

# La sensibilidad del grupo coliforme como indicador de la presencia de enterobacterias patógenas en cuatro cuerpos acuáticos de México

## The coliform group sensitivity as indicator of the enteropathogenic bacteria presence in four water bodies from Mexico

Guadalupe Barrera-Escoria,<sup>1</sup> Carlos Leopoldo Fernández-Rendón,<sup>1</sup> Irma Wong-Chang<sup>2</sup> y Patricia Ramírez Romero<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Ecotoxicología, Departamento de Hidrobiología, Div. CBS, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D. F. A.P. 55-535. México

<sup>2</sup> Laboratorio de Contaminación Marina, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., A.P. 70-305. México  
e-mail: gube@xanum.uam.mx

---

Barrera-Escoria G., C. L. Fernández-Rendón, I. Wong-Chang y P. Ramírez Romero. 2013. La sensibilidad del grupo coliforme como indicador de la presencia de enterobacterias patógenas en cuatro cuerpos acuáticos de México. *Hidrobiológica* 23 (1): 87-96.

### RESUMEN

La contaminación microbiológica en los cuerpos acuáticos se caracteriza a través de la detección de organismos indicadores como las bacterias coliformes totales (CT) y fecales (CF). El objetivo de este trabajo fue determinar la sensibilidad de estos indicadores para predecir la presencia de enterobacterias patógenas en cuatro cuerpos acuáticos mexicanos. Dos con mayor influencia humana: lago de Pátzcuaro, Mich. y ecosistema lacustre de Xochimilco, D. F y dos con menor: la laguna de Metztitlán, Hgo. y el lago Zirahuén, Mich. Se cuantificaron coliformes totales y coliformes fecales en agua y sedimento por la técnica del Número Más Probable y se aislaron bacterias entéricas del agua mediante el uso de medios de cultivo selectivos. Se evaluaron: el índice de sensibilidad, el riesgo atribuible y la presencia-ausencia de indicadores y patógenos. Pátzcuaro y Xochimilco mostraron alta contaminación bacteriana. El sedimento presentó mayor concentración de CT y CF que el agua. Los CF mostraron ser indicadores más confiables para predecir la presencia de *Salmonella* y *Shigella*, con una sensibilidad para cada género de 60 y 75% y un riesgo atribuible del 58 y 67%. Los CF mostraron una relación presencia-ausencia con un porcentaje de casos verdaderos del 82 a 88%. En contraste, los CT mostraron un riesgo atribuible bajo (inferior a 27%) y un alto porcentaje de falsos positivos (65%), lo que impidió considerarlo como un buen indicador. Es conveniente evaluar la presencia de indicadores y patógenos simultáneamente para determinar el riesgo sanitario al caracterizar la calidad microbiológica en ecosistemas acuáticos.

**Palabras clave:** Calidad sanitaria, coliformes fecales, embalses mexicanos, patógenos.

### ABSTRACT

Microbiological pollution in water bodies is characterized through the detection of indicator organisms like total coliform (TC) and fecal coliform (FC) bacteria. The objective of the present paper was to determine the sensibility of these indicators of the presence of pathogenic enterobacteria in four Mexican aquatic systems. Two with major anthropogenic influence: Patzcuaro Lake and Xochimilco Lake ecosystem; and two with less: Metztitlán Lagoon and Zirahuén Lake. TC and FC were quantified with the Most Probable Number technique in water and sediment and enteric bacteria were isolated in water using selective culture media. The sensibility index, the risk attributable, and the presence-absence of indicators and pathogens were evaluated. Patzcuaro and Xochimilco showed high bacterial pollution. The sediment presented higher concentrations of total and fecal coliforms than water. FC were the most reliable indicators

to predict the presence of *Salmonella* and *Shigella*, with a sensitivity of 60 and 75%, an attributable risk of 58 and 67% for each genus. FC showed a presence-absence relationship with a percentage of true cases of 82 to 88%. In contrast, TC showed a low attributable risk, inferior to 27% and a high percentage of false positives (65%), which impede to consider it a good indicator. It is convenient to evaluate the presence of indicators and pathogens simultaneously to determine the sanitary risk when characterizing microbial water quality in aquatic ecosystems.

**Key words:** Fecal coliform, mexican water bodies, pathogens, sanitary quality.

## INTRODUCCIÓN

Existen diversos embalses que reciben agua residual sin tratamiento, que introduce microorganismos (virus, bacterias y protozoarios) en ellos. Esto deteriora su calidad, los inhabilita para diferentes usos y representa riesgos a la salud humana (Barrel *et al.*, 2000). Conocer la calidad sanitaria del agua es básico para establecer su uso, ésta se puede determinar a través de indicadores, los cuales son diferentes en cada país, por ejemplo, en la Unión Europea se utilizan las concentraciones de *Escherichia coli* (Migula, 1895) y enterococos intestinales según la Directiva 2006/7/CE (DOUE, 2006). En México, se establece con base en las concentraciones de bacterias coliformes fecales en muestras de agua (SEMARNAP, 1998; CONAGUA, 2009), sin embargo, la detección de patógenos también es importante. Si bien, las bacterias pueden identificarse por técnicas rápidas y precisas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa, las normas mexicanas consideran hasta el momento los métodos convencionales de cultivo. Tanto los microorganismos indicadores como los patógenos pueden sobrevivir en el sedimento, desde el cual pueden ser suspendidos a la columna de agua (Davies *et al.*, 1995; Haller *et al.*, 2009), sin embargo, su presencia en sedimento no se considera en la legislación.

Las características ideales de un buen indicador sanitario incluyen: a) estar limitados al hábitat intestinal; b) ser detectados en la muestra cuando los patógenos fecales están presentes; c) mostrar mayor resistencia que los patógenos frente a desinfectantes y condiciones adversas en el ambiente; d) ser incapaces de multiplicarse en el ambiente; e) de detección fácil, rápida y con métodos económicos; y f) la densidad del indicador debe correlacionarse con el grado de contaminación fecal o con el riesgo a la salud (Leclerc *et al.*, 2001; Barrera-Escoria & Wong-Chang, 2005; Savichtcheva & Okabe, 2006).

Las bacterias coliformes son indicadoras de contaminación fecal y por lo tanto, de la posible presencia de otros patógenos como virus, bacterias, protozoos y fases enquistadas de metazoarios (Harwood *et al.*, 2005; Savichtcheva & Okabe, 2006). Se asume que los indicadores y las bacterias patógenas pueden encontrarse juntos o estar relacionados, aunque no siempre se observa relación con la presencia de patógenos (Goyal *et al.*, 1977; Moriñigo *et al.*, 1990; Efstratiou *et al.*, 1998; Polo *et al.*, 1998; Lemarchand & Lebaron, 2003; Gabutti *et al.*, 2004). De acuerdo con Ashbolt *et al.* (2001), es recomendable seleccionar el indicador

más adecuado a las condiciones locales, pero en México no se ha evaluado recientemente la eficacia de estos indicadores. De manera que se planteó como objetivo conocer la eficiencia de las bacterias coliformes para indicar la presencia de enterobacterias patógenas como *Salmonella* y *Shigella*, para esto se analizaron los resultados obtenidos en cuatro cuerpos acuáticos mexicanos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de estudio.** Se analizaron dos ambientes con mayor influencia de actividades humanas (Pátzcuaro y Xochimilco) y dos con menor (Metztitlán y Zirahuén).

**I. Lago de Pátzcuaro.** Este tiene una extensión de 90 km<sup>2</sup> y una profundidad media de 4.0 m, se localiza en los 19°37' de Latitud N y los 101°37' de Longitud W, en el estado de Michoacán. El agua llega al lago mediante corrientes subterráneas y superficiales. Recibe sedimentos, nutrientes y contaminantes por la deforestación y el proceso erosivo del suelo, residuos producto de la elaboración de artesanías, además de aguas negras, fertilizantes y biocidas, que al no tener salida se acumulan, por lo que actualmente se cataloga como eutrófico (Rosas *et al.*, 1993). Los asentamientos humanos en Pátzcuaro se establecieron desde hace más de dos mil años. Actualmente las poblaciones de Pátzcuaro, Quiroga y Erongarícuaro se asientan en la ribera de este lago (Fisher *et al.*, 2003; Orbe-Mendoza & Acevedo, 2002).

**II. Lago de Zirahuén.** Se localiza en el estado de Michoacán (19° 25' N y 101° 45' W), posee una superficie de 10.48 km<sup>2</sup> y alcanza una profundidad máxima de 43 m, tiene menor impacto de actividades humanas y está clasificado como oligotrófico (Chacón & Rosas-Monge, 1998). Recibe aportes de arroyos y manantiales. En época de lluvias ingresan sedimentos desde bosques y de zonas agrícolas, que han incrementado la turbidez del agua y ocasionan la pérdida de la cuenca lacustre. Se ha observado que existe efecto potencial de contaminantes en especies nativas por lo que algunas de ellas están amenazadas y en peligro de extinción (Bernal, 1995; Madrigal *et al.*, 2004).

**III. Ecosistema lacustre de Xochimilco.** Se localiza en la zona sur de la Ciudad de México (19° 16' N y 99° 05' W), y está constituido por un sistema de canales con agua, que son remanentes del lago original. Es un lugar turístico importante y su agua es usada para riego de plantas ornamentales y hortalizas. El agua

presenta grandes cantidades de bacterias coliformes debido a la existencia de descargas de asentamientos irregulares, fugas del sistema de drenaje, así como fuentes dispersas por fecalismo a cielo abierto. Recibe agua residual parcialmente tratada que se utiliza para recuperar el volumen y llevar a cabo el riego de hortalizas (Juárez-Figueroa *et al.*, 2003; Soto-Castor & Esquivel-Herrera, 2003).

**IV. Laguna de Metztitlán.** Este cuerpo acuático ( $20^{\circ} 41' N$  y  $98^{\circ} 52' W$ ) se encuentra en el estado de Hidalgo, es una cuenca endorreica, cuyo espejo de agua es muy cambiante año con año, su profundidad promedio es de 3 m, aunque ocasionalmente ha llegado a secarse por completo. Es un cuerpo acuático polimíctico eutrófico, con poca visibilidad, apenas 25 cm, en él se practica la pesca local de especies introducidas. El área que rodea la laguna es hábitat de especies vegetales importantes, por lo que se ha catalogado como Reserva de la Biosfera. Recibe aportes de agua provenientes de zonas agrícolas y poblados ubicados en sus márgenes, por lo que se ha incrementado la presencia de contaminantes del tipo de los plaguicidas, materia orgánica y microorganismos (Fernández *et al.*, 2007).

**Trabajo de campo.** Los muestreos de agua y sedimento se realizaron durante las épocas de estiaje y lluvia. En Pátzcuaro se tomaron muestras en tres localidades en febrero y cuatro en junio de 2005. En Zirahuén se colectó en un sitio en junio del mismo año. En Metztitlán se muestrearon cinco localidades en diciembre de 2007 y seis en mayo de 2008. En Xochimilco se tomaron diez muestras por triplicado en un punto durante los meses de abril-mayo y agosto-septiembre de 2008 (Fig. 1). En total se procesaron 49 muestras de agua y 49 de sedimento.

El agua se colectó 10 cm por debajo de la superficie con frascos estériles de 100 mL de capacidad para cuantificar el Número Más Probable (NMP) de bacterias coliformes totales y fecales. También se tomó un litro de agua en botellas estériles para el aislamiento de bacterias entéricas. Para la determinación del NMP en el sedimento, éste se colectó con una draga tipo van Veen y de la capa superficial se extrajo la muestra con una jeringa despuntada estéril de 20 mL (Wright *et al.*, 1996). Todas las muestras fueron colocadas en hielo y transportadas a  $4^{\circ} C$  para su procesamiento en el laboratorio antes de transcurrir 24 h.

**Determinación de bacterias coliformes.** El recuento de coliformes en agua y sedimento se determinó por la técnica de tubos múltiples para obtener el Número Más Probable (NMP) de acuerdo a la PROY-NMX-AA-042/1-SCFI-2008 (DOF, 2008). Las muestras de agua se sembraron directamente y se realizaron diluciones para sembrar hasta  $10^{-7}$ , las muestras de sedimento se diluyeron hasta  $10^{-8}$ . Para el enriquecimiento se utilizó caldo lactosado (incubado a  $37 \pm 0.5^{\circ} C$  durante 24 y 48 h), los tubos positivos se resembraron en caldo bilis verde brillante al 2% (incubado a  $37 \pm 0.5^{\circ} C$  por 24 y 48 h) para la confirmación de coliformes totales (CT), y en caldo *Escherichia coli* (EC) (incubado a  $44.5 \pm 0.5^{\circ} C$  durante 24 y 48 h) para la confirmación de coliformes fecales (CF). Se estableció la calidad sanitaria de las muestras de agua de acuerdo a la legislación mexicana vigente (SEMARNAP, 1998; CONAGUA, 2009).

**Identificación de bacterias entéricas.** Se filtró un litro de agua con una membrana de poro de 0.45  $\mu m$ , ésta se incubó en agua peptonada a  $35^{\circ} C$  durante 24 h, y después se resembró en caldo tetracionato y caldo selenito cistina (ambos incubados a  $35^{\circ} C$  durante 18 a 20 h). De cada uno se sembró por estría en medios



Figura 1. Ubicación de las localidades y sitios de muestreo. a) Lago de Pátzcuaro: 1) Frente a Quiroga, 2) Isla de Janitzio, 3) Muelle de Pátzcuaro, 4) Dren Guaní; b) Lago Zirahuén: 5) Muelle; c) Ecosistema lacustre de Xochimilco: 6) Embarcadero Nativitas; d) Laguna de Metztitlán: 7) Sur, 8) Oeste, 9) Noroeste, 10) Noreste, 11) Centro y 12) Río Venados.

de cultivos sólidos: *Salmonella-Shigella*, eosina-azul de metileno, verde brillante, sulfito de bismuto, xilosa-lisina-desoxicolato, MacConkey y Hektoen; todos se incubaron a 35 °C durante 24 h. Para la identificación de las colonias se aplicaron las siguientes pruebas bioquímicas: agar de triple azúcar y hierro, agar lisina y hierro, agar citrato de Simmons y las pruebas de movilidad-indol-ornitina, además de rojo de metilo y Voges-Proskauer, y caldo rojo fenol-glucosa. Todos fueron incubados a 35 °C durante 24 h y en algunos casos hasta 48 h, también se aplicó la técnica de la tinción de Gram. La lectura e interpretación de las pruebas bioquímicas se realizaron con base en el manual de MacFaddin (2004).

**Ánalisis de datos.** El análisis estadístico se realizó con los programas NCSS 2000 y STATISTICA (StatSoft Ser, 1997). Para determinar las diferencias existentes entre las concentraciones de coliformes de los cuatro lagos, se utilizaron las pruebas no-paramétricas de Kruskal-Wallis y de U de Mann-Whitney ( $p = 0.05$ ) (Marques de Cantú, 1991).

La sensibilidad de las bacterias coliformes como indicadoras de la presencia de bacterias entéricas patógenas, se determinó con base en el Índice de Sensibilidad (Gabutti *et al.*, 2004):

$$\text{Índice de sensibilidad} = \left[ \frac{\text{VPL}}{\text{VPL} + \text{FNL}} \right] * 100$$

VPL = Verdaderos Positivos, número de muestras con NMP de CF superiores al límite aceptable y presencia de patógenos.

FNL = Falsos Negativos, número de muestras con NMP de CF inferiores al límite aceptable y con presencia de patógenos.

El riesgo de que se encuentre algún patógeno al detectar el indicador, se determinó a través del modelo de riesgo atribuible (RA) de Mirón-Canelo & Alonso-Sardón (2008):

$$\text{RA} = \left( \frac{\text{VP}}{\text{Total de muestras}} \right) - \left( \frac{\text{FN}}{\text{Total de muestras}} \right)$$

VP = Muestras con la presencia de los indicadores y los patógenos.

FN = Muestras sin la presencia de indicadores, pero con presencia de patógenos.

También se hizo un análisis de la presencia-ausencia de los indicadores y los patógenos, en el cual, además de los VP y FN se incluyeron en el análisis los Verdaderos Negativos (VN), es decir, las muestras en las que no se registró la presencia de bacterias, y los Falsos Positivos (FP), que fueron los casos en que las muestras presentaron únicamente los indicadores, pero no los patógenos (Harwood *et al.*, 2005).

Finalmente, se determinó la relación de CT/CF como un índice auxiliar del origen de las bacterias por fuentes fecales y no fecales (Goyal *et al.*, 1977).

## RESULTADOS

Las concentraciones de bacterias en agua, indicaron mayor contaminación microbiológica en Pátzcuaro y Xochimilco. Estos cuerpos acuáticos presentaron medias geométricas superiores a 10,000 NMP/100mL de CT y 3,800 NMP/100mL de CF. Más del 71% de las muestras rebasaron el nivel permisible para servicios al público con contacto directo en lagos recreativos que es de 240 NMP/100mL de CF, y más del 43% los límites como fuente de abastecimiento para uso público urbano, riego agrícola y protección de la vida acuática en agua dulce (incluyendo humedales), así como servicios al público con contacto indirecto u ocasional en lagos no recreativos que es de 1000 NMP/100mL de CF (SEMARNAP, 1998; CONAGUA, 2009), tal como se observa en la Tabla 1.

La calidad del agua del Lago de Pátzcuaro rebasó los niveles permisibles en la zona sur, incluso en el punto 4 donde descarga el dren Guaní se alcanzaron concentraciones de coliformes fecales similares a las encontradas en agua residual. Sin embargo, en el cuerpo lagunar los números disminuyeron, y cerca de la Isla de Janitzio (punto 2), no se rebasaron los límites.

En Xochimilco, los límites establecidos para servicios al público con contacto directo fueron rebasados en todas las muestras. La Laguna de Metztitlán mostró altas concentraciones de CT, pero no se registraron CF en el cuerpo lagunar, sin embargo, la calidad sanitaria del agua fue mala en el punto 12, ubicado en el Río Venados, el cual descarga a la laguna. En el lago Zirahuén no se detectó la presencia de indicadores.

Es posible observar un patrón similar en el contenido de bacterias en agua y en sedimento. Sin embargo, las concentraciones de coliformes fueron mayores en sedimento que en agua; en Pátzcuaro la diferencia fue de un orden de magnitud, en Xochimilco de dos órdenes de magnitud, con diferencias significativas (U de Mann Whitney  $p < 0.01$  en CT y CF), y en Metztitlán, fue de dos órdenes de magnitud en CT, pero no se encontraron diferencias significativas (Tabla 1, Fig. 2).

Los valores bajos de la relación CT/CF indican que el aporte de bacterias de origen fecal es considerable en Pátzcuaro y Xochimilco (Tabla 1). En contraste, la laguna de Metztitlán presentó valores altos de la relación CT/CF (30.5 y 651.3 en agua y sedimento, respectivamente), lo que indica mayor presencia de coliformes de origen ambiental.

La prueba de Kruskal-Wallis indicó diferencias significativas entre las concentraciones de bacterias registradas en estos cuerpos acuáticos ( $p < 0.01$ ). La Tabla 2, compara los resultados de un cuerpo acuático respecto a otro, a través de la prueba de U de Mann Whitney. Ésta evidenció que Pátzcuaro y Xochimilco se encuentran en condiciones similares, mientras que Metztitlán mostró concentraciones significativamente inferiores. El análisis estadístico no incluyó a Zirahuén debido al escaso número de datos. Respecto a las épocas climáticas no se registraron dife-

Tabla 1. Concentración de bacterias indicadoras en agua y sedimento en los cuatro cuerpos acuáticos continentales de México.

Lago	Coliformes totales		Coliformes fecales		Muestras que rebasan el		Relación CT/CF
	Media geométrica	Intervalo de NMP	Media geométrica	Intervalo de NMP	Límite 1 (%)	Límite 2 (%)	
<b>Agua (NMP/100mL)</b>							
Pátzcuaro	$2.9 \times 10^4$	$7.5 \times 10^1$ a $7.5 \times 10^6$	$3.8 \times 10^3$	4 a $7.5 \times 10^6$	71	43	7.7
Zirahuén	<3	<3	<3	<3	0	0	—
Xochimilco	$1.0 \times 10^4$	$1.1 \times 10^3$ a $1.1 \times 10^5$	$3.8 \times 10^3$	$3.6 \times 10^2$ a $4.6 \times 10^4$	100	90	2.7
Metztitlán	$6.1 \times 10^1$	<3 a $1.1 \times 10^5$	2	<3 a $4.0 \times 10^2$	9	0	30.5
<b>Sedimento (NMP/100g)</b>							
Pátzcuaro	$1.6 \times 10^5$	$9.3 \times 10^3$ a $9.3 \times 10^7$	$1.3 \times 10^4$	<3 a $9.3 \times 10^7$			12.2
Zirahuén	<3	<3	<3	<3			—
Xochimilco	$1.2 \times 10^6$	$7.3 \times 10^4$ a $2.4 \times 10^7$	$4.4 \times 10^5$	$3.6 \times 10^4$ a $4.6 \times 10^6$			2.8
Metztitlán	$3.9 \times 10^3$	<3 a $2.8 \times 10^6$	6	<3 – $3.0 \times 10^5$			651.3

NMP= Número Más Probable. Límite 1. 240 CF/100 mL, límite para servicios al público con contacto directo en lagos recreativos (SEMARNAP, 1998). Límite 2. 1000 CF/100mL, límite para abastecimiento para uso público urbano, protección de la vida acuática (agua dulce: incluye humedales) y riego (CONAGUA, 2009) así como, servicios al público con contacto indirecto u ocasional en lagos no recreativos (SEMARNAP, 1998).

Tabla 2. Análisis estadístico de los contenidos de bacterias indicadoras en los cuerpos acuáticos continentales de México (U de Mann-Whitney).

	Agua		Sedimento	
	CT	CF	CT	CF
Pátzcuaro-Xochimilco	Z = 0.80 p = 0.42	Z = 0.92 p = 0.36	Z = 1.77 p = 0.08	Z = 1.75 p = 0.08
Pátzcuaro-Metztitlán	Z = 2.80 p = < 0.01*	Z = 3.63 p = < 0.01*	Z = 0.47 p = 0.64	Z = 2.62 p = < 0.01*
Xochimilco-Metztitlán	Z = 4.04 p = < 0.01*	Z = 4.89 p = < 0.01*	Z = 4.33 p = < 0.01*	Z = 4.70 p = < 0.01*

CT= Coliformes Totales; CF= Coliformes Fecales; \* Diferencias significativas; Z= valor estadístico de la curva normal, valores superiores a 1.95 implican diferencias significativas.

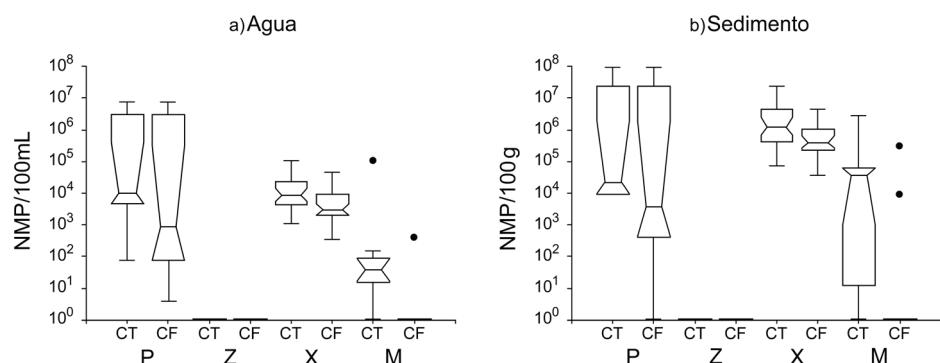


Figura 2a-b. NMP de las bacterias coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) en agua (a) y sedimento (b) de cuatro lagos de México: Pátzcuaro (P), Zirahuén (Z), Xochimilco (X) y Metztitlán (M).

rencias significativas entre las colectas de estiaje contra las de lluvia.

Las bacterias entéricas identificadas en agua se presentan en la Tabla 3. *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. y *Enterobacter* spp. se aislaron en todos los cuerpos acuáticos. Bacterias del género *Salmonella* se encontraron en Pátzcuaro (en las localidades ubicadas en la zona sur), también se aislaron en Xochimilco y Zirahuén. Bacterias del género *Shigella* se presentaron en todas las localidades de Pátzcuaro.

El índice de sensibilidad mostró que en los lagos de Pátzcuaro y Xochimilco, las concentraciones elevadas de CF se asociaron a la presencia de cepas de *Salmonella* (60%). En el caso de *Shigella sonnei*, que fue aislada únicamente en Pátzcuaro, la sensibilidad a la presencia de esta bacteria fue de 75%. El análisis global (Tabla 4), indicó que la sensibilidad de los CF a la presencia de ambos patógenos es mayor al considerar el límite más exigente.

El riesgo atribuible (RA) de que se encuentre el patógeno al detectar el indicador, dio valores más elevados con CF; para *Salmonella* (58%), y para *Shigella* (67%), mientras que el RA con CT generó valores inferiores, e incluso negativos (Tabla 4).

Los CF tuvieron una proporción elevada de muestras que pudieron clasificarse como verdaderos positivos (VP), es decir, aquellas en las que la presencia del grupo indicador y el patógeno es simultánea, y de verdaderos negativos (VN), en las cuales ambos están ausentes. Entre el 82 y 88% de las muestras cumplieron con estas dos premisas que serían las respuestas esperadas para las bacterias indicadoras. En contraste, los CT presentaron una alta proporción (65%) de falsos positivos (FP), en las que estuvo presente el indicador pero no el patógeno (Fig. 3).

## DISCUSIÓN

Esta investigación integró la información de tres proyectos en los que se aplicó el mismo método de análisis para la cuantificación y detección de bacterias indicadoras y patógenas.

Las normas mexicanas exigen la determinación de los coliformes con miras a la protección ambiental, pero no se ha eva-

luado su eficacia como indicadores de la presencia de bacterias patógenas en los ambientes acuáticos mexicanos. En el presente estudio se analizó dicha eficiencia y sin hacer la descripción detallada de cada cuerpo acuático.

La mala calidad bacteriológica del agua que se registró en Pátzcuaro y Xochimilco, indica que existe un riesgo sanitario relacionado con las actividades que se realizan en ellos, como los paseos recreativos en lanchas o trajineras, que involucran contacto directo ocasional, y la pesca en el Lago de Pátzcuaro. Ambos cuerpos acuáticos son ejemplos del deterioro constante, el incremento de conflictos relacionados con la disponibilidad de agua y el aporte de agua residual (Orbe-Mendoza & Acevedo, 2002; Fisher et al., 2003; Juárez-Figueroa et al., 2003; Soto-Castor & Esquivel-Herrera, 2003).

En contraste, los lagos de Metztitlán y Zirahuén presentaron mejores condiciones sanitarias. En éstos el aporte de agua residual es menor, lo que permite que se realicen otras actividades, como la pesca en el Lago de Metztitlán.

Las concentraciones de bacterias registradas en sedimento, uno o dos órdenes de magnitud por arriba del agua, pueden relacionarse con el hecho de que éstas sobreviven por mayor

Tabla 4. Valores del índice de sensibilidad y el riesgo atribuible (RA) para determinar la asociación entre los indicadores y los patógenos.

Patógeno	Salmonella	Shigella
Índice de Sensibilidad	Lím 1 para CF (%)	60
	Lím 2 para CF (%)	40
Riesgo Atribuible (RA)	Con CT	-23
	Con CF	58
		67

Lím 1. 240 CF/100 mL, límite para servicios al público con contacto directo en lagos recreativos (SEMARNAP, 1998).

Lím 2. 1000 CF/100mL, límite para abastecimiento para uso público urbano, protección de la vida acuática (agua dulce: incluye humedales) y riego (CONAGUA, 2009) así como, servicios al público con contacto indirecto u ocasional en lagos no recreativos (SEMARNAP, 1998).

Tabla 3. Enterobacterias aisladas en los cuatro cuerpos acuáticos continentales de México.

Pátzcuaro	Zirahuén	Xochimilco	Metztitlán
<i>Citrobacter</i> spp.			<i>Citrobacter</i> spp.
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp.
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.
<i>Shigella sonnei</i>			<i>Providencia</i> spp. <i>Serratia</i> spp. <i>Yersinia</i> spp.

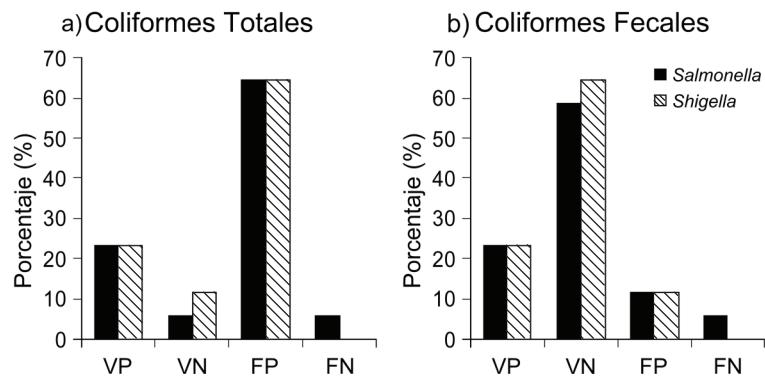


Figura 3a-b. Relación de la presencia-ausencia de indicadores y patógenos coliformes totales (a) y coliformes fecales (b), muestras con presencia simultánea (VP), ausencia de ambos (VN), con indicador pero sin patógenos (FP) y con patógenos sin el indicador (FN).

tiempo en el sedimento, que es un ambiente con partículas que les proporcionan protección (Davies *et al.*, 1995; Anderson *et al.*, 2005; Haller *et al.*, 2009). Los niveles altos de coliformes fecales en el sedimento indican riesgo sanitario, asociado a la posible resuspensión de las bacterias hacia la columna de agua (Burton *et al.*, 1987; Craig *et al.*, 2004). La resuspensión del sedimento es frecuente en cuerpos acuáticos someros, como es el caso de Xochimilco. La presencia de las bacterias coliformes en agua se interpreta como contaminación reciente, debido a que el tiempo de sobrevivencia de las bacterias es menor, mientras que en el sedimento puede indicar una contaminación previa (Obiri-Danso & Jones, 2000).

El origen de las bacterias coliformes puede ser fecal o ambiental (a través de insectos, plantas y suelo) (Goyal *et al.*, 1977; Leclerc *et al.*, 2001). Ellas responden a factores ecológicos diversos, que influyen en su permanencia y sobrevivencia (Gonzalez *et al.*, 2010). Las bacterias CF están adaptadas para vivir en el tracto gastrointestinal, considerado como su hábitat primario, aunque pueden sobrevivir en el agua residual y cuerpos acuáticos receptores, que son considerados hábitats secundarios (Gordon *et al.*, 2002; Anderson *et al.*, 2005). La relación CT/CF obtenida en Pátzcuaro y Xochimilco confirma la contaminación de origen fecal. En contraste, en Metztitlán es posible que las bacterias coliformes provengan principalmente de las escorrentías asociadas a la extensa superficie agrícola adyacente a la laguna.

Las bacterias entéricas que pueden encontrarse frecuentemente en ambientes acuáticos como resultado de la contaminación fecal, incluyen a *E. coli*, bacteria aislada en todos los lagos analizados, la cual es un componente natural y esencial de la flora intestinal de humanos y animales. Si bien, la mayoría de las cepas de *E. coli* no son patógenas, ciertos serotipos tienen un importante rol en enfermedades intestinales y no intestinales. Las especies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia* y *Serratia* también son componentes de la flora intestinal y es posible encontrarlas en agua, agua residual y suelo.

Organismos pertenecientes a los géneros *Serratia* y *Klebsiella* también se han aislado en plantas. Asimismo, algunas especies de *Yersinia* han sido aisladas de muestras ambientales y fecales provenientes de humanos y mamíferos. La presencia de estos géneros en el ambiente puede involucrar un riesgo, ya que incluyen especies que pueden ser patógenas y cuentan con pocos estudios. En contraste, los géneros, *Salmonella* y *Shigella* han sido ampliamente estudiados, no son miembros comunes de la flora intestinal, aunque pueden existir individuos portadores de éstos. El género *Salmonella* incluye serovariedades que son causantes de enfermedades severas en humanos que se agrupan con el nombre de salmonellosis e incluyen la fiebre tifoidea y la paratifioidea. Por otro lado, existen cepas de *Shigella* que provocan enfermedades diarreicas leves y severas (Ryan, 2004). La presencia de *Salmonella* en Pátzcuaro, Xochimilco y Zirahuén tiene relevancia sanitaria, incluso en este último, que no presentó contaminación con base en los indicadores. El riesgo sanitario se corrobora por el aislamiento de *Shigella* en Pátzcuaro. Por estos motivos, la relación de indicadores y patógenos se realizó con organismos de estos dos géneros.

La asociación entre la presencia simultánea de patógenos y los indicadores, debe establecerse ya que el riesgo sanitario se determina a través de los indicadores, varios autores han intentado asociarlos con resultados diversos (Goyal *et al.*, 1977; Moriñigo *et al.*, 1990; Efstratiou *et al.*, 1998; Polo *et al.*, 1998; Lemarchand & Lebaron, 2003; Gabutti *et al.*, 2004; Harwood *et al.*, 2005; Gonzalez *et al.*, 2010). En este estudio, el índice de sensibilidad de los CF a la presencia de *Salmonella* y *Shigella* calculado con el límite más estricto (240 CF/100mL), mostró valores similares a los reportados por Gabutti *et al.* (2004) que fueron del 60% y 75%, respectivamente. Sin embargo, la sensibilidad de los CF depende en gran medida del criterio de calidad al cual se relaciona, ya que ésta fue menor al utilizar el límite alto (1000 CF/100mL), 40% y 50%, respectivamente. Esto implica que el índice de sensibilidad es más efectivo al aplicarlo con las normas más exigentes.

A diferencia del índice de sensibilidad, el riesgo atribuible (RA) a la presencia de patógenos simultánea al indicador, no requiere apoyarse en la legislación. Esta medida de riesgo relaciona los VP con los FN, y puede aplicarse a indicadores como los CT, no incluidos en la legislación mexicana, y podría proporcionar una evaluación más realista, ya que considera el número total de muestras. El análisis de RA permitió comparar el uso de las bacterias CT y CF respecto a la presencia de los patógenos, e indicó que los CF mostraron mayor capacidad predictiva que los CT en los cuerpos acuáticos analizados.

El modelo de RA no incorpora las respuestas de FP y VN, pero en el análisis de presencia-ausencia éstos se incluyeron. Un buen indicador debe tener un alto porcentaje de respuestas verdaderas (VP y VN) y un bajo porcentaje de respuestas falsas (FP y FN). Los FP son indeseables porque representan falsas alarmas, mientras que los FN no detectan un posible riesgo (Harwood *et al.*, 2005). El análisis de presencia-ausencia mostró que los CF fueron indicadores confiables de la presencia de patógenos, ya que en los cuerpos acuáticos contaminados se presentó una alta proporción de VP y en lagos menos contaminados hubo una alta proporción de VN.

El uso de CT como indicador de calidad sanitaria del agua, ha sido cuestionado porque no en todos los casos las bacterias coliformes tienen un origen fecal comprobable. Aunque algunos autores asocian los CT con la presencia de patógenos (Efstratiou *et al.*, 1998), en los casos en que éstas bacterias tienen un origen ambiental su presencia puede dar lugar a FP, tal como se observó en el presente estudio. Los resultados indicaron que la capacidad de los CT para predecir la presencia de patógenos fue pobre, lo que coincide con lo que plantearon Harwood *et al.* (2005). En contraste, el grupo de CF fue un indicador más confiable de la presencia de *Salmonella* y *Shigella*, ya que tuvo una proporción elevada de respuestas verdaderas (entre el 82 y 88%, respectivamente). De hecho, cuando se detectan CF y hay ausencia de patógenos, no se descarta un posible riesgo, debido a que se detecta contaminación de origen fecal (Goyal *et al.*, 1977) y por otro lado, las bacterias CF son el indicador reconocido por la legislación en México.

Tanto los patógenos entéricos, incluyendo *Salmonella*, como los CF, tienen un origen fecal, por lo cual se esperaría una relación entre la cantidad de CF y la presencia de *Salmonella*, sin embargo, no siempre se presentan portadores de *Salmonella* (Gabutti *et al.*, 2004). El aislamiento de un patógeno sin registrar la presencia del indicador, tal como fue el caso de Zirahuén, donde se aisló *Salmonella*, pudiera estar relacionado con el mayor tiempo de sobrevivencia de este patógeno con respecto al del indicador, como lo han planteado algunos autores (Polo *et al.*, 1998; Gabutti *et al.*, 2004). Por otro lado, debe considerarse que se requiere un mayor volumen de muestra para el análisis de patógenos, en comparación con el volumen que se utiliza para el conteo de indicadores

(Polo *et al.*, 1998), lo cual aumenta la posibilidad de encontrar al patógeno.

A pesar de que se demostró la mayor sensibilidad de los CF como indicador de la presencia de patógenos entéricos respecto a los CT, la determinación de estas bacterias no fue suficiente para establecer el riesgo sanitario y es necesario evaluar también las bacterias patógenas entéricas de importancia como es el caso de *Salmonella* y *Shigella* para caracterizar la calidad sanitaria de un cuerpo de agua.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se llevó a cabo con el apoyo de la Universidad Autónoma Metropolitana a través de los proyectos: "Estudios ecotoxicológicos en ambientes acuáticos" y "Determinación de riesgo ecológico de un ambiente acuático" e "Indicadores de Integridad Ecológica y Salud Ambiental".

## REFERENCIAS

- Anderson, K. L., J. E. Whitlock & V. J. Harwood. 2005. Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 3041-3048.
- Ashbolt, N. J., W. O. K. Gravow & M. Sznajdi. 2001. Indicators of microbial water quality. In: Fewtrell, L. & J. Bartram (Eds.). *Water Quality Guidelines, Standards and Health*. WHO, IWA Publishing, London, pp. 289-316.
- Barrel, R. A. E., P. R. Hunter & G. Nichols. 2000. Microbiological standards for water and their relationship to health risk. *Communicable Disease and Public Health* 3 (1): 8-13.
- Barrera-Escoria, G. & I. Wong-Chang. 2005. Contaminación por microorganismos en zonas costeras. In: Botello, A. V., J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot & C. Agraz-Hernández (Eds.). *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. 2<sup>a</sup> ed. Univ. Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología, México, pp. 475-486.
- Bernal, B. F. 1995. El Lago de Zirahuén. In: De la Lanza-Espino G., García Calderón J. L. (Comps.). *Lagos y presas de México*. Centro de Ecología y Desarrollo, México, pp. 109-115.
- Burton, G. A., D. Gunnison & G. R. Lanza. 1987. Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 53: 633-638.
- Chacón, T. A. & C. Rosas-Monge. 1998. Water quality characteristics of a high altitude oligotrophic Mexican lake. *Aquatic Ecosystem Health Management Society* 1: 237-243.
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2009. *Ley Federal de Derechos (Disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales)*. Diario Oficial de la Federación. México, D.F. Noviembre 13, pp. 67.

- Craig, D. L., H. J. Fallowfield & N. J. Cromar. 2004. Use of microcosms to determine persistence of *Escherichia coli* in recreational coastal water and sediment and validation with *in situ* measurements. *Journal of Applied Microbiology* 96: 922-930.
- Davies, C. M., J. A. H. Long, M. Donald & N. J. Ashbolt. 1995. Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 1888-1896.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2008. *Proyecto de Norma Mexicana PROY-NMX-AA-042-SCFI-2008. Calidad del Agua - Determinación del Número más Probable (NMP) de Coliformes Totales, Coliformes Fecales (Termotolerantes) y Escherichia coli*. Diario Oficial de la Federación. México, D.F. Octubre 9, 30 p.
- DOUE (Diario Oficial de la Unión Europea) 2006. *Directiva 2006/7/CE del Parlamento Europeo y del Consejo relative a la gestión de la calidad de las aguas de baño y por la que se deroga la Directiva 76/160/CEE*. Diario Oficial de la Unión Europea. Estrasburgo, pp. 37-51.
- Efstratiou, M. A., A. Mavridou, S. C. Richardson & J. A. Papadakis. 1998. Correlation of bacterial indicator organisms with *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in sea water. *Letters in Applied Microbiology* 26: 342-346.
- Fernández, B. L., V. G. Ponce & B. L. G. Calva. 2007. Evaluación de plaguicidas organoclorados en el sistema lacustre de Meztilán, Hidalgo. In: Arredondo, F. J. L., Z. G. Díaz, & P. J. T. Ponce. (Comps.). *Limnología de presas mexicanas*. AGT Editor, México, pp. 771-787.
- Fisher, C. T., H. P. Pollard, I. Israde-Alcántara, V. H. Garduño-Monroy & S. K. Banerjee. 2003. A reexamination of human-induced environmental change within the Lake Pátzcuaro Basin, Michoacán, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (8): 4957-4962.
- Gabutti, G., A. De Donno, R. Erroi, D. Liaci, F. Bagordo & M. T. Montagna. 2004. Relationship between indicators of fecal pollution and presence of pathogenic microorganisms in coastal seawaters. *Journal of Coastal Research* 20: 846-852.
- Gonzalez, A. M., R. Paranhos & M. S. Letterbach. 2010. Relationships between fecal indicators and pathogenic microorganisms in a tropical lagoon in Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment* 164: 207-219.
- Gordon, D. M., S. Bauer & J. R. Johnson. 2002. The genetic structure of *Escherichia coli* populations in primary and secondary habitats. *Microbiology* 148: 1513-1522.
- Goyal, S. M., C. P. Gerba & J. L. Melnick. 1977. Occurrence and distribution of bacterial indicators and pathogens in canal communities along the Texas coast. *Applied and Environmental Microbiology* 34: 139-149.
- Haller, L., E. Amedegnato, J. Poté & W. Wildi. 2009. Influence of freshwater sediment characteristics on persistence of fecal indicator bacteria. *Water Air Soil Pollution* 203: 217-227.
- Harwood, V. J., A. D. Levine, T. M. Scott, V. Chivukula, J. Lukasik, S. R. Farrow & J. B. Rose. 2005. Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 3163-3170.
- Juárez-Figueroa, L. A., J. Silva-Sánchez, F. J. Uribe-Salas & E. Cifuentes-García. 2003. Microbiological indicators of water quality in the Xochimilco canals, México City. *Salud Pública de México* 45: 389-395.
- Leclerc, H., D. A. A. Mossel, S. C. Edberg & C. B. Struijk. 2001. Advances in the bacteriology of the coliform group: Their suitability as markers of microbial water safety. *Annual Review Microbiology* 55: 201-234.
- Lemarchand, K. & P. Lebaron. 2003. Occurrence of *Salmonella* spp. and *Cryptosporidium* spp. in a French coastal watershed: relationship with fecal indicators. *FEMS Microbiology Letters* 218: 203-209.
- MacFaddin, J. F. 2004. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3<sup>a</sup> ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. 860 p.
- Madrigal, G. X., R. A. Novelo & T. A. Chacón. 2004. Flora y vegetación acuáticas del Lago de Zirahuén. *Acta Botánica Mexicana* 68:1-38.
- Marques de Cantú, M. J. 1991. *Probabilidad y estadística para ciencias químico-biológicas*. McGraw-Hill, México, pp. 503-511.
- Mirón-Canelo, J. A. & M. Alonso-Sardón. 2008. Medidas de frecuencia, asociación e impacto en investigación aplicada. *Medidas y Seguridad del Trabajo* 54 (211): 93-102.
- Moriñigo, M. A., R. Córñax, M. A. Muñoz, P. Romero & J. J. Borrego. 1990. Relationships between *Salmonella* spp and indicator microorganisms in polluted natural waters. *Water Research* 24: 117-120.
- Obiri-Danso, K. & K. Jones. 2000. Intertidal sediments as reservoirs for hippurate negative *Campylobacters*, *Salmonellae* and faecal indicators in three EU recognized bathing waters in North West England. *Water Research* 34: 519-527.
- Orbe-Mendoza, A. & J. Acevedo. 2002. El Lago de Pátzcuaro. In: De la Lanza-Espino, G. & J. L. García-Calderón (Comps.). *Lagos y presas de México*. AGT Editor, México D.F. 127-148.
- Polo, F., M. J. Figueras, I. Inza, J. Sala, J. M. Fleisher & J. Guarro. 1998. Relationship between presence of *Salmonella* and indicators of faecal pollution in aquatic habitats. *FEMS Microbiology Letters* 160: 253-256.
- Rosas, I., A. Velasco, R. Belmont, A. Báez, & A. Martínez. 1993. The algal community as indicator of the trophic status of Lake Patzcuaro, Mexico. *Environmental Pollution* 80: 225-264.
- Ryan, K. J. 2004. Enterobacteriaceae. In: Ryan, K. J. & C. G. Ray (Eds.). *Sherris Medical Microbiology*. McGraw-Hill, U.S., 1060 p.
- Savichtcheva, O. & S. Okabe. 2006. Alternative indicators of fecal pollution: relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. *Water Research* 40: 2463-2476.

SEMARNAP (Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). 1998. *Norma Oficial Mexicana. NOM-003-ECOL-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público.* Diario Oficial de la Federación. México, D.F. Septiembre 21, 10 p.

Soto-Castor, R. & A. Esquivel-Herrera. 2003. Niveles de contaminación por bacterias coliformes totales y fecales en agua y sedimento de los canales de Xochimilco, D.F. In: Stephan-Otto, E. (Coord.). *El agua en la Cuenca de México. Sus problemas históricos y perspectivas*

*de solución.* Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco A.C. México, pp. 245-260.

Wright, A., R. T. Hill, J. A. Johnson, M. C. Roghman, R. R. Colwell & J. G. Morris. 1996. Distribution of *Vibrio vulnificus* in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 717-724.

*Recibido:* 21 de febrero de 2012.

*Aceptado:* 14 de enero de 2013.