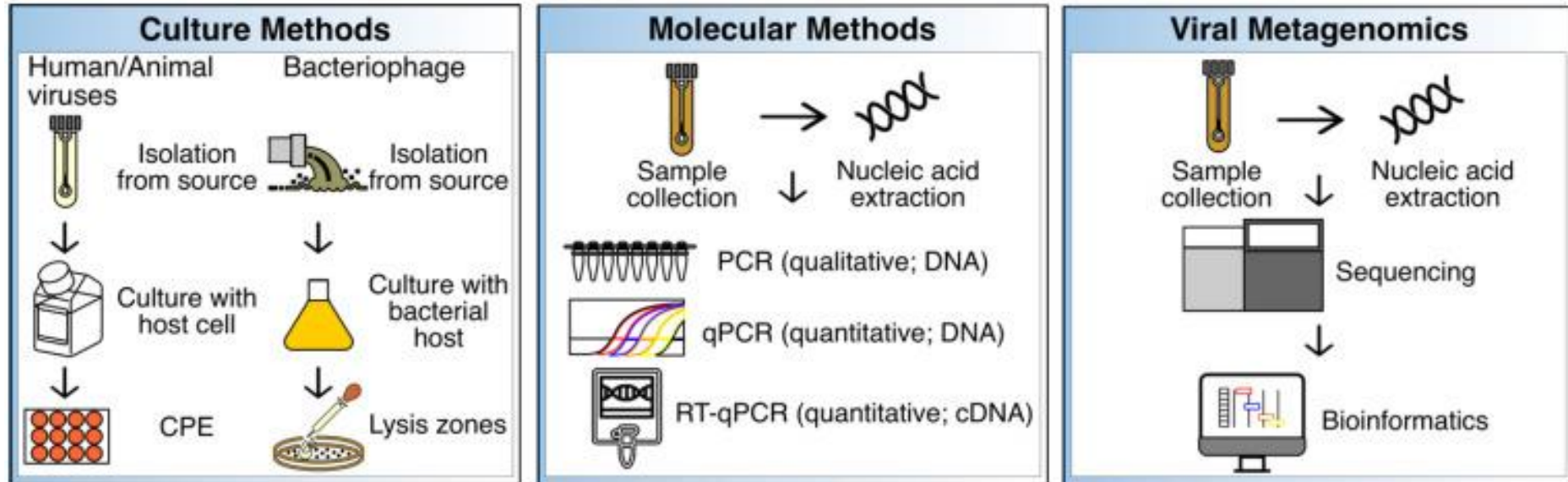
### Línea Celular

Debe ser susceptible al virus que quiero detectar

### Microscopía



# Métodos de cultivo, moleculares y metagenómicos para virus en ambientes



# Métodos de concentración viral en muestras de agua

Basados en la carga eléctrica, tamaño y peso de la partícula viral dependiendo del pH y fuerza iónica del ambiente.

<b>Absorción-elución</b>	Membrana cargada negativamente
	Membrana cargada positivamente

<b>Precipitación</b>	Floculación orgánica
	Polietilenoglicol (PEG)

**Ultracentrifugación**

**Ultrafiltración**

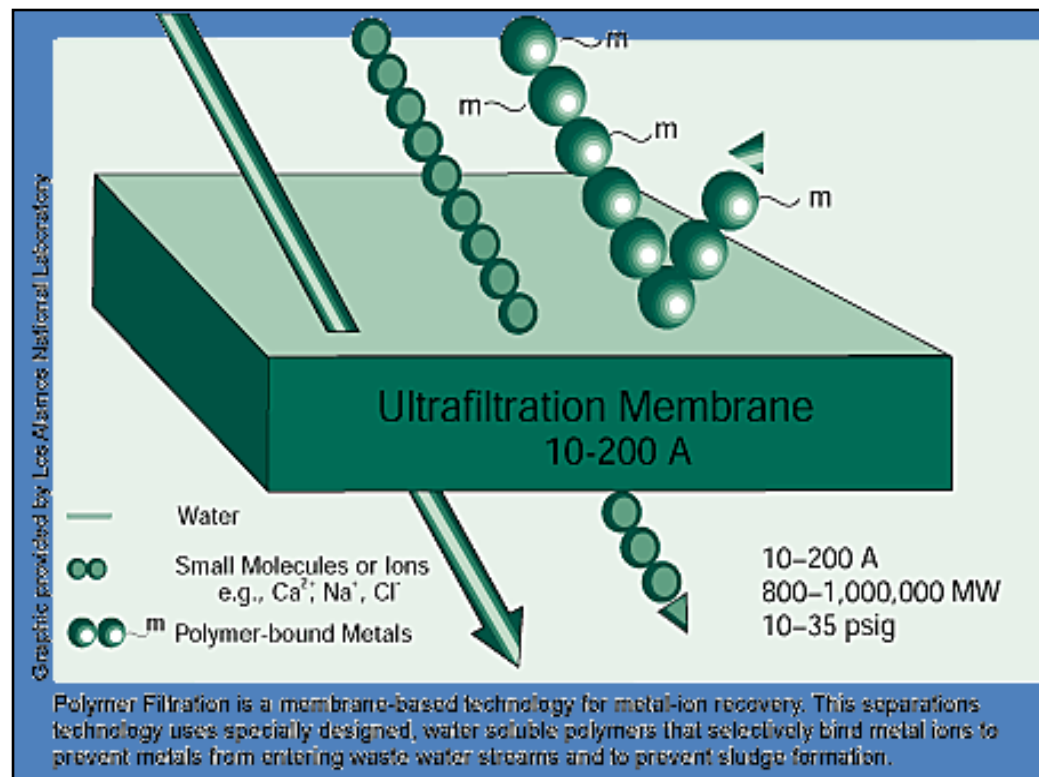
# Ultrafiltración

Exclusión por tamaño

Procesamiento sin modificación del pH

Sin paso de elución

Alto costo



## Ultracentrifugación

Depende del peso molecular  
Alta recuperación en aguas turbias



## Floculación

**Alteración del pH**



**Formación de flóculos**



**Sedimentación**



**Resuspensión del pellet**



## Método de absorción-elución seguido por ultrafiltración



2 L



2 mL

***Concentración: 1000X***





# Floculación



← Floculantes



Poco selectivo



Bajo costo



Volúmenes grandes y pequeños



Alteración del pH



Formación de Flóculos



Sedimentación

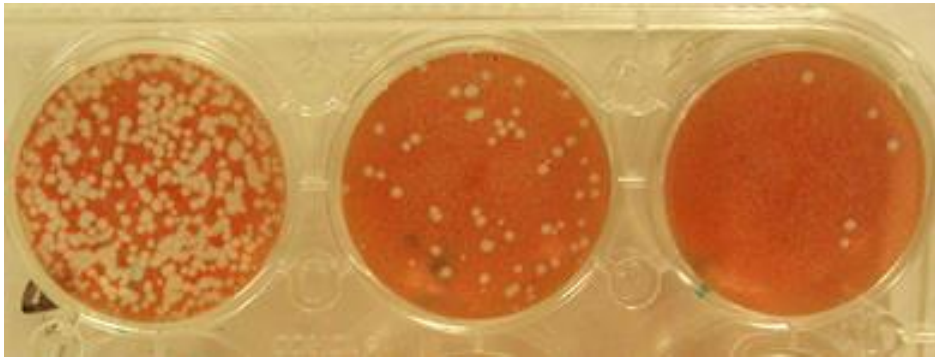




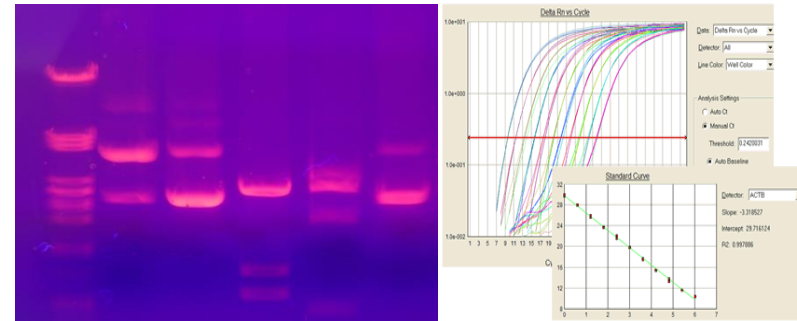
**Resultado pos floculación**

# Métodos de detección viral

## *Cultivo celular*



## *Biología Molecular (PCR)*



# Virus entéricos como indicadores de contaminación

Indicadores microbiológicos clásicos: **Coliformes fecales**, ***E. coli*** y ***Enterococci*** -evaluación de niveles de contaminación fecal y determinación de remoción de patógenos en procesos de purificación de aguas.

Indicadores bacterianos como determinantes de la presencia y concentración de virus humanos?:

- ✓ Indicadores bacterianos son más sensibles a la inactivación por los procesos de tratamiento y por luz solar que los patógenos virales.
- ✓ No exclusivos de una fuente fecal.
- ✓ Habilidad de multiplicar en determinados ambientes.
- ✓ Incapacidad de identificar la fuente de contaminación.
- ✓ Baja correlación con la presencia de patógenos.

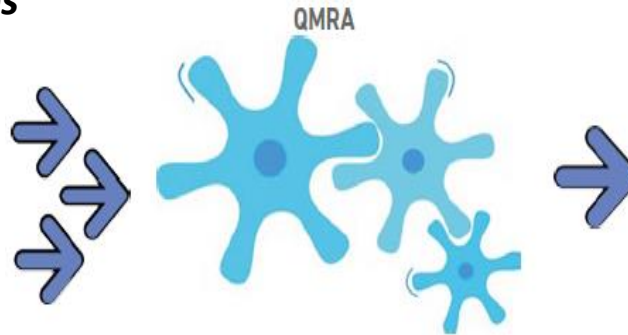
**Indicadores virales deberían complementar los bacterianos.**

# Análisis Cuantitativo del Riesgo Microbiológico (QMRA)

Estudio que interpreta los datos científicos cuantitativos para predecir la probabilidad de ocurrencia de eventos adversos a la salud.

## ***Datos cuantitativos científicos***

- ✓ Frecuencia del patógeno.
- ✓ Persistencia del patógeno.
- ✓ Eficacia de la barrera.
- ✓ Exposición.
- ✓ Infectividad.
- ✓ Susceptibilidad individual.
- ✓ Impacto de la enfermedad.



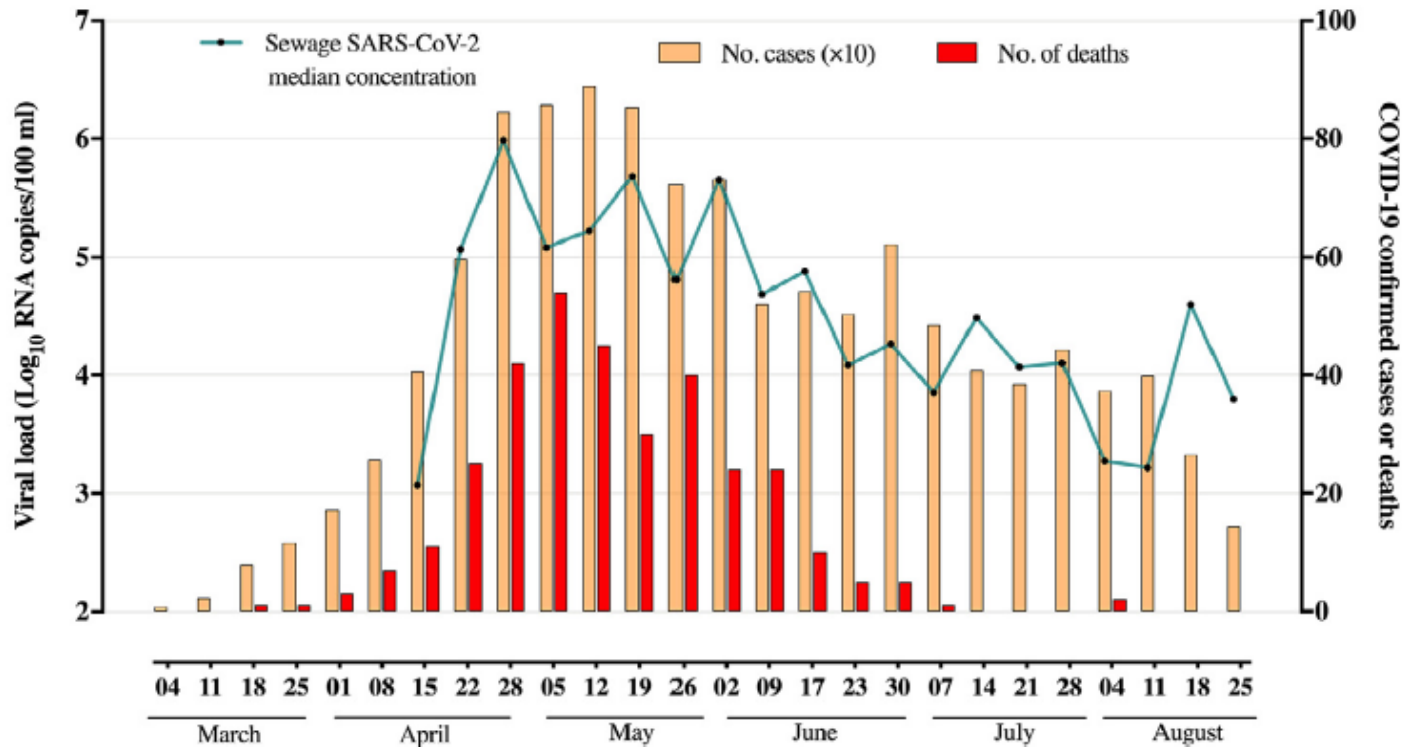
## ***Administración de la seguridad del agua***

- ✓ Mejora del conocimiento del sistema.
- ✓ Determinar los límites críticos.
- ✓ Normativas.



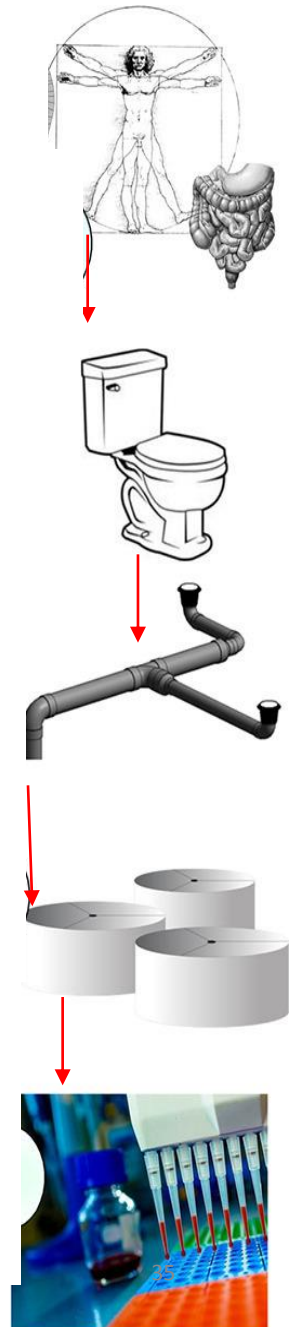
# SARS-CoV-2 en aguas residuales

- ✓ EPIDEMIOLOGIA BASADA EN AGUAS RESIDUALES.
- ✓ Estimación del número de personas infectados en la comunidad con la carga viral en las aguas residuales.
- ✓ Sistema de alerta temprana y seguimiento de la pandemia.



Prado et al., 2021

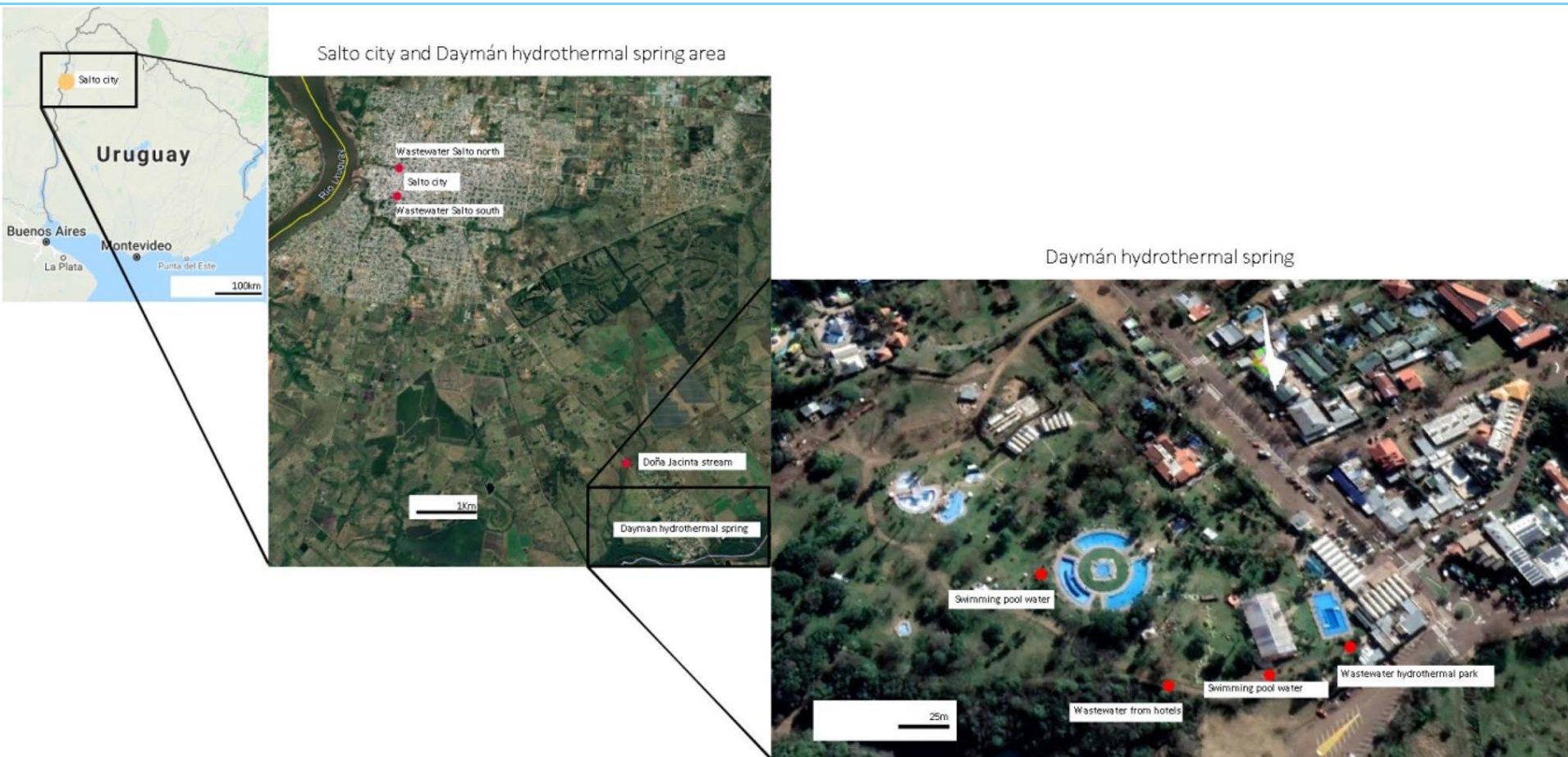
Wurtzer et al., 2020





# Estudio de SARS-CoV-2 en Salto

## Sitios de muestreo en Salto y Daymán

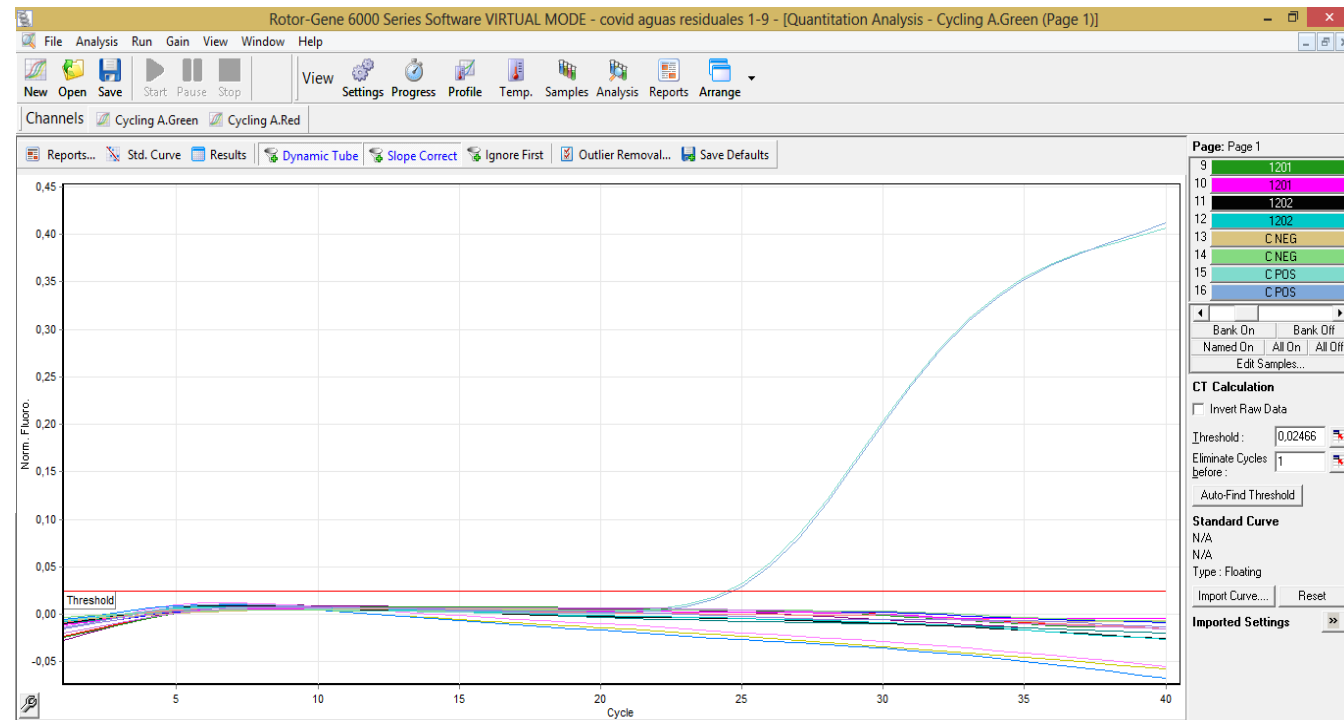


# Muestreo



- Período de colecta: Agosto 2020 a Julio 2021
- Agosto a Diciembre: quincenales.
- Enero a Julio: mensuales.
- 34 muestras de aguas residuales (Salto).
- 34 muestras de aguas residuales (Daymán).
- 17 muestras de piscinas (Daymán).
- 17 muestras cañada Doña Jacinta.
- 500 mL de muestra de agua residual.
- 10 L agua de piscinas y cañada.



# Detección del SARS-CoV-2 por PCR en tiempo real



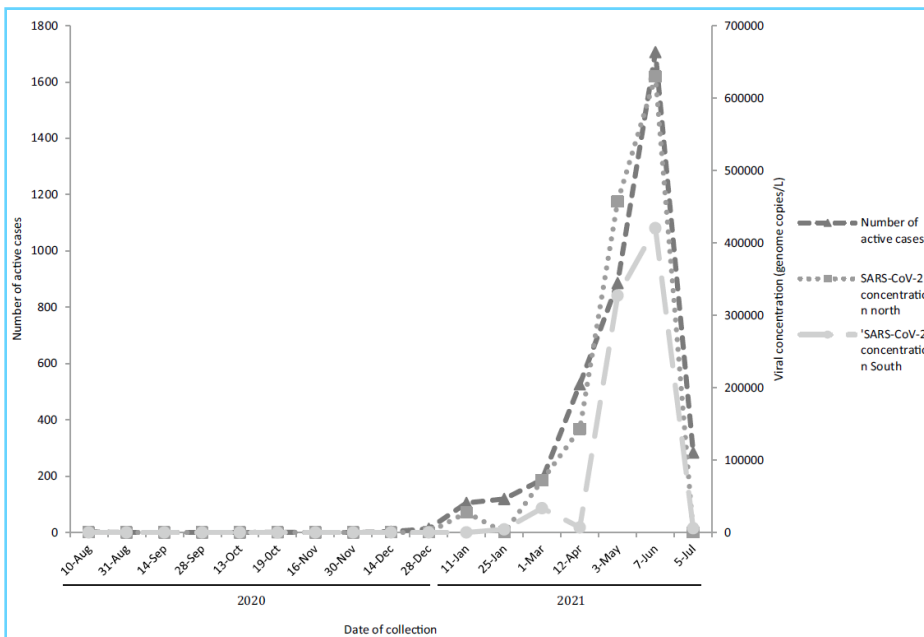
## One-Year Surveillance of SARS-CoV-2 and Rotavirus in Water Matrices from a Hot Spring Area

M. Salvo<sup>1</sup> · J. Azambuya<sup>2</sup> · N. Baccardatz<sup>2</sup> · A. Moriondo<sup>3</sup> · R. Blanco<sup>3</sup> · M. Martinez<sup>4</sup> · M. Direnna<sup>4</sup> · G. Bertolini<sup>4</sup> · P. Gamazo<sup>1</sup> · R. Colina<sup>5</sup> · E. Alvareda<sup>1</sup>  · M. Victoria<sup>5</sup> 

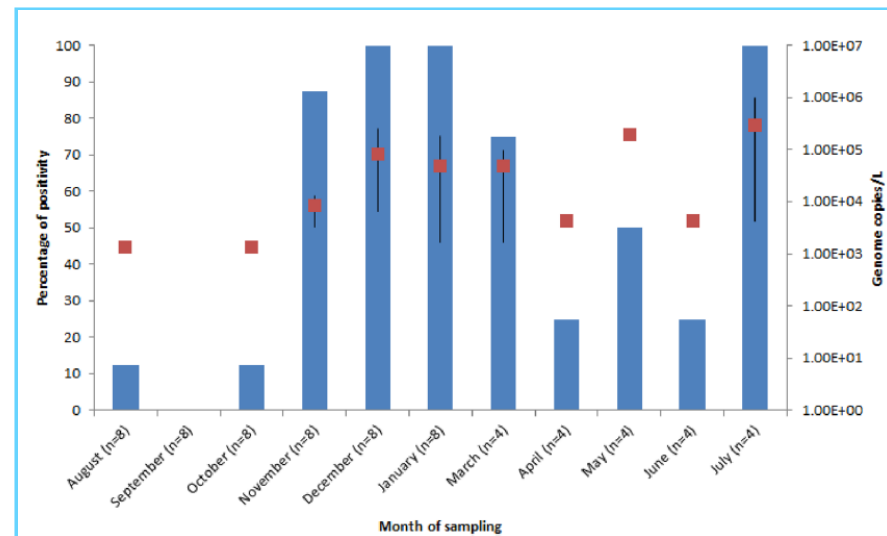
Received: 21 April 2022 / Accepted: 18 September 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2022

### Casos activos de SARS-CoV-2 en Salto y la concentración viral en aguas residuales de Salto



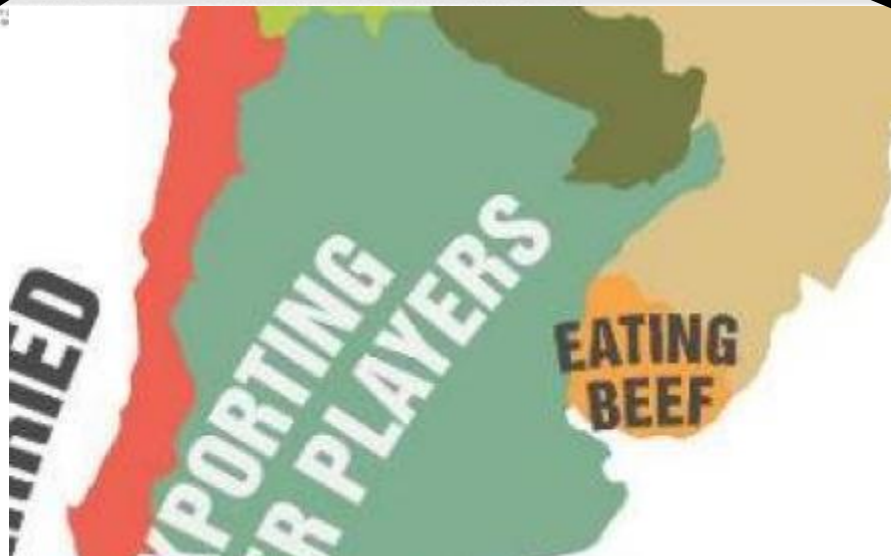
### Frecuencia de Rotavirus (barras) y media (cuadrado rojo) con máximo y mínimo de la concentración viral en las aguas residuales



# **Rastreo de la fuente microbiana (Microbial Source Tracking)**



# WHAT EACH COUNTRY LEADS THE WORLD IN





# Producción Agropecuaria Uruguay

**Cuadro 1. Producto Bruto Interno total, agroindustrial y agropecuario, por año.**

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010 <sup>(*)</sup>	2011 <sup>(*)</sup>
<b>2. En millones de US\$ corrientes</b>	<b>28,7</b>							
<b>PBI total</b>	<b>13.688</b>	<b>17.367</b>	<b>19.589</b>	<b>23.418</b>	<b>30.387</b>	<b>30.518</b>	<b>39.429</b>	<b>46.735</b>
<b>PBI agroindustrial<sup>(1)</sup></b>	<b>2.111</b>	<b>2.296</b>	<b>2.717</b>	<b>2.932</b>	<b>4.410</b>	<b>3.887</b>	<b>4.692</b>	<b>5.746</b>
PBI agropecuario	1.469	1.481	1.698	1.948	2.741	2.484	3.109	3.909
PBI de industrias asociadas al agro <sup>(2)</sup>	642	815	1.019	984	1.669	1.403	1.583	1.837

**Cuadro 3. Producción Agropecuaria, por año, según subsector (en millones de dólares corrientes).**

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
<b>TOTAL</b>	<b>2.347,1</b>	<b>2.754,0</b>	<b>3.339,9</b>	<b>4.985,3</b>	<b>4.139,5</b>	<b>4.932,5</b>	<b>6.415,0</b>
<b>II. Pecuaria</b>	<b>1.332,2</b>	<b>1.483,0</b>	<b>1.704,2</b>	<b>2.224,6</b>	<b>1.683,7</b>	<b>2.312,2</b>	<b>3.006,6</b>
1. Ganado bovino	849,8	921,9	947,0	1.217,3	927,8	1.296,3	1.642,8
3. Leche (3)	234,8	253,1	332,3	533,0	319,7	480,7	730,8
2. Lana	58,6	65,2	80,0	79,1	60,2	67,4	98,7
4. Otros <sup>(4)</sup>	188,9	242,8	344,9	395,1	375,9	467,8	534,3

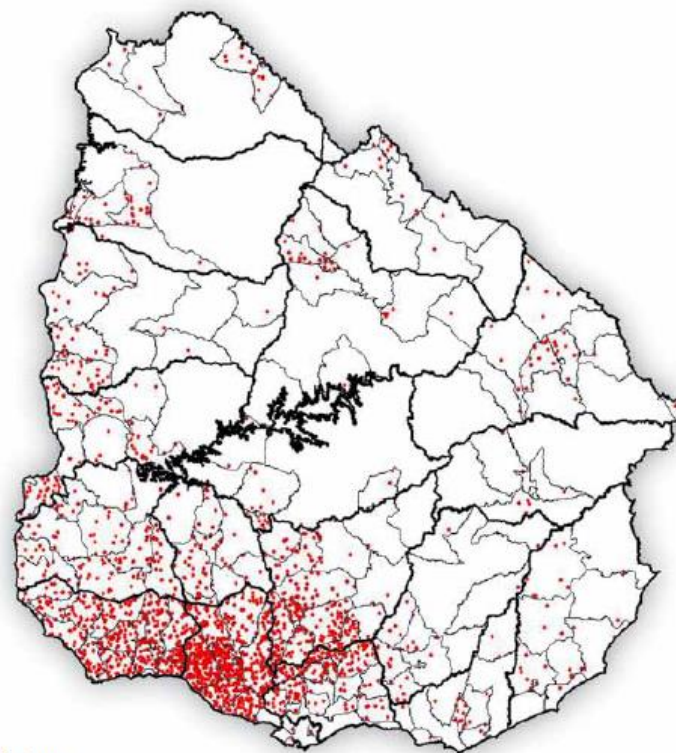
- ✓ Rodeo vacuno: 11,1 millones de cabezas.
- ✓ Producción: 997.000 toneladas de carne vacuna.



## Cuadro 25. Principales indicadores productivos y técnicos de la producción lechera, por año agrícola.

INDICADORES	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11
Producción de leche comercial (millones de litros/año) <sup>(1)</sup>	1.494	1.619	1.620	1.576	1.582	1.694	1.766	2.057
Superficie total de tambos (miles de ha)	960	891	852	874	849	800	857	850
Número de tambos totales (miles)	4,6	4,6	4,5	4,6	4,6	4,5	4,5	4,4
Total de vacunos lecheros (miles de cabezas)	708	724	728	743	744	710	764	793

Mapa 6. Productores con lechería comercial por Seccional Policial. Año agrícola 2010/2011



Nota: cada punto son dos productores  
Fuente: MGAP-DIEA, en base a DICOSE.

## Producción de estiércol

- Vacuno: 6 Kg./día.
- Suino: 0,45 Kg./día.

- Vacuno: 66.600 toneladas de estiércol por día.
- Suino: 99 toneladas de estiércol por día.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, México, 2013.

## Problemática

- Las actividades humanas (aguas residuales de ciudades) y animales (establecimientos ganaderos) generan una carga contaminante en sus cuencas hidrográficas.



Topp et al., 2009. *Bioresource Technology* 100: 5395–5398





# Cuenca del Río Santa Lucía

Viernes 14 de junio de 2013 | 16:01

**A** principios de este año, los montevideanos percibieron un olor y sabor diferente en el agua potable. Las **autoridades explicaron que era un fenómeno generado por la floración de cianobacterias, producto de la proliferación de algas** en el río Santa Lucía, donde se abastece OSE para proveer de agua al 60% de la población.

Tras un par de días, el agua del grifo recuperó su cualidades habituales, pero el episodio generó un debate político, científico y social sobre el manejo del agua.



Foto: waterloowatch.com

Para el ingeniero Daniel Panario, director del Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales de la Facultad de Ciencias de la Universidad de la República (Udelar), el problema es grave.

"En Uruguay más del 90% de la fuente de agua potable son los ríos. Entonces **el violento cambio del uso del suelo que ha tenido el país genera que se hayan contaminado todas las vías de áreas densamente pobladas**", dijo a la AFP.

Panario observó que si bien Uruguay aparece en los primeros lugares en los ranking internacionales sobre el agua potable, esto tiene que ver sobre todo con el alcance de la **cobertura, que llega a aproximadamente 98% de la población**.

## Décadas de omisión y desidia

Según un informe elaborado por los decanos de las facultades de Ciencias, Química, Ingeniería y Agronomía de la Udelar, **en el agua del Santa Lucía hay altos valores de fósforo y nitrógeno**.

## LaRed21 Ecología

[Inicio](#) [Último Momento](#) [Comunidad](#) [Política](#) [Economía](#) [Deportes](#) [Mundo](#) [Cultura](#) [Salud](#) [Ciencia](#)

Lunes 19 de Agosto, 2013

Google™ Búsqueda personalizada



### POTABILIDAD

## Científicos y autoridades debaten calidad del agua y proponen soluciones

*Uruguay, que se precia de la calidad y abundancia de su agua potable, descubre que el crecimiento económico y agrícola, sumado a controles débiles, ha contaminado los ríos que abastecen a la potabilizadora estatal, y mientras las autoridades anuncian medidas, los científicos dan la alerta.*

### Cuenca Río Santa Lucía



# **Informe sobre la calidad del agua en la cuenca del Río Santa Lucía: estado de situación y recomendaciones**

## **21/5/2013**

- 80% de la contaminación con nutrientes (eutrofización) y de demanda biológica de oxígeno se debe a fuentes difusas; actividades agropecuarias y tambos.
- 20% proviene de fuentes puntuales, efluentes industriales, aguas servidas de ciudades, *feed-lots*, criaderos de aves y cerdos.

**Recomendaciones: realizar un monitoreo de la calidad del agua de esta cuenca.**

# Identificación de las fuentes de contaminación fecal utilizando virus indicadores en la cuenca hidrográfica



(Gordon 2001; Chan et al., 2006; Field & Samadpour 2007)



Algunos **virus entéricos**: son buenos indicadores de contaminación fecal en el ambiente.

Los virus usados como **MST**:

- especificidad de hospedero,
- muy abundantes en orina y heces de humanos y animales,
- alta prevalencia a nivel mundial a lo largo del año,
- gran persistencia en aguas ambientales,
- resistentes a diferentes condiciones ambientales,
- se pueden detectar mediante qPCR y cPCR.

Virus entéricos comúnmente utilizados como indicadores de contaminación fecal : **adenovirus y poliomavirus**.

# **ANÁLISIS DE LAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN FECAL UTILIZANDO INDICADORES VIRALES EN LA CUENCA DEL RÍO SANTA LUCÍA Y DEL RÍO URUGUAY**

Proyecto presentado al llamado I+D 2014 de la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) Udelar

## **CENUR Litoral Norte – Universidad de la República**



**Laboratorio de Virología Molecular**

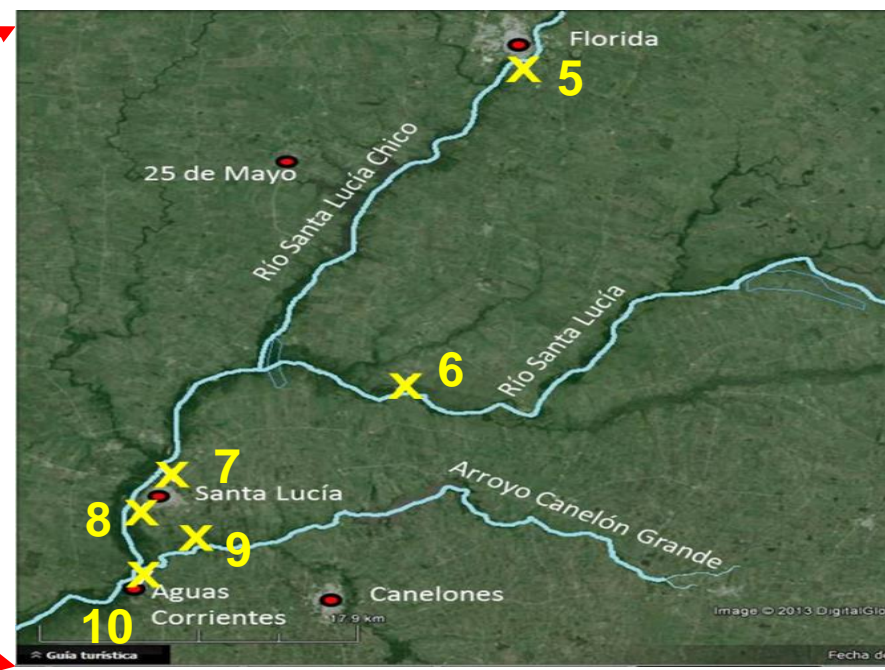


## **Objetivo General:**

- ✓ Identificar el origen, ya sea humano, bovino o porcino, de las diferentes fuentes de contaminación fecal en aguas de las cuencas del Río Santa Lucía y del Río Uruguay.

# PUNTOS DE MUESTREO

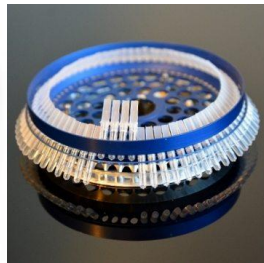
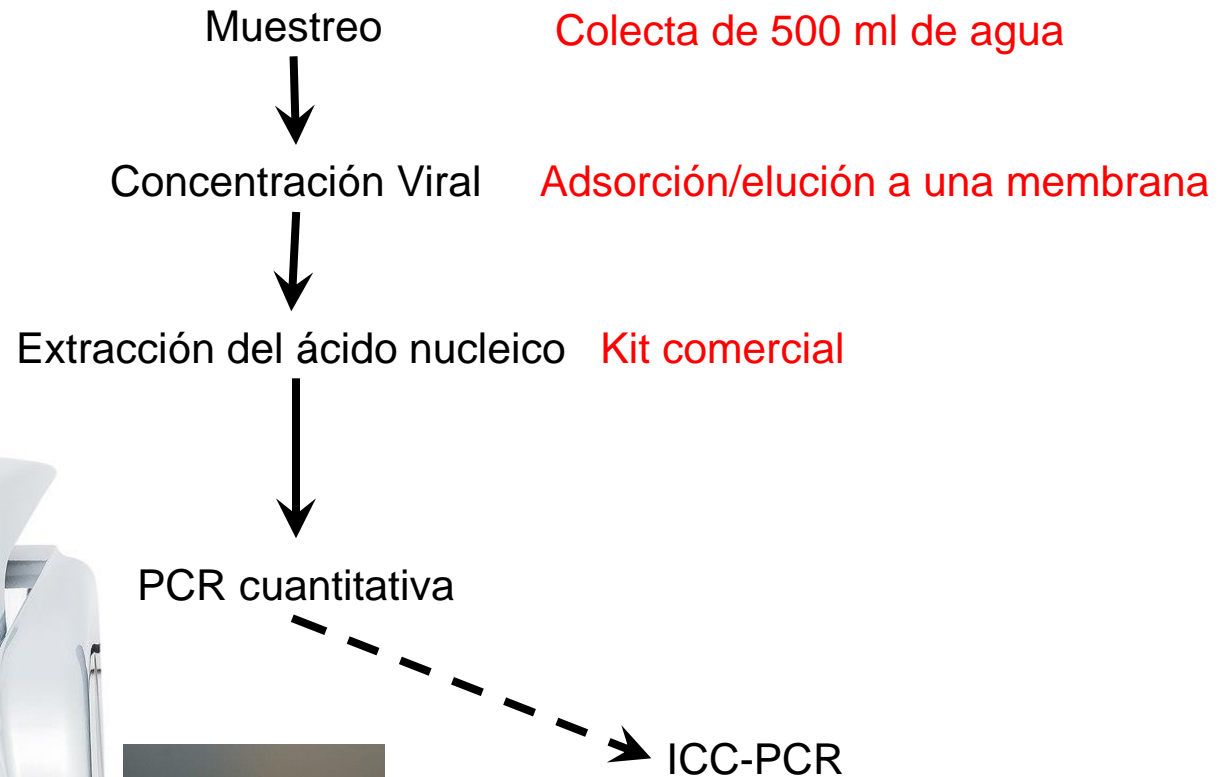
Volumen: 500 ml de agua superficial.  
Período: junio 2015-mayo 2016.  
(1 vez por mes).  
n total: 120 muestras.



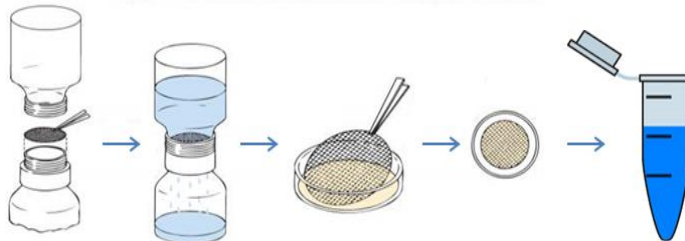


# Metodología

## Diagrama de flujo



**Concentración viral:** método adsorción-elución con membrana cargada (-) (Haramoto et al., 2009).



**Extracción ácidos nucleicos:** QIAamp® cador® Pathogen Mini Kit.



**Detección y cuantificación:** TaqMan® Real-Time PCR.

HPyV



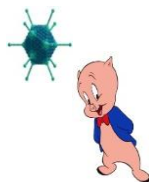
(Pal et al. 2006)

HAdV



(Henroth et al. 2002)

PAdV



(Hundes et al. 2009)

BoPyV



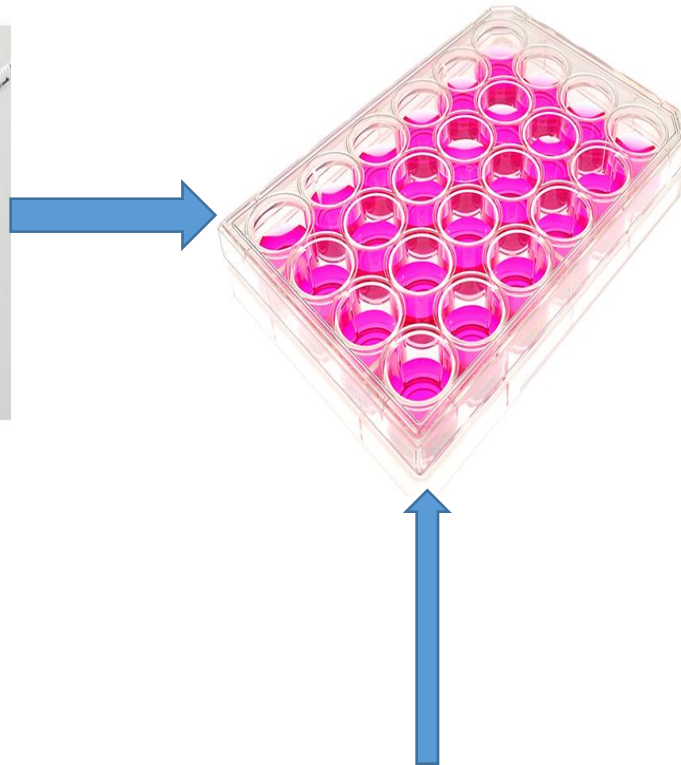
(Hundes et al. 2010)



**ICC-qPCR:** diferencia entre HAdV infectivos y no-infectivos.



Células  
A549




Inoculación de muestras positivas  
por qPCR para HAdV, durante 60  
min. a 37°C

Incubación:  
• 37°C  
• 7 días  
• atmósfera con  
5% de CO<sub>2</sub>



ORIGINAL PAPER

# Microbial Source Tracking Analysis Using Viral Indicators in Santa Lucía and Uruguay Rivers, Uruguay

Viviana Bortagaray<sup>1</sup> · Andrés Lizasoain<sup>1</sup> · Claudia Piccini<sup>2</sup> · Luciana Gillman<sup>3</sup> · Mabel Berois<sup>3</sup> · Sonia Pou<sup>4</sup> · María del Pilar Díaz<sup>4</sup> · Fernando López Tort<sup>1</sup> · Rodney Colina<sup>1</sup> · Matías Victoria<sup>1</sup> 

Received: 13 February 2019 / Accepted: 30 March 2019  
 © Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019

## Frecuencia de detección viral

River	HAdV		HPyV		BoPyV	
	Frequency (%)	95% CI	Frequency (%)	95% CI	Frequency (%)	95% CI
Uruguay ( <i>n</i> = 48)	6	[1; 17]	0	–	8	[2; 20]
Sta Lucía ( <i>n</i> = 72)	25	[15; 37]	4	[9; 12]	13	[6; 22]
Total ( <i>n</i> = 120)	18	[11; 25]	3	[0.5; 7]	11	[6; 18]

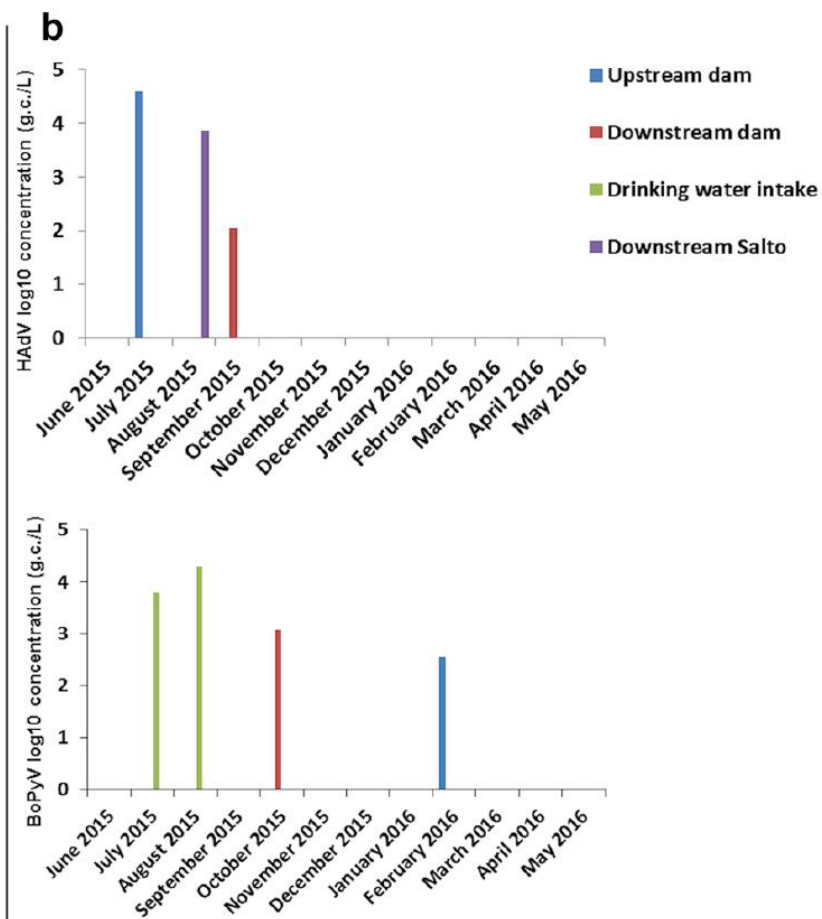
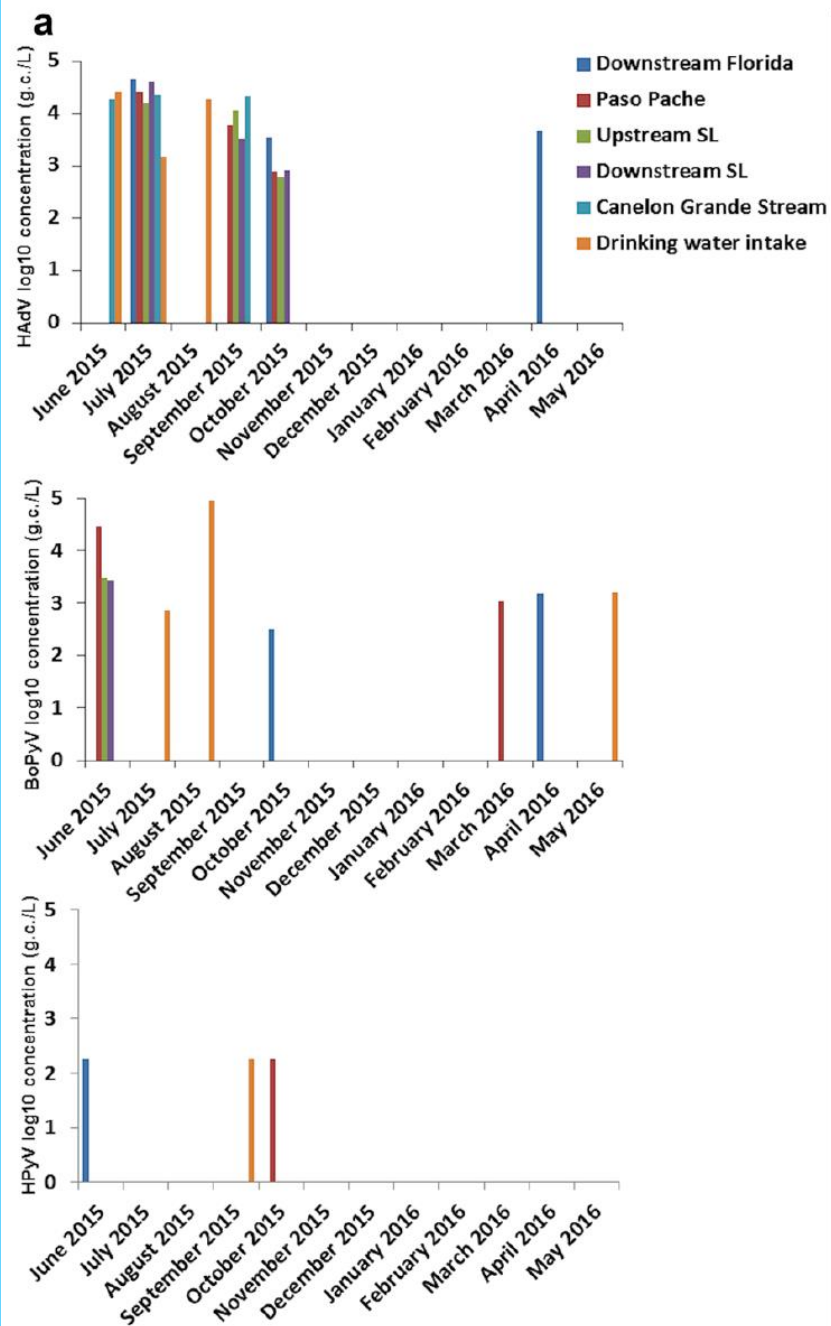
CI confidence interval

## Cuantificación viral

	HAdV			HPyV			BoPyV		
	Mean (SD)	Min	Max	Mean (SD)	Min	Max	Mean (SD)	Min	Max
Uruguay	15,904 (± 21,277)	113	40,100	–			6896 (± 8895)	360	19,600
Sta. Lucía	15,295 (± 14,216)	630	46,900	180 (0)	180	180	14,803 (± 30,831)	319	93,400
Total	15,382 (± 14,734)	113	46,900	180 (0)	180	180	12,370 (± 25,844)	319	93,400

SD standard deviation, *Min* minimum, *Max* maximum

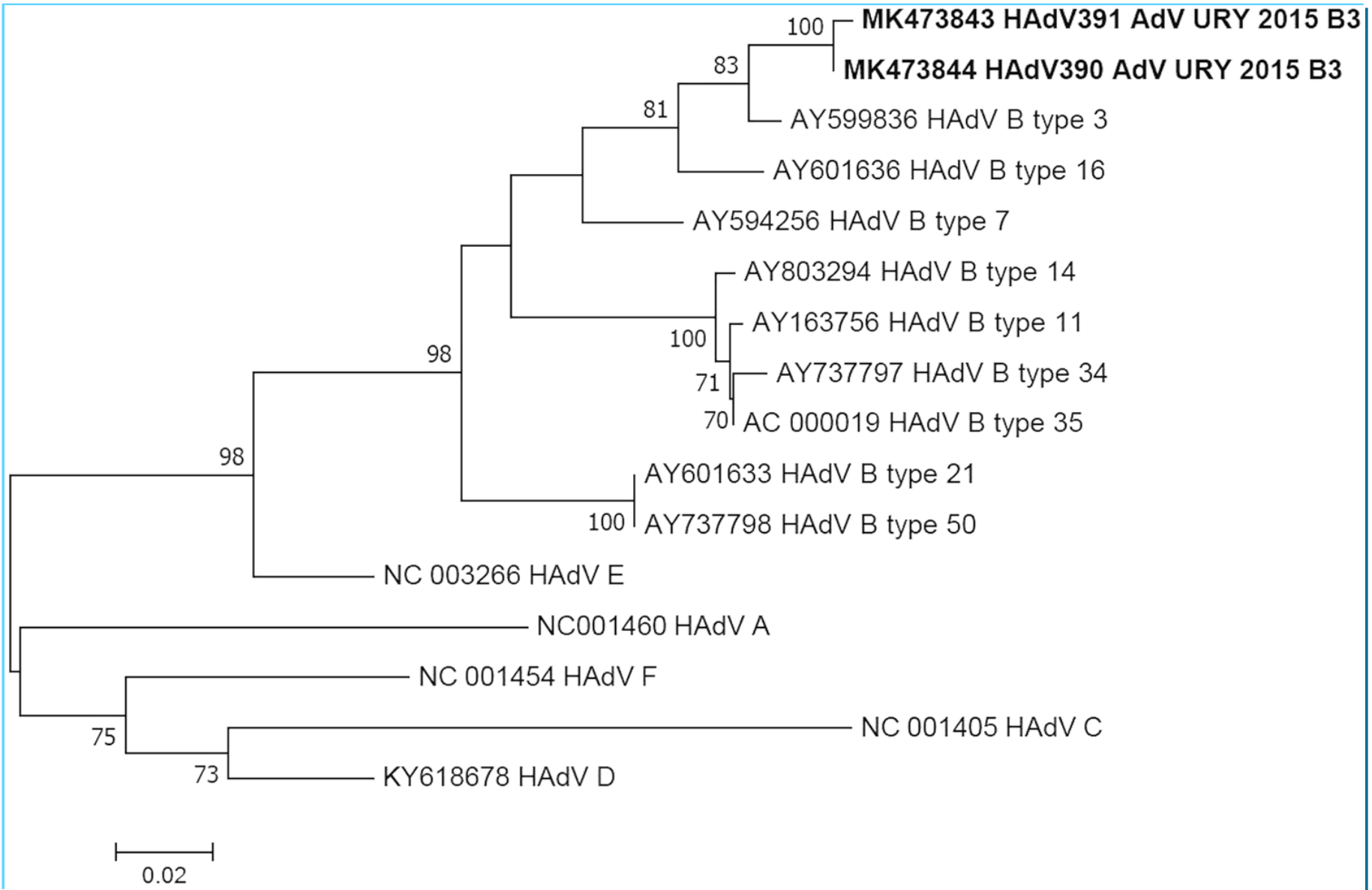
# Distribución viral de acuerdo a la fecha y el sitio de colecta



## Análisis de regresión logística

	Human viruses (model I <sup>a</sup> , AIC = 97.12)			BoPyV (model II <sup>a</sup> , AIC = 87.51)		
	OR	[95% CI]	<i>p</i> value	OR	[95% CI]	<i>p</i> value
Temperature (°C)						
≥ 20	Ref.	–	–	–	–	–
< 20	7.4	[2.22; 24.46]	0.001	2.5	[0.72; 8.65]	0.148
Uruguay River	Ref.	–	–	–	–	–
Santa Lucía basin	5.6	[1.47; 21.40]	0.012	1.6	[0.44; 5.47]	0.493
<i>OR</i> odds ratio, <i>CI</i> confidence interval, <i>AIC</i> Akaike Information Criterion; <i>Ref.</i> reference						
<sup>a</sup> Adjusted for rainfall						

## Análisis filogenético de las secuencias de HAdV infectivo (ICC-PCR)



# Características de los principales indicadores de contaminación fecal

Indicator of faecal pollution features	Faecal Indicator Bacteria(Coliforms, <i>Clostridium perfringens</i> and <i>Bacteroidetes</i> )	Coliphages(F-specific and somatic coliphages)	Human enteric viruses (human polyomavirus, aichi virus, and human adenovirus)	CrAssphage(Cross-assembly phage)	Pepper mild mottle virus (RNA plant virus)
Present when pathogens are present or absent in non-faecally contaminated ambient water	Yes, but detected in ambient water without faecal contamination	Yes, but detected in ambient water without faecal contamination	Yes	Yes, but there is still no evidence of their presence in non-faecally contaminated ambient water	Yes
Present in greater numbers than human viral pathogens	No	In most cases	Yes	Yes	Yes
Equally resistant as human viral pathogens	No	Yes	Yes	Yes, behave similarly to human enteric viruses in ambient water	Yes, but may be too persistent to discern in fresh pollution
Demonstrated association with disease from epidemiological studies	Yes, but sporadic	Yes, but sporadic	Yes	No	No
Replication in environmental water (outside the human intestine)	Yes	No	No	No	No
Specific to a human faecal source	No	No	Yes	Yes	No
Season variability	Yes	Yes	Depends on virus species	No	No
Applicable for all water types	Ubiquitous in all types of water	Ubiquitous in all types of water	Ubiquitous in all types of water	Ubiquitous in all types of water	Yes, high ubiquity in all types of water
References	McKee and Cruz (2021); USEPA (2015)	McKee and Cruz (2021); USEPA (2015)	McKee and Cruz (2021); USEPA (2015)	Farkas et al. (2019); Sabar et al. (2022); Sala-Comorera et al. (2021)	Canh et al. (2022); Colson et al. (2010); Kitajima et al. (2018b)



# Muchas gracias por la atención!!!



- CSIC I+D 2014
- Apoyo: CSEAM, UdelaR (Proyecto 62),
- Convenio Universidad de la República, Ministerio de Salud Pública, Intendencia de Salto, -Centro Comercial e Industrial de Salto y Fundación Desarrollo Regional de Salto Grande.
- OSE Salto.