

Higiene y Sanidad Ambiental, 9: 492-504 (2009)

Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del Complejo Turístico “Las Terrazas”, Pinar del Río (Cuba)

J. LARREA, M. ROJAS, M. HEYDRICH, B. ROMEU, N. ROJAS y D. LUGO

Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 25. N° 455 entre J e I Velado. Ciudad de La Habana. Cuba. Telf. 8329241, Fax: 8321321, Correo-e: mayra@fbio.uh.cu

RESUMEN

La contaminación de los ecosistemas acuáticos es una problemática que se presenta en la actualidad, debido al constante vertimiento de desechos domésticos e industriales sin tratamiento previo o pobremente tratados, que constituyen una fuente de deterioro del medio ambiente. El presente trabajo tuvo como objetivos evaluar la calidad microbiológica de las aguas del Complejo Turístico “Las Terrazas” (Cuba) y determinar la relación *Escherichia coli*/coliformes fecales en estas aguas, así como comparar con la calidad microbiológica del río Almendares. Los resultados obtenidos reflejaron que los ecosistemas acuáticos del Complejo Turístico “Las Terrazas” no presentan un alto grado de contaminación, encontrándose los valores de *E. coli* dentro de los límites máximos permisibles por las normas cubanas para aguas de uso recreativo e irrigación, sin embargo los valores de coliformes fecales fueron ligeramente superiores a lo establecido por las normas, pero muy por debajo de los encontrados en el río Almendares. Se evidenció la influencia de las precipitaciones y el incremento en la afluencia de público en el aumento de las concentraciones de coliformes fecales y *E. coli* en el Complejo Turístico “Las Terrazas”, y no existe correlación lineal entre la concentración de estos indicadores de contaminación fecal, siendo el valor medio de la relación *E. coli*/coliformes fecales de 0.46, lo cual es otra evidencia de que los ecosistemas de Las Terrazas no presenta un alto grado de contaminación.

Palabras clave: Complejo Turístico Las Terrazas, coliformes fecales, *E. coli*, agua.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de los cuerpos naturales de agua es una problemática que se presenta en la actualidad, principalmente en los países en vías de desarrollo, debido al constante vertimiento de aguas residuales de origen doméstico e industrial sin tratamiento previo o pobremente tratados, y que constituyen una fuente constante de deterioro del medio ambiente.

Con el objetivo de determinar el grado de contaminación en estos ecosistemas, se utilizan las bacterias indicadoras de contaminación fecal, y entre las más utilizadas se encuentran los coliformes totales y fecales; aunque la abundancia de *Escherichia coli* se ha asociado más al riesgo sanitario en comparación

con otros coliformes (Fewtrell y Bartram, 2001; Prats *et al.*, 2008).

Los métodos tradicionales para la detección de bacterias coliformes incluyen la técnica de fermentación en tubos múltiples (FTM) y la técnica de filtración por membrana (FM), que requieren del uso de medios de cultivos selectivos como el Agar Lactosa Tergitol con TTC y m-Endo-Type (APHA, 1998). Actualmente en la técnica de FM se utilizan nuevos medios selectivos que incluyen sustratos cromogénicos y fluorogénicos que son hidrolizados por la enzima β -D-glucuronidasa, la cual está presente en el 95% de las cepas de *E. coli* (Manafi, 2000), permitiendo una mayor rapidez y confiabilidad en la cuantificación de esta bacteria.

Tabla 1. Estaciones de muestreo del Complejo Turístico "Las Terrazas"

<i>Estaciones de muestreo</i>	<i>Descripción</i>	<i>Latitud</i>	<i>Longitud</i>
1	Río San Juan antes de la presa	No Determinado	No Determinado
2	Presa San Juan	No Determinado	No Determinado
3	Presa Comunidad	22°50'46.01"	82°56'27.09"
4	Baños del río San Juan	22°49'24.02"	82°55'35.08"
5	Arroyo Nortey	22°50'54.09"	82°57'29.01"
6	Arroyo Forestal I	22°50'46.03"	82°59'03.07"
7	Arroyo Masson	22°50'48.08"	82°58'26.09"
8	Arroyo Forestal II	No Determinado	No Determinado
9	Baños del río Bayate	22°50'22.04"	82°59'24.04"
10	Río Bayate antes de los Baños	22°50'14.00"	82°59'26.05"

Actualmente en Cuba existe un marcado interés por el rescate y la preservación de los ecosistemas acuáticos para el mejoramiento de la calidad ambiental. Por esta razón, se han realizado numerosos estudios en el río Almendares, en la Ciudad de La Habana (Prats, 2006; Romeu, 2007; Chiroles *et al.*, 2007) para evaluar la calidad de sus aguas y tomar medidas que permitan proteger la salud de la población que habita en sus márgenes, así como

Sierra del Rosario (Reserva de la Biosfera) y que en este lugar se desarrolla el turismo ecológico, resultaría de gran importancia realizar estudios microbiológicos que permitan evaluar la calidad de las aguas de esta zona ubicada en el occidente de Cuba y comparar con los resultados obtenidos en el río Almendares; lo que permitiría también avalar la factibilidad del programa de desarrollo sostenible que se lleva a cabo en la comunidad de las Terrazas.

Tabla 2. Estaciones de muestreo Río Almendares

<i>Estaciones de muestreo</i>	<i>Descripción</i>	<i>Latitud</i>	<i>Longitud</i>
A	Río Cristal	23°01'59.99"	82°24'03.77"
D	Elevados 100 y Boyeros	23°04'18.96"	82°24'04.78"
E	Puentes Grandes	23°05'59.46"	82°24'28.64"
G	Puente de Piedra	23°06'29.83"	82°24'25.04"
H	Puente calle 23	23°07'07.05"	82°24'32.57"
I	Puente de Hierro	23°07'36.55"	82°24'40.22"

la de los visitantes que realizan actividades recreativas en sus áreas aledañas.

Sin embargo, este tipo de estudios no se ha llevado a cabo en el sector hidromineral Las Terrazas en la provincia de Pinar del Río. Hasta el presente, en la literatura consultada solamente aparecen estudios hidro-geográficos realizados en esta zona por Peña (2000). Por lo que, teniendo en cuenta que el sector hidromineral Las Terrazas se encuentra ubicado en la

Teniendo en cuenta estos aspectos, los objetivos de este trabajo son: evaluar la calidad microbiológica de las aguas del Complejo Turístico "Las Terrazas" y determinar la relación *Escherichia coli*/coliformes fecales en estas aguas, así como comparar con la calidad microbiológica del río Almendares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ecosistemas fluviales muestreados

Los muestreos se efectuaron en los meses de Marzo (época poco lluviosa), Mayo y Junio (época lluviosa) del 2006, en los ecosistemas fluviales de Las Terrazas y el río Almendares. Estos meses fueron escogidos para establecer comparaciones entre ellos en cuanto a la influencia de las lluvias y de la afluencia de público durante el período de baño (Mayo y Junio) sobre los conteos de *Escherichia coli* y coliformes fecales en Las Terrazas.

Para esto se realizaron aislamientos en los ecosistemas acuáticos del Complejo Turístico “Las Terrazas” y se cuantificaron las bacterias coliformes fecales y *E. coli*. Además se realizaron aislamientos

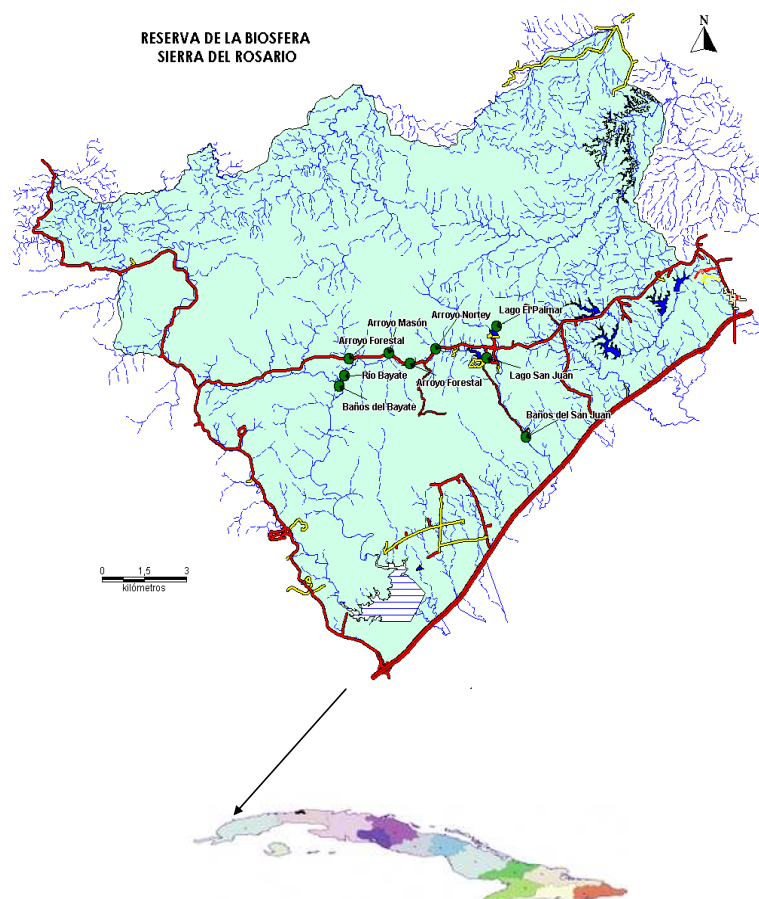


Figura 1. Localización de las estaciones de muestreo del Complejo Turístico “Las Terrazas”, Sierra del Rosario, Pinar del Río.

en el río Almendares y la cuantificación de coliformes fecales para establecer comparaciones entre los ecosistemas de Las Terrazas y el Almendares, y se determinaron los parámetros físico-químicos en cada una de las estaciones del Complejo Turístico “Las Terrazas”.

Toma de muestras

Complejo Turístico Las Terrazas

Las muestras se colectaron a partir de 10 estaciones de muestreo (Figura 1), las cuales se relacionan en la Tabla 1. Las colectas se realizaron en horas de la mañana y se trasladaron al laboratorio en pomos plásticos estériles de 2L que se colocaron en una nevera refrigerada. Las mismas se procesaron en un período de tiempo menor a las 12 horas.

Río Almendares

Las muestras se colectaron a partir de estaciones de muestreo previamente establecidas (Prats, 2006) (Figura 2). En la Tabla 2 se relacionan las 6 estaciones de muestreo evaluadas en este estudio, así como la localización de las mismas. Las colectas se realizaron en horas de la mañana y se trasladaron al laboratorio en pomos plásticos estériles de 2 L que se colocaron en una nevera refrigerada. Las mismas se procesaron en un período de tiempo menor a las 4 horas.

Determinación de los parámetros físico-químicos

La medición de los parámetros físico-químicos en el Complejo Turístico “Las Terrazas” se realizó *in situ* con el uso del multímetro (Multi 340 i/SET). En todos los puntos de muestreo se determinó la temperatura, pH, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto.

Análisis microbiológico

Filtración por Membrana (FM)

La concentración de bacterias coliformes se enumeró mediante el empleo de la técnica de FM que consiste en la filtración de las muestras colectadas (o diluciones de las mismas) a través de membranas estériles de nitrato de celulosa (Sartorius, con un tamaño del poro de 0.45 μm y 47mm de diámetro) utilizando un aparato de filtración (Sartorius). Las membranas se colocaron en placas de 45mm con medio agar lactosa con Tergitol (concentración final 0.095% peso/volumen) y cloruro de trifeníl 2,3,5-tetrazolio (TTC) (concentración final 0.024% peso/volumen) según AFNOR (2001). Este medio de cultivo basa su acción en la degradación de la lactosa a ácido, siendo detectado con el indicador de pH azul de bromotimol. Este indicador cambia de color el medio bajo la membrana de verde a amarillo. La selectividad del medio se logra por el uso del heptadecilsulfato de sodio (Tergitol 7) y el cloruro de trifeníl 2,3,5 tetrazolio (TTC) para inhibir a la mayoría de las bacterias Gram positivas. El TTC es también parte del sistema diferencial. La reducción del TTC por las bacterias lactosa-negativas produce

colonias rojo oscuro. *E. coli* lactosa-positiva y las bacterias coliformes reducen el TTC débilmente; por lo que sus colonias son amarillo-naranja (Rompré *et al.*, 2002). Las colonias amarillo-naranja con un halo amarillo alrededor se consideraran colonias del grupo de bacterias coliformes fecales después de 24h a 44°C. El conteo se expresa como unidades

formadoras de colonias (UFC) por 100 mL de muestra.

Escherichia coli también se enumeró mediante el conteo en placa después de la filtración por membrana o por plaqueo directo, dependiendo de su abundancia en la muestra. Para su cuantificación se empleó el medio de cultivo cromogénico Agar Chromocult (Merck, Darmstadt, Germany). Este medio es específico para *E. coli* y basa su acción en la detección de la actividad β -D-glucuronidasa. Además puede ser empleado para la cuantificación simultánea de bacterias coliformes totales y *E. coli* en la misma placa. Las colonias azul oscuro o violeta que se obtienen por la hidrólisis del sustrato X-GLUC (5-bromo-4cloro-3indol- β -d-glucurónico) incluido en el medio, el cual es hidrolizado por la enzima β -D-glucuronidasa, después de 24h de incubación a 37°C se consideran colonias de *E. coli*. Los resultados se expresan como UFC por 100 mL de muestra.

Análisis estadístico

Para verificar la distribución normal y la homogeneidad de varianza de los datos de los muestreos en Las Terrazas y en el Almendares, se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de Cochran-Bartlett respectivamente a los datos transformados según $\log(x)$, a los cuales se les aplicó la prueba de Tukey HSD para verificar si existían diferencias significativas entre los conteos de *E. coli* y coliformes fecales y entre los conteos realizados en los meses de Marzo, Mayo y Junio en Las Terrazas. Además esta misma prueba fue utilizada para verificar si existían diferencias significativas entre los datos de coliformes fecales en Las Terrazas y en el río Almendares. Se calculó también el coeficiente de correlación de Pearson (r) y el coeficiente de determinación (r^2) para evaluar el grado de linealidad entre los datos de *E. coli* y coliformes fecales en Las Terrazas. Para los cálculos estadísticos se utilizó el paquete estadístico Statistica 6.0 para Windows.

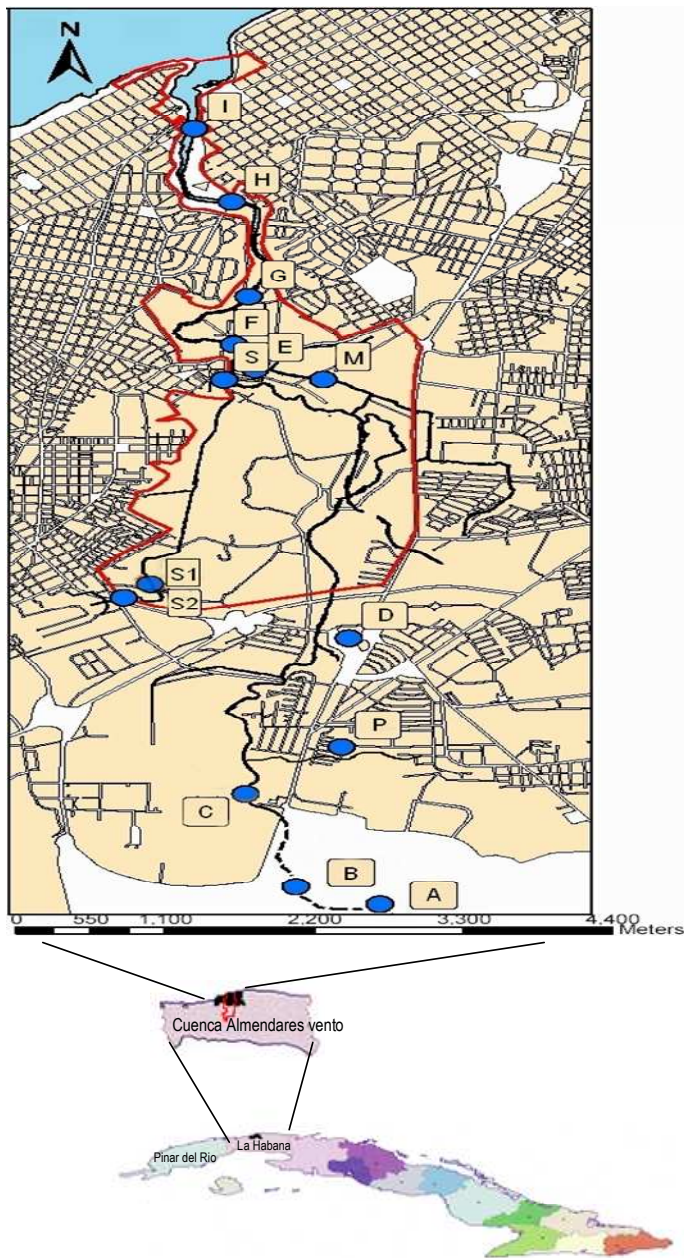


Figura 2. Localización de las estaciones de muestreo del río Almendares, Cuenca Almendares-Vento, Ciudad de La Habana.

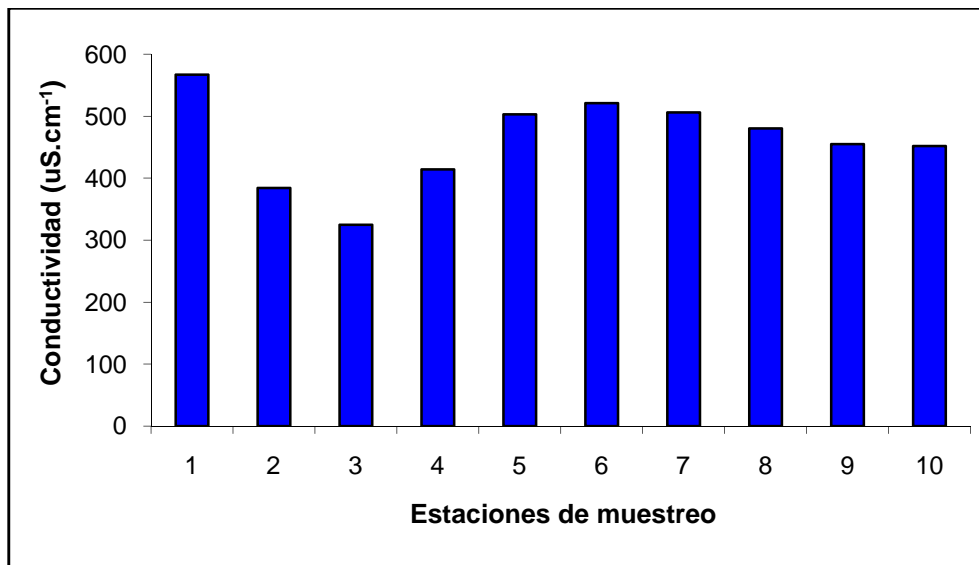


Figura 3. Valores de conductividad en las estaciones de muestreo de Las Terrazas

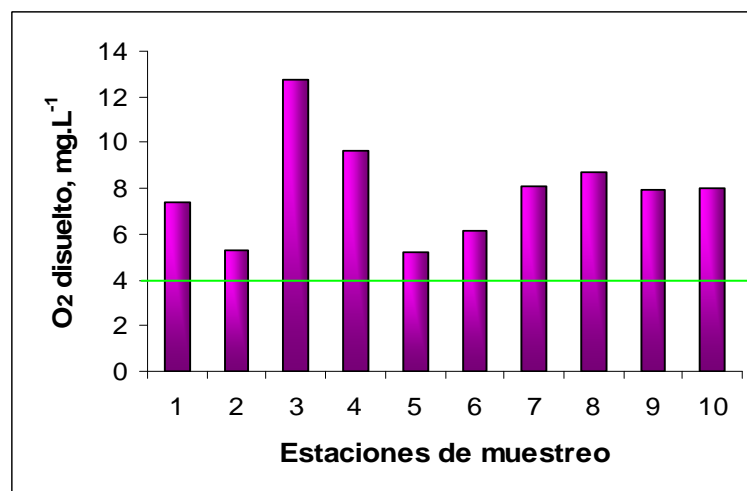


Figura 4. Valores de oxígeno disuelto en las estaciones de muestreo de Las Terrazas

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros físico-químicos del agua en Las Terrazas

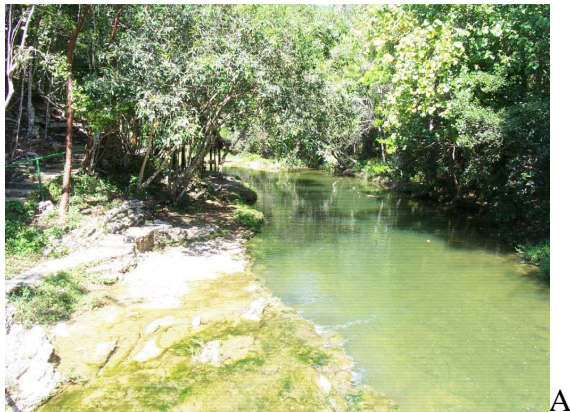
La medición de los parámetros físico-químicos evidenció que los valores de temperatura oscilaron entre los 24.7-26.3 °C por lo que las aguas se clasifican como aguas hipotermales según la clasificación de Castany (1971), mientras que el pH estuvo en el rango entre 7.84-8.08 lo cual se

encuentra dentro de los límites establecidos por las normas cubanas (6.1-8.9) para aguas de uso recreativo (NC 22, 1999). Los valores de conductividad no sobrepasaron los 600 $\mu\text{S.cm}^{-1}$ (Figura 3), aunque para este parámetro no existe un valor límite porque el mismo depende del sitio de estudio. El oxígeno disuelto estuvo entre los 5.18-12.72 mg.L^{-1} lo cual se encuentra por encima del límite mínimo establecido por las normas cubanas (NC, 1999) (Figura 4).

Si comparamos estos resultados con los obtenidos en el río Almendares por Prats (2006)

Tabla 3. Comparación entre los parámetros físico-químicos del río Almendares y de Las Terrazas

Parámetros físico-químicos	Río Almendares (Prats, 2006)	Las Terrazas
Temperatura (°C)	26.0-27.4	24.7-26.3
pH	7.54-7.84	7.84-8.08
Conductividad ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	611-2680	325-567
O ₂ (mg.L ⁻¹)	1.0-3.95	5.18-12.72

**Figura 5. Estación Río San Juan en Las Terrazas (A) Río Almendares (B).**

(Tabla 3) podemos observar que en cuanto a la temperatura, las aguas de Las Terrazas son menos cálidas que las del río Almendares, aunque en ambos casos las aguas se clasifican como aguas hipotermales ($T= 20\text{-}35^{\circ}\text{C}$) según la clasificación de Castany (1971). En cuanto a los valores de pH aunque en ambos casos estos se encuentran dentro de lo establecido por las normas cubanas para aguas de uso recreativo, los valores de pH en Las

Terrazas son mayores que en el Almendares, lo cual puede estar dado porque las aguas del sector hidromineral de igual nombre, son representativas de la zona de saturación de los macizos carbonatados (Peña, 2000), presentando gran cantidad de carbonato de calcio lo que provoca que el pH se torne ligeramente alcalino.

Los valores de conductividad son superiores en el río Almendares, lo que puede estar dado por la gran contaminación que presenta este ecosistema, además que dentro de las estaciones de muestreo de este río se incluyen dos estaciones cercanas a la desembocadura, en los cuales se produce cierta mezcla con el agua de mar. Por el contrario, en Las Terrazas hay menores valores de conductividad, no se muestreó ninguna estación cercana a la desembocadura y a la vez es otro indicador físico-químico de menor grado de contaminación.

El oxígeno disuelto en el agua es un indicador de su calidad, ya que la presencia de esta especie química puede sustentar la vida de los macroorganismos (plantas y animales) y algunos microorganismos aerobios obligados que desempeñan un papel fundamental en el ecosistema. Los valores de oxígeno disuelto obtenidos en Las Terrazas superaron los 4 mg.L⁻¹ y fueron muy superiores a los obtenidos en el río Almendares, lo que indica el buen estado de estos ecosistemas (Figura 5A), en los cuales las aguas son transparentes, tienen un buen olor y hay presencia de abundantes peces a diferencia del río Almendares cuyas aguas muestran un gran deterioro de su calidad como se muestra en la Figura 5B.

Por otra parte, el establecimiento de estas estaciones de muestreo resulta de gran importancia para trabajos futuros, ya sean microbiológicos o de otra índole, en los ecosistemas de Las Terrazas ya que son pocos los estudios realizados en esta Reserva de la Biosfera.

Calidad microbiológica de los ecosistemas acuáticos de Las Terrazas

En la Figura 6 se representan las medias de los logaritmos de las concentraciones de coliformes

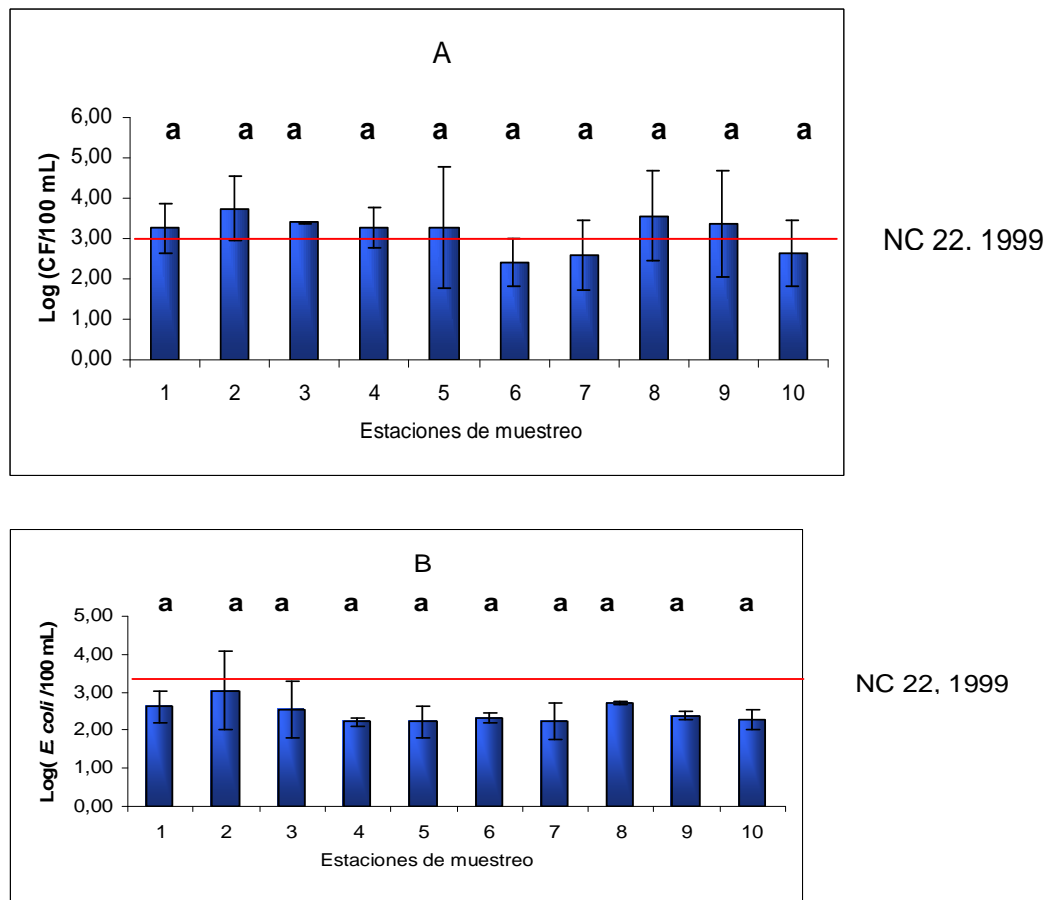


Figura 6. Media de los logaritmos de las concentraciones de coliformes fecales (A) y *E. coli* (B) en Las Terrazas. Letras comunes indican la no existencia de diferencias significativas para la prueba Tukey ($p > 0.05$). Las barras de error indican la desviación estándar de 3 réplicas.

fecales y de *E. coli* obtenidos en las estaciones de muestreo de Las Terrazas.

Como puede apreciarse, si se comparan los valores de coliformes fecales obtenidos con los establecidos por la norma cubana (NC 22, 1999), la mayoría de las estaciones de muestreo se encuentran ligeramente por encima de los valores máximos permisibles para aguas de uso recreacional (Figura 6A), sin embargo los valores de *E. coli*, el coliforme fecal más abundante, se encuentran dentro de lo establecido por las normas (Figura 6B).

Esta diferencia está dada porque dentro del grupo de bacterias coliformes fecales no solo se encuentra *Escherichia coli*, sino que también forman parte de este grupo, especies de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* (Easton, 1998; Marchand, 2002), los cuales se encuentran en grandes cantidades en el ambiente (fuentes de agua, vegetación y suelos), no están asociados necesariamente con la contaminación fecal y no representan un riesgo evidente para la salud (Allen, 1996). Sin embargo, las normas cubanas expresan los valores límites de contaminación en función de los

coliformes fecales sin tener en cuenta que algunos de sus miembros no están relacionados con la contaminación fecal; cuestión esta que no es única de nuestro país, pues la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 2002) plantea que los coliformes fecales son los más comúnmente utilizados en la evaluación de la calidad de las aguas. Fewtrell y Bartram (2001) plantearon que la abundancia de *E. coli* estaba más asociada al riesgo sanitario en comparación con otros coliformes, por tanto, si tenemos en cuenta que esta bacteria se encuentra en grandes cantidades en las heces de animales de sangre caliente y el hombre y que no se multiplica en ambientes acuáticos, *E. coli* sería más representativa de la contaminación fecal en este estudio que los coliformes fecales.

Numerosos autores plantean que en los trópicos, las condiciones ambientales de altas temperaturas y altos niveles de nutrientes en los ecosistemas acuáticos, favorecen la proliferación de *E. coli*. Por ejemplo en aguas de Hawaii (Fujioka y Shizumura, 1983), Puerto Rico (Hazen y Toranzos, 1990; Toranzos y McFeters, 1997) y Sierra Leona (Wright,

1982), se han encontrado altas concentraciones de *E. coli*, en ausencia de fuentes fecales conocidas. Sin embargo, Byamukama *et al.* (2005) encontraron que *E. coli* era el mejor indicador de contaminación fecal en Uganda (país tropical africano), ya que esta bacteria no se aisló con frecuencia en aguas y en suelos, lo cual sugiere que no es un miembro autóctono de los ecosistemas estudiados. Este planteamiento apoya los resultados del presente estudio en el cual *E. coli* se obtuvo en bajas concentraciones en las aguas de Las Terrazas, siendo representativa de la calidad microbiológica de estas aguas.

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los valores de *E. coli* cuantificados en las diferentes estaciones de muestreo en Las Terrazas y entre los valores de coliformes fecales enumerados en estas estaciones se realizó la prueba de Tukey ($p < 0.05$), observándose que no existían diferencias significativas entre los ecosistemas muestreados para *E. coli* y coliformes fecales, por lo que las diez estaciones de muestreo presentan una calidad microbiológica de agua similar.

En el río Almendares la media del logaritmo de la concentración de coliformes fecales fue de 4.79. Al realizar la comparación entre los resultados del río Almendares y los resultados obtenidos en Las Terrazas a través de la prueba Tukey, se puede apreciar que existen diferencias significativas ($p = 0.000115$) entre los valores de coliformes fecales cuantificados en estos ecosistemas (Figura 7), por lo que se puede plantear que las aguas de los ecosistemas acuáticos del Complejo Turístico "Las Terrazas" presentan un bajo nivel de coliformes fecales y que la presencia de estos en estas aguas puede deberse al aporte de materia fecal de animales de vida salvaje, por ejemplo las aves, de acuerdo a lo planteado por Jones y Obiri-Danso (1999) en estudios realizados en playas de Reino Unido o debido al arrastre de áreas de suelos adyacentes a las aguas de los ríos según lo planteado por Wyer *et al.* (1998) y Kay *et al.* (1999a) en estudios realizados en Reino Unido. Sin embargo, en el río Almendares, la causa principal de la contaminación la constituye el constante vertimiento de aguas residuales de origen doméstico e industrial de acuerdo a lo planteado por Prats (2006) y Romeu (2007) quienes identificaron las principales fuentes de contaminación en este ecosistema.

Estos resultados son un indicio de la buena calidad microbiológica de las aguas de Las Terrazas y tienen gran importancia debido a que este tipo de estudio permite completar la información que existe sobre estos ecosistemas localizados en la Sierra del Rosario que está declarada Reserva de la Biosfera, y conjuntamente con la caracterización hidrogeográfica realizada por Peña (2000) constituye un estudio integral de los mismos, lo que permite analizar el impacto que tiene el hombre sobre estos ecosistemas y avalar las ventajas del proyecto de desarrollo sosten-

nible que se lleva a cabo en este complejo turístico. Además, con estos resultados se está brindando un diagnóstico predictivo del estado de los ecosistemas del Complejo Turístico de Las Terrazas para impedir que lleguen a las condiciones de deterioro del río Almendares

Comparación entre las concentraciones de *E. coli* y coliformes fecales obtenidas en Las Terrazas

Para determinar si existían diferencias entre las medias de los valores logarítmicos de las concentraciones de *E. coli* y coliformes fecales, obtenidos durante las campañas de Marzo, Mayo y

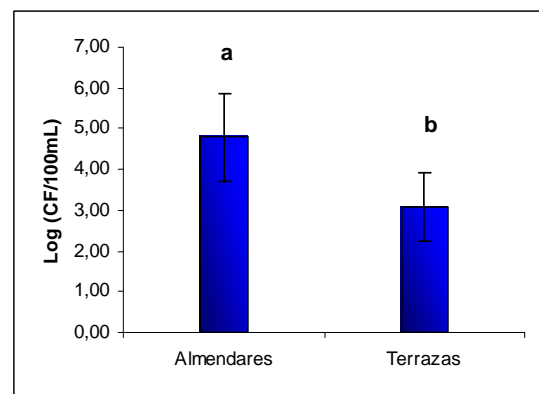


Figura 7. Media de los logaritmos de las concentraciones de coliformes fecales en el río Almendares y en Las Terrazas. Letras no comunes indican diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.05$). Las barras de error indican la desviación estándar de 3 réplicas.

Junio en Las Terrazas, los datos se analizaron a través de la prueba Tukey.

Como se muestra en la Figura 8, no existen diferencias significativas entre los meses de Mayo y Junio para los conteos de *E. coli*, sin embargo se encontraron diferencias significativas entre los meses de Mayo y Marzo ($p = 0.001705$) y los meses de Junio y Marzo ($p = 0.028826$), siendo las concentraciones de *E. coli* en Mayo y Junio mayores que las encontradas en Marzo.

Los meses de Mayo y Junio se caracterizaron por ser más lluviosos que el mes de Marzo, fundamentalmente el mes de Junio, lo cual es de esperar debido a que estos dos meses se encuentran dentro del período lluvioso a diferencia del mes de Marzo; por lo que las diferencias encontradas pueden deberse a los fenómenos de arrastre y escurrimiento de suelos adyacentes, particularmente de los suelos empleados para la cría de animales de granja (Wyer *et al.*, 1998; Kay *et al.*, 1999a). Estos fenómenos se producen durante los períodos lluviosos, pudiendo ser

arrastradas hacia las aguas la materia fecal presente en los suelos procedente de animales de vida salvaje o de animales de corral. Por otra parte estos meses se encuentran dentro de la temporada de baño en la cual la afluencia de público es mayor, por lo que las diferencias encontradas también pueden estar dadas por las contribuciones de los bañistas durante este período, de acuerdo a los planteamientos de Kay *et al.* (1999b), Obiri-Danso y Jones, (1999) y Obiri-Danso *et al.* (1999) en estudios realizados durante la temporada de baño en costas de Reino Unido.

En el caso de los coliformes fecales (Figura 8) se encontraron diferencias significativas ($p = 0.001412$) entre los meses de Marzo y Junio, observándose que la concentración de coliformes

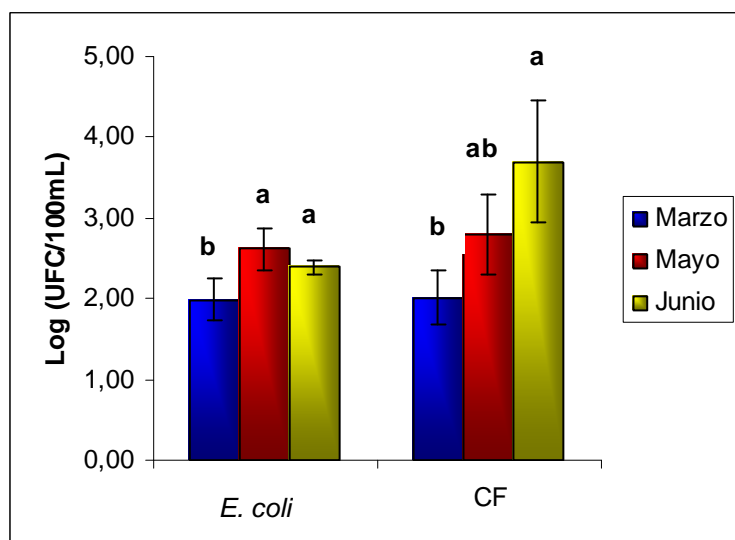


Figura 8. Media de los logaritmos de las concentraciones de *E. coli* y coliformes fecales (CF) en Las Terrazas. Letras no comunes indican diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.05$). Las barras de error indican la desviación estándar de 3 réplicas.

fecales aumentaba con el aumento significativo de las precipitaciones, teniendo en cuenta que de los tres meses muestreados Junio fue el más lluvioso.

Este resultado está en correspondencia con lo informado por Crowther *et al.* (2001) en la costa Fylde, Reino Unido, quienes encontraron que la concentración de coliformes fecales aumentaba después de las lluvias; sin embargo, son contrarios a los obtenidos por Davis *et al.* (2005) en estudios realizados en el Lago Cañón, California, donde la concentración de coliformes fecales disminuía después de las precipitaciones.

Estas diferencias encontradas, pueden deberse como ya se había expresado, a que algunas bacterias del grupo de coliformes fecales no tienen origen fecal

(USEPA, 1986) y se encuentran en altas concentraciones en el suelo; pudiendo llegar a las aguas e incrementar su concentración, debido a los procesos de drenaje y arrastre del suelo que se producen durante las precipitaciones (Wyer *et al.*, 1998; Kay *et al.*, 1999a).

Si se comparan estos resultados con los obtenidos en el río Almendares por Prats (2006) donde las constantes descargas de aguas residuales de origen doméstico e industrial eran el factor fundamental que contribuía a la contaminación del río, se puede plantear que en Las Terrazas no ocurre así ya que no existen industrias que produzcan grandes cantidades de residuales. En estos ecosistemas las precipitaciones constituyen un factor determinante, que contribuye al aumento de las concentraciones de coliformes fecales y *E. coli*, debido a los fenómenos de arrastre y escurrimiento del suelo que propician no solo la entrada de los coliformes que habitan en el suelo, sino también de aquellos procedentes de las deposiciones de materia fecal de animales de vida salvaje y animales de corral.

Relación *E. coli*/coliformes fecales en Las Terrazas

Escherichia coli representa un subgrupo dentro de los coliformes fecales o termotolerantes. Esta bacteria se encuentra en grandes números en los intestinos de los animales de sangre caliente y está principalmente asociada a la contaminación fecal (Rompré *et al.*, 2002; Kloot *et al.*, 2006). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) propuso establecer como base de calidad de agua un nuevo criterio para *E. coli* (63% de la concentración de los coliformes termotolerantes) para proveer niveles equivalentes de protección para patógenos presentes en las aguas (USEPA, 2002). Esta agencia sugiere además que la concentración equivalente de *E. coli* puede estimarse aplicando el factor de conversión (proporción *E. coli*/Coliformes fecales) 0.63 a la concentración de coliformes fecales.

Sin embargo, este valor se deriva de estudios en los que *E. coli* se enumeró con agar m-TEC, un método basado en el cultivo que requiere elevadas temperaturas (44.5°C), las cuales pueden ser letales para las bacterias *E. coli* estresadas (Hamilton *et al.*, 2005).

Los medios específicos que se basan en la detección de la actividad enzimática (incluyen sustratos cromogénicos o fluorogénicos que permiten la detección de la enzima β -D-glucuronidasa) cada

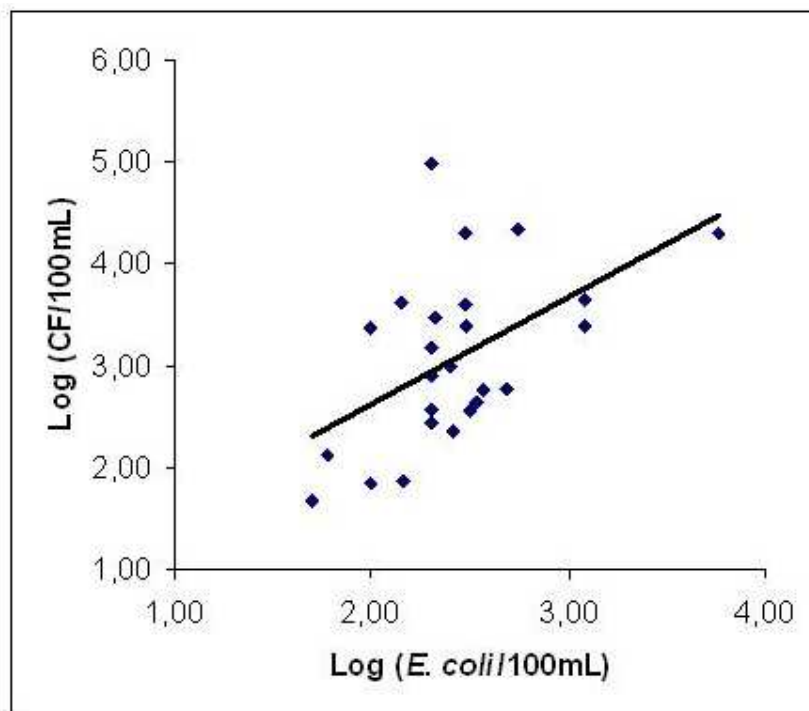


Figura 9. Regresión lineal log-log entre conteos de *E. coli* en medio Agar Chromocult y conteos de coliformes fecales en medio Agar Lactosa Tergitol con TTC en Las Terrazas. $\text{Log (CF/100mL)} = 1,0457 \text{ Log (} E. coli/100\text{mL)} + 0,5441$ ($r^2 = 0,2778$, $n = 50$, $p < 0,05$).

vez se utilizan más en comparación con los medios tradicionales, debido a que proveen una temperatura óptima para el crecimiento (35-37°C) (Leclerc *et al.*, 2001), mejorando la recuperación de los organismos estresados, por lo que se puede esperar que el aumento de microorganismos recobrados incremente el valor de conversión para *E. coli* (Hamilton *et al.*, 2005).

Es por esto que la determinación de la relación *E. coli*/CF en Las Terrazas resulta importante, pues podría permitir la estimación de la concentración de *E. coli* a partir de la concentración de coliformes fecales y además tener una noción del grado de contaminación de estos ecosistemas.

Para conocer si existía una relación lineal entre los logaritmos de las concentraciones de *E. coli* y coliformes fecales se calculó el coeficiente de correlación de Pearson para $p < 0,05$. En la Figura 9 se observa la regresión lineal entre los conteos de *E. coli* y coliformes fecales obtenidos en Las Terrazas. El coeficiente de correlación de Pearson fue de 0,4459 ($p = 0,0011$) por lo que no existe una correlación entre ambos tipos de indicadores.

Este resultado no está en correspondencia con los obtenidos por Kloot *et al.* (2006) y por García-Armisen *et al.* (2007), los cuales obtuvieron un coeficiente de correlación de 0,98 y 0,94 respectivamente

en aguas de ríos contaminados, denotando un alto grado de correlación entre los conteos de *E. coli* y coliformes fecales.

El hecho de que en nuestro estudio no exista correlación entre los conteos de ambos indicadores evidencia que los ecosistemas de Las Terrazas no presentan un alto grado de contaminación en comparación con los ecosistemas estudiados por los autores anteriores y que el origen de ambos indicadores es distinto, es decir que *E. coli* tiene un origen fecal y en el caso de los coliformes fecales dentro de los cuales se encuentra *E. coli*, también se encuentran otros coliformes que no tiene un origen fecal y que pueden encontrarse en altas concentraciones en ambientes acuáticos y en el suelo. En estudios realizados en el río Almendares, Prats (2006) informó que la mayoría de los valores de concentración de coliformes fecales y *E. coli* correlacionados, se ubicaban sobre la línea de tendencia a

concentraciones elevadas, obteniendo un coeficiente de correlación de 0,75, lo cual significa que la mayoría de los coliformes fecales eran *E. coli*, no siendo este el caso de los ecosistemas acuáticos de Las Terrazas en los cuales este indicador se encontró en bajas concentraciones.

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre la enumeración de ambos indicadores se realizó la prueba Tukey ($p < 0,05$). El análisis estadístico arrojó como resultado que existían diferencias significativas entre los conteos de *E. coli* y los conteos de coliformes fecales ($p = 0,001297$), observándose que los valores de coliformes fecales son superiores a los de *E. coli*, lo cual es un resultado lógico teniendo en cuenta que esta bacteria forma un subgrupo dentro de los coliformes fecales; por lo que la relación *E. coli*/CF debe ser menor que 1. En nuestro estudio para todos los datos colectados en Las Terrazas la media de la relación *E. coli*/CF fue de 0,46, lo cual significa que el 46% de los coliformes fecales son *E. coli*, siendo ésta otra evidencia del buen estado de estos ecosistemas acuáticos.

Este resultado está por debajo de lo informado por USEPA (2002) y por García-Armisen *et al.* (2007), los cuales obtuvieron una relación de *E. coli*/CF de 0,63 y 0,77 respectivamente. Esta diferencia puede estar dada porque la relación *E.*

coli/CF depende del sitio de estudio y además de los métodos que se apliquen para enumerar estos dos indicadores (Hamilton *et al.*, 2005).

Con respecto al sitio de estudio, Vernberg *et al.* (1996) en una investigación realizada en la costa de Carolina del Sur, en una zona altamente urbanizada y otra forestal, encontraron valores elevados en las proporciones *E. coli*/coliformes fecales en la zona altamente urbanizada y una proporción mucho menor en la zona menos urbanizada; evidenciando que la microdiversidad de bacterias coliformes era mayor en la zona situada en el área forestal (como es el caso de los ecosistemas acuáticos de Las Terrazas), donde existían un mayor número de bacterias de origen no fecal. Estos autores relacionaron la alta incidencia de *E. coli* y la baja microdiversidad, a los efectos de la urbanización, situación muy similar a la encontrada en la actualidad en el río Almendares, en el cual persisten altas concentraciones de *E. coli* debido al constante vertimiento de aguas residuales de origen doméstico e industrial.

En cuanto a los métodos aplicados para la enumeración de *E. coli* y coliformes fecales Noble *et al.* (2004a) demostraron en un estudio realizado en aguas costeras, en el cual *E. coli* se enumeró mediante el empleo del método del número más probable basado en la detección de células glucuronidasa positivas, que el promedio de *E. coli*/CF era 0.88. Sin embargo esta relación fue igual a 1 cuando los coliformes fecales se enumeraron por el método de filtración en membrana y fue igual a 0.5 cuando se utilizó el método de fermentación en tubos múltiples en la enumeración de bacterias coliformes fecales; o sea, que el método que se emplee para la enumeración de ambos indicadores influye en el valor de la relación de *E. coli*/CF.

Nuestros resultados de *E. coli*/CF estuvieron en el rango entre 0.0021-1.99, encontrándose los valores superiores a 1 en correspondencia con los informados por Noble *et al.* (2003), los cuales informaron que el promedio de la relación *E. coli*/CF se encontraba entre 1.8 y 11.66. Una posible explicación del porque se obtienen estos valores superiores a 1 podría deberse a la presencia de falsos positivos, los cuales aumentan los conteos de *E. coli*, al bajo recobrado de coliformes fecales mediante el uso del método de filtración en membrana reduciendo los conteos de coliformes fecales o a la combinación de ambos factores según lo planteado por Kloot *et al.* (2006).

En relación con la proporción de falsos positivos, Yakub *et al.* (2002) y Chao *et al.* (2004) informaron que esta proporción se encontraba en el rango de 5-10% en agua dulce mientras que Pisciotta *et al.* (2002) encontraron elevadas proporciones de falsos positivos en agua de mar. En nuestro caso la proporción de falsos positivos en Las Terrazas fue de 16%, por lo que esta podría ser la causa de los valores de *E. coli*/CF superiores a 1, aunque también

debe tenerse en cuenta que este valor podría estar influenciado por el bajo recobrado de coliformes fecales en el medio Agar Lactosa Tergitol con TTC mediante la técnica de filtración en membrana, debido a la presencia de coliformes estresados viables pero no cultivables, o a la combinación de ambos factores.

CONCLUSIONES

Los ecosistemas acuáticos del Complejo Turístico Las Terrazas no presentan un alto grado de contaminación, los valores de *E. coli* se encontraron dentro de los límites máximos permisibles por las normas cubanas para aguas de uso recreativo e irrigación, sin embargo los valores de coliformes fecales fueron ligeramente superiores a lo establecido por las normas.

Se evidenció el aumento de las concentraciones de coliformes fecales y *E. coli* en el Complejo Turístico "Las Terrazas" como consecuencia de la influencia de las precipitaciones y el incremento en la afluencia de público.

No existe correlación lineal entre la concentración de *E. coli* y coliformes fecales en Las Terrazas siendo el valor medio de la relación *E. coli*/coliformes fecales de 0.46, lo cual es una evidencia de que los ecosistemas de Las Terrazas no presenta un alto grado de contaminación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Allen, M. (1996): La importancia para la Salud Pública de los indicadores bacterianos que se encuentran en el agua potable. Reunión sobre la calidad del Agua Potable. CEPIS. OPS. OMS. Lima, Perú.
2. APHA, AWWA, AEF, (1998): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edn. Washington, DC.
3. AFNOR - Association Française de Normalisation- (2001): Qualité de l'eau. Analyses biochimiques et biologiques – Analyses microbiologiques. Tome 4. Agence Française de Normalisation, Paris, France.
4. Byamukama, D., Mach, R. L., Kansime, F., Manafi, M. and Farnleitner, A.H. (2005): Discrimination Efficacy of Fecal Pollution Detection in Different Aquatic Habitats of a High.Altitude Tropical Country, using presumptive coliforms, *Escherichia coli*, and *Clostridium perfringens* spores. *Appl. Environ. Microbiol* 71(1): 65-71.
5. Castany, G. (1971). Tratado Práctico de las Aguas Subterráneas. Ediciones Omega, S.A. Barcelona.
6. Chao, K., Chao, C. and Chao, W. (2004): Evaluation of Colilert 18 for detection of coliforms

- and *Escherichia coli* in Subtropical Freshwater. *Appl. Environ. Microb.* 70: 1242–1244.
7. Chiroles, S., González, M. I., Torres, Rojas, T., Valdés, Águila, M., Domínguez, I. (2007): Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares (Cuba). *Hig. Sanid. Ambient.* 7: 222-227.
 8. Crowther, J., Kay, D. y Wyer M. (2001): Relationships between microbial water quality and environmental conditions in coastal recreational waters: the Fylde Coast, UK. *Wat. Res.* 35 (17) pp. 4029–4038.
 9. Davis, K., Anderson, M.A., Yates, M. V. (2005): Distribution of indicator bacteria in Canyon Lake, California. *Water Research* 39: 1277–1288.
 10. Easton, J. (1998): The development of a Risk Assessment Methodology to evaluate the adverse human health effect of pathogens found in servage contaminates waters. Environmental Health Engineering Program. University of Alabama at Birmingham.
 11. Fewtrell, L and Bartram, J. (2001): Water quality: guidelines, standards and health. World Health Organization Water Series. IWA. Publishing, London (U.K.): ISBN: 1900222 28 0.
 12. Fujioka, R. and Shizumura, L.K. (1983): *Clostridium perfringens*: A reliable indicator of stream water quality. *J Water Pollut Contr Fed* 57:986-992.
 13. García-Armisen, T., Prats, J. and Servais, P. (2007): Comparison of culturable fecal coliforms and *Escherichia coli* enumeration in freshwaters. *Can. J. Microbiol* 53: 798-801.
 14. Hamilton, W.P., Kim, M. y Thackston, E. L. (2005): Comparison of commercially available *Escherichia coli* enumeration tests: Implications for attaining water quality standards. *Water Research* 39: 4869-4878.
 15. Hazen, T.C. and Toranzos, G.A. (1990): Tropical source water, p. 32-53. In G.a. McFeters (ed.). *Drinking water microbiology. Progress and recent developments.* Springer Verlag K.G., Berlin, Germany.
 16. Jones, K. and Obiri-Danso, K. (1999): Non-compliance of beaches with the EU directives of bathing water quality: evidence of non-point sources of pollution in Morecambe Bay. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* 85: 101S–107S.
 17. Kay D., Wyer M. D., Crowther J., O'Neill G., Jackson G. F., Fleisher J. M. and Fewtrell L. (1999b) Changing standards and catchment sources of faecal indicators in near shore bathing waters. In *Water Quality Processes and Policy*, eds S. T. Trudgill, D. Walling and B. Webb, pp. 47–64. Wiley, New York.
 18. Kay, D., Wyer, M. D., Crowther, J. and Fewtrell, L. (1999a): Faecal indicator impacts on recreational waters: budget studies and diffuse source modelling. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* 85: 70S–82S.
 19. Kloot, R. W., Radakovich, B., Huang, X. and Brantley, D. (2006): A comparison of bacterial indicators and methods in rural surface waters. *Environmental Monitoring and Assessment* 121: 275-287.
 20. Leclerc, H., Mossel, D.A.A., Edberg, S.C. and Struijk, C.B. (2001): Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. *Annu. Rev. Microbiol.* 55: 201–234.
 21. Manafi, M. (2000): New development in chromogenic and fluorogenic culture media. *International Journal of Food Microbiology* 60: 205-218.
 22. Marchand, E. O. (2002): Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana. Tesis para optar al título profesional de biólogo con mención en Microbiología y Parasitología. Universidad del Perú, Decana de América.
 23. Noble, R. T., Leecaster, M. K., McGee, C. D., Weisberg, S. B. and Ritter, K. (2004a): Comparison of bacterial indicator analysis methods in stormwater-affected coastal waters. *Water Res.* 38: 1183–1188.
 24. Noble, R. T., Weisberg, S. B., Leecaster, M. K., McGee, C. D., Dorsey, J. H., Vainik, P.M. and Orozco-Borbion, V. (2003): Storm effects on regional beach water quality along the southern California shoreline. *J. Water Health* 1: 23-31.
 25. Norma Cubana (1999): Lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores. Requisitos higiénicos sanitarios. Ira edn. Oficina Nacional de Normalización. Cuba.
 26. Obiri-Danso K. and Jones K. (1999) The effect of a new sewage treatment plant on faecal indicator numbers, campylobacters and bathing water compliance in Morecambe Bay. *J. Appl. Microbiol.* 86: 603–614.
 27. Obiri-Danso K., Jones K. and Paul N. (1999) The effect of the time of sampling on the compliance of bathing water in NW England with the EU Directive on bathing water quality. *J. Coastal Conserv.* 5: 51–58.
 28. Peña, B. (2000): Caracterización de Sistemas Hidrominerales en el Distrito Físico Geográfico Pinar del Río. Tesis de Maestría en Geografía, Medio Ambiente y Ordenamiento Territorial. Facultad de Geografía. Universidad de La Habana.
 29. Pisciotta, J. M., Rath, Stanek, P. A., Flanery, D. M. and Harwood, V. J. (2002): Marine bacteria cause false-positive results in the colilert-18 rapid identification test for *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microb.* 68: 539–544.
 30. Prats, J. (2006): Determinación de la contami-

- nación microbiana del río Almendares y sus principales afluentes. Tesis para optar por el título académico de Master en Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de La Habana.
31. Prats, J., García-Armisen, T., Larrea, J. and Servais, P. (2008): Comparison of culture-based methods to enumerate *Escherichia coli* in tropical and temperate freshwaters. *Letters in Applied Microbiology* 46 (2): 243-248.
 32. Romeu, B. (2007): Caracterización higiénico-sanitaria de las aguas del río Almendares en la zona del Gran Parque Metropolitano de La Habana. Tesis para optar por el título académico de Master en Microbiología. Mención Microbiología Clínica. Facultad de Biología. Universidad de La Habana.
 33. Rompré, A., Servais, P., Baudart, J., De Roubin, M.R. and Laurent, P. (2002): Methods of detection and enumeration of coliforms in drinking water: a review. *J Microbiol Methods*. 49: 31-54.
 34. Toranzos, G.A. and McFeters, G.A. (1997): Detection of indicator microorganisms in environmental freshwaters, p. 184-194. In C.J. Hurst, G.r. Knudsen, M. J. McInerney, L.D. Stetzenbach, and M. V. Walter (ed), *Manual of environmental microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
 35. United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1986): 'Ambient Water Quality Criteria for Bacteria-1986', U.S. Environmental Protection Agency. EPA-440/5-84-002., Washington DC: Office of Water.
 36. USEPA (2002): Implementation guidance for ambient water quality criteria for bacteria (draft). EPA-823-B-003, Office of Water, Washington, DC.
 37. Vernberg, W. B., Scott, G. I., Strozier, S. H., Bemiss, J., Daugomah, J. W. (1996): The effects of urbanization on human and ecosystem health', in: F. J. Vernberg, W. B. Vernberg, T. Siewicki (eds.), *Sustainable Development in the Southeastern Coastal Zone*, University of South Carolina Press, Columbia, SC, pp. 221-239.
 38. Wright, R.C. (1982): A comparison of the levels of faecal indicator bacteria in water and human faeces in a rural area of a tropical developing country (Sierra Leone). *J Hyg* 89:69-78.
 39. Wyer, M. D., Kay, D., Crowther, J., Whittle, J., Spence, A., Huen, V., Wilson, C., Carbo, P. and Newsome, J. (1998): Faecal-indicator budgets for recreational coastal waters: a catchment approach. *J. Chartered Inst. Water Environ. Manage.* 12: 414-424.
 40. Yakub, G. P., Castric, D. A., Stadterman-Knauer, D. L., Tobin, M. J., Blazina, M., Heineman, T. N., Lee, G. Y. and Frazier, L. (2002): Evaluation of Colilert and Enterolert Defined Substrate Methodology for Wastewater Applications. *Water Environ. Res.* 74: 131-135.