

## CALIDAD BACTERIOLOGICA DEL AGUA EN PLAYAS DE VALPARAISO Y VIÑA DEL MAR. III CONTAMINACION AMBIENTAL

V. Campos, M. Zahr, P. G. Tello y R. Ríos  
Laboratorio de Microbiología. Instituto de Biología  
Universidad Católica de Valparaíso.

### RESUMEN

Se determina la contaminación microbiológica del agua de mar, en las playas más importantes de la Bahía de Valparaíso utilizando indicadores bacterianos.

Coliformes totales y coliformes fecales se utilizaron como indicadores siguiendo los procedimientos de "Standard Methods".

Se realiza una comparación de las técnicas de enumeración entre la fermentación de tubos múltiples y la técnica de filtración por membrana.

Los resultados son expresados como media geométrica, para cada una de las estaciones estudiadas.

Finalmente, se discuten los resultados obtenidos y la significación que podría tener en relación a la salud pública.

### SUMMARY

[*Bacteriological quality of water in beaches of Valparaíso and Viña del Mar III. Ambiental Contamination*]

The microbiological pollution of seawater of the most important beaches in the Bay of Valparaíso was determining using bacterial indicators.

Total and fecal coliforms were used as indicators according to "Standard Methods".

A comparison was made between the techniques of membrane filters and multiple tube fermentation.

Results are expressed as geometric means for each of the stations under study.

Finally, results are discussed in terms of their significance in relation to public health.

### INTRODUCCION

La contaminación de los sistemas acuáticos, especialmente del medio marino es uno de los problemas de importancia que afecta las zonas costeras en numerosos lugares del mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo. Aunque las fuentes de contaminación son variadas y tienen distintos efectos, una de las más importantes es la contaminación por microorganismos que tiene su origen en las excretas del hombre y animales de sangre caliente. Las zonas costeras son generalmente receptores de ríos u otros cursos de agua, además de las aguas residuales domésticas de las poblaciones urbanas, las cuales tienen un alto contenido de microorganismos, muchos de ellos causantes de enfermedades infecciosas, lo que puede significar un peligro

para la salud de los usuarios de dichas aguas (Geldreich, 1972).

Determinar todos los microorganismos patógenos en una muestra de agua es difícil, por su gran variedad y variabilidad en número, haciendo difícil su detección. Debido a esto, se utilizan microorganismos indicadores que son de fácil detección y en tiempos razonablemente cortos (Campos, 1981).

Aunque se han propuesto diversos microorganismos como indicadores (Geldreich, 1972; 1987; 1977; 1978) los más utilizados han sido Coliformes Totales y Coliformes Fecales (APHA, 1975) Dutka, 1978; Colwell, 1988). Para la enumeración del grupo coliforme se han descrito dos métodos estandarizados: la técnica del Número Más Probable (NMP) y la de Membrana Filtrante (MF) (APHA, 1975).

Estudios comparativos de valores de densidad

de microorganismos en el agua de mar obtenidos por MF y NMP establecen que la primera presenta ciertas ventajas y es confiable pero a diferencia del NMP esta técnica no es aplicable a todo tipo de aguas y debe tenerse en cuenta la turbidez del agua y la densidad bacteriana que limitan el volumen de muestra a analizar (Kabler, 1954; Castillo, 1980).

Se ha reconocido como de gran valor para salud pública el establecimiento de guías, criterios y estándares que permiten controlar la calidad sanitaria del agua usada en recreación. La relación entre indicadores y microorganismos patógenos (Geldreich, 1970) y la relación entre brotes epidémicos y densidad de los indicadores en un cuerpo de agua (Stevenson, 1953; Moore, 1959; Cabelli et al., 1976) han permitido establecer criterios y normas para la utilización de las aguas de baño sin riesgo para la población, las que han sido muy discutidas y difieren de un país a otro.

En Chile, la norma chilena N° 1333 del año 1978 para aguas de contacto primario, establece que en aguas recreacionales no debe excederse el número de 1000 CF/1000 ml.

Las ciudades de Valparaíso y Viña del Mar, están ubicadas en una zona de gran atracción turística, por sus características climáticas y sus playas. Con una población de más de 600.000 habitantes, las aguas residuales domiciliarias, hospitalarias e industriales son conducidas al mar, sin un previo tratamiento y en muchos casos en las cercanías de lugares recreacionales.

La utilización masiva de sus aguas se ve incrementada especialmente en los meses de Verano, por la afluencia de un gran número de turistas, provocando un aumento de los caudales descargados. En Viña del Mar, de acuerdo a datos entregados por Sernatur (1980) se observa un incremento temporal de un 20% de la población estable en los meses de Enero y Febrero.

En el presente trabajo se hace un estudio de la contaminación bacteriológica durante los meses de verano, entre los años 1980-83 de las playas de Valparaíso y Viña del Mar de mayor importancia. Su interés es evitar que las poblaciones de estas ciudades contraigan enfermedades infecciosas al utilizar aguas contaminadas costeras con fines recreacionales y por su implicancia en la actividad turística.

## MATERIALES Y METODOS

### 1. Muestreo:

Las estaciones de muestreo fueron seleccionadas tomando en cuenta algunos factores como corrientes, mareas, grado de contaminación y utilización de sus aguas, seleccionándose las siguientes playas: Amarilla (PA), Reñaca (R), Sanatorio Marí-

timo (SM), (donde se incluyen las playas Acapulco, Roja, El Sol, y Los Marineros) y Caleta Abarca (CB) en Viña del Mar, Caleta Portales (CP), Barón (MB) y Torpederas en Valparaíso.

Durante los meses de Verano (Diciembre a Marzo), comprendidos entre Diciembre 1980 a Marzo de 1983 se tomaron 5 muestras por duplicado cada 2 meses, en un lapso de no más de 30 días, para cada estación con el fin de expresar los resultados como valores de medias geométricas.

Las muestras fueron tomadas manualmente en botellas con tapa rosca tipo "pyrex" de 250 ml en forma aséptica a una profundidad de 0.5 m y a una distancia de 5-10 mts. de la línea de mareas. Fueron procesadas en un período de tiempo no superior a 6 horas después de su recolección.

### 2. Determinación de los microorganismos indicadores

Los microorganismos indicadores utilizados, coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) fueron determinados utilizando la técnica de fermentación en tubos múltiples o Número Más Probable (NMP). Se hicieron 3 diluciones decimales por muestra con 5 tubos para cada dilución. Se usó Caldo Lauryl Triptosa (DIFCO) para la prueba presuntiva de (CT) y Caldo Bilis Verde Brillante al 3% (DIFCO) para la prueba confirmativa.

A partir de los tubos presuntivos positivos se determinaron los Coliformes Fecales, siendo traspasados a Caldo EC (DIFCO) e incubados a  $44.5^{\circ} \pm 0.2^{\circ} \text{C}$  en un baño de agua durante 24 horas.

Sin embargo, previo a la elección de la técnica a usar, se hizo una comparación del NMP con la técnica de Membrana Filtrante (MF), ambas descritas en "Standard Methods for Examination of Water and Wastewater" (APHA, 1975).

### 3. Expresión de los resultados

El NMP de coliformes totales y Coliformes fecales fue determinado para cada una de las 5 muestras tomadas en un lapso de 30 días, mediante tablas estandarizadas (APHA, 1975). Posteriormente se obtuvieron los valores de medias geométricas de coliformes totales y coliformes fecales para cada estación cada 2 meses (Dic-Enero) y (Febrero-Marzo) durante los años de estudio de acuerdo a la siguiente ecuación:

Media geométrica =

$$\sqrt[n]{X_1 \times X_2 \times X_3 \times X_4 \times X_n}$$

donde X = NMP del microorganismo indicador

Los valores determinados por la técnica de MF se expresan como CF/100 ml y CF/100 ml según Standard Methods (APHA, 1975) a través de la fórmula:

$$\text{Coliformes/100 ml} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ colonias de colif.}}{\text{volumen muestra filt.}} \times 100$$

## RESULTADOS

Para analizar la calidad bacteriológica de las aguas se han descrito ampliamente 2 técnicas: (NMP) y (MF). En este trabajo, previo a elegir la técnica a utilizar se decidió hacer una comparación entre ambas técnicas en algunas estaciones de muestreo tomadas al azar. La tabla 1 presenta valores comparativos de Coliformes fecales (CF) para las 2 técnicas NMP y MF, donde puede apreciarse, que los valores se asemejan en las estaciones con menor grado de contaminación pero en la mayoría de los casos los valores del NMP/100 ml de CF son un poco más altos en las estaciones con un grado de contaminación superior.

Como la técnica de (MF) no es recomendable para aguas que contengan materiales particulados o en suspensión como es el caso del agua de mar, ni tampoco para aguas muy contaminadas, se intentó hacer una prefiltración de la muestra (Garrido, 1980) para posteriormente analizarla mediante (MF). La tabla 2, nos muestra que no es recomendable usar filtración previa de la muestra ya que se observa una pérdida del contenido inicial de bacterias existiendo un porcentaje de retención en los filtros entre 10-30%.

Los valores de medias geométricas del NMP/100 ml de Coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) en playas de Viña del Mar y Valparaíso se aprecian en la Tabla N° 3. Las estaciones que presentan valores sobre la norma nacional de 1000 CF/100 ml se mantienen durante todo el período en estudio mientras que aquellas estaciones que presentan valores bajo la norma nacional, han aumentado en el curso del tiempo.

TABLA 1

Comparación de valores de Coliformes fecales (CF) utilizando las técnicas (NMP) y (MF) en algunas estaciones de muestreo

| ESTACION | CF/100 ml |       |
|----------|-----------|-------|
|          | MF        | NMP   |
| R        | 50        | 200   |
| R        | 70        | 500   |
| MB       | 400       | 3400  |
| CB       | 510       | 1100  |
| SM       | 15600     | 35000 |
| SM       | 12000     | 22000 |
| T        | 210       | 200   |

TABLA 2

Determinación de Coliformes Totales comparando la técnica de MF utilizando una prefiltración.

| ESTACION | Coliformes totales/100 ml |                  |                |
|----------|---------------------------|------------------|----------------|
|          | c/pre-filt.<br>MF         | s/pre-filt<br>MF | o/o<br>Retenc. |
| R        | 500                       | 620              | 19             |
| CB       | 3600                      | 4000             | 10             |
| R        | 200                       | 244              | 18             |
| SM       | 1800                      | 2400             | 15             |
| T        | 120                       | 172              | 30             |
| T        | 280                       | 330              | 15             |

TABLA 3  
Medidas geométricas del NMP/100 ml de Coliformes Totales (CT) y Coliformes Fecales (CF)

|    |    | 1980-81 |        | 1981-82 |        | 1982-83 |        |
|----|----|---------|--------|---------|--------|---------|--------|
|    |    | D-E     | F-M    | D-E     | F-M    | D-E     | F-M    |
| PA | CT | 982     | 481    | 276     | 240    | 1.053   | 624    |
|    | CF | 0       | 200    | 276     | 200    | 553     | 420    |
| R  | CT | 196     | 0      | 200     | 200    | 608     | 545    |
|    | CF | 0       | 0      | 200     | 200    | 420     | 381    |
| S  | CT | 3.327   | 2.153  | 803     | 307    | 728     | 868    |
|    | CF | 2.785   | 857    | 716     | 307    | 446     | 537    |
| SM | CT | 18.498  | 69.677 | 7.190   | 5.198  | 19.608  | 16.339 |
|    | CF | 998     | 13.206 | 4.470   | 4.422  | 5.531   | 8.370  |
| CB | CT | 6.389   | 6.634  | 14.457  | 3.444  | 5.402   | 2.855  |
|    | CF | 1.175   | 2.175  | 11.263  | 2.515  | 2.009   | 1.525  |
| CP | CT | 11.174  | 5.517  | 4.957   | 1.884  | 16.256  | 12.741 |
|    | CF | 2.014   | 2.144  | 3.579   | 1.884  | 7.429   | 5.097  |
| MB | CT | 11.174  | 59.958 | 65.434  | 44.309 | 28.858  | 27.281 |
|    | CF | 2.014   | 5.967  | 40.443  | 32.114 | 13.400  | 8.658  |
| T  | CT | 1.257   | 741    | 1.152   | 711    | 682     | 535    |
|    | CF | 42      | 462    | 1.152   | 647    | 392     | 418    |

## DISCUSION

La utilización de las técnicas NMP y MF han sido ampliamente estudiadas y descritas para el análisis de la calidad bacteriológica de las aguas. Aunque la técnica MF presenta algunas ventajas sobre NMP como son flexibilidad en el volumen de muestra a ensayar, obtención de resultados con mayor rapidez, posibilidad de analizar grandes cantidades de muestras diferentes en un mismo espacio

de laboratorio y una mayor precisión del método; presenta por otra parte ciertas limitaciones como la de no ser siempre aplicable a todo tipo de aguas a diferencia del NMP ya que las aguas presentan características como turbidez, contenido de sustancias disueltas como metales pesados, concentraciones bacterianas no específicas, etc. (Castillo, 1981), donde la técnica de MF no es adecuada.

Además, los microorganismos indicadores que han sufrido algún tipo de stress ambiental, como en aguas fuertemente cloradas, variaciones de pH,

etc. no son totalmente recuperables con la técnica MF, a diferencia del NMP que provee en primera instancia un medio de preenriquecimiento no selectivo, en el cual las células dañadas pueden recuperarse por sí solas antes de ser sembradas en un medio selectivo a temperaturas altas (Bissonette et al. 1975).

Eligiendo algunas muestras de estaciones al azar se realizó una comparación de las dos técnicas (NMP) y (MF) (Tabla 1). La mayoría de los valores obtenidos por NMP superan los de MF, lo que es corroborado por varios trabajos realizados, (Kabler) 1954; (Thomas y Woodward) 1955; (Davenport et al.) 1976; (Bissonette et al.) 1977; y (Stuart et al.) 1977. Realizar una técnica de prefiltración de la muestra de agua de mar, no es recomendable ya que en el presente trabajo se comprobó que existía una pérdida del contenido inicial de bacterias existiendo un porcentaje de retención en los filtros entre un 10-30% (Tabla 2.). Además la literatura indica que existen experiencias que han demostrado una pérdida inicial de bacterias la cual oscila entre 20-80% (Castillo, 1981; Geldreich, 1979).

Por todos los inconvenientes anteriormente expuestos se prefirió utilizar la técnica del NMP,

que es una útil herramienta para la evaluación de todo tipo de aguas, especialmente aquellas fuertemente contaminadas.

Los valores del NMP/100 ml de CT y CF presentan variaciones entre un muestreo y otro, en diferentes estaciones lo que puede deberse a factores como hora y lugar de colección de la muestra, estado de mareas, duración y fuerza de los vientos, etc. (Moore, 1959) Así es más adecuado expresar los resultados como media geométrica.

Los valores expresados como medias geométricas de coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) (Tabla 3) indican que las estaciones SM, CB, CP y MB están altamente contaminadas superando la norma nacional de 1000 CF/100 ml durante los tres períodos de estudio. Solamente PA y R presentan niveles de contaminación bajo la norma nacional durante todo el estudio. Sin embargo, se observa un incremento de sus valores en el tiempo lo que podría indicar que en el futuro otros lugares recreacionales superarán la norma nacional.

La relación entre indicadores y microorganismos patógenos, y la implicancia de éstos en riesgos de salud pública hace indispensable el establecimiento de barreras sanitarias en beneficio de la población y la actividad recreacional.

## REFERENCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. (1975). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 14th. ed. American Public Health Association, Inc., New York.
- BISSONNETTE, G.K., J.J. EZESKI, G.A. McFETERS, and D.G. STUART. (1975). Influence of environmental stress on enumeration of indicator bacteria from natural waters. *Appl. Microbiol.* 29: 186-194.
- BISSONNETTE, G.K., J.J. JEZESKI, G.A. McFETERS, and D.G. STUART. (1977). Evaluation of recovery methods to detect coliforms in water. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 590-595.
- CABELLI, V.J., A.P. DUFOUR, M.A. LEVIN, and P.W. HABERMAN. (1976). The impact of pollution on marine bathing beaches: An epidemiological study. *Limnol. and Oceanogr. Spec. Symp.* 2: 424.
- CAMPOS, V. (1983). Microbiología y Medio Ambiente. Los microorganismos como indicadores de contaminación. *BoL Micol.* 1: 185-189
- CASTILLO, G. (1981). Técnica de Filtración por membranas en Microbiología de Aguas. En: "Curso sobre Técnicas de Filtración por Membranas Aplicadas al Control Microbiológico de Aguas". Depto. de Ingeniería Civil y Sección Ingeniería Sanitaria. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile, Santiago.
- COLWELL, R. R. (1978). Bacteria and Viruses Indicators of Environmental Changes occurring in estuaries. *Environ. International*, 1: 223.
- DAVENPORT, C.V., E.B. SPARROW, and R.C. GORDON. (1976). Fecal indicator bacteria persistence under natural conditions in an ice covered river. *Appl. Environ. Microbiol.* 32: 527-536.
- DUTKA, B.J. (1978). Some of the current developments in bacteriological indicators systems. International Seminar on Microbiological Indicators of Pollution and health hazards. Sao Paulo.
- GELDREICH, E.E. (1970). Applying bacteriological parameters to recreational water quality. *J. Am. Water Works Assoc.* 62: 113-119.

- GELDREICH, E.E. (1972). Waterborne pathogens. In: *Water Pollution Microbiology* (ed. R. Mitchell), pp. 207. John Wiley and Sons, New York.
- GELDREICH, E.E. (1976). Fecal Coliform and Fecal Streptococcus density relationships in waste discharges and receiving waters, *CRC. Crit. Rev. Environ.* 6: 349.
- GELDREICH, E.E. (1977). *Microbiology of Water. J. Water pollut. Contr. Fed.* pp. 1222-1244.
- GELDREICH, E.E. (1978). *Microbiology of Water. J. Water Pollut Contr. Fed.* pp. 1319-1342.
- GELDREICH, E.E. (1979). Membrane Filter Techniques for Total Coliform and Fecal Coliform pollution in Water. In: *Membrana Filter Techniques*. Cap. 3 (ed. B.J. Dutka), CCIW, Canadá.
- KABLER, P. (1954). *Water Examinations by Membrane Filter and Most Probable Number Procedures.* Am. J. Pub. Health 44: 379-386.
- MOORE, B. (1959). Sewage Contamination of coastal bathing waters in England and Wales. *J. Hg.* 57: 435.
- N.Ch. 13333 of 78. (1978) *Requisitos de la Calidad de Aguas para diferentes usos.* Inst. Nacional de Normalización.
- STEVENSON, A.H. (1953). Studies of bathing water quality and health. *Am. Jour. Health.* 43: 529-538.
- STUART, D.G., G.A. McFETERS, and J.E. SCHILLINGER. (1977). Membrane filter technique for the quantification of stressed fecal coliforms in the aquatic environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 34: 42-46.
- THOMAS, H.A. and R.L. WOODWARD. (1955). Estimation of coliform density by the Membrane Filter and the Fermentation Tube Methods. *Am. J. Pub. Health* 45: 1431-1437.