

Higiene y Sanidad Ambiental, 7: 222-227 (2007)

Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares (Cuba)

Sergio CHIROLES RUBALCABA, María Isabel GONZÁLEZ GONZÁLEZ, Teresa TORRES ROJAS, Magaly VALDÉS ÁGUILA y Isaida DOMÍNGUEZ MARTÍNEZ

Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Infanta # 1158 e/ Clavel y Llinás, Centro Habana, Cuba. Telf.(53-7)70-5531-34 ext 254, Fax (53-7)66-2404. Correo-e: sergio@nhem.sld.cu, sergio.chiroles@infomed.sld.cu

RESUMEN

Se realizó un estudio en las aguas del río Almendares en tres estaciones seleccionadas que presentaban diferentes características, en el período comprendido entre los años 2002 (febrero-diciembre) y 2003 (enero-septiembre). El número total de muestras analizadas fue de 82. Estudiamos factores bióticos como indicadores microbiológicos de contaminación fecal (coliformes fecales y enterococos), y factores abióticos como pH, conductividad, salinidad y temperatura.

Se detectó una buena correlación entre ambos indicadores, asociados al grado de contaminación de las diferentes estaciones en el río y un deterioro notable de la calidad del agua debido a los numerosos vertimientos de residuales fundamentalmente domésticos e industriales, sin tratamiento o con un tratamiento deficiente. Los indicadores bacterianos estudiados se comportaron con niveles mayores en los períodos de lluvia que en seca, en las estaciones No. 1 y No. 2 en ambos años, sin embargo en la estación No. 3 no hubo una variación notable.

Un total de 202 cepas fueron aisladas dentro de los indicadores bacterianos (coliformes fecales 155 y 47 Enterococos). En caso de los coliformes fecales la especie más frecuente *Escherichia coli* (69.7%), seguido de *Klebsiella pneumoniae* (9.7%), *Enterobacter aerogenes* (9.0%), *Klebsiella oxytoca* (7.1%), *Enterobacter agglomerans* (3.9%) y *Citrobacter amalonaticus* (0.6%). Por su parte la especie más frecuente identificada de Enterococos fue *Enterococcus faecium* con 32 cepas (68,08%), seguido de *Enterococcus faecalis* (12 cepas, 25,53%) y *Enterococcus durans* (3 cepas, 6,39%).

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas, vistos como un conjunto de elementos bióticos y abióticos que interactúan en un espacio y tiempo determinados, transforman la materia y la energía disponibles en el ambiente, mediante procesos funcionales en los que el agua juega un papel importante.

El agua está tan íntimamente ligada a los procesos funcionales del ecosistema, que su uso y manejo conlleva, forzosamente, a ver el ecosistema en su conjunto como el objeto de explotación y conservación: el manejo sustentable del agua tiene

implícito uno semejante del ecosistema. La severa transformación y deterioro de los ambientes, evidencian una falta de esta concepción ecosistémica en los esquemas de uso y conservación del agua, lo que exacerba a diario los serios problemas de escasez y contaminación del recurso. Es indispensable incorporar criterios de manejo y conservación de ecosistemas naturales en las políticas y programas de manejo del agua en el país, si se quiere asegurar su disponibilidad en las cantidades, los tiempos y la calidad con la que la población requiere.

La cantidad, variaciones y regularidad de las aguas de un río son de enorme importancia para las

plantas, animales y personas que viven a lo largo de su curso. Los ríos y sus llanuras de inundación sostienen diversos y valiosos ecosistemas, no sólo por la capacidad del agua dulce para permitir la vida sino también por las abundantes plantas e insectos que mantiene y que forman la base de las cadenas tróficas. Los ecosistemas de los ríos (fluviales) pueden considerarse entre los más importantes de la naturaleza y su existencia depende totalmente del régimen de los mismos. Por lo tanto, se debe tener gran cuidado para no alterar este régimen al actuar sobre el río y su cuenca, ya que una gestión poco responsable de los recursos del agua o su sobreexplotación pueden tener efectos desastrosos para el ecosistema de ribera.

Los ríos han sido utilizados como sumideros para los desechos de la agricultura y de la industria. Gracias a su corriente y naturaleza ecológica, los ríos son capaces de regenerarse por sí mismos al admitir cantidades asombrosas de afluentes. Sin embargo, todos los ríos tienen un límite de capacidad de asimilación de aguas residuales y fertilizantes provenientes de las tierras de cultivo. Si se supera este límite, la proliferación de bacterias, algas y vida vegetal consumirá todo el oxígeno disuelto en el agua (eutrofización) y ahogará a insectos y peces, lo que destruye todo el ecosistema fluvial ya que se interrumpen las cadenas tróficas.

El río Almendares es la corriente superficial más importante de la cuenca Almendares-Vento la cual corresponde a la provincia de Ciudad de La Habana (212,5 Km²) y el 47,2 % (189,5 Km²) a la provincia La Habana con una población de 570 000 habitantes. Su red hidrográfica la constituyen numerosos arroyos de carácter intermitente, secos en época no lluviosa por la infiltración de las aguas al manto subterráneo, lo que se debe a las condiciones cársicas, característica hidrogeológica predominante en los cursos altos y medios (INRH, 2003).

La contaminación del río es el problema ambiental más serio que presenta la cuenca, siendo su situación sanitaria muy desfavorable debido a las descargas indiscriminadas de aguas residuales, originadas fundamentalmente del sector urbano e industrial, las que no cuentan con tratamiento o poseen tratamiento que funciona deficientemente, identificándose 89 principales fuentes contaminantes (INRH, 2003). Las entregas de agua subterráneas de buena calidad a la Ciudad de La Habana constituyen 47 % del abasto de agua planificado a la ciudad, lo que caracteriza la importancia de sus recursos hídricos aprovechables, estimados en unos 287 millones de m³/año (INRH, 2003).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de agua se colectaron de tres estaciones seleccionadas del Río Almendares que presentaban diferentes características según la

salinidad y presencia de plantas acuáticas en el período comprendido entre los años 2002 (febrero-diciembre) y 2003 (enero-septiembre).

El número total de muestras fue de 82 distribuidas según las siguientes estaciones: Estación No.1: Puente de Hierro, Municipio Plaza (27 muestras, condición marina). Estación No.2: Parque Almendares, Municipio Plaza (28 muestras, condición estuarina). Estación No.3: Río Cristal, Municipio Boyeros (28 muestras, condición de agua fresca).

En el terreno se realizaron las mediciones de temperatura del agua en la superficie (aprox. 30cm), pH (comparador de color de pH), conductividad, y se anotaron las condiciones ambientales y características del agua. Todas las mediciones se llevaron a cabo en el mismo lugar donde se colectaba la muestra de agua.

El muestreo, transporte y conservación de las muestras se realizó según recomendaciones de APHA (1998) y procedimientos normalizados de operación (PNO) para el muestreo establecido por el laboratorio con su procesamiento de las mismas dentro de las tres horas posteriores al muestreo.

La metodología empleada para la determinación de los indicadores bacterianos de contaminación (coliformes fecales y enterococos) se realizó por la técnica de filtración por membrana con un equipo de filtración Sartorius y membrana de 0,45 µm de nitrato de celulosa (Gellman Science) recomendada por APHA (2000). La determinación de patógenos bacterianos (*Salmonella*), se realizó según recomendaciones de APHA (1998), y procedimientos normalizados de operación (PNO) del laboratorio.

Identificación bacteriana

De las placas con cultivo donde se obtuvieron resultados positivos para coliformes fecales, según el medio utilizado y acorde a las recomendaciones de APHA (1998) se seleccionaron al menos tres colonias características y se procedió a la identificación de las cepas aisladas dentro de la familia Enterobacteriaceae (APHA, 1998; Farmer, 1992). De las placas positivas a enterococos se eligieron colonias para su identificación en especies según recomendaciones de Cowan (1993). Mientras que la identificación de las cepas pertenecientes al género *Salmonella* se llevó a cabo según recomendaciones de Farmer (1992).

Análisis estadístico

Los resultados primarios de cada muestra se anotaron en hojas de registro de Microsoft Excel según la estación, fecha, hora, pH, temperatura, conductividad y salinidad. Se determinó la media aritmética del pH, la temperatura, conductividad, salinidad, además de los descriptores estadísticos en todos los datos. Con relación a los conteos bacterianos de coliformes fecales y enterococos fueron transformados logarítmicamente antes del tratamiento estadístico con el paquete de programa Rodney Carr 1997-2000 para Windows para la correlación lineal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran las medias del pH, temperatura, conductividad, salinidad e indicadores bacterianos (coliformes fecales y enterococos).

Las correlaciones lineales entre diferentes variables que resultaron significativas fueron las de coliformes fecales y enterococos con los datos transformados (log10) y con un nivel de confiabilidad del 95%. En la tabla 2 se observan los resultados de las diferentes estaciones y en las figuras 1, 2 y 3.

TABLA 1. Medias de los valores de pH, temperatura, conductividad, salinidad e indicadores bacterianos (coliformes fecales y enterococos). INHEM 2002-2003.

Determinaciones	Estación no.1	Estación no.2	Estación no.3
pH	7,9	7,9	7,5
T (°C)	26,2	26,0	25,0
Conductividad (µs)	4 049	2 300	535
Salinidad (mg/l)	2 439	1 426	385
Coliformes fecales (UFC/100ml)	66 688	74 798	2 852
Enterococos (UFC/100ml)	19 753	27 019	963

TABLA 2. Coeficiente de correlación (R) entre coliformes fecales y enterococos según estaciones del río Almendares. INHEM, 2002-2003.

Procedencia	R
Estación No.1	0.76
Estación No.2	0.77
Estación No.3	0,68

Se detectó una buena correlación entre ambos indicadores, asociados al grado de contaminación de las diferentes estaciones en el río y un deterioro notable de la calidad del agua debido a los numerosos vertimientos de residuales fundamentalmente domésticos e industriales, sin tratamiento o con un tratamiento deficiente.

Un total de 155 cepas fue aislada dentro de los coliformes fecales siendo la especie más frecuente *Escherichia coli* (69.7%), seguido de *Klebsiella pneumoniae* (9.7%), *Enterobacter aerogenes* (9.0%), *Klebsiella oxytoca* (7.1%), *Enterobacter agglomerans* (3.9%) y *Citrobacter amalonaticus* (0.6%).

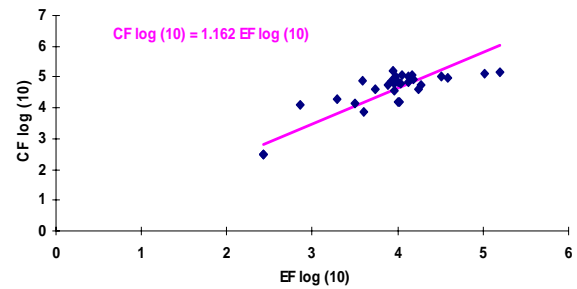


FIGURA 1. Regresión lineal entre coliformes fecales y enterococos en Estación No.1.

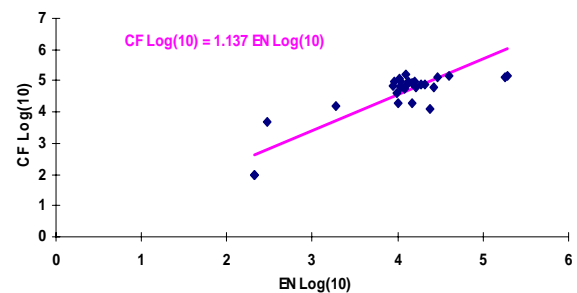


FIGURA 2. Regresión lineal entre coliformes fecales y enterococos en Estación No.2.

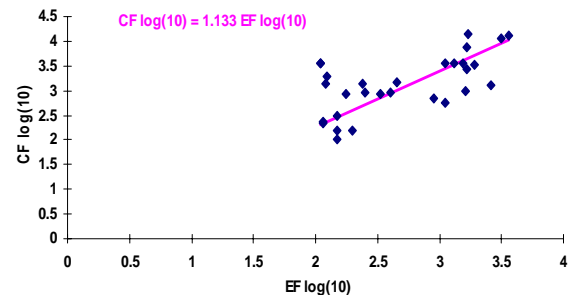


FIGURA 3. Regresión lineal entre coliformes fecales y enterococos en Estación No.3.

Entre los grupos de indicadores bacterianos de mayor importancia sanitaria en la calidad microbiológica del agua, se encuentran los coliformes totales y fecales (actualmente denominados termotolerantes) y *Escherichia coli*. El grupo coliforme comprende a un grupo heterogéneo de bacterias fermentadoras de la lactosa perteneciente a la familia Enterobacteriaceae cuyos principales géneros son *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia* (APHA, 2000; Farmer, 1992, Geldreich, 1996).

Los miembros del grupo coliforme pueden tener su origen fecal o no fecal considerándose *Escherichia coli* presente en la flora intestinal del hombre y animales de sangre caliente y se recomienda como un

indicador de la posible presencia de patógenos bacterianos, por ello la importancia y la taxonomía del grupo coliforme en aguas permanecen siempre en estudio (Alonso *et al.* 1999, Geldreich, 1996).

Algunos autores (Caplenas y Kanarek, 1984; Mossel, 1997) plantean que el término de coliformes fecales debe ser sustituido por coliformes termotolerantes debido a que algunas especies dentro del grupo pueden tener origen no fecal, (por ej. *Klebsiella*) reportando que el 15% de *Klebsiella pneumoniae* fueron termotolerantes. Por otra parte, existen informaciones donde se encuentran los géneros *Klebsiella* y *Citrobacter* con alta frecuencia en aguas tropicales (Hazen y Toranzos, 1990), y en este estudio el género *Klebsiella* ocupó el segundo lugar en frecuencia de cepas aisladas. Esto coincide con investigaciones anteriores de caracterización de coliformes fecales en aguas de fuentes de abastecimiento de agua y recreativas llevados a cabo en el INHEM, donde siempre se encontró *Escherichia coli* en primer lugar, seguido de *Klebsiella pneumoniae* en segundo lugar (González *et al.*, 1990; González *et al.*, 1996).

TABLA 3. Número y porcentajes de cepas según especies identificadas de coliformes fecales según las estaciones del río Almendares. INHEM 2002-2003.

Especies	Estación No.1	Estación No.2	Estación No.3	Total (%)
<i>Escherichia coli</i>	36	29	43	108 (69.7)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	2	8	15 (9.7)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5	6	3	14 (9.0)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	5	1	11 (7.1)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	3	3	-	6 (3.9)
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	-	-	1 (0.6)
Total	55	45	55	155 (100.0)

En una investigación realizada en el río Arga, España, para determinar el impacto que producía un efluente urbano de la ciudad de Pamplona sobre las comunidades bacterianas, especialmente de los bacilos Gram negativos, se encontró que entre los aislamientos más frecuentes estaba *Aeromonas* sp. en todos los niveles. Sin embargo, aunque la familia Enterobacteriaceae se detectó en todas las estaciones, su ocurrencia fue significativamente mayor corriente abajo del punto de descarga (Goñi-Urriza *et al.*, 1998). Las especies bacterianas reportadas en el anterior estudio fueron similares a las identificadas en éste, a diferencia de que la mayor concentración de coliformes fecales y enterococos se encontraron en las estaciones No.1 y No.2 donde la presencia de

vertimientos era mayor, mientras que río arriba (Estación No.3), los índices de ambos indicadores disminuía y se observaba una mejor calidad del agua.

En la tabla 4 se observan las especies identificadas de 47 cepas aisladas y su distribución por estaciones.

La especie más frecuente identificada fue *Enterococcus faecium* con 32 cepas (68,08%) seguido de *Enterococcus faecalis* (12 cepas, 25,53%) y *Enterococcus durans* (3 cepas, 6,39%). Estos resultados concuerdan con otros reportes donde las especies de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* son las que más se aíslan en muestras clínicas y ambientales (Leclerc *et al.*, 1996).

TABLA 4. Especies del género *Enterococcus* identificadas según estaciones. INHEM 2002-2003.

Especies	Estación No 1	Estación No 2	Estación No 3	Total	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	8	2	12	25.53
<i>Enterococcus faecium</i>	10	14	8	32	68.08
<i>Enterococcus durans</i>	-	2	1	3	6.39
Total	12	24	11	47	
%	25.53	51.67	23.40		100.00

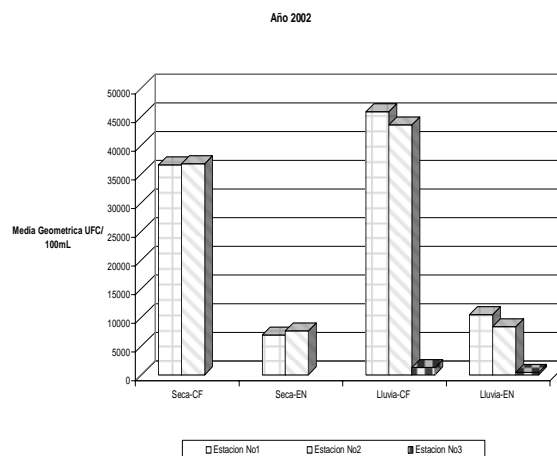


FIGURA 4. Concentraciones de coliformes fecales y enterococos en las tres estaciones del río Almendares con relación a la estación climática del 2002. INHEM, 2002-2003.

En un estudio similar de identificación de cepas de enterococos aisladas de diferentes tipos de aguas (Svec y Sedlacek, 1999), se reportaron que *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*

fueron las especies en mayor porcentaje identificadas, con 21.0 y 18.0 % respectivamente; mientras que otras especies como *E. mundtii*, *E. hirae*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* y *E. durans* se aislaron en menores porcentajes, no sobrepasando en ninguno de los casos el 5.0% del total de 630 aislamientos caracterizados estando en correspondencia con lo encontrado en este estudio.

En un estudio realizado en Brasil (Saramago *et al.*, 1994) donde se caracterizaron 330 aislamientos presuntivos de *Enterococcus* de diferentes fuentes que incluían muestras clínicas, de animales y ambientales, se encontró que en las muestras ambientales *Enterococcus faecalis* representó el 42.0% del total seguido por *Enterococcus faecium* con un 35.4% y que el 3.2% correspondió a *Enterococcus durans*, resultados similares a los detectados.

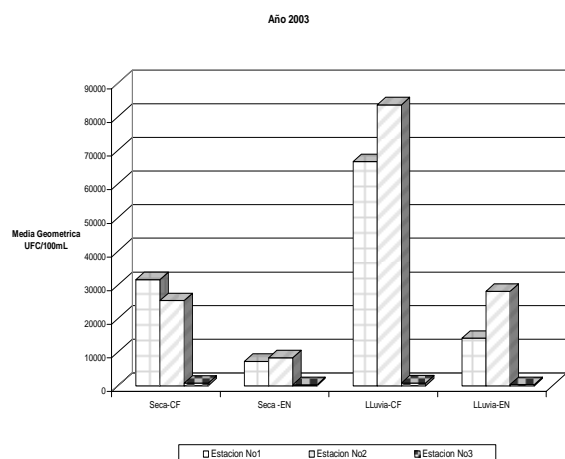


FIGURA 5. Concentraciones de coliformes fecales y enterococos en las tres estaciones del río Almendares con relación a la estación climática del 2003. INHEM, 2002-2003.

La distribución de especies por sitios de muestreos arrojó que en las tres estaciones, la especie predominante fue *Enterococcus faecium*, seguida de *Enterococcus faecalis* la que se aisló mayormente en la estación No.2. *Enterococcus durans* se aisló solo en dos estaciones (No.2 y No.3). De manera general, la distribución de aislamientos muestra que la mitad de los mismos procedían de la estación No.2 (51.67%) y las otras dos estaciones con porcentajes similares sumaron el 48.37% restante de los aislamientos en el río.

En las figuras 4 y 5, se observan las concentraciones (media geométrica de UFC/100ml) de coliformes fecales y enterococos con relación a las estaciones climáticas (lluvia y seca) de los años 2002 y 2003 según las estaciones.

Los indicadores bacterianos estudiados se comportaron con niveles mayores en los períodos de

lluvia que en seca, en las estaciones No. 1 y No. 2 en ambos años, sin embargo en la estación No. 3 no hubo una variación notable. Esto coincide con lo reportado por Bezuidenhout *et al.* (2002), que observaron el incremento de conteos bacterianos asociados a la temperatura del agua y a la época de lluvia en el río Mhlathuze, Sudáfrica.

El aumento de coliformes fecales asociado al aumento del nivel hidrométrico en la laguna Bedetti (Santa Fe, Argentina), fue un indicador de las fuentes dispersas de contaminación, especialmente durante el período de lluvia, siendo uno de los principales aportes de coliformes, la entrada de islas flotantes y plantas macrófitas acuáticas, provenientes de sistemas fluviales alóctonos (Emiliani y González, 1998).

Actualmente, existen autores (Emiliani y García, 2003) que recomiendan de forma novedosa e importante, la predicción de 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, con el fin de realizar acciones preventivas y evitar riesgos a la salud anterior a un evento desfavorable.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Public Health Association. Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21 ed. Washington, DC: APHA;1998.
2. Arocha R, Cutié V, Lapinel B. Los transportes troposféricos y su asociación con la ocurrencia de anomalías pluviométricas extremas en Cuba. Presentado en X Congreso Latinoamericano e Ibérico de Meteorología, 3-7 marzo, 2003 (<http://www.met.inf.cu/Memorias/Paginas/Articulos/Cubanos>).
3. Bezuidenhout CC, Mthembu N, Puckree T, Lin J. Microbiological evaluation of the Mhlathuze River, KwaZulu-Natal (RSA)., 2002. (<http://www.wrc.org.za/publications/watersa/2002/July/1447>)
4. Caplenas NR, Kanarek MS. Thermotolerant non-fecal source *Klebsiella pneumoniae*: validity of the fecal coliform test in recreational waters. *Am J Publ Health* 1984;74:1273-5.
5. Dupray E, Derrien A. Influence of the previous stay of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. In waste waters on their survival in seawater. *Wat Res* 1995;29:1005-11.
6. Emiliani F, García MO. Predicción de la calidad bacteriológica de las aguas naturales en ambientes urbanos. Influencia de El Niño-Oscilación Sur. *Rev Argentina Microbiol* 2003;35:8-18.

7. Emiliani F, González SM. Calidad bacteriológica de la laguna Bedetti (Santo Tomé, Santa Fé, Argentina) y variables ambientales asociadas. *Rev Argentina Microbiol* 1998;30:30-8.
8. Emiliani F, Lajmanovich R, Gonzalez SM. *Escherichia coli*: diversidad de fenotipos bioquímicos en ambientes acuáticos (Santa Fé, Argentina). *Rev Argentina Microbiol* 2001;33: 13-23.
9. Farmer JJ III. *Enterobacteriaceae*: Introduction and Identification. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tennenover FC, Tenover RH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 1992; 438-49, Washington, DC:ASM Press.
10. González MI, Torres T, Nolasco T. Relación entre indicadores bacteriológicos y aislamiento de *Salmonella* spp. en aguas de fuentes de abastecimiento de la Ciudad de la Habana. *Acta Microbiológica Chilena* 1993;4:91-2
11. González MI, Torres T, Nolasco T. Bacterias enteropatógenas e indicadores de contaminación en aguas recreativas para campismo. En: *Salmonella* en el ambiente, 1996; *Serie Salud Ambiental No4*. INHEM, ECIMED, México.
12. González MI, Valdés M, Domínguez I. Coliformes fecales caracterizados y sus biotipos en fuentes de abastecimiento de aguas de Ciudad de la Habana. *Bol Epidemiol INHEM* 1990;14:7-12.
13. Goñi-Urriza M, Capdepuuy M, Raymond N, Quentin C, Caumette P. Impact of an urban effluent on bacterial community structure in the Arga River (Spain), with special reference to culturable Gram-negative rods. *Can J Microbiol* 1998;45:826-32.
14. Hazen T, Toranzos G. Tropical source water. En: McFeters GA, eds. *Drinking Water Microbiology*. Progress and Recent Developments. New York:Springer Verlag 1990; 33-53.
15. Instituto Nacional de Recursos Hidráulicos (INRH). Cubaagua. Cuba. Situación. Geografía física. 2002. (<http://www.hidro.cu/cuba.htm>).
16. Instituto Nacional de Recursos Hidráulicos (INRH). Cubaagua. Gestión Integrada del agua. 2003. (<http://www.hidro.cu/cuba.htm>).
17. Leclerc H, Devriese LA, Mossel DAA. A review. Taxonomical changes in intestinal (faecal) enterococci and streptococci: consequences on their use as indicators of faecal contamination in drinking water. *J Appl Bacteriol* 1996;81:459-66.
18. Painchaud J, Therriault JC, Legendre L. Assessment of salinity-related mortality of freshwater bacteria in the Saint Lawrence estuary. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:205-8.
19. Saramago CS, Siquiera MG, Marins L. Characterization of *Enterococci* isolated from human and nonhuman sources in Brasil. *Microbiol Infect Dis*, 1994;20: 61-7.
20. Sevec P, Sedilacek I. Occurrence of *Enterococcus* spp. in waters. *Folia Microbiol* 1999; 44:3-10.
21. World Health Organization. Climate Change and Human Health. McMichaels AJ, Haines A, Slooff R, Kovats S, eds. Génova;WHO, 1996. WHO/EHG/96.7.