

# Geoposicionamiento de enterobacterias en descargas de aguas residuales en Los Reyes Michoacán

Rafael Ortiz-Alvarado<sup>1</sup>, Omar J. Lopez-Neri<sup>2</sup>, Víctor Meza-Carmen<sup>3</sup> y Lucía Matilde Nava-Barrios<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>Laboratorio de análisis y aseguramiento de calidad del agua. Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

<sup>2</sup>División de Innovación Agrícola del Instituto Tecnológico Superior de Los Reyes

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

## Resumen

El valle de los Reyes de Salgado Michoacán tiene una vocación agrícola del cultivo extensivo de frutos del género *Rubus*, como los arándanos, frambuesas y zarzamoras, los cuales tienen como destino el mercado de exportación, generando una agroindustria en los municipios de Los Reyes, Periban y Tocuambo; parte del éxito de esta industria recae en la utilización de agua para el riego de estos cultivos, disponer de agua de calidad para el cultivo de frutos debe apegarse a las normas mexicanas, que preserven la inocuidad alimentaria; sin embargo, el municipio de Los Reyes realiza descargas de agua residuales en puntos geográficos de los afluentes que se utilizan posteriormente para riego en ciertas zonas de cultivo, lo cual repercute en la carga microbiana especialmente de la familia Enterobacteriaceae. En el presente trabajo se incorpora la utilización del sistema de geoposicionamiento global para el muestreo de agua utilizada para el riego en esta zona agrícola. Las muestras fueron procesadas para su análisis microbiológico determinando, la Familia Enterobacteriaceae y la carga microbiana determinada en Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de enterobacterias contaminantes, de esta manera se conforma un mapa con datos de longitud, latitud y altitud sobre el nivel del mar permitiendo determinar el sitio de descarga, la carga microbiana, el tipo de microorganismo patógeno o potencialmente patógeno con una exactitud geográfica y ser actualizado a través de un monitoreo de laboratorio y plataforma informática.

**PALABRAS CLAVE:** *Inocuidad Alimentaria, familia Enterobacteriaceae, Geoposicionamiento Global*

## Abstract

The valley of Los Reyes de Salgado Michoacán has extensive agricultural potential fruit crop of the genus *Rubus*, such as blueberries, raspberries and blackberries, which are destined for the export market, generating an agribusiness in the municipalities of Los Reyes, Periban and Tocuambo, part of the success of this industry relies in the use of water for irrigation of these crops, having quality water for the cultivation of fruit should abide by Mexican standard that preserve food safety, nevertheless, the city of Los Reyes make waste water discharges in geographical location of the tributaries that are then used for irrigation in certain areas of cropping, which affects the microbial loads of the family Enterobacteriaceae. This work incorporates the use of a global positioning system for sampling of water used for irrigation in the agricultural area. Samples were processed for microbiological analysis determined the genus, species and number of enteric contaminants, so it forms a map with longitude, latitude and altitude above sea level, allowing the download site to determine the microbial load the type of pathogenic or potentially pathogenic with a geographical accuracy and to be updated through laboratory monitoring and informatic platform.

**Key Word:** *Food safety, family Enterobacteriaceae, Global Positioning System*

## Introducción

El cultivo de la zarzamora inició en el año de 1994 con 4 ó 5 plantaciones comerciales de la variedad *brassos* y *tuppi*, cuya superficie no excedía las 3 hectáreas. Actualmente esta fruta abarca 4 mil 500 hectáreas, de las cuales 3 mil 750 están en la jurisdicción de Los Reyes y el resto en Tocuambo y Peribán. La producción del ciclo 2010 arrojó 30 mil toneladas de zarzamora, de las cuales el 90 por ciento se exportó a Estados Unidos, como principal mercado, y el resto a Europa y Japón. La producción del valle representa el 95 por ciento de la estatal y el 90 por

ciento de la nacional (SAGARPA, 2010) Para asegurar la calidad e inocuidad del producto fresco es indispensable contar con agua que cumpla con las normas Mexicanas correspondientes, como la Norma Oficial Mexicana NOM-CCA-033-ECOL/1993 y la NOM-127-SSA1-1994 que establece las condiciones microbiológicas (bacteriológicas y parasitológicas) para el uso de aguas residuales de origen urbano o municipal o de la mezcla de estas con la de los cuerpos de agua (Tambone *et al.*, 2011), en el riego de hortalizas y productos hortofrutícolas. Teniendo este breve antecedente es necesario contar con herramientas metodológicas que permitan en primer término identificar los puntos de descarga de agua residual o municipal o en su mezcla con cuerpos de agua (Shipp *et al.*, 2000); segundo poder identificar y cuantificar los microorganismos patógenos ligados a la mezcla de aguas residuales en los cuerpos de agua, tercero

✉ **Autor de correspondencia:** Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Calle Tzintzuntzan No. 173, col. Matamoros, C.P. 58240, Morelia, Mich., México. Tel 3 14 21 52 ext. 208; email: lnavabarrios@gmail.com

contar con plantas locales tratadoras de agua que permitan una utilización adecuada de estos cuerpos de agua contaminados con estos residuos para su uso en cultivos frutícolas (Katsou *et al.*, 2011, Tezcan *et al.*, 2009, Saeddi *et al.*, 2011). El objetivo del presente trabajo incluye realizar un muestreo de cuerpos de agua que recorren el municipio de los Reyes con geoposicionamiento global (GPS), estas muestras serán analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Químico Farmacobiología, para identificar y cuantificar la carga microbiana presente en las cuerpos de agua que se mezclan con los puntos de residuos sólidos y líquidos de la zona de los Reyes, la conjunción de metodologías como la GPS y la identificación de microorganismos patógenos así como su carga; nos permitirá calcular el sitio de descarga (Shipp *et al.*, 2000, Meays *et al.*, 2004) así como determinar la población microbiana y los posibles efectos a la salud humana y de esta manera buscar las adecuaciones a una planta tratadora de agua ubicada en el Instituto Tecnológico Superior de Los Reyes para eventualmente migrar la plataforma de Planta Tratadora de Aguas Residuales Físico-Química a Biológica (Levett *et al.*, 2010, Saeddi, *et al.*, 2011), en donde la determinación de esta carga microbiana entrante a la planta es necesaria para evaluar su funcionamiento y validar la disminución o eliminación de enterobacterias patógenas.

## Materiales y métodos

Tipo de estudio: prospectivo, longitudinal y experimental. Periodo de tiempo: mes de octubre del 2011.

### Muestreo *in situ*

Se muestreó un volumen de 100 mL con frascos estériles y una profundidad media de 30 cm en el afluente de agua de los Reyes de Salgado Michoacán abarcando un recorrido de 18 Km de longitud desde una altitud en metros sobre el nivel del mar (msnm) de 1290 hasta los 1460 msnm, se tomaron muestras de 9 sitios geográficos cada uno de los puntos de muestreo se localizó con un Sistema Móvil de Geoposicionamiento Global Modelo GPSmap 60Cx de la marca GARMIN, asegurando la triangulación con 5 satélites, para obtener un error de lectura de  $\pm 4$  metros a nivel global.

### Determinación de pH y Temperatura

En cada uno de los 9 puntos de muestreo se determinó *in situ* la temperatura con termómetro de mercurio y a una profundidad media de 30 cm. Se determinó también el pH con un potenciómetro portátil marca Corning pH15 calibrado previamente con las soluciones de referencia de la marca Corning, siguiendo las recomendaciones de la Norma Mexicana NMX-AA-008-SCFI-2000.

### Transporte

Posteriormente las muestras se transportaron en aislamiento térmico, dentro de una unidad de enfriamiento portátil preservando las muestras a una temperatura de 10 °C, hasta su refrigeración por un espacio de 12 horas en el Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de la Calidad del Agua de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

### Determinación de la Carga microbiana

Para ello se utilizaron la metodología de la determinación del número más probable (NOM-CCA-033-ECOL/1993) lo que permite la identificación y cuantificación de coliformes totales y coliformes fecales (Familia *Enterobacteraceae*) utilizando el medio de cultivo caldo lauril lactosado de la marca Difco reconstituyéndose y esterilizándose en autoclave a 15 lbs de presión, 121 °C por 15 minutos. Para cada una de las 9 muestras de agua se tomó una alícuota de un mililitro y realizaron pruebas por triplicado, utilizando, las diluciones correspondientes de  $1 \times 10^{-1}$ ,  $1 \times 10^{-2}$ ,  $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-8}$  de la muestra en el tubo de cultivo provistos con la campana de Durham inmersos en el medio de cultivo e incubado en un baño metabólico, a una temperatura de 37 °C  $\pm 0.5$  °C y 120 r.p.m., y verificando cada 12 horas la producción de gas por un total de 48 horas, realizando la lectura en los últimos tubos correspondientes a la serie de diluciones correspondientes a la muestra procesada por triplicado y aplicando el análisis estadístico para la validación de los resultados.

Para la identificación de coliformes fecales se realizó la prueba correspondiente de producción de gas, pero a la temperatura de 44 °C  $\pm 0.5$  con agitación de 120 rpm en la serie de tubos por triplicado y con las diluciones de  $1 \times 10^{-1}$ ,  $1 \times 10^{-2}$ ,  $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-8}$  de la muestra en el tubo de cultivo provistos con la campana de Durham inmersa en el medio de cultivo, realizando lecturas cada 8 horas terminando la lectura final a las 24 horas, realizándose la lectura en los últimos tubos correspondientes a la serie de diluciones de la muestra procesada por triplicado y aplicando el análisis estadístico para la validación de los resultados.

## Resultados

Los resultados de la **Tabla 1**, Provenientes de los nueve puntos de muestreo con el nombre local del sitio del afluente natural y de descarga de aguas residuales de tipo municipal y la localización geográfica expresada en latitud y longitud y la altitud en metros sobre el nivel del mar (msnm), muestran el valor correspondiente de temperatura y pH (NMX-AA-008-SCFI-2000), del cuerpo de agua, determinados, *in situ*. Con la geolocalización, estos resultados ofrecen un error de  $\pm 4$  metros a nivel global con una referencia de al menos 5 satélites.

Los resultados de la **Tabla 2**, Carga Total de Coliformes provenientes de los nueve puntos de muestreo con el nombre local del sitio del cuerpo de agua natural y de descarga de aguas residuales de tipo municipal y la localización geográfica expresada en latitud y longitud y la altitud en metros sobre el nivel del mar (msnm), en cada punto el valor expresando en Unidades Formadoras de Colonias (UFC) es el resultado por triplicado de la dilución correspondiente y el resultado de calidad en escala de I a IV conforme a la norma la NOM-CCA-033-ECOL/1993; estos resultados ofrecen un error de  $\pm 4$  metros a nivel global con una referencia de al menos 5 satélites.

Los resultados de la **Tabla 3**, Carga Total de Coliformes Fecales provenientes de los nueve puntos de muestreo con el nombre local del sitio del cuerpo de agua natural y de descarga de aguas residuales de tipo municipal y la localización geográfica expresada en latitud y longitud y la altitud en metros sobre el nivel

**Tabla No. 1.- Temperatura y pH determinados in situ y localizados por geoposicionamiento global.**

Punto	Nombre	Latitud	Longitud	Altitud	Temperatura ° C	pH
1	Entrada a planta de tratamiento.	19.36941°	102.38680°	1290 msnm	22.0	8.17
2	Salida fosa séptica	19.36924°	102.38692°	1295 msnm	20.5	8.04
3	La Paz	19.36906°	102.28680°	1296 msnm	22.0	8.09
4	Privada Constitución (a 10 metros del panteón)	19.35429°	102.29149°	1303 msnm	21.5	8.05
5	Centro	19.35234°	102.28312°	1327 msnm	22.5	8.19
6	Guadalajarita	19.35003°	102.27490°	1349 msnm	21.5	8.14
7	Río Itzicuaru (La planta)	19.34816°	102.25818°	1434 msnm	17.5	7.40
8	La planta zona baja.	19.34809°	102.25819°	1437 msnm	17.5	7.35
9	La planta	19.34763°	102.25758°	1460 msnm	17.5	7.32

del mar (msnm), en cada punto el valor expresando en Unidades Formadoras de Colonias (U.F.C) es el resultado por triplicado de la dilución correspondiente y el resultado total por unidad de volumen de agua, estos resultados ofrecen un error de  $\pm 4$  metros a nivel global con una referencia de al menos 5 satélites.

## Discusión

En la determinaciones de la **Tabla 1**, proveniente de los nueve puntos de muestreo se observa que la temperatura en los puntos geográficos 9, 8 y 7 se mantiene en los 17.5°C, así como el pH (Cabral, 2010, Norma Mexicana NOM-AA-008-SCFI-2000), sin variación significativa de 7.32, 7.35 y 7.40 respectivamente, lo que está en concordancia con la baja carga microbiana y la posible baja actividad microbiana influida por la tasa metabólica correspondiente para estos puntos localizados a una altitud sobre el nivel del mar de los 1460 a los 1434 msnm. Los asentamientos humanos son escasos y es el lugar de origen del afluente, sin embargo, los asentamientos humanos ejercen un efecto en la carga microbiana en los puntos 7 y 8 (**Tablas 2 y 3**), no así en la calidad del agua, la cual está en conformidad con las normas Oficiales Mexicanas NOM-CCA-033-ECOL/1993 y NOM-127-SSA1-1994; no así para los puntos 6 a 1 en donde se muestra el flujo acuífero, en sentido descendente de los 1349

a los 1290 msnm, que es donde se concentra la mayor densidad poblacional humana, pero no donde se encuentra la mayor actividad de contaminación. En el municipio de Los Reyes, por ejemplo se obtuvo un valor de  $1 \times 10^6$  UFC/mL para los puntos 5, 3 y 1, **Tablas 2 y 3**, respectivamente, que es donde se obtienen los valores más altos de temperatura desde los 21.5° hasta 22.5°C, por ejemplo el punto 5 de la **Tabla 1**, es donde se encuentra el Centro de la ciudad, es uno de los puntos geográficos con una mayor contaminación debido a enterobacterias en donde se encuentran valores no conformes a las normas NOM-CCA-033-ECOL/1993 y NOM-127-SSA1-1994. Por lo que este es un punto crítico, de riesgo potencial de contaminación, para el afluente utilizado para riego de cultivos del género *Rubus spp.* y de efecto en la calidad e inocuidad de los frutos frescos de este cultivo extensivo. Los puntos 4 y 2 de las **Tablas 2 y 3**, muestran la de la carga microbiana expresada en UFC/mL de los cuales se observa que solo el punto 4 es un asentamiento humano regular en donde su efecto sobre la carga de enterobacterias es considerable y permite clasificar el agua calidad de tipo III conforme a la NOM-CCA-033-ECOL/1993. El punto 2 de la **Tabla 2** muestra agua de calidad Tipo III (según la NOM-CCA-033-ECOL/1993) este no corresponde a un asentamiento humano formal, sino al producto parcial del tratamiento del

**Tabla No. 2.- Densidad poblacional de coliformes totales por volumen de muestra y su geoposicionamiento global.**

Punto	Nombre	Latitud	Longitud	Altitud	Tipo de agua según la carga microbiana	Promedio
1	Entrada a planta de tratamiento.	19.36941°	102.38680°	1290 msnm	Tipo IV	1,000,000, UFC/mL
2	Salida fosa séptica	19.36924°	102.38692°	1295 msnm	Tipo III	100,000 UFC/mL
3	La Paz	19.36906°	102.28680°	1296 msnm	Tipo IV	1,000,0000 UFC/mL
4	Privada Constitución (atrás del panteón)	19.35429°	102.29149°	1303 msnm	Tipo IV	100,000 UFC/ mL
5	Centro	19.35234°	102.28312°	1327 msnm	Tipo IV	1,000,000 UFC/mL
6	Guadalajarita	19.35003°	102.27490°	1349 msnm	Tipo III	100,000 UFC/mL
7	Río Itzicuaru (planta)	19.34816°	102.25818°	1434 msnm	Tipo III	10,000 UFC/mL
8	La planta zona baja.	19.34809°	102.25819°	1437 msnm	Tipo III	10,000 UFC/mL
9	La planta	19.34763°	102.25758°	1460 msnm	Tipo I	1,000 UFC/mL

**Tabla No. 3.-** Densidad de microorganismos coliformes fecales por volumen de muestra y su geoposicionamiento global.

Punto	Nombre	Latitud	Longitud	Altitud	Promedio
1	Entrada a planta de tratamiento	19.36941°	102.38680°	1290 msnm	1,000,000 UFC/mL
2	Salida fosa séptica	19.36924°	102.38692°	1295 msnm	100,000 UFC/mL
3	La Paz	19.36906°	102.28680°	1296 msnm	1,000,000 UFC/mL
4	Privada Constitución (atrás del panteón)	19.35429°	102.29149°	1303 msnm	100,000 UFC/mL
5	Centro	19.35234°	102.28312°	1327 msnm	1,000,000 UFC/mL
6	Guadalajarita	19.35003°	102.27490°	1349 msnm	10,000 UFC/mL
7	Río Itzicuaro (planta)	19.34816°	102.25818°	1434 msnm	1,000 UFC/mL
8	La planta zona baja.	19.34809°	102.25819°	1437 msnm	1,000 UFC/mL
9	La planta	19.34763°	102.25758°	1460 msnm	Negativo

agua, en donde la carga microbiana  $1 \times 10^5$  UFC/mL permite su uso para riego cultivo de tipo hortofrutícola como es el caso de las zarzamoras, arándanos y frambuesas cultivados en los campos adyacentes a este afluente; así mismo se observa el posible efecto en la salud humana al contabilizar hasta  $1 \times 10^5$  UFC/mL de coliformes fecales en este punto de la **Tabla 3**, lo cual tiene un efecto negativo, al comprometer la inocuidad de los frutos frescos a comercializar.

De esta manera la identificación de puntos críticos de contaminación por patógenos humanos en cuerpos de agua y puntos de descarga como es el caso de las bacterias pertenecientes al grupo (a la familia *Enterobacteriaceae*) de enterobacterias, por metodologías como el número más probable citado en las normas Oficiales Mexicanas correspondientes Oficial Mexicana NOM-CCA-033-ECOL/1993 y NOM-127-SSA1-1994, las cuales son de carácter obligatorio. Sin embargo, los cuerpos y afluentes de agua están sometidos de manera natural a variaciones en su volumen, por accidentes geográficos y a la evaporación por radiación solar así como por la precipitación pluvial (Betancourt *et al.*, 2000), debe considerarse también que la actividad humana tiene un efecto sobre el volumen de los cuerpos de agua y sus afluentes, por su explotación para diversos fines como es el consumo humano de agua potable y aguas de tipo recreacional (Emiliani *et al.*, 1999, NOM-CCA-033-ECOL/1993 y NOM-127-SSA1-1994) y su explotación en riego para el cultivo de productos hortofrutícolas en donde tiene un papel determinante para el acarreo de patógenos humanos potenciales como por ejemplo levaduras del género *Candida spp.* (Arvanitidou, *et al.*, 2005), y patógenos humanos entéricos de la familia *Enterobacteriaceae* (Meays, *et al.*, 2004, Briancesco, 2005, Degbey *et al.*, 2011).

De esta manera con los resultados presentados y organizados de acuerdo a su geoposicionamiento global y con un error de  $\pm 4$  metros se puede identificar puntos críticos y de riesgo a la salud humana, permitiendo generar mapas locales, con sitios de contaminación potenciales y reales de patógenos humanos en descargas municipales sobre cuerpos y afluentes de agua que son usados para consumo humano y riego de frutos comerciales, así la generación de este tipo de información permite a las autoridades como la Comisión Nacional de Agua y Las Jurisdicciones

Sanitarias, la gestión y operación de plantas tratadoras de agua en beneficio de la salud humana.

## Agradecimientos

El presente trabajo ha sido realizado por un Proyecto Conjunto del Instituto Tecnológico Superior de Los Reyes y el Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de la Calidad del Agua de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, PROMEP EXB-UMICH-139, así como la concurrencia de Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología del Estado de Michoacán, Becas Tesis, 2011.

## Referencias

- Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos** (2010) INEGI, México.
- Arvanitidou M, Kanellou K, Vagiona DG** (2005) Diversity of Salmonella spp. and fungi in northern Greek rivers and their correlation to fecal pollution indicators. *Environ. Res.* 99(2):278-84.
- Betancourt JL, Latorre C, Rech JA, Quade J, Rylander KA** (2000) A 22,000-Year Record of Monsoonal Precipitation from Northern Chile's Atacama Desert. *Science.* 289(5484):1542-1546.
- Briancesco R** (2005) Microbial indicators and fresh water quality assessment. *Ann. Ist Super Sanita.* 41(3):353-8.
- Cabral JP** (2010) Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 7(10):3657-703.
- Degbey C, Makoutode M, Agueh V, Dramaix M, de Brouwer C** (2011) Factors associated with the quality of well water and the prevalence of waterborne diseases in the municipality of Abomey-Calavi in Benin. *Sante. Mar* 1;21(1):47-55.
- Emiliani F, Lajmanovich R, Acosta MA, Bonetto S** (1999) Temporal and spatial variations of coliforms and Escherichia coli in fluvial recreational waters (Salado River, Santa Fe, Argentina). Relationship with the quality standards. *Rev Argent Microbiol.* 31(3):142-56.
- Katsou E, Malamis S, Haralambous K** (2011) Pre-treatment of industrial wastewater polluted with lead using adsorbents and ultrafiltration or microfiltration membranes. *Water Environ Res.* 83(4):298-312.
- Levett KJ, Vanderzalm JL, Page DW, Dillon PJ** (2010) Factors

- affecting the performance and risks to human health of on-site wastewater treatment systems. *Water Sci Technol.* 62(7):1499-509.
- Meays CL, Broersma K, Nordin R, Mazumder A** (2004) Source tracking fecal bacteria in water: a critical review of current methods. *J Environ Manage.* 73(1):71-9.
- Parmar DL, Keshari AK** (2012) Sensitivity analysis of water quality for Delhi stretch of the River Yamuna, India. *Environ Monit Assess.* 184:1487–1508.
- Saeedi M, Khalvati-Fahlyani A** (2011) Treatment of oily wastewater of a gas refinery by electrocoagulation using aluminum electrodes. *Water Environ Res.* 83(3):256-64.
- Shipp AM, Gentry PR, Lawrence G, Van Landingham C, Covington T, Clewell HJ, Gribben K, Crump K** (2000) Determination of a site-specific reference dose for pollution for fish-eating populations. *Toxicol Ind Health.* 16(9-10):335-438.
- Tambone F, Scaglia B, Scotti S, Adani F** (2011) Effects of biodrying process on municipal solid waste properties in water. *Bioresour Technol.* 102(16):7443-50.
- Tezcan Un U, Koparal AS, Bakir Oğütveren U** (2009) Hybrid processes for the treatment of cattle-slaughterhouse wastewater using aluminum and iron electrodes. *Hazard Mater.* 164(2-3):580-6.
- Norma Oficial Mexicana NOM-CCA-033-ECOL/1993** (1993) *Diario Oficial de la Federación.*
- Norma Oficial Mexicana NOM-127-Ssa1-1994** (1994) Salud Ambiental. Agua Para Uso y Consumo Humano. Límites Permisibles de Calidad y Tratamientos a que debe Someterse El Agua para su Potabilización. *Diario Oficial de la Federación.*
- NMX-AA-008-SCFI-2000** (2000) *Análisis De Agua-Determinación De pH Método De Prueba.* Entidad Mexicana de Acreditación.