

MICROORGANISMOS PATÓGENOS DEL AGUA ESTUDIO DE MOLINAO ERREKA

N. ESTEBANEZ y D. SANTANO

La Anunciata Ikastetxea. Camino de Lorete, 2. 20 017 San Sebastián.
lizarazujc@laanunciataikerketa.com

RESUMEN

El estudio de Molinao Erreka, río de unos 2,5 km de longitud, se centra en el análisis físico-químico y, sobretudo, microbiológico del agua en 3 puntos de su cauce. De esta forma se puede conocer la influencia que ejerce todo su entorno (zona urbana, zona industrial, vertedero de R.S.U.; etc.) en la calidad del agua. Además con el fin de verificar los datos también se realizó el análisis microbiológico de la piel y boca de la fauna piscícola del lugar llegando a la conclusión de la contaminación microbiana existente y de los riesgos que esto supone para la salud pública.

Palabras clave: Agar, bacterias, coliformes, peces, vertido.

SUMMARY

(WATER'S PATHOGEN MICROORGANISMS. THE STUDY OF MOLINAO ERREKA)

The study of Molinao Erreka, a river of 2,5 kilometres long, is focused on the physical-chemist analysis and, mainly, the microbiologic analysis of the river water in three different points of its course. In this way, you can know how the quality of the water is influenced by the environment (city area, industrial area, dump...). As well, in order to verify the data, a microbiologic analysis of all kind of fish has been made. The conclusion reached is that there is a microbial contamination which is a great risk to everybody's health.

Key words: Agar, bacterium, coliforms, fishes, dumping.

INTRODUCCIÓN

El río Molinao, es un afluente de Oiartzun ibaia, desembocando en el Puerto de Pasaia. El río Molinao discurre en los límites de Pasaia y San Sebastián, y linda con la A-8 y el vertedero de R.S.U. de San Marcos. En el barrio de Molinao además se ubica el Polígono Industrial de Artxipi. Esta pequeña regata asimismo ha soportado vertidos de todo tipo durante años.

Debido a esto la calidad del río ha sido muy mala durante muchos años y sigue siéndolo aunque en el último año se han realizado ciertas mejoras. El cierre y demolición de algunas industrias de la zona y la recuperación de la ribera natural del río en algunos tramos han sido las medidas tomadas al respecto en los últimos años.

Nuestro interés se basa en analizar la repercusión de las áreas en la calidad del agua de este río y sobre la vida piscícola y analizar el estado de tres zonas. La primera de ellas se ve afectada por el vertedero de San Marcos. En la segunda se analiza el efecto de los afluentes sobre el agua ya

contaminada por el vertedero y en el tercer punto de muestreo se ve añadida la repercusión de la zona urbana e industrial.



Figura 1. Mapa topográfico de Molinao Erreka. Los números indican los puntos de muestreo. P: Punto de pesca de los corcones.

Con ello se tratará de comprobar el estado del río, y valorar la influencia de los numerosos vertidos urbanos e industriales, y los lixiviados del vertedero en el río y en el ecosistema..

MATERIAL Y MÉTODOS

Se comenzó el trabajo buscando información sobre la presencia de diferentes microorganismos patógenos en el agua y sobre la ley vigente al respecto. Después de esto realizamos una ficha de campo en la que se iban a recoger los datos relacionados con la calidad del agua de los puntos de muestreo

Establecimos tres puntos de muestreo, el primero para analizar la influencia de los vertidos de lixiviados del vertedero R.S.U. de San Marcos en la regata; el segundo antes de un polígono industrial; y por último la tercera zona la situamos tras la zona industrial y urbana del barrio de Molinao.

Los parámetros analizados fueron de tres tipos:

Parámetros físicos: pH, temperatura, turbidez, dureza total, etc.

Parámetros químicos: nitritos, nitratos, amonio, salinidad, etc.

Parámetros microbiológicos: *Vibrio* sp, coliformes totales, *Salmonella* sp, bacterias Gram + y Gram -, etc.

En primer lugar se estudiaron algunos de los parámetros físicos y químicos "in situ", pero completamos esta información con pruebas más completas en el laboratorio y nos valimos de todas ellas para comprobar cual era la calidad del agua.

Por otro lado, se realizaron cultivos de microorganismos en distintos medios para de esta forma analizar los microorganismos presentes en esta regata. Para ello usamos un total de 4 medios de cultivo, Levine EMB Agar, Agar VRB, MacConkey Agar y Agar TCBS.

Esta actividad de recogida de datos se realizó 5 veces en 5 semanas consecutivas y posteriormente se comparó la calidad de agua en cada uno de los puntos de muestreo teniendo en cuenta la cantidad de colonias de microorganismos recogidas.

Además, se analizaron los microorganismos existentes en la piel y la boca de peces de la zona 3. Para este análisis se realizó la pesca de varios corcones en fechas distintas, durante marea alta, que coinciden con el análisis realizado de microorganismos patógenos del agua para el posible contraste de datos. Para este estudio se tomaron muestras con una turunda de la boca y la piel del cuerpo de cada pez y se esparcían en los diferentes medios de cultivo. Se empleaban dos placas de cada agar por cada zona del pez analizada.

Contrastando también el entorno se llegó a ciertas conclusiones sobre el estado del río y se pudieron ofrecer algunas soluciones para mejorar la calidad del agua.

Tras todo este trabajo se procedió a la redacción de un proyecto final, en el que se recogió toda la información, datos, conclusiones y soluciones obtenidos.

Mediante este trabajo además, se pudo comprobar el efecto del vertedero R.S.U. de San Marcos y la zona urbana e Polígono industrial del barrio de Molinao en la calidad del cauce fluvial, especialmente en la presencia de microorganismos patógenos.

Realización de cultivos de microorganismos.

En la realización de cultivos se usaban pipetas automáticas y puntas esterilizadas y se hacía el cultivo junto al fuego para evitar la posible contaminación de los agares y para garantizar la fiabilidad de la prueba.

En primer lugar, se tomaba una muestra de agua de los botes recogidos en cada punto de muestreo y se agregaban 0,2 ml de ella en cada Agar. A continuación, con el asa de Digrasky se esparcía la muestra uniformemente por toda la placa y se procedía a sellarla con parafilm. Tras esto, las placas se mantenían a 37° C durante 24 horas en la incubadora para el posterior recuento de colonias, tras el crecimiento de las mismas. De esta forma se podía determinar el Ufc/ml en cada medio de cultivo.

Todas las cifras eran recogidas en tablas para realizar medias y obtener las conclusiones pertinentes.

En cambio, para el estudio de los microorganismos presentes en la vida

piscícola del lugar se tomaban muestras con una turunda estéril de la piel y boca de los peces y se esparcían en los diferentes medios de cultivo, comentados anteriormente y que eran los mismos que los empleados con las muestras de agua. Las placas también se mantenían a 37° C durante 24 horas en la incubadora para el posterior recuento de colonias (Ufc).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó la calidad del agua del río en base a los parámetros físico-químicos:

Tabla 1. Parámetros físicos del río Molinao.

PARÁMETROS FÍSICOS	Zona 1	Zona 2	Zona 3
pH	7,5	7,2	7,4
Temperatura (°C)	13,5	13,5	12,9
Turbidez	NO	NO	NO

Los datos recogidos en cuanto a los parámetros físicos del río han sido adecuados en los 3 puntos muestreados. Además no se aprecian grandes variaciones entre las zonas, ni en pH, ni en temperatura, ni tampoco en turbidez.

Tabla 2. Parámetros químicos del río Molinao.

PARÁMETROS QUÍMICOS	Zona 1	Zona 2	Zona 3	
Dureza total -GH- (°d)	> 16	>16	>16	
Dureza de carbonatos -KH- (°d)	20	20	18,75	
Oxígeno disuelto (mg/l)	10,43	10,19	10,87	
Nitrato (mg/l)	15	12,19	13,75	
Nitrito (mg/l)	0,02	0,03	0,04	
Amoniaco (mg/l)	0	0	0	
Fosfato (mg/l)	0,06	0,125	0,31	
Cloro (mg/l)	0	0	0	
Materia orgánica	Azul de metileno (%)	100	100	100
	Permanganato	NADA	NADA	NADA
Salinidad (mg/l)	124,46	121,24	125,54	

Los datos obtenidos en lo referente a los parámetros químicos no presentan ningún problema para la vida piscícola del lugar, puesto que se mantienen en los límites legales permitidos. Asimismo se pueden observar pequeñas variaciones entre los datos de las tres zonas, pero que en ningún caso suponen un problema.

El descenso de la concentración de oxígeno de la zona 1 a la 3 es decir; a medida que nos acercamos a la desembocadura la presencia de oxígeno en el agua es menor. Esto esta relacionado con el aumento de materia orgánica y de amoniaco. Por lo tanto, existe cierta contaminación de materia orgánica.

Por otra parte, el aumento de la cantidad de fosfatos puede indicar la existencia de vertidos, cuyo origen puede ser la utilización de abonos en la agricultura de los alrededores. También pueden ser vertidos de aguas residuales urbanas. En este caso llevarían asociada la presencia de materia orgánica. Y por último, puede ocurrir que haya vertidos industriales, sobre todo en la zona industrial de Papín-Molinao, debido a que la concentración de fosfatos aumenta a lo largo del cauce del río, siendo unos datos preocupantes los de las áreas 2 y 3.

Por último, en lo referente a la salinidad en vista a los resultados obtenidos se puede afirmar que no existe ninguna influencia de las mareas en ninguno de los puntos muestreados, ya que se obtienen valores dentro de los parámetros de las aguas dulces.

En cuanto al estudio microbiológico tanto del agua como de la vida piscícola del río, se llegó a una serie de resultados, conclusiones y soluciones tras su estudio.

Los resultados del estudio microbiológico del agua están recogidos en los siguientes gráficos.

La figura 2 corresponde al agar EMB Levine que determina la cantidad de enterobacterias.

Se puede observar una gran diferencia de Ufc/ml en el tercer punto respecto a los dos anteriores, llegando a alcanzar una cifra superior a 3 000 Ufc/ml y siendo la cifra mínima aproximadamente de 1 500 Ufc/ml, también muy alta.

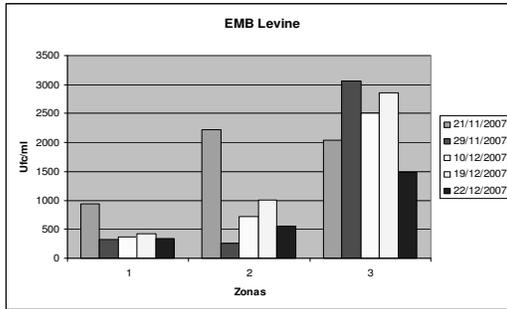


Figura 2. Resultado del análisis microbiológico del agua en el medio de cultivo EMB Levine.

Por otra parte encontramos una anomalía en los dos primeros puntos ya que el primer día se obtuvieron datos mucho más altos de lo normal.

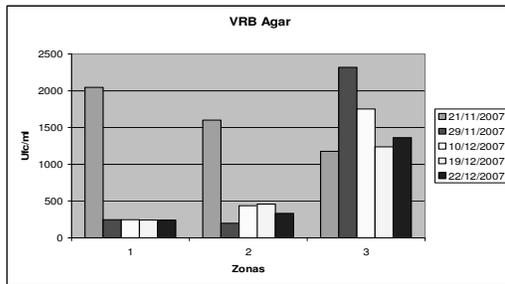


Figura 3. Resultado del análisis microbiológico del agua en el medio de cultivo VRB Agar.

En la figura 3, que analiza bacterias coniformes, se sigue apreciando un aumento de Ufc/ml en el punto 3. Además, sigue confirmando la existencia de algún factor que altera los resultados el primer día que se tomaron muestras en los dos primeros puntos de muestreo.

Los resultados obtenidos con el medio de cultivo MacConkey Agar determinan la existencia de Enterobacteriaceas en el agua.

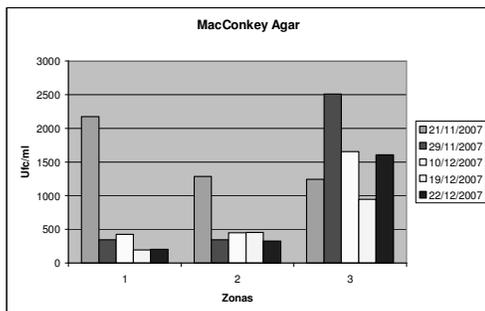


Figura 4. Resultado del análisis microbiológico del agua en el medio de cultivo MacConkey Agar.

En la figura 4 se siguen apreciando las características anteriores, por ello, teniendo en cuenta la reincidencia de los datos hemos considerado que los datos recogidos durante el primer día muestran la existencia de un posible vertido ilegal proveniente de alguna zona anterior al punto 1.

Es bastante probable que su origen sea algún vertido de lixiviados del vertedero RSU de San Marcos.

Por otra parte, El aumento de Ufc/ml según el avance del cauce del río, en especial entre las zonas 2 y 3, puede atribuirse a:

Vertidos ilegales desde el Polígono Industrial de Papín-Molinao.

Desagües de las viviendas del B° Molinao ante la ausencia de una red de saneamiento.

Antiguo vertido en el punto 3 de los lixiviados del vertedero de R.S.U. de la Mancomunidad de San Marcos, que originó tal deterioro en el ecosistema del río Molinao hasta finales de 2005 que este ecosistema todavía no ha sido capaz de regenerar.

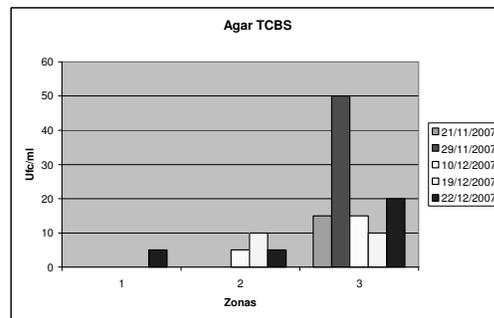


Figura 5. Resultado del análisis microbiológico del agua en el medio de cultivo Agar TCBS.

En la figura 5 se recogen los resultados obtenidos en el Agar TCBS. Este Agar se utiliza principalmente para el cultivo de Vibrios pero pese a que nos ha dado positivo, posteriores comprobaciones han determinado que las bacterias presentes eran *Pseudomonas* y *Aeromonas*. Esta comprobación se realizó mediante medios de cultivo selectivos para cada colonia y diferentes técnicas de aislamiento que se efectuaron tras obtener resultados positivos en un primer cultivo.

Aquí se aprecia una disminución general de Ufc/ml ya que es un agar más selectivo. Aun así, se mantiene el aumento en la zona 3 que seguimos atribuyendo a los diferentes vertidos que sufre la zona provenientes de la zona industrial, la zona urbana y el vertedero R.S.U de San Marcos.

Los resultados del estudio microbiológico de la vida piscícola están recogidos en los siguientes gráficos.

Para este análisis se realizó la pesca de varios *Chelon labrosus*, comúnmente conocidos como corcones, en varios días, durante marea alta, que coinciden con el análisis realizado de microorganismos patógenos del agua para el posible contraste de datos.

La pesca se realizó en un punto aguas abajo al punto tres de muestreo puesto que con la valoración de la salinidad se ha confirmado que las mareas no llegan a afectar los puntos de muestreo analizados.

Además, durante diversos días se trató de observar la existencia de vida piscícola; tal y como piscardos y truchas (fauna típica de los ríos de la cornisa cantábrica), a lo largo de la regata y comprobamos que la regata carece de todo tipo de peces exceptuando *Chelon labrosus*, que llegan a él con los movimientos de las mareas. Por este motivo, fueron los capturados.

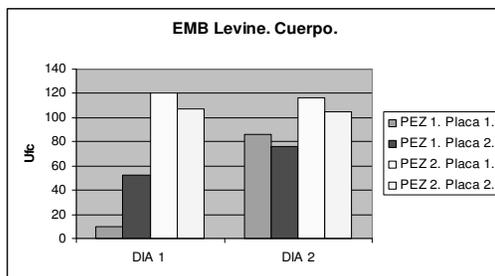


Figura 6. Resultado del análisis microbiológico de la piel de la fauna piscícola en el medio de cultivo EMB Levine.

En el estudio microbiológico de los peces, con el agar EMB Levine se obtuvieron resultados positivos para la presencia de Enterobacterias tanto en el análisis de la piel de los peces (fig. 6) como en el de la boca (fig. 7).

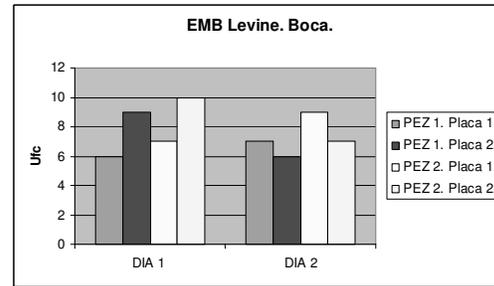


Figura 7. Resultado del análisis microbiológico de la boca de la fauna piscícola en el medio de cultivo EMB Levine.

En cuanto al análisis de la piel, ambos días se encontró una presencia elevada de Enterobacterias con un máximo de 120 Ufc. La cantidad de Enterobacterias contabilizadas en la boca de los peces no es alarmante puesto que no sobrepasa los 10 Ufc, pero la presencia de estos mismos microorganismos en los corcones hace que sea perjudicial su consumo para la salud humana puesto que se trata de bacterias de riesgo 2.

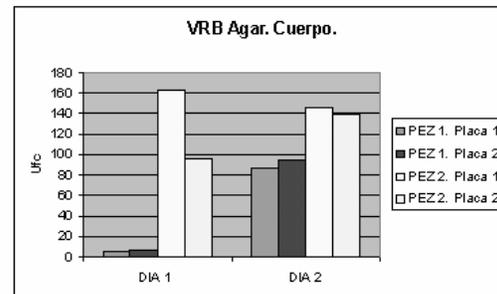


Figura 8. Resultado del análisis microbiológico de la piel de la fauna piscícola en el medio de cultivo VRB Agar.

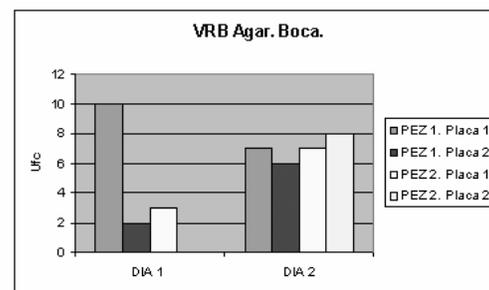


Figura 9. Resultado del análisis microbiológico de la boca de la fauna piscícola en el medio de cultivo VRB Agar.

En el Agar VRB (figuras 8 y 9) se registraron datos muy variables que se pueden deber a que los peces no han estado la misma cantidad de tiempo expuestos a la contaminación de la zona.

En este medio de cultivo que estudia la presencia de bacterias coliformes, especialmente *E. coli* la mayor parte de las muestras nos ofrecieron cifras superiores a 80 Ufc en la piel, y de 6 Ufc en la boca.

Dichas cantidades son perjudiciales para la vida piscícola y pueden llegar a causar enfermedades en el ser humano.

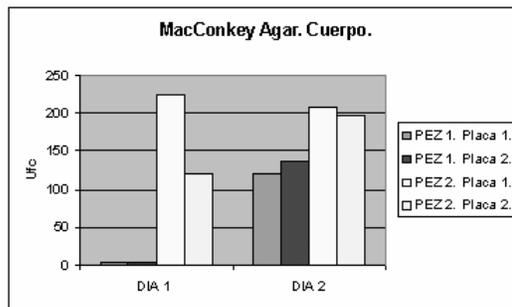


Figura 10. Resultado del análisis microbiológico de la piel de la fauna piscícola en el medio de cultivo MacConkey Agar.

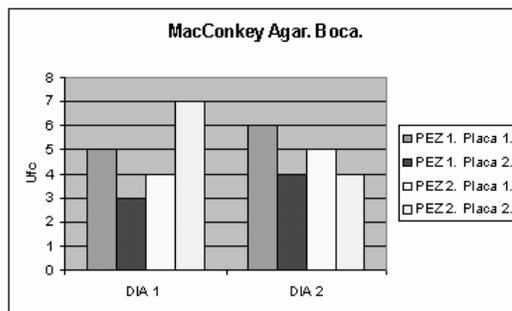


Figura 11. Resultado del análisis microbiológico de la boca de la fauna piscícola en el medio de cultivo MacConkey Agar.

MacConkey Agar como hemos dicho anteriormente determina la presencia de *Salmonella* y coliformes, bacterias de riesgo 2 (figuras 10 y 11). Uno de los peces del primer día presenta cantidades notablemente inferiores al resto lo que nos ofrece información del poco contacto que llegó a tener con el río antes de ser capturado, lo que indica que estos peces no habitan de forma continuada en el río si no que llegan a él en función de las mareas.

Es alarmante que el resto de datos sobre la piel se encuentren por encima de las 100 Ufc, llegando a alcanzar las 200 Ufc.

En cambio el estudio de *Salmonella* y coliformes en la boca nos ofrece resultados más homogéneos e inferiores. Estos datos reafirman la existencia de contaminación en este río.

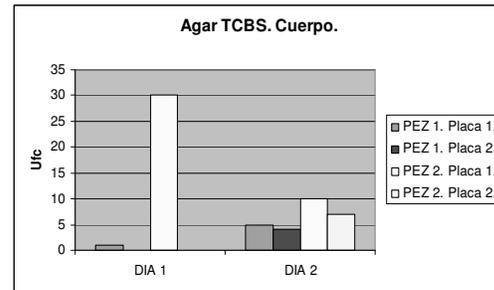


Figura 12. Resultado del análisis microbiológico de la piel de la fauna piscícola en el medio de cultivo Agar TCBS.

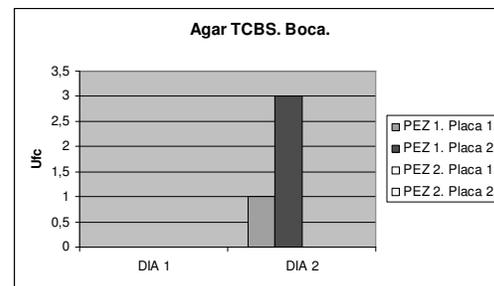


Figura 13. Resultado del análisis microbiológico de la boca de la fauna piscícola en el medio de cultivo Agar TCBS.

El agar TCBS, es un agar más selectivo por lo que obtuvimos resultados inferiores a los obtenidos en los anteriores medios de cultivo. Con este agar determinamos la presencia de *Pseudomonas* y *Aeromonas* en la vida piscícola de la regata lo cual nos indica que el agua está contaminada y que los peces se encuentran afectados por dicha contaminación microbológica (figs. 12 y 13).

Cabe mencionar el crecimiento de una sanguijuela en uno de los medios de cultivo a partir de los restos obtenidos en la boca del pez 1 el segundo día.

Después de finalizar el estudio microbiológico se elaboraron una serie de conclusiones a partir de todos los datos obtenidos.

Todos los grupos de microorganismos contabilizados son de riesgo 2 según la ley vigente.

Cualquier contacto con el agua supone un riesgo de contraer enfermedades y/o transmisión de las mismas.

Los Agares VRB y MacConkey analizan la existencia de Coliformes, sin embargo el Agar MacConkey también determina la presencia de *Salmonella*. Las cantidades registradas en ambos medio de cultivo son similares por lo que se puede llegar a la conclusión de que no hay un gran número de *Salmonella*.

El cultivo en Agar TCBS ha permitido, con posteriores pruebas de identificación determinar la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas* en el punto 3.

Se descarta con una prueba posterior la presencia de *Vibrio* en el punto 3.

El aumento de Ufc/ml según el avance del cauce del río, es especial entre las zonas 2 y 3.

El estudio microbiológico de los peces determina la existencia de Enterobacterias; así como Coliformes y Salmonellas, además de *Pseudomonas* y *Aeromonas*, en la boca y cuerpo de los peces.

Se ha observado una presencia más elevada de microorganismos en el cuerpo que en la boca, debido al contacto directo de la piel con el agua.

Se comprueba que la contaminación microbiológica del agua tiene una influencia directa en los peces de la regata.

No es conveniente el consumo de estos peces, ya que puede ser perjudicial para la salud.

El crecimiento de una sanguijuela en el medio de cultivo TCBS a partir del frotis de la boca de un pez determina la mala calidad del agua y los riesgos que conlleva su manipulación.

Por último, también se pudo observar que el entorno ejercía una influencia negativa sobre el ecosistema fluvial de Molinao Erreka, ya que al estar totalmente modificado en muchos puntos el cauce natural, se limita la vegetación y fauna del lugar.

Los datos recogidos en el estudio microbiológico representan graves

problemas para la calidad del agua del río. Y se verificó además que los vertidos directos y/o fugas desde el vertedero de R.S.U. de la Mancomunidad de San Marcos, los del Polígono Industrial de Artxipi y pequeños desagües del Bº Molinao repercutían negativamente en el cauce del río.

Tras realizar el estudio de Molinao Erreka y comprobar cual es su estado, sobretodo desde el punto de vista microbiológico, proponemos una serie de soluciones para la posible mejora de la regata.

Ante la presencia de microorganismos de riesgo 2, que como se ha comprobado, pueden causar enfermedades en el ser vivo con poca probabilidad de propagación, y ante la cercanía de la regata a una zona poblada y muy transitada, se deben de tomar medidas de prevención y control para evitar este contacto.

Se debería de prohibir la pesca, bastante habitual, a lo largo de todo el río como medida de prevención. Cabe destacar que en el río se celebran concursos de pesca durante las fiestas del municipio de Pasai Antxo, en un tramo cercano al punto donde se realizó la captura de los corcones.

Por otro lado, debido a que la regata tiene íntima relación con el vertedero R.S.U. de San Marcos, se considera de vital importancia el control de los posibles vertidos de lixiviados en el río en muchos casos por fugas.

Igualmente, los vertidos de la zona industrial del Polígono Industrial de Artxipi y de la zona urbana deberían ser eliminados, principalmente porque tienen un impacto muy negativo en la regata.

Los pequeños desagües de las viviendas del Barrio Molinao, pero que en cantidad representan un número elevado deben ser derivados a la red de saneamiento de toda la comarca.

Efectuar el traslado de la zona industrial para favorecer las labores de la posible recuperación de la ribera del río Molinao. Con ello, se permitiría la mejora de la propia regata, y se conseguiría la posible regeneración del entorno.

En cuanto al cauce del río consideramos que debería de ser reconstruido, y debería

de ser eliminada una presa que existe en la regata ya que interviene en el ciclo de vida de los peces.

Es de vital importancia el control periódico de la calidad del agua, para comprobar que su calidad va mejorando con estos cambios. Además este control permitiría conocer periódicamente si el número de vertidos incontrolados va en descenso y gracias a él se podría comenzar la regeneración de la ribera.

AGRADECIMIENTOS

Por último, dar las gracias a Juan Carlos Lizarazu, nuestro profesor de Biología de La Anunciata Ikastetxea, por su colaboración y coordinación prestada a la hora de llevar adelante este proyecto de investigación, ya que sin su ayuda hubiera sido imposible realizarlo.

BIBLIOGRAFÍA

- CARRASCO-MUÑOZ DE VERA, C. (1992), "Contaminación de las aguas". **Sistema Medio Ambiente**, T. II, 251-452.
- DE LA ROSA FRAILE, M., RAMOS TEJERA, C. y RUIZ-BRAVO LÓPEZ, A. (2006), La célula bacteriana, **Microbiología**". **Apuntes de 1º de Enfermería de la UPV**, 8-18.
- DÍAZ, C., GAMAZO, C. y LÓPEZ-GOÑI, I. (2005), **Manual práctico de Microbiología**, Masson.
- GRANADOS PÉREZ, R. y VILLAVERDE PERIS, M.C. (2003), **Microbiología, T. I. Bacteriología. Características y clasificación bacteriana. Virología. Características y técnicas bioquímicas**, Thomson Paraninfo.
- <<http://coli.usal.es/web/educativo/micro2/tema31.html>>
- <<http://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>>
- <http://es.wikipedia.org/wiki/Vibrio_cholerae>
- <<http://www.agenda21donostia.com/cas/corporativa/docs/RD734-88%20aguas%20de%20ba%F1o.pdf>>
- <<http://www.lenntech.com/espanol/FAQ-microbiologia-del-agua.htm>>
- <http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_07/Capitulo07.pdf>
- <<http://www.monografias.com/trabajos15/microbiologia/microbiologia.shtml>>
- <<http://www.mtas.es/Insht/Legislation/RD/biologic.htm>>
- <<http://www.unavarra.es/genmic/microclinica/tema03.pdf>>