

Higiene y Sanidad Ambiental, **15** (3): 1325-1335 (2015)

Experiencias en el monitoreo ambiental: contaminación de ecosistemas dulceacuícolas de La Habana (Cuba)

EXPERIENCES IN THE ENVIRONMENTAL MONITORING: POLLUTION OF FRESHWATER ECOSYSTEM OF LA HABANA (CUBA)

Beatriz ROMEU ALVAREZ¹, Heidi QUINTERO ALVAREZ², Jeny LARREA MURRELL¹, Daysi LUGO MOYA¹, Nidia ROJAS HERNÁNDEZ¹, Mayra HEYDRICH PÉREZ¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba. CP 10400. E-mail: bromeu@fbio.uh.cu

² Centro de Inmunoderivados, La Habana, Cuba.

RESUMEN

El monitoreo de la calidad microbiológica y química de ecosistemas dulceacuícolas contaminados es una actividad que cada vez se hace más frecuente. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad química y microbiológica de las aguas de tres ríos habaneros (Almendares, Quibú y Luyanó) mediante diferentes parámetros físico-químicos y la cuantificación de coliformes termotolerantes y *E. coli* en un período de un año (Junio 2013- abril 2014). Se realizaron las determinaciones *in situ* de los parámetros físico-químicos pH, temperatura, conductividad, sólidos disueltos y oxígeno disuelto. Para la cuantificación de los microorganismos indicadores se empleó la técnica de Filtración por membrana, empleándose los medios agar Lactosa TTC con Tergitol y agar Chromocult para coliformes. Los resultados obtenidos muestran que los ecosistemas acuáticos evaluados presentan un alto grado de contaminación fecal. Tanto el oxígeno disuelto como los sólidos disueltos presentan valores que no corresponden con los establecidos en la Norma Cubana 22 (1999) para lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores, además se encontraron valores de *E. coli* y coliformes termotolerantes superiores a los límites máximos permisibles establecidos en esta norma. El monitoreo realizado permitió además la recopilación de datos actualizados sobre la calidad microbiológica de las aguas de estos ecosistemas lo que permitirá la toma de medidas encaminadas tanto al uso correcto de las aguas de estos ríos por la población de la capital como al saneamiento de los mismos.

Palabras clave: Monitoreo ambiental, calidad microbiológica, microorganismos indicadores, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Monitoring the microbiological and chemical quality of contaminated freshwater ecosystems is an activity that is becoming more prevalent. The objective of this study was to evaluate the chemical and microbiological quality of the waters of three Havana's river (Almendares, Quibú and Luyanó) by different physico-chemical parameters and quantification of thermotolerant coliforms and *E. coli* in a period of one year (June 2013- April 2014). *In situ* determinations of physicochemical pH, temperature, conductivity, dissolved solids and dissolved oxygen parameters were performed. For quantification of indicator organisms technique was used for membrane filtration, using agar media Lactose TTC agar with Tergitol and Chromocult for coliforms. The results show that the evaluated aquatic ecosystems have a high degree of fecal contamination. Both dissolved oxygen and dissolved materials have values that do not correspond with those established in the International Standard 22 (1999) for bathing sites in coastal and inland water bodies, besides *E. coli* values and higher thermotolerant coliforms were found to the limits set in this

statement. Monitoring conducted also allowed the collection of updated data on the microbiological quality of water in these ecosystems allowing taking measures both the correct use of the waters of these rivers by the population of the capital and sanitation thereof.

Keywords: Microbiological quality, indicator microorganisms, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

El agua constituye uno de los recursos naturales más valiosos y un elemento natural indispensable para el desarrollo de la vida y de las actividades humanas. Sin embargo, el uso indiscriminado de este recurso, unido al crecimiento de la población a nivel mundial ha hecho que disminuya peligrosamente la calidad del agua de las fuentes de abasto y de los ecosistemas acuáticos naturales. Esta situación pone en peligro la disponibilidad de un recurso vital para la vida como lo es el agua (Siew-Leng *et al.*, 2012; Boehm y Soller, 2011).

El medio ambiente se considera un tema estratégico y prioritario de la investigación científica en Cuba y, la protección de los ecosistemas acuáticos constituye uno de sus temas más importantes (CITMA, 2007).

Los ecosistemas dulceacuícolas de La Habana están sometidos a un proceso antrópico acelerado como consecuencia del crecimiento de la población en la capital y reciben a lo largo de sus trayectorias a través de la ciudad numerosos aportes de aguas residuales, debido a la insuficiente existencia de sistemas de alcantarillado en las comunidades aledañas a estos cuerpos de agua. Esta situación ha provocado el deterioro de la calidad del agua de estos ríos.

Aunque en los últimos años se han llevado a cabo diferentes investigaciones relacionadas con la contaminación química de varios de estos ecosistemas (Arpajón *et al.*, 2011; Varcárcel *et al.*, 2010; Periles *et al.*, 2006), desde el punto de vista microbiológico los análisis que se realizan no son sistemáticos ni suficientes, por lo que no se cuenta con datos actualizados de su contaminación microbiana, ni se conoce exactamente el número ni los sitios de los vertimientos de aguas residuales en estos cauces fluviales. Por esta razón se hace necesario el análisis de la calidad química y microbiológica de las aguas de estos cauces fluviales con vistas a su utilización. En La Habana se encuentran ubicadas las corrientes fluviales Almendares, Quibú y Luyanó a las cuales se vierten aguas residuales y desechos provenientes de varias industrias y asentamientos poblacionales que se encuentran ubicados a lo largo de sus trayectorias. La contaminación de estos ecosistemas tiene una influencia directa en la población que vive en estas cuencas, la biota circundante, así como las zonas marinas cercanas a sus desembocaduras. A su vez uno de los problemas más serios asociados a la contaminación microbiana es la presencia de microorganismos patógenos para el ser humano,

responsables de la transmisión de diversas enfermedades (Jensen *et al.*, 2015; Fink *et al.*, 2012).

Por la importancia que implica para la población de la ciudad el conocimiento del riesgo para la salud que implica el uso de las aguas contaminadas de estos ríos en diferentes actividades, así como la necesidad de mantener un monitoreo sistemático de sus aguas, lo cual es el basamento fundamental para tomar medidas urgentes que contribuyan al saneamiento paulatino de estos ecosistemas acuáticos, se desarrolla el presente trabajo en el cual nos propusimos el siguiente objetivo: Evaluar la contaminación química y microbiológica en tres ecosistemas fluviales de la capital cubana mediante la determinación de diferentes parámetros físico-químicos y el empleo de bacterias indicadoras de contaminación fecal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ecosistemas fluviales muestreados

Las muestras se colectaron a partir de 10 estaciones de muestreo pertenecientes a las corrientes fluviales Almendares, Luyanó y Quibú. Las estaciones de muestreo seleccionadas en cada uno de los ecosistemas estudiados así como su localización por Geoposicionador Satelital (GPS) se describen en la tabla 1. Los muestreos se realizaron durante el período de un año entre junio de 2013 y abril de 2014, dos en época lluviosa (junio y octubre) y dos en época poco lluviosa (febrero y abril). Para la selección de las estaciones de muestreo se tomaron en cuenta los resultados de estudios previos en estos ecosistemas realizados por Prats *et al.*, 2008, Rodríguez *et al.*, 2008 y Jiménez, 2007 para los ríos Almendares, Quibú y Luyanó, respectivamente.

Toma de la muestra.

Las muestras fueron tomadas en el horario de la mañana, a un metro de la orilla del río y 15 cm de profundidad. Estas se trasladaron al laboratorio en frascos plásticos ámbar, estériles y de 1 L, en nevera refrigerada (4°C) y fueron procesadas en un período de tiempo menor a las 12 h según la norma AFNOR, 2004.

Determinación de los parámetros físico-químicos.

Se midieron en todos los puntos de muestreo los parámetros físico-químicos: pH, temperatura, conductividad, sólidos disueltos (TDS, por sus siglas en inglés) y oxígeno disuelto (O₂D). Las determinaciones de estos parámetros se realizaron *in situ* con el uso de los multímetros Mettler Toledo FG2/EL2 (pH y T), Mettler Toledo FG3/EL3

(conductividad, sólidos disueltos) y Meter Toledo FG4 (oxígeno disuelto). Las observaciones de campo realizadas durante la toma de muestra y las

Para verificar la distribución normal y la homogeneidad de varianza de los datos de los muestreos en los ríos Almendares, Quibú y Luyanó,

Tabla 1. Localización de cada una de las estaciones de muestreo en los ríos Almendares, Quibú y Luyanó mediante Geoposicionamiento Satelital (GPS).

RÍOS	SITIO DE MUESTREO	CLAVE	LOCALIZACIÓN GPS	
Almendares	Puente Calle 23	A1	355649.88mN	366031.48mE
	Calle 100 y Boyeros	A2	356136.56mN	360237.64mE
	Arroyo Paila	A3	356235.30mN	359162.19mE
	Arroyo Mordazo	A4	356199.05mN	363921.75mE
Quibú	Palacio de Convenciones	Q1	350646.54mN	362941.08mE
	Calle 25	Q2	352425.27mN	362097.34mE
	Los Pocitos	Q3	352489.06mN	360520.67mE
Luyanó	Vía Blanca	L1	356061.35mN	361621.68mE
	Calle Mayor	L2	363885.00mN	362303.00mE
	La Oncena	L3	362334.50mN	363743.00mE

mediciones *in situ* se registraron en la libreta de trabajo y se tomaron al menos dos fotografías del sitio de muestreo.

Determinación de la concentración de coliformes termotolerantes y *E. coli* en los ecosistemas evaluados

Para determinar la concentración de bacterias coliformes termotolerantes (CTE) y *E. coli* (EC) se utilizó la técnica de Filtración por Membrana (FM), con membranas estériles de nitrato de celulosa (Sartorius, con un tamaño de poro de 0,45 μ m y 47 mm de diámetro) y un equipo de filtración Sartorius. Se utilizaron placas Petri plásticas estériles (47 mm) con los medios Agar Lactosa Tergitol (concentración final 0,095 % peso/volumen) (MERCK) con cloruro de trifenil- 2,3,5-tetrazolio (TTC) (concentración final 0,024 % [peso/volumen]) (MERCK) y agar Chromocult para coliformes (MERCK) para la enumeración de los coliformes termotolerantes y *E. coli* respectivamente. Se siguió la metodología establecida por AFNOR, 2004.

En el medio agar Lactosa Tergitol con TTC, se consideraron bacterias coliformes termotolerantes a las colonias amarillo-naranja con un halo amarillo alrededor después de 24 h a $44 \pm 0,5$ °C. En el caso de *E. coli* se consideraron como colonias de esta especie a las que presentaron una coloración azul oscuro o violeta en el agar Chromocult para coliformes después de 24 h de incubación a $37 \pm 0,5$ °C. El conteo se expresó como unidades formadoras de colonias (UFC) por 100 mL. Se realizaron tres repeticiones por cada punto de muestreo.

Análisis estadísticos.

se realizó la prueba Kolmogorov–Smirnov y Cochran–Bartlett respectivamente. Se emplearon datos transformados según log (x), a los cuales se les aplicó la prueba paramétrica Student-Newman-Keuls (SNK) para verificar si existían diferencias significativas entre los conteos de *E. coli* y coliformes termotolerantes en las diferentes estaciones de muestreo y entre los conteos realizados en los períodos poco lluvioso y lluvioso. En los casos en los que los datos no cumplieron con las premisas de normalidad y homogeneidad de varianza, se realizó la prueba no paramétrica Mann–Whitney U. Para evaluar el grado de linealidad entre los conteos de *E. coli* y coliformes termotolerantes se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (r, método paramétrico). Para los cálculos se utilizó el paquete estadístico Statistica 6.0 para Windows.

RESULTADOS

Parámetros físico - químicos

En la tabla 2 se muestran los valores de los parámetros físico-químicos medidos en los tres ríos de La Habana durante el período evaluado.

Como puede apreciarse en la tabla 2 los valores de sólidos disueltos, conductividad y oxígeno disuelto presentaron una alta variabilidad entre los puntos muestreados en los tres ríos de La Habana. Tanto el oxígeno disuelto como los sólidos disueltos presentan valores que no corresponden con los establecidos en la Norma Cubana 22 (1999) para lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores, lo cual indica la calidad deficiente de las aguas de estos ecosistemas.

Tabla 2. Valores promedio de los parámetros químico-físicos medidos durante los muestreos realizados entre 2013 y 2014 en los ríos Almendares, Quibú y Luyanó de La Habana.

Río	Puntos de muestreo	Parámetros				
		T (°C)	pH	TDS (mg/L)	C (µs/cm)	O ₂ D (mg/L)
Almendares	A1	26,08	7,46	549,50	1092,75	0,82
	A2	26,08	7,44	434,75	880,00	1,07
	A3	26,68	7,57	879,25	1748,25	3,46
	A4	26,98	7,57	652,75	986,50	2,80
	VA	26,68	7,52	418,75	838,25	2,72
Luyanó	L1	28,13	7,58	581,00	1215,00	1,09
	L2	28,90	7,60	414,25	819,50	1,14
	L3	27,73	7,52	285,96	596,71	3,37
	VL	28,65	7,46	493,00	973,00	0,95
Quibú	Q1	27,23	7,47	429,75	646,60	3,13
	Q2	27,08	7,60	431,00	869,50	2,77
	Q3	27,68	7,33	479,25	951,00	1,59

T (Temperatura), TDS (Sólidos disueltos, por sus siglas en inglés), C (Conductividad), O₂D (Oxígeno disuelto).

Los valores de pH se mantuvieron en el rango permitido (7,33 a 7,60) en los diferentes puntos durante los muestreos realizados. La temperatura estuvo acorde con la época del año y la hora del día en la que se tomaron las muestras, manteniéndose entre 26 y 28°C en los cuatro muestreos, por lo que estas aguas se clasifican como hipotermales según los criterios de Castany (1971).

Calidad microbiológica de los ecosistemas acuáticos estudiados

Como puede apreciarse en las Figuras 1, 2 y 3, las concentraciones de coliformes termotolerantes (CTE) y *Escherichia coli* (EC) obtenidas durante el año de estudio para los tres ecosistemas evaluados fueron superiores a $2,0 \cdot 10^2$ y $1,0 \cdot 10^3$ NMP.100 mL⁻¹, valores máximos permisibles para los CTE, establecidos en la Norma Cubana 22 (1999) para lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores con contacto directo e indirecto, respectivamente.

En el tramo evaluado del río Almendares las concentraciones de coliformes termotolerantes y *E. coli*, en todos los puntos de muestreo, mostraron valores superiores a los establecidos como aptos para los coliformes termotolerantes en la norma cubana 22 (1999), tanto en el año 2008, como en el 2009. El punto A3 (Paila) presentó los mayores valores de concentración de bacterias indicadoras, con una media de $6,7 \cdot 10^6$ UFC.100 mL⁻¹ para los coliformes termotolerantes y de $2,3 \cdot 10^5$ UFC.100 mL⁻¹ para *E. coli*. Tanto para los CTE como para EC se observaron

diferencias significativas ($p < 0,05$) en esta estación de muestreo respecto a las otras tres evaluadas, en todo el período de investigación. (Figura 2A y Figura 2B).

Al comparar las concentraciones de microorganismos indicadores durante los períodos poco lluvioso y lluvioso estas fueron superiores, en todas las estaciones de muestreo, en el período poco lluvioso. La concentración media durante este período para los dos años de estudio fue de $3,5 \cdot 10^5$ UFC.100mL⁻¹ para los CTE y de $1,9 \cdot 10^4$ UFC.100 mL⁻¹ para EC. Solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre un período y otro en la estación de muestreo A3 para ambos indicadores (Figura 1A y Figura 1B).

En el río Quibú las concentraciones de microorganismos indicadores estuvieron por encima de lo establecido en la norma nacional (NC 22, 1999), comportamiento que se mantuvo durante los dos años estudiados. Durante este período no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de coliformes termotolerantes y de *E. coli* entre los puntos de muestreo de este río (Figura 2A y Figura 2B).

Al analizar las concentraciones de los microorganismos indicadores durante los períodos poco lluvioso y lluvioso, se observó, en todas estaciones de muestreo, que los mayores valores, tanto para los coliformes termotolerantes como para *Escherichia coli*, se obtuvieron durante el período poco lluvioso, con un promedio anual de $1,4 \cdot 10^6$ y $2,3 \cdot 10^5$ UFC.100 mL⁻¹ respectivamente (Figura 2A y Figura 2B).

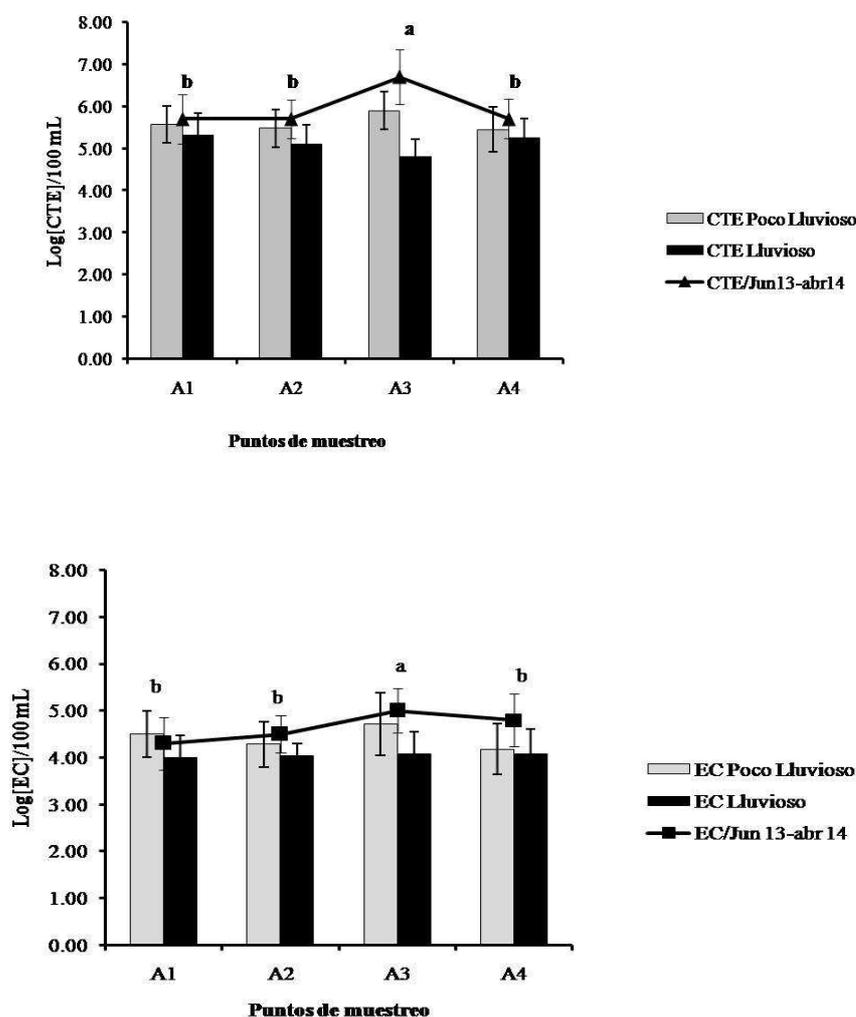


Figura 1. (A) Concentraciones de coliformes termotolerantes y (B) *E. coli* en el río Almendares durante el período junio 2013-abril 2014 y durante el período poco lluvioso y lluvioso en cada punto de muestreo. Las barras de error indican la desviación estándar del promedio de las concentraciones de las concentraciones de los microorganismos indicadores durante los dos años de estudio. Las letras diferentes sobre las líneas indican diferencias significativas entre los valores de las concentraciones de los microorganismos indicadores entre las estaciones de muestreo (prueba Tukey *a posteriori* ($p < 0,05$)). Se aplicó la prueba *t* de Student para comparar las concentraciones de CTE y EC entre un período y otro en cada punto de muestreo.

Puntos de muestreo: A1- Puente Calle 23, A2- Calle 100 y Boyeros, A3- Arroyo Paila, A4- Arroyo Mordazo.

En el período comprendido entre junio de 2013 y abril 2014 las concentraciones de coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* en el río Luyanó sobrepasaron los límites establecidos en la Norma Cubana 22 (1999) para aguas de baño con contacto directo e indirecto. Se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las concentraciones de los microorganismos indicadores entre el punto L1 (Vía Blanca) y los puntos L2 (Calle Mayor) y L3 (La Oncena). El

punto L1 fue la estación de muestreo en la que se encontraron las mayores concentraciones de coliformes termotolerantes y de *Escherichia coli*, con concentraciones superiores a $3,1 \cdot 10^6$ UFC.100 mL⁻¹ y $1,1 \cdot 10^5$ UFC.100 mL⁻¹, respectivamente (Figura 3A y Figura 3B).

El análisis de las concentraciones de microorganismos indicadores entre el período poco lluvioso y lluvioso mostró que en todas las estaciones de muestreo las mayores concentraciones de los indicadores bacterianos se obtuvieron durante el período poco lluvioso, con una concentración promedio de $1,4 \cdot 10^6$ UFC.100 mL⁻¹ para los CTE y de $2,1 \cdot 10^5$ UFC.100 mL⁻¹ para *E. coli*. Solo se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de los coliformes termotolerantes y de *Escherichia coli* entre los dos períodos analizados en el punto L1 (Figura 3A y Figura 3B).

Relación *E. coli*/coliformes termotolerantes (CF) en los ecosistemas evaluados.

Se determinó que existe una correlación positiva lineal entre las concentraciones de coliformes termotolerantes y *E. coli* en los tres ecosistemas evaluados. Los valores del coeficiente de correlación de Pearson calculados en cada uno de los ríos

muestran que existe una correlación positiva alta entre las concentraciones de los dos indicadores evaluados en los tres ríos según los criterios de Daza, 2006 (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Los valores de pH y temperatura obtenidos concuerdan con los informados por Romeu y

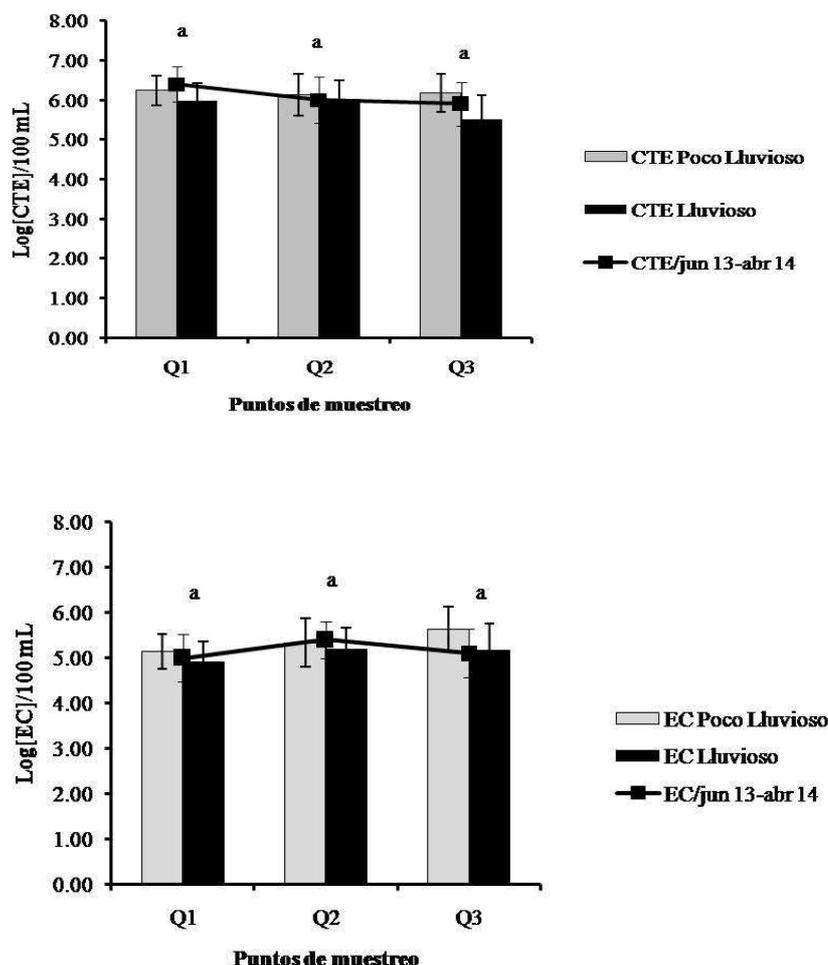


Figura 2. (A) Concentraciones de coliformes termotolerantes y (B) *E. coli* en el río Quibú en los años 2008 y 2009 y durante el período poco lluvioso y lluvioso en cada punto de muestreo. Las barras de error indican la desviación estándar del promedio de las concentraciones de los microorganismos indicadores durante los dos años de estudio. Las letras diferentes sobre las líneas indican diferencias significativas entre los valores de las concentraciones de los microorganismos indicadores entre las estaciones de muestreo (prueba Tukey *a posteriori* ($p < 0,05$)). Se aplicó la prueba *t de Student* para comparar las concentraciones de CTE y EC entre un período y otro en cada punto de muestreo. Puntos de muestreo: Q1-Palacio de las Convenciones; Q2-Planta Tratamiento Calle 25; Q3- Los Pocitos

colaboradores (2012) en un estudio realizado en estos tres ecosistemas dulceacuícolas de La Habana en los años 2008-2011. De acuerdo a Olivares y colaboradores (2005) la composición geológica de estas cuencas es muy uniforme, dominada fundamentalmente por rocas de origen cársico las cuales son fácilmente solubilizadas provocando una elevada alcalinidad de sus aguas (260 a 366 mg/L CaCO_3) y valores de pH en el rango de 7,4 a 8,2 lo cual justifica los valores encontrados en la presente

investigación. Por otra parte, los valores de la temperatura no presuponen contaminación térmica asociada a un vertimiento incontrolado y coinciden con los obtenidos por otros autores en estudios similares realizados en estos mismos ecosistemas (Rua de Cabo *et al.*, 2006; Jiménez, 2007; Chiroles *et al.*, 2007; Larrea *et al.*, 2009; Valcárcel *et al.*, 2010).

El parámetro conductividad muestra valores dentro de lo establecido en las normas cubanas NC 22, 1999 para lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores. Los mayores valores de conductividad se observaron en los puntos de muestreo A3 (Puente calle 23) y L1 (Vía Blanca) de los ríos Almendares y Luyanó respectivamente, los cuales se ubican aguas abajo, cercanos a la salida de estos ríos al mar, lo que indica una leve mezcla de las aguas del río con las aguas del mar.

En el caso del oxígeno disuelto en el agua este se considera 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 muestras de agua colectadas no superaron los $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, lo que constituye un indicativo importante de la deficiente calidad de estos ecosistemas. Es significativo destacar que en el caso del punto A1 (Arroyo Paila) este parámetro se mantuvo por debajo de uno, lo cual resalta el estado crítico de las muestras de agua colectadas de este punto y el hecho de que en ellos el metabolismo predominante es el anaerobio.

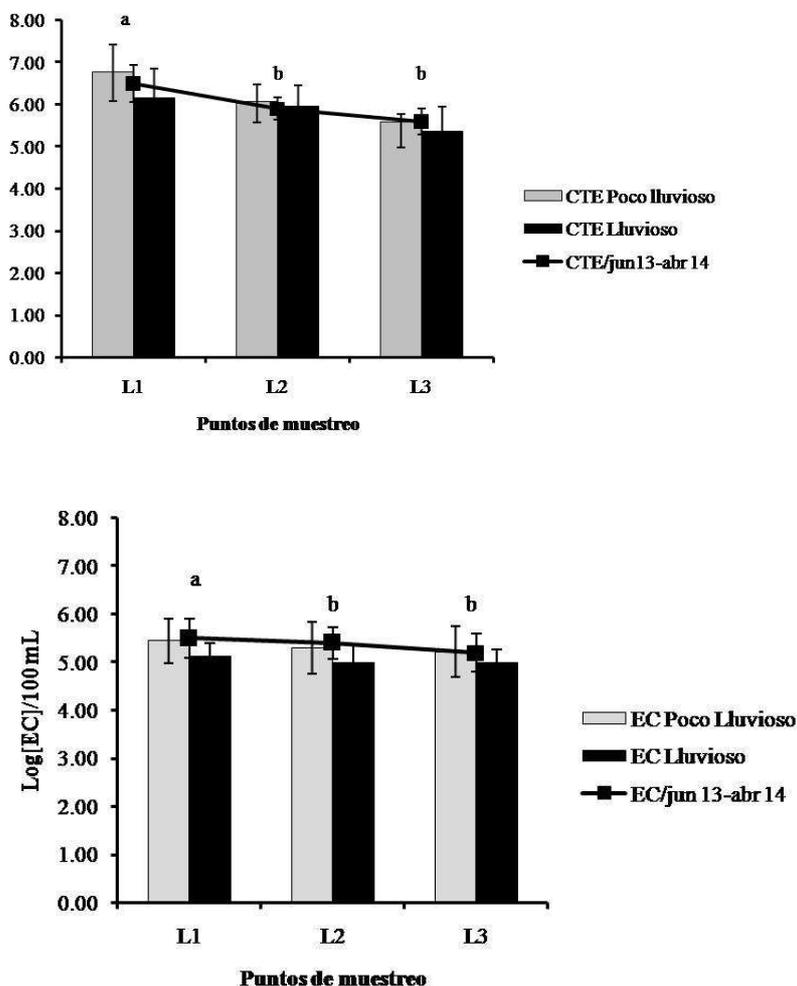


Figura 3. (A) Concentraciones de coliformes termotolerantes y (B) *E. coli* en el río Luyanó en los años 2009 y 2010 y durante el período poco lluvioso y el período lluvioso en cada punto de muestreo. Las barras de error indican la desviación estándar del promedio de las concentraciones de las concentraciones de los microorganismos indicadores durante los dos años de estudio. Las letras diferentes sobre las líneas indican diferencias significativas entre los valores de las concentraciones de los microorganismos indicadores entre las estaciones de muestreo (prueba Tukey a posteriori (p<0,05)). Se aplicó la prueba t de Student para comparar las concentraciones de CTE y EC entre un período y otro en cada punto de muestreo.

Puntos de muestreo: L1-Vía Blanca; L2-Calle Mayor; L3- La Oncena.

Los resultados correspondientes a la cuantificación de los microorganismos indicadores en la presente investigación se expresan en UFC.100 mL⁻¹ ya que se empleó la técnica de filtración por membrana. No obstante, en la mayoría de las normas cubanas, entre las que se incluye la Norma Cubana 22 de 1999 utilizada en nuestra investigación, recomiendan la evaluación de la calidad microbiológica mediante la técnica de fermentación en tubos múltiples con la cual los resultados se expresan en

términos del número más probable (NMP) de microorganismos presentes en 100 mL de agua. Este número se estima estadísticamente del número medio de coliformes en la muestra, por lo que ofrece una enumeración semicuantitativa de los coliformes a diferencia de la FTM con la cual se puede realizar el conteo directo de los microorganismos indicadores que están presentes en la muestra de agua. Sin embargo, era importante que los resultados obtenidos en el presente estudio se comparen con los valores establecidos en una norma cubana y no internacional y como se ha utilizado una técnica mucho más precisa que la FTM pues existe la certeza de que los resultados obtenidos no están sobrevalorando la cuantificación de los microorganismo indicadores analizados en los diferentes ecosistemas evaluados.

Al analizar los valores de las concentraciones de microorganismos indicadores obtenidos para los tres ríos evaluados se puede apreciar que se mostraron altos durante el período de estudio, tanto para los coliformes termotolerantes como para *E. coli* y que se mantuvieron por encima de los valores aceptados según criterios nacionales (NC 22, 1999)

e internacionales (WHO, 2009) para aguas recreativas.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que las principales fuentes de contaminación que presentan estos ecosistemas son de origen fecal. Diversos autores como Rodríguez *et al.* (2003) y Manafi (1994) plantean que cuando las concentraciones de *E. coli* son elevadas en un ecosistema acuático, esto indica que ha tenido lugar un fuerte evento de contaminación por desechos animales y/o humanos y

Tabla 3. Valores del coeficiente de correlación de Pearson entre las concentraciones de coliformes termotolerantes y *Escherichia coli*.

<i>Ecosistema evaluado</i>	<i>r</i>	<i>Clasificación</i>
Río Almendares	0,89	Correlación positiva alta
Río Quibú	0,80	Correlación positiva alta
Río Luyanó	0,83	Correlación positiva alta

r- Coeficiente de correlación de Pearson; Correlación nula ($r=0$); Correlación positiva muy baja ($r =0,01-0,19$); Correlación positiva baja ($r=0,2-0,39$); Correlación positiva moderada ($r=0,4-0,69$); Correlación positiva alta ($r=0,7-0,89$); Correlación positiva muy alta ($r=0,9-0,99$); Correlación positiva grande y perfecta ($r=1$) (Daza, 2006).

que el mismo tiene un carácter reciente. Si por el contrario, las concentraciones de *E. coli* son bajas, indica que la contaminación, aunque del mismo tipo, es menos reciente o menos importante. Y si solo se detectan coliformes pero no *E. coli*, esto indica que la contaminación, aunque es reciente, tiene un origen no fecal o es de origen fecal pero lejano, de modo que los coliformes intestinales no pudieron sobrevivir.

Teniendo en cuenta estos criterios y las altas concentraciones de bacterias indicadoras encontradas en las aguas de los ríos evaluados, se puede afirmar que la contaminación fecal que presentan estos ecosistemas es importante y de carácter reciente. Por tanto, esto indica que el arribo de las bacterias fecales a estos ríos es constante y en altas concentraciones durante todo el año.

Las elevadas concentraciones de microorganismos indicadores encontradas en estos ríos constituyen un indicativo de la posible presencia de microorganismos patógenos de transmisión hídrica. La especie *E. coli* tiene una doble función en este tipo de ecosistemas contaminados, ya que además de funcionar como un indicador de contaminación fecal reciente, se debe tener en cuenta que dentro de esta especie se han descrito grupos patógenos capaces de causar enfermedades intestinales y extraintestinales en humanos y animales. Cuando las concentraciones de esta especie son elevadas en ecosistemas dulceacuícolas impactados por la contaminación, las probabilidades de que se encuentren algunos de los grupos patógenos de *E. coli* son altas, lo cual representa un elevado riesgo para la salud humana.

Por otra parte, la influencia de las precipitaciones es otro factor importante a considerar cuando se realiza un análisis de la calidad microbiológica de un ecosistema dulceacuícola (Shehane *et al.*, 2005). En Cuba, los meses de Mayo a Octubre (período lluvioso) se caracterizan por presentar altos acumulados de precipitaciones con respecto a los meses de Noviembre a Abril, correspondientes al período poco lluvioso.

Existen diversos informes que coinciden en que las precipitaciones tienen un aporte negativo en la

calidad bacteriológica de las aguas, y esto se debe en gran parte a las escorrentías, las cuales pueden arrastrar heces de animales y/o humanas con un alto contenido de bacterias patógenas o también a la infiltración de aguas residuales (Llip *et al.*, 2001; Boehm *et al.*, 2002).

Bezuidenhout *et al.* (2002) observaron un incremento en los conteos bacterianos asociados a la temperatura del agua y a la época de lluvia en el río Mhlathuze en Sudáfrica. Por su parte, Emiliani y González (1998) asociaron el aumento de coliformes termotolerantes al nivel hidrométrico en la Laguna Bedetti, Santa Fé (Argentina), el cual constituyó un indicador de las fuentes dispersas de contaminación, especialmente durante el período de lluvia.

Sin embargo, las mayores concentraciones de microorganismos indicadores, en el presente trabajo, se presentaron en el período poco lluvioso, fenómeno que se observó en todas las estaciones de muestreo de los tres ecosistemas evaluados y fue un comportamiento contrario a lo esperado (Figuras 2, 3 y 4).

Algunos autores (Shehane *et al.*, 2005; Davis *et al.*, 2005; Crowther *et al.*, 2001) coinciden en plantear que durante el período poco lluvioso disminuye el caudal de los ecosistemas acuáticos por las pocas precipitaciones durante este período, lo cual contribuye a una escasa dilución de las aguas residuales que llegan a estos ecosistemas. Por otra parte, durante el período de estudio se presentó un déficit de precipitaciones de moderados a extremos en casi todo el país, resultado del intenso evento de sequía que estuvo influyendo sobre Cuba en los últimos años, y la ciudad de La Habana fue una de las provincias más afectadas (Ballester y Rubiera, 2013). Ambos aspectos pueden haber contribuido a que las concentraciones de los microorganismos indicadores en los tres ríos evaluados fueran más elevadas durante el período poco lluvioso.

Las estaciones A3, Q3 y L1 en los ríos Almendares, Quibú y Luyanó, respectivamente fueron las que mayores concentraciones de coliformes termotolerantes y *E. coli* durante el período poco lluvioso, lo que estuvo en correspondencia con los resultados obtenidos al analizar las concentraciones de estos indicadores durante los años evaluados, en cuyo análisis estas estaciones fueron también las que presentaron las mayores concentraciones de microorganismos indicadores (Figuras 2, 3 y 4).

En esta investigación, las precipitaciones no constituyeron un factor determinante en el incremento de las concentraciones de los microorganismos indicadores *E. coli* y coliformes termotolerantes en ninguno de los tres ecosistemas evaluados, sin embargo, se demostró que son un factor que debe tomarse en consideración en este tipo de estudios.

Autores como Emiliani y García (2003) recomiendan evaluar la calidad bacteriológica de las aguas naturales en ambientes urbanos con el desarrollo de modelos predictivos con diferentes variables como la concentración de *Escherichia coli*, lluvia,

temperatura, pH y la influencia de El niño-Oscilación Sur. Estos modelos permitirían elaborar acciones preventivas y evitar riesgos a la salud anterior a un evento desfavorable. En trabajos realizados en aguas costeras con fines recreativos se observó que cuando las tormentas con acumulados de lluvias son superiores a los 6 mm, los valores de calidad bacteriológica superaban el estándar para coliformes y enterococos (Ackerman y Weisberg, 2003).

Los resultados obtenidos demuestran que para la evaluación de la calidad de un ecosistema no solo será importante considerar las concentraciones de los microorganismos indicadores, sino también deberán tenerse en cuenta otros factores que pueden incrementar o disminuir las concentraciones de estos en el ecosistema.

En sentido general, la contaminación microbiana encontrada en las aguas de estos ecosistemas durante el período de análisis constituye un resultado a tomar en cuenta. El estudio de los distintos factores que contribuyen a contaminar estos ríos es de vital importancia por los efectos que esta contaminación puede tener sobre la población que vive en estas cuencas, la biota circundante, así como las zonas marinas cercanas a sus desembocaduras. Los ríos Almendares y Quibú vierten sus aguas al litoral norte de la Habana y contribuyen en gran medida a la contaminación de las aguas del litoral (García *et al.*, 2009). Por su parte, el río Luyanó vierte sus aguas en la Bahía de la Habana como su principal tributario, tanto en agua dulce como en carga contaminante (Mulet y Guillen, 2003; Jiménez, 2007).

Por otra parte, las aguas residuales domésticas, sin ningún tratamiento, han sido utilizadas desde hace más de doscientos años en varios países para riego agrícola, aumentando por un lado la productividad del terreno debido a los elevados contenidos en nutrientes orgánicos para las plantas, pero a su vez, se han incrementado notablemente las enfermedades gastrointestinales como consecuencia de los patógenos contenidos en este tipo de aguas, produciendo verdaderos problemas de salud pública especialmente, en la población infantil (Lorenzo *et al.*, 2009). En La Habana, el agua de estos ríos, sobre todo las del Luyanó y el Almendares, se utiliza por la población que vive en sus cercanías para el riego de vegetales y otros cultivos, la elaboración de los alimentos de animales de corral o mascotas y para nadar, esta última actividad realizada sobre todo, por los jóvenes en el período de verano. Por lo tanto, el uso de estas aguas implica un riesgo higiénico-sanitario para todas las personas que de forma directa o indirecta emplean las aguas en diferentes actividades (Romeu *et al.*, 2012).

Relación *E. coli*/coliformes termotolerantes (CF) en los ecosistemas evaluados

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, de sus siglas en inglés), propuso establecer como base de calidad del agua un

nuevo criterio sobre la base de las concentraciones de *E. coli*. Este nuevo criterio expresa que el 63% de la concentración de los coliformes termotolerantes corresponde a *E. coli* y que de esta forma se pueden proveer niveles equivalentes de protección contra patógenos presentes en las aguas (USEPA, 2002). De esta forma la posibilidad de establecer una correlación entre las concentraciones de coliformes termotolerantes y *E. coli* brinda un criterio mucho más confiable sobre la calidad del agua.

La correlación positiva lineal encontrada en la presente investigación entre las concentraciones de los coliformes termotolerantes y de *E. coli* en los tres ríos permite afirmar que ambas variables están fuertemente relacionadas, por lo que cualquiera de estos indicadores podría haber sido utilizado para la evaluación de la calidad microbiológica de estos ríos durante el período de estudio.

El grupo de los coliformes termotolerantes ha mostrado ser un indicador más real de contaminación fecal, aunque algunos estudios demuestran que los coliformes termotolerantes, al igual que los coliformes totales, pueden ser parte de la microbiota ambiental en ambientes acuáticos tropicales, lo cual implica que su uso como indicadores de contaminación fecal puede ser de valor limitado en estas regiones del mundo (Bonadonna *et al.*, 2007; Kloot *et al.*, 2006; Lucena *et al.*, 2004;). Sin embargo, las normas nacionales e internacionales (NC 22, 1999; WHO, 2003; WHO, 2009; APHA, 1998; AFNOR, 2001) se han elaborado en función de estos indicadores, por lo que hasta el momento son los que se emplean en la evaluación de la calidad microbiológica de los ecosistemas acuáticos superficiales y el agua potable incluso en nuestro país.

Por definición, los coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* están relacionados entre sí, pues uno está incluido en el otro, por lo que las concentraciones de estos microorganismos en ecosistemas acuáticos contaminados pueden presentar una variación lineal. Sin embargo, no siempre sucede esto, ya que los valores de estos indicadores dependen de varios factores como son el escurrimiento de los suelos, los vertimientos que se realizan a estos cuerpos de agua, así como su naturaleza y la frecuencia con que se realizan los vertimientos.

El índice de correlación de Pearson se utiliza para variables cuantitativas y permite medir el grado de covariación entre distintas variables relacionadas linealmente. Un valor del coeficiente de Pearson cercano a uno indica que las dos variables evaluadas presentan una correlación positiva, o sea, que ambas variables están directamente relacionadas como es en el caso analizado, lo que permite considerar que la determinación de cualquiera de estos microorganismos indicadores puede emplearse como criterio de calidad microbiológica en los ecosistemas contaminados evaluados.

En resumen, la utilización de las aguas de estos ecosistemas para uso recreativo puede constituir un

riesgo para la salud de la población que la utilice; ya que los valores de concentración de las bacterias indicadoras de contaminación fecal se encuentran por encima de los valores límites permisibles por la norma cubana así como los valores de algunos parámetros físico-químicos muy relacionados con la calidad de las aguas. Por esta razón se hace necesaria la continuidad del estudio de las fuentes y los niveles de contaminación con el objetivo de trazar estrategias que contribuyan al decremento de la contaminación y de esta forma lograr la disminución de los riesgos sanitarios asociados a la utilización de las aguas de estos ecosistemas.

CONCLUSIONES

1. Los valores de los parámetros físico-químicos oxígeno disuelto y conductividad
2. Las concentraciones de coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* presentes en las aguas de los ríos Almendares, Quibú y Luyanó son superiores a los límites permisibles establecidos en la norma cubana, por lo que no se consideran aptas para el baño ni la realización de actividades recreativas.
3. Se obtuvo una buena relación *E. coli*/Coliformes termotolerantes, con valores de 1,01, 0,98 y 0,96 en los ríos Almendares, Luyanó y Quibú respectivamente, lo que indica que cualquiera de estos indicadores puede ser utilizado para la evaluación de la calidad microbiológica de estos ríos.

BIBLIOGRAFIA

1. AFNOR - Association Française de Normalisation- (2004): Qualité de l'eau. Analyses biochimiques et biologiques – Analyses microbiologiques. Tome 4. Agence Française de Normalisation, Paris, France.
2. Boehm AB, Soller JA. (2011). Risks Associated with Recreational Waters: Pathogens and Fecal Indicators. In R. A. Meyers (Ed.), Encyclopedia of Sustainability Science and Technology. New York City: Springer.
3. Byamukama, D., F. Kansime, R. L. Mach, M. Manafi y A. H. Farnleitner (2005): Discrimination efficacy of fecal pollution detection in different aquatic habitats of a high altitude tropical country, using presumptive coliforms, *Escherichia coli* and *Clostridium prefringes* spores. Appl. Environ. Microbiol. 71 (1): 65 - 71.
4. Castany, G. 1971. Tratado Práctico de las Aguas Subterráneas. Ediciones Omega, S.A. Barcelona.
5. Cross contamination of *Escherichia coli* O157:H7 between lettuce and wash water during home-scale washing Dane A. Jensen a, Loretta M. Friedrich b, Linda J. Harris c, Michelle D. Danyluk b, 1, Donald W. Schaffner. Food Microbiology 46 (2015) 428e433.
6. Faust, M. A., A. E. Aotaky, y M. T. Hargadon (1975): Effect of physical parameters on the *in*

situ survival of *Escherichia coli* MC-6 in an estuarine environment. Appl. Microbiol. 30: 800-806.

7. Fewtrell, L y Bartram, J. (2001). Water quality: guidelines, standards and health. World Health Organization Water Series. IWA. Publishing, London (U.K.)
8. Fink, R.C., Black, E.P., Hou, Z., Sugawara, M., Sadowsky, M.J., Diez-Gonzalez, F., 2012. Transcriptional responses of *Escherichia coli* K-12 and O157:H7 associated with lettuce leaves. Appl. Environ. Microbiol. 78, 1752e1764.
9. García-Armisen, T., J. Prats y P. Servais (2007): Comparison of culturable fecal coliforms and *Escherichia coli* enumeration in freshwaters. Can. J. Microbiol 53: 798 - 801.
10. Gerba, C. P. y J. S. McLeod (1976): Effect of sediments on the survival of *Escherichia coli* in marine waters. Appl. Environ. Microbiol. 32: 114-120.
11. Hamilton, W.P., M. Kim y E. L. Thackston (2005): Comparison of commercially available *Escherichia coli* enumeration test: Implications for attaining water quality standars. Wat Res. 39: 4869 - 4878.
12. Jensen, P.k., B. Aalbraek, R. Aslam y A. Dalsgaard (2001): Specificity for field enumeration of *Escherichia coli* in tropical surface waters. J. Microbiol Methods 45: 135-141.
13. Jiménez, Y. (2007): Estudio de la contaminación de las aguas fluviales de la Cuenca Hidrológica Superficial Luyanó. Trabajo de Diploma. Facultad de Geografía. Universidad de La Habana.
14. Kloot, R. W., B. Radakovich, X. Huang y D. Brantley (2006): A comparison of bacterial indicators and methods in rural surfacewater. Environmental Monitoring and Assessment 121: 275–287
15. Larrea, J. (2009): Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del complejo turístico " Las Terrazas ". Tesis para optar por el título académico de Master en Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de La Habana.
16. Leclerc, H., D. A. A Mossel, S. C. Edberg y C. B. Struijk (2001): Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. Annu. Rev. Microbiol. 55: 201–234.
17. Manafi, M. (2000): New development in chromogenic and fluorogenic culture media. International Journal of Food Microbiology. 60: 205-218.
18. Martins, M. T., I. G. Rivera, D. L. Clarck, M. H. Stewart, R. L. Wolfe y B.H. Olson. (1993): Distribution of uidA gene sequences in *Escherichia coli* isolates in water sources and comparison with the expression of beta-glucuronidase activity in 4-methylumbelliferyl-beta-d-glucuronide media. Applied and Environmental Microbiology 59 (7): 2271-2276.

19. McDaniels, A. E., E. W. Rice, A. L. Reys, C. H. Johnson, R. A. Haugland y J. Stelma-GN (1996): Confirmation of identification of *Escherichia coli*, a comparison of genotypic and phenotypic assays for glutamate decarboxylase and beta-D-glucuronidase. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (9): 3350-3354.
20. Nazarowec, W. M. y J. M. Farber (1997): *Enterobacter sakazakii*: a review. *International Journal of Food Microbiology* 34: 103-113.
21. Norma Cubana (1999): Lugares de baño en costas y en masas de aguas interiores. Requisitos higiénicos sanitarios. 1ra edn. Oficina Nacional de Normalización. Cuba.
22. Prats, J. (2006): Empleo de las bacterias coliformes en la determinación de la contaminación 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
23. 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.
24. Rompré, A., P. Servais, J. Baudart, M.R. De Roubin y P. Laurent (2002): Methods of detection and enumeration of coliform in drinking water: a review. *J. Microbiol. Methods*. 49: 31-54.
25. Shibata, T., H. M. Solo-Gabriele, L. E. Fleming y S. Elmir (2004): Monitoring marine recreational water quality using multiple microbial indicators in an urban tropical environment. *Water Res.* 38(13): 3119–3131.
26. Temple, K. L., A. K. Camper y G. A. McFeters (1980): Survival of two enterobacteria in feces buried in soil under field conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 40: 794-797.
27. Winfield, M. D. y E. A. Grosman (2003): Role of Nonhost Environments in the Lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 3687-3694.