

OCURRENCIA DE CYANOBACTERIAS Y SUS TOXINAS (MICROCISTINAS) EN AGUAS DEL RÍO DE LA PLATA: EVALUACIÓN RÁPIDA USANDO EL ENSAYO ELISA.

Ana Laura Ruibal Conti, María Inés Rodríguez, Carlos Martín Angelaccio

Instituto Nacional del Agua-Centro de la Región Semiárida

Ambrosio Olmos 1142. 5000 Córdoba. (0351) 4682781. Fax: 4682782. E-mail:

alruibal71@yahoo.com.ar

RESUMEN

El Río de la Plata es un río binacional con características únicas. Tiene una longitud de 300km y un ancho máximo de 200km. Debido a que tiene un área amplia de descarga dentro del mar, es un sistema complejo influenciado por mareas y vientos. El río es usado con diferentes propósitos: recreación, transporte, pesca y como fuente de agua potable. Recientemente, sus aguas costeras han presentado floraciones de cyanobacterias, las cuales han generado preocupación entre las autoridades públicas debido al potencial efecto tóxico sobre la salud. Ante este hecho se monitorearon 17 puntos en el río (principalmente aquellos usados como áreas recreativas) a los fines de evaluar la biomasa de cyanobacterias y la concentración de sus toxinas (microcistinas) y así caracterizar rápidamente la situación imperante a finales de Enero del 2004. El análisis de fitoplancton reveló la presencia de *Merismopedia sp.*, *Oscillatoria sp.*, *Microcystis sp.* y *Chroococcus sp.* cuya densidad total varió desde valores muy bajos (262 cél/ml) hasta 4×10^6 cél/ml. Las Cyanobacterias fueron dominantes sólo en una estación de monitoreo, donde *Microcystis sp.*, había desarrollado masivamente. Por otro lado, *Merismopedia sp.* fue el género más frecuentemente hallado y el único presente en el 50% de las muestras. Para la evaluación de la concentración de microcistinas totales (T-MC) se usó el ensayo inmuno enzimático (ELISA). Las concentraciones de T-MC variaron entre niveles no detectables ($<0.16 \mu\text{g/l}$) y niveles muy elevados ($>2500 \mu\text{g/l}$). Se presenta en este trabajo los criterios empleados para la selección de puntos de muestreo, así como la técnica de tratamiento y análisis de las muestras. Asimismo se muestran los resultados obtenidos y se proponen algunos criterios de gestión para el manejo de floraciones algales en aguas para uso recreativo.

Palabras Claves: calidad de agua, uso recreativo, cyanobacterias, microcistinas, ELISA.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo masivo de cyanobacterias en cuerpos de agua continentales genera serios problemas para la utilización del recurso. El desarrollo de cepas productoras de toxinas tanto en sistemas hídricos continentales como en algunas aguas costeras, es un hecho común en diversas partes del mundo. De este modo las toxinas producidas por cyanobacterias (cyanotoxinas) se han convertido en un hecho de gran preocupación en relación a la salud pública. Adicionalmente, altas biomásas de cyanobacterias pueden contribuir a la aparición de problemas estéticos, deteriorar el uso recreativo y afectar el sabor y olor del agua potabilizada.

Las cyanobacterias son un componente frecuente de muchos ecosistemas de agua dulce y marina. Bajo ciertas condiciones, especialmente donde las aguas son ricas en nutrientes y expuestas a la luz solar, las cyanobacterias pueden multiplicarse hasta alcanzar altas densidades, cuando esta proliferación es dominada por una especie o por algunas pocas, dicho fenómeno se conoce como “floración”.

La preocupación de la salud pública en relación a las floraciones algas Cyanophytas se centra en la capacidad de dichas especies y/o cepas de producir toxinas llamadas cyanotoxinas. Las cyanotoxinas podrían enmarcarse en dos de las categorías de la clasificación de las enfermedades asociadas con el agua:

- a) enfermedades transmitidas por el agua cuando es ingerida.
- b) enfermedades de contacto directo a través de la exposición por uso recreativo.

La exposición a algas Cyanophytas, puede causar problemas de salud leves (dermatitis, problemas gastro- intestinales) y problemas de toxicidad mas graves con efectos agudos y crónicos (hepatotóxico, neurotóxico y promotor de cáncer hepático).

Varios géneros y especies de cyanobacterias producen diferentes compuestos tóxicos clasificados generalmente como neurotoxinas, hepatotoxinas, citotoxinas y endotoxinas. Las más frecuentemente encontradas son las hepatotoxinas genéricamente llamadas microcistinas y la remoción de las mismas de los cuerpos de agua que contienen cianobacterias tóxicas es difícil, porque algunas formas son estables y resistentes a la hidrólisis química u oxidación y pueden persistir durante meses o años y permaneciendo potentes aun después de ser sometidas a ebullición.

Las cyanotoxinas pertenecen a diversos grupos de sustancias químicas, donde cada uno de los grupos muestra mecanismos específicos de toxicidad en vertebrados. Algunas cyanotoxinas son fuertes neurotoxinas (anatoxina-a, anatoxina-a(S), saxitoxina), otras son primariamente tóxicas para el hígado (microcistinas, nodularina y cylindrospermopsina), y otras tales como lipopolisacáridos parecen ser la causa de desarreglos en la salud tales como gastroenteritis, pero su acción es aún escasamente entendida.

Geográficamente, las microcistinas son las más ampliamente distribuidas en las aguas dulces. Recientemente, han sido también identificadas en ambientes marinos aunque no se conoce con claridad que organismo contiene esas toxinas.

Los objetivos del presente trabajo fueron: Identificar y cuantificar los géneros de algas potencialmente tóxicas presentes en las aguas del Río de la Plata, evaluar la concentración de toxinas algales (microcistinas) y proponer criterios para interpretar los resultados y presentar estrategias para el manejo de un cuerpo de agua que presenta floraciones de cyanobacterias y se destina tanto para uso recreativo como para fuente de agua potable.

DESCRIPCIÓN AREA DE ESTUDIO

El Río de La Plata posee una longitud cercana a los 300 kilómetros, un ancho de 40 km en

su parte más estrecha, y de 200 kilómetros en el sector de su desembocadura. Su superficie se estima en 30.000 kilómetros cuadrados aproximadamente. Separa los territorios de la República Argentina y del Uruguay (Figura 1).

El Río de la Plata representa la salida de la cuenca del mismo nombre, que abarca parcialmente los territorios de Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay. Es el resultado del aporte de dos grandes ríos, el Paraná con un caudal del orden de los 17.000 m³/s y el Uruguay con un caudal aproximado de unos 5.000 m³/s, y que acarrearán una gran cantidad de material en suspensión, lo que le confiere a sus aguas un color amarillado característico. Su escasa profundidad media constituye un factor negativo para su autodepuración. Sin embargo, también existen características que favorecen dicho proceso: la riqueza y variedad del plancton, su importante caudal y su gran dinámica (AGOSBA-OSN-SIHN,1992).



Figura 1: Ubicación del área de estudio
(figura extraída de SPA-DEyRN (2002))

Las ingresiones de agua marina en el Río de la Plata provocadas principalmente por la acción de las mareas —que se perciben claramente hasta la ciudad de La Plata— y en menor medida por la Sudestada, producen un gradiente de salinidad a lo largo de un extenso tramo del Río de La Plata, que determina en base a estas variaciones, dividirlo en tres regiones (SPA-DEyRN, 2002):

1. Una zona externa que incluye aguas salobres entre Punta Piedras - Punta Brava, y Punta Rasa - Punta del Este.
2. Una intermedia o mixohalina, de aguas dulces con influencia marina en el sector interno, que ocupa una superficie entre Pta. Brava – Pta. Piedras y la línea formada entre las ciudades de La Plata y Colonia.
3. Una zona interna, de aguas dulces, ubicada aguas arriba de la anterior.

Geográficamente, en el Río de la Plata, se distinguen dos sectores costeros: un sector costero norte, que corresponde al margen uruguayo, y un sector costero sur (llamado muchas veces Franja Costera del Sur) que abarca desde la desembocadura del Río Luján hasta la localidad de Magdalena, en la República Argentina.

El área estudiada en el presente trabajo se encuentra en la región intermedia y en la franja costera sur que se extiende desde la costa de la localidad de Hudson hasta la playa La Balandra en el partido de Magdalena, comprendiendo los partidos de Ensenada y Berisso.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de muestreo y las estaciones de monitoreo se seleccionaron en función a los objetivos anteriormente mencionados. Las muestras de agua superficial (20cm del pelo de agua) se tomaron el día 29 y 30 de Enero del 2004 y fueron extraídas de la Zona Costera del Río de la Plata (desde Hudson hasta Playa la Balandra), Río abierto, Zona Portuaria y Río Santiago (Figura 3 y Tabla 1)

El monitoreo se realizó en dos etapas:

1. Muestreo por agua: usando una embarcación mayor (guardacosta) con la cual se accedió a lugares de río abierto y una embarcación menor (bote de goma a motor) que se usó para llegar al lugar de toma de muestra. Se realizó el día 29 de Enero.

2. Muestreo por Tierra: Se realizó el día posterior al muestreo por agua (30 de Enero). Las muestras se tomaron desde la costa en lugares de profundidad aproximada de 1 m. En la zona de playas se extrajeron muestras adicionales de agua acumulada en charcos donde es propicio que se desarrollen las algas masivamente y que jueguen niños.

Se tomaron muestras para identificación y recuento de fitoplancton y para la determinación de la concentración de toxinas (microcistinas totales) en 17 estaciones de muestreo (ver Tabla N° 2 y Fig.2.). En cada estación se midieron parámetros in-situ a saber: Disco de Secchi, pH, conductividad, Oxígeno Disuelto y temperatura. Los últimos tres parámetros midieron con una sonda multiparamétrica HORIBA U-10. Los datos de pH fueron medidos con cintas individuales multindicador de pH Macherey-Nagel.

Las muestras tomadas para el análisis del fitoplancton (1L) fueron conservadas con lugol en una concentración final aprox. de 3⁰/₁₀₀ o hasta que la muestra tomara coloración. La muestra para la determinación de la concentración de toxinas fue una alícuota tomada de la muestra para fitoplancton sin conservar, y se mantuvo en cadena de frío conservándose finalmente en freezer. El análisis de fitoplancton se realizó por sedimentación y lectura en Cámara Fuchs-Rosenthal. Para el análisis de microcistinas las muestras líquidas se sometieron a proceso de pretratamiento que consistió en una serie de congelamientos y descongelamientos (tres veces) para lograr la lisis celular y liberación de las toxinas. Posteriormente se filtró por filtros de membrana de 0.45 micras. El análisis de la toxina se realizó por método inmunoenzimático (Envirologix).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

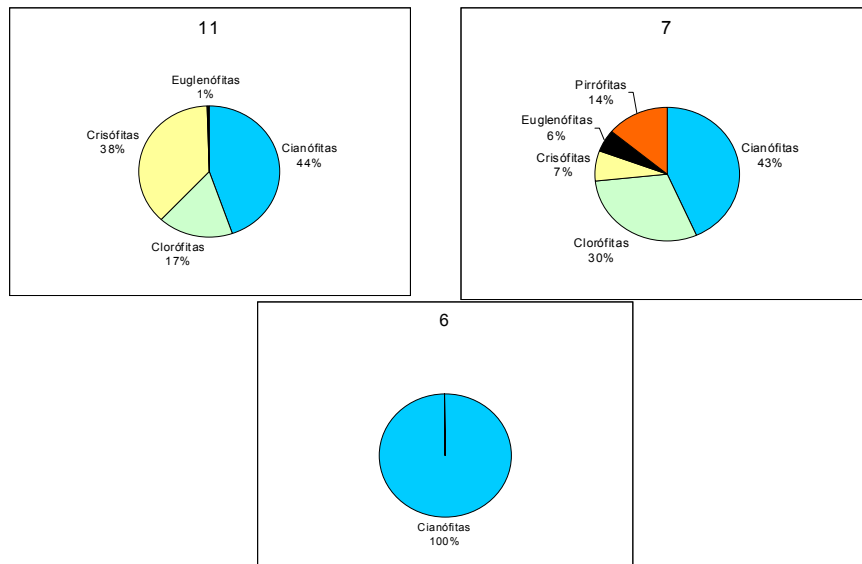


Figura 2: Composición fitoplanctónica porcentual (Estaciones de muestreo: 11: Hudson, 7: Canal Oeste Isla Santiago, 6: Destacamento de Prefectura)

El estudio microscópico reveló que la comunidad fitoplanctónica estuvo constituida por las siguientes taxas: Euglenophyta, Chlorophyta, Cyanophyta, Chrisophytas, Criptophytas, Pyrrophytas (Figura 2). Los grupos dominantes en la mayoría de las estaciones de monitoreo son las Chlorophytas y Chrisophytas. Las Cyanophytas en general se encuentran en baja proporción, son abundantes en el punto 11 y 7 y dominantes en el punto 6 (Destacamento de Prefectura) coincidente, esta última, con el bloom y acúmulo algal de donde se extrajo la muestra .

Dentro de las Cyanophytas, los géneros hallados fueron *Microcystis*, *Oscillatoria* y *Merismopedia*. *Oscillatoria* puede producir neurotoxinas además de las microcistinas. El género más abundante (Tabla 1) y frecuentemente encontrado es *Merismopedia sp.* *Microcystis sp.* se presenta como dominante frente a otras cyanobacterias en los puntos de la Toma de Agua, Destacamento Prefectura y Río Santiago entre arroyo Maní y Largo. Por otro lado, *Oscillatoria sp.* domina en Canal Oeste de Isla Santiago, Canal de conexión entre Río Santiago y Río la Plata y en la estación Club Regatas.

Estación de muestreo	<i>Microcystis sp</i> (%)	<i>Oscillatoria sp.</i> (%)	<i>Merismopedia sp.</i> (%)	<i>Chroococcus sp</i> (%)
1-Puente Berisso (canal del saladero)	nd	nd	100	nd
2-Boca Cerrada (2.5km desde costa)	nd	nd	100	nd
3-Diagonal 74 (aprox. 2 Km desde la Costa)	nd	nd	100	nd
4-Toma de Agua (Club de peca la Plata)	91	nd	9	nd
5-Toma de Agua (aprox. 1km desde la Costa)	nd	nd	100	nd
6-Destacamento Prefectura Monte Santiago	100	nd	nd	nd
7-Canal Oeste Isla Santiago	10	64	26	nd
8-Río Santiago entre Arroyo Maní y Largo (frente astillero)	57	nd	43	nd
9-Club de Regatas La Plata.	20	50	20	10
10-Cabecera Puerto Local	nd	nd	nd	nd
11-Hudson	nd	nd	100	nd
12-Boca Cerrada (costa)	nd	nd	100	nd
13-Segunda Rotonda (Muelle)	nd	nd	100	nd
14-Playa La Pérgola	nd	nd	100	nd
14'-Playa La Pérgola (charco)	nd	nd	nd	nd
15-La Playita	nd	nd	100	nd
15'-La Playita (charco)	30	0	70	nd
16-Canal de conexión entre Río Santiago y RLP	41	59	0	nd
17-Playa La Balandra.	nd	nd	nd	nd

El análisis de microcistinas reveló que el 75% de las muestras dieron positivas, sin embargo las concentraciones halladas son en un 62%, de las muestras muy bajas y no superan 1 µg/l. Aquellas muestras que presentan concentraciones mayores de 10 µg/l (muestras 1,2 y 8) deberán confirmarse la presencia, concentración y el tipo de toxina por técnicas analíticas más precisas.

Los valores extremadamente altos encontrados en el punto 6 coinciden con el tipo de acumulación algal encontrada y con la información histórica sobre la toxicidad de muestras tomadas del mismo punto.

En la Tabla 2 se resumen los datos de microcistinas y las correspondientes densidades de cianobacterias hallados en cada estación.

Tabla 2: Resumen de los datos obtenidos en cada estación. Valores de microcistinas totales y de cianobacterias

CODIGO	DESCRIPCIÓN	Microcistinas (µg/l)	Presencia de Cyanophyta s	
			%	Cél/ml
1	Próximo Pte Berisso (canal El Saladero)	Entre 2.5 y 12.5	6	437
2	Boca Cerrada (aprox. 2.5Km desde costa)	Entre 2.5 y 12.5	5	735
3	Diagonal 74 (aprox. 2Km desde costa)	No detectable*	18	375
4	Toma de Agua (Club de Pesca La Plata)	3.62	21	687
5	Toma de Agua (Aprox. 1Km desde costa)	No detectable*	6	262
6	Destacamento Prefectura de Monte Santiago	>2500	100	423 10 ⁶
7	Canal Oeste Isla Santiago	No detectable*	43	2583
8	Río Santiago Entre Río Arroyo Maní y Largo	12.5	26	2068
9	Club Regatas La Plata	No detectable*	14	1600
10	Cabecera Puerto Local	0.21	No observadas	No observadas
11	Hudson	0.19	44	25625
12	Boca Cerrada (costa)	4.46	16	700
13	Segunda Rotonda (muelle)	0.29	27	600
14	Playa La Pérgola	0.90	3	200
14'	Playa La Pérgola (charco)	0.54	No observadas	No observadas
15	La Playita	0.25	7	1200
15'	La Playita (charco)	0.29	26	3930
16	Canal de Conexión entre Río Santiago y RLP	0.16	22	1328
17	Playa la Balandra	0.85	No observadas	No observadas
* no detectable: <0.16 ppb				

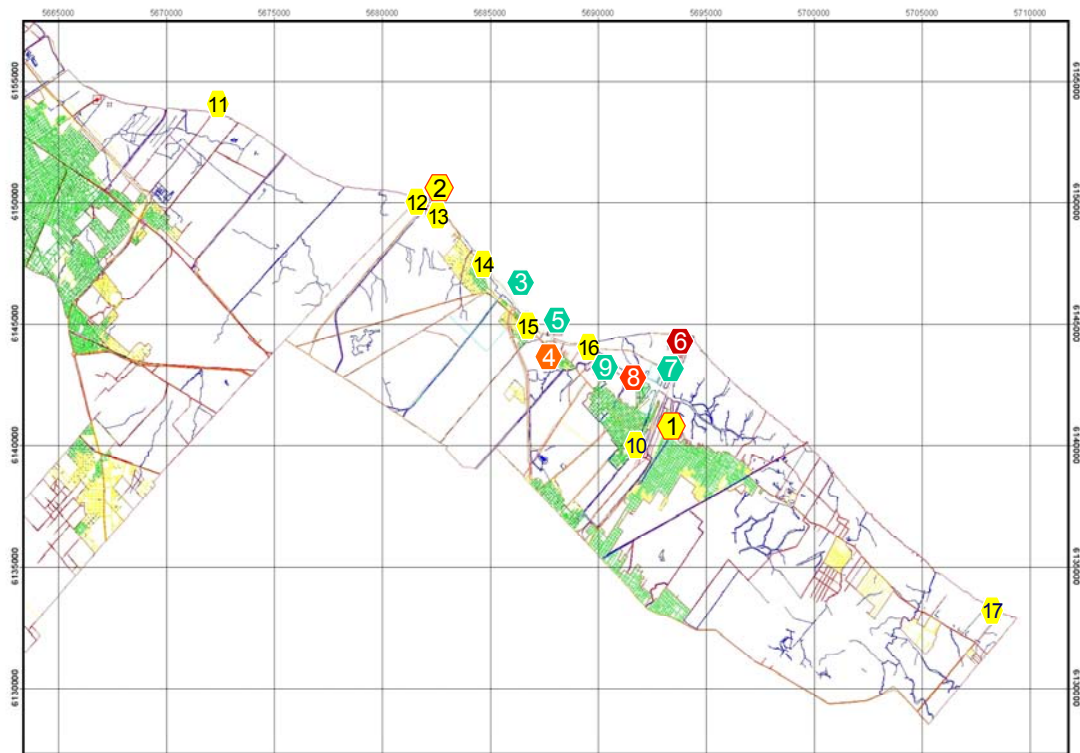
Debido a la complejidad para establecer un valor guía para el uso recreativo, la organización mundial de la salud (OMS) sugiere valores guías asociados a la mayor o menor probabilidad de efectos nocivos en función a la densidad de las cianobacterias (expresadas en células/ml) y a la concentración de clorofila-a. Para bajas probabilidades de efectos adversos, se sugiere un valor de 20 000 células/ml. A esta densidad algal se podrían esperar concentraciones máximas de 10 µg/l de microcistinas (Chorus & Bartram, 1999).

En función a lo sugerido por la OMS, se ordenaron los valores de microcistinas totales en tres rangos:

- NO DETECTABLE (<0.16 µg/l)
- MENOR DE 1 µg/l (valor guía para en agua potable)
- MAYOR DE 10 µg/l

En la Figura 3 se presentan los valores de microcistinas totales hallados en cada estación. Los valores correspondientes al rango A, se graficaron en verde, aquellos correspondientes la rango B en amarillo y los del rango C en rojo.

En la zona costera, las concentraciones de microcistinas se encuentran por debajo 10 µg/l, inclusive debajo de los límites propuestos por otras agencias como la Agencia Federal Ambiental Alemana (Chorus, 2001) quien sugiere 100 µg/l. En la zona de playas se extrajeron muestras adicionales de agua acumulada en charcos donde es propicio que desarrollen las algas masivamente y pueden jugar niños. Si bien las concentraciones son bajas, estos puntos podrían ser vías importantes de exposición a la toxina y deberían ser vigilados particularmente.



Una zona altamente crítica es en las proximidades del destacamento de prefectura (estación 6) donde se observó una floración algal marcada y consecuentemente las concentraciones de microcistinas superan ampliamente los valores guías. Adicionalmente es un lugar de fácil acceso para personas y animales pudiendo los mismos entrar en contacto con el agua y sufrir serios problemas de salud. Esta estación correspondería a las Situación III: Alto Riesgo de Efectos Adversos, de la clasificación propuesta por la OMS y requiere acción inmediata.

Algunas zonas del Río Santiago (estaciones 8,10,16,1) también presentaron algas Cyanophytas tóxicas. En el caso del punto de muestreo 8, si bien en esta estación no se observó personas bañándose, las proximidades a este punto es ampliamente usada como lugar recreativo.

Otro punto crítico es en la estación llamada Toma de Agua ya que se hallaron concentraciones de toxinas en la zona. Esta situación se ubica en el NIVEL DE ALERTA 1 (fig 4.2). En este sentido es importante poner de manifiesto que los muestreos fueron tomados aproximadamente a 50m del comienzo de la dársena de toma, desconociéndose la geometría del sistema de la toma. Se sugiere prestar especial atención a este tema en el área de la toma, incorporando muestreos de agua cruda en el ingreso a la planta potabilizadora y agua tratada a la salida de la misma.

CONCLUSIONES

En relación al análisis de las microcistinas, existe un número variable de técnicas para la determinación las mismas, las cuales varían desde ensayos inmunológicos y bioquímicos hasta

métodos cuantitativos y sofisticados. El ensayo ELISA usado en este trabajo resultó muy útil a los fines de realizar una evaluación rápida de la situación. Los valores de microcistinas críticos deben ser confirmados por técnicas analíticas apropiadas

Del estudio del fitoplancton se observa que las Cyanophytas se presentan como grupo dominantes sólo en el área del Destacamento de Prefectura donde se observó una floración algal y la acumulación de las mismas en forma de nata verdosa (scum). En el resto de los puntos de muestreo, se encuentran en porcentajes bajos. Los resultados arrojados también muestran la presencia de algas potencialmente productoras de toxinas diferentes a las microcistinas ej: Oscillatoria, y Gymnodium. Oscillatoria puede también producir neurotoxinas y Gymnodium si bien no pertenece al grupo de las Cyanophytas se lo conoce por la capacidad de producir saxitoxinas, compuestos altamente tóxicos que se pueden acumulan en bivalvos filtradores. Por lo tanto se aconseja profundizar los estudios al respecto.

En algunos casos se observa la presencia simultánea de toxina y el género Merismopedia. Dicho género ha sido mencionado como tóxico escasamente en la bibliografía. De esta situación se desprenden dos posibilidades: la presencia de toxina se debe a una permanencia en el tiempo de la misma (habiendo sido producida por otro género de alga) o bien podría estar asociada a la presencia de Merismopedia. Se recomienda profundizar los estudios utilizando técnicas analíticas de mayor precisión y cultivos algales.

Debido a la positividad de los resultados, a las características biológicas de las algas Cyanophytas, las que le permiten desarrollarse masivamente y con ventajas frente a otro tipo de algas, y al hecho de que el cuerpo de agua también se usa como recurso pesquero, se aconseja realizar monitoreos de vigilancia acompañados de mayores estudios sobre toxicidad, concentración y bioacumulación de las toxinas así como las condiciones ambientales para el desarrollo de algas. En general la Zona del Río Santiago, por su hidrodinámica, es particularmente propicia para el desarrollo de floraciones algales y debería ser vigilada regularmente.

Evaluar el peligro potencial en cuerpos de agua es complicado debido a los numerosos sitios en los cuales la gente puede entrar o permanecer y por la heterogeneidad y el rápido cambio de las distribuciones de las poblaciones de cyanobacterias, especialmente los acumulos de algas que pueden formarse por el viento. La formación de acumulaciones de cyanobacterias (scum) presenta un problema para el monitoreo de rutina que se lleva a cabo en intervalos de una o dos semanas porque dicho intervalo de monitoreo es improbable que detecte el máximo peligro. A concentraciones de 100 000 células/ml el scum se puede formar muy rápidamente. Por lo tanto una gran parte de la responsabilidad para prácticas seguras recae en los usuarios del sitio de baño y corresponde a las autoridades informar adecuadamente.

El monitoreo visual de las acumulaciones de algas en las inmediaciones de las zonas de baño consideradas de riesgo, es crucial para la protección de la salud humana y es relativamente fácil de realizar. Las personas encargadas de los sitios de baño pueden involucrarse en esta tarea. Más aún la participación del público en el monitoreo de las cyanobacterias es importante (particularmente "exploración de scums"). Esto implica educar sobre la apariencia y la toxicidad de las acumulaciones así como un buen reconocimiento de las cyanobacterias en altas densidades cuando no forman scums.

Países con cuerpos de agua que históricamente presentan desarrollos masivos algas tóxicas y con problemas de salud derivados de ésta situación han desarrollado guías para el manejo del riesgo en aguas recreativas basados en niveles alertas y categorización de los cuerpos de agua. Estos niveles a su vez, están asociados a programas de comunicación y monitoreo permanente. Tal es el caso de Australia, Finlandia, Francia, Dinamarca y Holanda. En el caso particular de Finlandia se generan mapas de riesgo basados en las observaciones microscópicas de muestras recolectadas por institutos de investigación y observaciones visuales desde la costa, embarcaciones náuticas, o aéreas con la participación de guardacostas, scouts y otros observadores voluntarios (<http://www2.fimr.fi/project/algaline/algauetu.htm>)

En el presente trabajo se ha considerado la presencia de algas existentes en una situación temporal que responde a una situación ambiental determinada por múltiples factores, sin hacer ningún tipo de consideración al respecto. Se considera de vital importancia la realización de estudios limnológicos sistemáticos en el área, a fin de poder interpretar la dinámica del ecosistema y poder conocer las causas que generan las floraciones, pudiendo de este modo actuar de manera preventiva, a través de programas de vigilancia, para el control de este tipo de problemas.

AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento al Dr. Daniel Lerda por su apoyo para el análisis de las microcistinas. Las tareas de monitoreo se realizaron con el apoyo del personal técnico de la SPA y Prefectura Naval Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

Chorus I, Bartram J, ed. (1999) *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Published by E & FN Spon on behalf of the WorldHealth Organization.

Chorus, I. (Ed.) (2001). *Cyanotoxins. Ocurrence, Causes, Consequences*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

SPA-DEyRN (2002). Secretaría de Política Ambiental Dirección de Ecología y Recursos Naturales. “Programa de Monitoreo. Río de la Plata. Franja Costera Sur. Avellaneda/Magdalena”. Informe Interno.

AGOSBA-OSN-SIHN (1992). “Río de la Plata. Calidad de las Aguas Franja Costera Sur. (San Isidro-Magdalena)”. Informe de Avance.