

Coliformes fecales como indicadores de contaminación en los tributarios presentes en Hacienda Verde que desembocan en el Río Tanamá y el Río Grande de Arecibo

Juan Vázquez Montañez
Luis D. Clos Contreras

*Este proyecto de investigación trata de la importancia de los coniformes fecales como indicadores de contaminación, especialmente **Escherichia coli** y **Enterobacter aerogenes**, en los diferentes cuerpos de agua que existen en la finca Hacienda Verde del barrio Roncador de Utuado. Por Hacienda Verde transcurren unos tributarios que son parte del nacimiento del Río Roncador, afluente del Río Grande de Arecibo y del Río Tanamá. Por tal razón es de vital importancia para la región Norte y Central, al igual que para todo Puerto Rico, que se conserve y se haga un plan de manejo de estos cuerpos de agua.*

Palabras clave: Utuado, coniformes fecales, microbiología, contaminación

RESUMEN

En este proyecto de investigación se realizó un estudio de la importancia de los coliformes fecales como indicadores de contaminación, especialmente **Escherichia coli** y **Enterobacter aerogenes**, en los diferentes cuerpos de agua que existen en la finca Hacienda Verde localizada en el barrio Roncador en Utuado. Los coliformes fecales se encuentran en los intestinos de los humanos y otros animales de sangre caliente. La Hacienda Verde posee unos tributarios que son parte del nacimiento del Río Roncador, afluente en el Río Grande de Arecibo y el Río Tanamá. Por tal razón es de vital importancia para la región norte y central, al igual que para todo el pueblo de Puerto Rico que se preserve, se conserve y se haga un plan de manejo de estos cuerpos de agua. Se tomaron muestras de agua a lo largo de estas quebradas y fueron analizadas y se llevo a cabo la identificación de los coliformes fecales utilizando el método “MPN” o pruebas presuntivas, pruebas bioquímicas IMViC y filtración por membranas. Generalmente, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo. La presencia de bacterias coliformes en un suministro de agua es un buen indicador de que las aguas negras han contaminado el agua potable y hay animales defecando en ellas. Los investigadores llevaron a cabo la investigación con los estudiantes matriculados en el curso de Microbiología para exponerlos al proceso de investigación como una herramienta útil y de experiencia valiosa para su desarrollo profesional.

Introducción

La supervivencia y el desarrollo correcto de la vida humana están íntimamente relacionados con la ingestión de agua y alimentos. El tema del agua será siempre un aspecto esencial de la vida. Al menos nuestro planeta y nuestro cuerpo así parecen decirlo. El 90% de la superficie de nuestro mundo está cubierto por agua, y el 85% de nuestro cuerpo está constituido por agua, por estas moléculas de tres átomos que se están reciclando una y otra vez por un tiempo indefinido. La misma agua del diluvio es la que inunda nuestras calles; la misma que sació la sed en el pozo bíblico de Jacob, se sigue extrayendo de nuestros pozos profundos para mitigar la nuestra.

Por mucho tiempo creíamos que el agua era un recurso infinito y que podíamos utilizarla no sólo para beber y regar, para mover molinos y turbinas, para navegar y divertirnos, sino también para recibir nuestros desechos y residuos. Pero todo tiene un límite. Hoy el agua protesta por sus olores, se ausenta por años como por temor, y después vuelve con todas sus fuerzas. Y más por sufrimiento que por convencimiento, la reconocemos como indispensable, como un recurso no renovable y el agua no es permanente.

La experiencia de los países industrializados demuestra que para lograr preservar la calidad del agua se requiere un gran esfuerzo económico y cultural. Afrontar el dilema del desarrollo y la preservación del medio ambiente con escasos recursos económicos presenta una situación que no es difícil de entender. **Nos** enfrentamos a una situación de recursos limitados y con restricciones técnicas, sociales, y políticas. La solución consiste en optimizar el uso del recurso analizando las variables que intervienen y su interrelación. Conocer el estado de un recurso fluvial nos permite saber hasta qué grado se ha estado utilizando adecuadamente el recurso, detectar fallas en la construcción de sistemas colectores tanto de aguas residuales como pluviales, o la falta de un sistema de tratamiento de agua eficaz. Esto también permite determinar el tipo de uso que podemos darle al recurso.

La microbiología ambiental es el estudio

del papel de los microorganismos en su ambiente natural y enfatiza el efecto recíproco entre los microorganismos vivos y su ambiente biótico y abiótico. Estas interacciones son dinámicas ya que el ambiente de las poblaciones microbianas cambia continuamente. Algunos parámetros ambientales tales como la temperatura son guiados por factores externos. Otros cambios resultan de las interacciones entre los microorganismos vivos.

Los microorganismos responden al medio ambiente alterado con interacciones positivas o negativas entre las poblaciones que actúan para mantener el balance ecológico. Las interacciones entre los miembros biológicos de una comunidad están fisiológicamente basadas en el balance ecológico y éste es fácilmente alterado. Esto es obvio cuando el ambiente y los habitantes microbianos se encuentran en estado constante. Las perturbaciones en un ecosistema resultan en cambios en las poblaciones que usualmente producen inestabilidad ecológica temprana. El campo de la ecología microbiana marca la distribución de los microorganismos en el ambiente (Barman, R 2006, y Cappuccino y Sherman 2002).

En los ecosistemas acuáticos la distribución depende de la luz, la temperatura, la salinidad y los nutrientes. La concentración de oxígeno disuelto es muy importante. Los productores tales como las algas y bacterias fotosintéticas forman el fitoplancton, que provee alimentos a otras especies. Otras bacterias exhiben una amplia gama de alternativas metabólicas. Por sus condiciones de vida, las mayores partes de las bacterias son saprofitos y parásitos. Los microorganismos se hallan difundidos ampliamente en la naturaleza. Su hábitat natural suele ser el suelo y se consideran los principales responsables del reciclaje y transformación de los diferentes elementos en los ciclos biogeoquímicos. La presencia de comunidades de microorganismos aumenta la capacidad autodepuradora de las aguas.

El empleo de los coliformes como indicadores de organismos patógenos en el agua es una práctica vigente en la actualidad. Las bacterias coliformes comprenden *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*, ambos organismos son bacilos cortos, Gram negativos, que fermentan la lactosa con producción de gas. Los organismos coliformes son buenos indicadores de contaminación fecal de agua. Las experiencias

positivas de su empleo como indicador de la calidad de agua han hecho posible que se utilicen también para determinar la calidad higiénica de los alimentos. Todos los organismos indicadores deben poseer las siguientes propiedades: (1) especificidad, es decir idealmente las bacterias seleccionadas sólo se deben encontrar en el medio intestinal, (2) se hallarán en gran cantidad en las heces fecales, de tal forma que puedan ser detectadas en altas diluciones, (3) deberán ser muy resistentes a las condiciones ambientales extra-intestinales y se conocerá el grado de contaminación de la misma, (4) aún cuando se encuentren en muy escasa proporción, podrán ser detectadas de forma fácil y completa. El hallazgo de gran número de estos organismos en los alimentos y en el agua indica contaminación fecal. Ya que las enfermedades transmitidas por el agua generalmente son de carácter intestinal, la presencia de contaminación indica la posibilidad de que existen agentes etiológicos productores de estas enfermedades.

Los coliformes fecales son una familia de bacterias que se encuentran comúnmente en las plantas, el suelo y los animales, incluyendo el ser humano. Muchas enfermedades infecciosas del hombre como la fiebre tifoidea, la disentería y el cólera son causadas por las bacterias patógenas que se transmiten por medio del agua. El agua que no contenga coliforme fecales se considera libre de enfermedades producidas por las bacterias e inclusive por otros gérmenes patógenos, como por ejemplo los virus de hepatitis A, rotavirus y otros.

Para los coliformes totales, los microbiólogos utilizan en forma general a la familia de las bacterias de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. La mayoría de estos organismos se encuentran en vida libre, es decir, en el medio ambiente y materia en descomposición, excepto el género *Escherichia* que vive solo en organismos como el hombre y animales de sangre caliente. Los coliformes fecales se designan principalmente, en las órdenes de las bacterias *Escherichia* y *Klebsiella* spp. Las bacterias de estas familias son indicadores por excelencia de contaminación fecal del agua, principalmente por heces de origen humano, La presencia de coliformes en el suministro de agua es

un indicio de que el suministro de agua puede estar contaminado con aguas negras u otro tipo de desecho en descomposición. Generalmente, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo. La presencia de bacterias coliformes en un suministro de agua es un buen indicador de que las aguas negras han contaminado el agua. Se pueden hacer pruebas, especialmente, para coliformes fecales o para el total de bacterias coliformes que incluyen todos los tipos de bacterias coliformes fecales y que pueden indicar contaminación fecal (Jay, 2000, Prescott, Harley y Klein 2002, Tortora, et al. 2005).

Hoy en día, la contaminación de nuestro entorno está considerada como un serio problema que incluye aspectos tales como la salud pública. Particularmente, las descargas de las aguas negras son fuente importante de contaminación de las zonas costeras. En éstas, un gran número de bacterias patógenas y virus, como *Sterptococcus*, *Staphylococcus*, *Salomomella*, *Shigella*, *Vibrio*, virus de hepatitis y poliomeilitis son descargados en el océano y representan un riesgo para la propagación de enfermedades como fiebre tifoidea, paratifoidea, gastroenteritis, hepatitis y poliomielititis principalmente a los bañistas.

Los organismos utilizados como indicadores biológicos de contaminación son las bacterias coliformes fecales por las ventajas que representan, ya que se considera que niveles bajos de estos coliformes son buenos indicadores de ausencia de organismos patógenos. Su evaluación es relativamente simple y directa. Su concentración en aguas residuales (unos 200 millones/100 mililitros) es más alta que la de los patógenos fecales. No se multiplican fuera del tracto intestinal de animales de sangre caliente. Su presencia en sistemas acuáticos es evidencia de contaminación de origen fecal. La presencia de bacterias coliformes puede ser un indicador de un suministro de agua contaminada, pero sería necesario hacer más pruebas para identificar las bacterias específicas presentes y el nivel de contaminación. Los niveles recomendados de bacterias coliformes son: Agua potable menos de 0 colonias por 100 ml de muestra de agua; Natación, menos de 200 colonias por 100 ml de la muestra del agua; Navegación y pesca menos de 1,000 colonias por

100 ml de la muestra de agua.

La Universidad de Puerto Rico en Utuado se encuentra en una región geográfica que debe asumir un rol protagónico en los estudios e investigaciones de envergadura que nos permitan aportar al manejo y conservación de los cuerpos de agua. En esta zona tenemos varios bosques como Tres Picachos, Cerro Punta, Cerro Morales, Toro Negro, Cerro Maravilla, Río Abajo, Bosque del Pueblo y Guilarte. Todos estos nos ayudan a mantener y conservar los cuerpos de agua. Además, existen parches de bosques como lo es la finca Hacienda Verde en Roncador. Es importante mencionar que Hacienda Verde cuenta con varias quebradas y charcas que forman parte de Río Roncador, afluente del Río Grande de Arecibo según lo presenta el Plan de Manejo de la Hacienda (Báez, et al 2002).

La Universidad de Puerto Rico en Utuado junto a su Departamento de Ciencias Naturales, utilizamos los recursos naturales de esta zona como laboratorios de los cursos de Microbiología General y Microbiología de los Alimentos. No solamente se pretende integrar en los currículos académicos el tema de la protección del ambiente, manejo de los recursos naturales, bioética como también crear conciencia sobre la utilización, protección y conservación del medio ambiente; si no además estaremos desarrollando propuestas de investigación que se harán más viables una vez se creen las estructuras y condiciones para que se lleve a cabo este proceso. El propósito de este proyecto de investigación fue observar la fuente de contaminación fecal y se debe coordinar para

educar las comunidades que se encuentran cerca de los tributarios para mantener limpias las aguas ya que estos nutren los acuíferos del norte.

Materiales y Métodos

Para llevar a cabo este estudio se visitó el nacimiento del Río Roncador en la finca Hacienda Verde donde establecieron diferentes áreas de muestreo. Se coleccionó agua y se llevó al laboratorio siguiendo todos los requisitos de colección de muestras donde se identificaron los coliformes fecales utilizando el método “MPN”, prueba IMViC y filtración en membranas. En la prueba de MPN la fase presuntiva se realizó inoculando varios tubos con tres muestras de agua para obtener una estimación del número más probable de los coliformes en el agua. El proceso total, incluyendo las pruebas de confirmación y finales, requirió por lo menos cuatro días de incubación y réplica. **La técnica de filtración por membrana** es el método más común y preferido para evaluar las características microbiológicas del agua. Se pasó la muestra a través de un filtro de membrana. El filtro con las bacterias atrapadas se transfiere a la superficie de un medio sólido o sobre un soporte absorbente, conteniendo el medio líquido deseado. Además se hizo una base de datos para la identificación de microorganismos y también se realizó un inventario de fotografías digitales. Luego que se analizaron los datos se hicieron las debidas recomendaciones para el uso, manejo y conservación de los tributarios



**RESULTADOS DEL ANALISIS DE LA INVESTIGACION DE
LOS COLIFORME FECAL COMO INDICADORES DE CONTAMINACION
FECAL EN LOS TRIBUTARIOS DEL RIO TANAMA Y EL RIO GRANDE DE ARECIBO**

Las siguientes tablas presentan los muestreos de las estaciones I, II y III del estudio. Se realizaron dos muestreos y cada uno de ellos en las áreas correspondientes. Estación I. cerca del nacimiento de los ríos, II zona intermedia y III cerca de la primera zona habitada.

FASE I DE COLECCIÓN

ESTACION III: CERCA DE LA PRIMERA ZONA HABITADA

Endo agar (Leune eosin methylene blue agar)	mfc agar	KF Streptococcus Agar
660 cfu	384 cfu	0 cfu
546 cfu		0 cfu
508 cfu		
568 cfu		
704 cfu		
488 cfu		
484 cfu		
576 cfu		
176 cfu		
Promedio 569 cfu	Promedio 384 cfu	Promedio 0 cfu

ESTACION II: EN LA PARTE INTERMEDIA DE LOS TRIBUTARIOS

Endo agar (Leune eosin methylene blue agar)	mfc agar	KF Streptococcus Agar
100 cfu	108 cfu	0 cfu
92 cfu	76 cfu	0 cfu
88 cfu		
92 cfu		
104 cfu		
36 cfu		
76 cfu		
60 cfu		
80 cfu		
Promedio 81 cfu	Promedio 92 cfu	Promedio 0 cfu

ESTACION I: CERCA DEL NACIMIENTO DE LOS TRIBUTARIOS

Endo agar (Leune eosin methylene blue agar)	mfc agar	KF Streptococcus Agar
120 cfu	164 cfu	0 cfu
76 cfu	20 cfu	0 cfu
68 cfu		
56 cfu		
60 cfu		
56 cfu		
56 cfu		
Promedio 70 cfu	Promedio 92 cfu	Promedio 0 cfu

FASE II DE COLECCIÓN

ESTACION III: CERCA DE LA PRIMERA ZONA HABITADA

Endo agar (Leune eosin methylene blue agar)	mfc agar	KF Streptococcus Agar
64 cfu	15 cfu	50 cfu
1000 cfu		
76 cfu		
176 cfu		
196 cfu		
240 cfu		
144 cfu		
96 cfu		
176 cfu		
Promedio 241 cfu	Promedio 15 cfu	Promedio 50 cfu

ESTACION II: EN LA PARTE INTERMEDIA DE LOS TRIBUTARIOS

Endo agar (Leune eosin methylene blue agar)	mfc agar	KF Streptococcus Agar
140 cfu	40 cfu	
140 cfu	27 cfu	
140 cfu	32 cfu	
132 cfu		
124 cfu		
44 cfu		
112 cfu		
24 cfu		
160 cfu		
Promedio 124 cfu	Promedio 33 cfu	

ESTACION I: CERCA DEL NACIMIENTO DE LOS TRIBUTARIOS

Endo agar (Leune eosin methylene blue agar)	mfc agar	KF Streptococcus Agar
232 cfu	28 cfu	
140 cfu	20 cfu	
200 cfu	30 cfu	
108 cfu		
Promedio 170 cfu	Promedio 26 cfu	

Discusión

Los **coliformes**, incluyendo *Escherichia coli*, son miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Estas bacterias constituyen aproximadamente el 10% de los microorganismos intestinales de los seres humanos y otros animales, se utilizan ampliamente como organismos indicadores. Pierden viabilidad en agua dulce a una velocidad inferior a la de la mayoría de las bacterias patógenas. Cuando esta bacteria indicadora “extraña” no se detecta en un volumen específico (100 ml) de agua, ésta se considera **potable** (de latín *potabilis*, adecuada para beber) o adecuada para el consumo humano. El grupo de coliforme incluye *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* y *Klebsiella pneumoniae*. Los coliformes se definen como bacterias, anaeróbicas facultativas, Gram negativas, no esporulada, con forma de bacilo, que fermentan la lactosa con formación de gas en 48 horas a 35 °C. La prueba original de los coliformes que se ha utilizado en esta investigación comprende las pruebas presuntivas, las de confirmación y las finales para obtener una estimación del número más probable (*MNP*), estas demostraron la presencia de coliformes fecales en los diferentes tributarios.

Desgraciadamente, los coliformes comprenden una amplia variedad de bacterias cuyo origen natural puede no ser el tracto intestinal. Para resolver este problema, se han desarrollado pruebas para detectar la presencia de coliforme fecales. Estos coliformes proceden del intestino de los animales de sangre caliente, y parte de su detección diferencial se basa en que pueden crecer a una temperatura más restrictiva de 44.5 °C.

Para analizar la presencia de coliformes y coliformes fecales, y para la recuperación eficaz de los coliformes estresados se usó la técnica de filtración por membrana la cual también indicó la presencia de coliformes. Se analizaron y se identificaron otros coliformes como los enterococos fecales.

Podemos concluir según los estándares de la *EPA* lo siguiente 1) que el agua de ninguna de las estaciones es potable, 2) el agua de la estación cercana al nacimiento del río y la de la zona intermedia es apta para la natación y la recreación y 3) el agua de todas las estaciones es apta para la navegación y pesca. Los resultado parecen indicar que puede

haber contaminación proveniente de las aguas negras, animales defecando y desperdicios agrícolas. Entre las recomendaciones que podemos dar a la comunidad son las siguientes: 1) Promover el desarrollo de una conciencia ambiental en los sectores que componen la comunidad universitaria y en la ciudadanía en general, 2) Contribuir, mediante la investigación, a el desarrollo de estrategias que sirvan para mejorar la calidad del ambiente, 3) Servir de foro para la discusión de los problemas ambientales revelantes a Puerto Rico, al Caribe y al Mundo y 4) aportar ideas y participar en la discusión pública sobre los problemas ambientales.

La investigación sobre la importancia de los coliformes fecales como indicadores de contaminación, especialmente, *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* de las diferentes quebradas que son afluentes del Río Roncador, Río Grande de Arecibo, Río Tanamá en la finca Hacienda Verde en Utuado que fortalecerá todos los objetivos de la ley de la Política Ambiental de la Universidad de Puerto Rico, así como la ley sobre la política pública ambiental de Puerto Rico. Todo esto parece indicar que la UPR debe buscar la armonía entre la naturaleza y el ser humano al cumplir con las necesidades sociales y económicas de la región a la cual sirve. Para estar en armonía con las leyes sobre la política ambiental, las personas o entidades a quienes aplique esta política cumplirán con las siguientes responsabilidades al llevar a cabo sus planes, funciones, programas y proyectos: 1) custodiar nuestro ambiente para beneficio de las generaciones presentes y futuras, 2) fomentar un ambiente seguro y saludable, 3) promover el uso eficiente y juicioso de todos los recursos naturales de manera que puedan ser utilizados de forma continua y sostenida y 4) conservar nuestro patrimonio natural, histórico y cultural.

Los valores de la UPR en Utuado incluyen el compromiso de la institución con el medio ambiente, con la cultura puertorriqueña y con la calidad de vida.

Bibliografía

Adam, W.M., Ros, A., Brockington, D., Dickon, B., Elliott, J., Hutton, J., Hutton, J., Roe, D., Vira, B., and Wolmer, W. (2004). *Biodiversity conservation and the eradication of poverty. Science.* 306 (5699) 1146-1149.

Báez, J. A., Otero, A. and Trejo, N.A. (2002). *Plan de manejo de recursos múltiple y custodia de bosques privados para la Finca Hacienda Verde de Luis Miguel Rico Ardanáz. Programa de manejo de recursos múltiples para la custodia de bosque privados.* Departamento de Recursos Naturales y Ambientales de Puerto Rico. Negociado de Servicios Forestal USDA International Institute of Tropical Forestry and Envirosurvey, Inc.

Bauman, Robert W. (2006). *Microbiology.* New York. Benjamin Cummings Pu Co. New York.

Cappucino, J and Sherman N. (2005). *Microbiology: Laboratory manual.* 7 ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.

Ingrahan, J and Ingrahan C.A. (2004). *Introduction to microbiology. A case history approach.* Australia. Thomson Brook/Cole.

Jay, J. M., Loesswer J. M. and Golden D. A. (2005). *Modern food microbiology.* 7 ed. United Status. Springer

Ley para establecer la política publica sobre la prevención de inundaciones y conservación de ríos y quebradas (P. del C. 1515). (2003) Ley 49. En <http://www.lexjuris.com>.

Madigan M. T. and Martinko J. M. (2006). Brock. *Biology of microorganisms.* 11 ed. Upper Saddle River, N.J. Pearson. Prentice Hall. Person Education Inc.

Plan Estratégico (2003-2008, 2004) Oficina de Planificación y Estudios Institucionales. Universidad de Puerto Rico.

Prescott, L. M., Harley, J.P., and Klein D.A. (2005). *Microbiología.* Madrid. McGraw Hill.

Tortora, G. J; B. R. Funke And C. L. Case. (2007). *Microbiology: An introduction,* 9 ed. San Francisco Benjamin Cummings.

