

SEGUIMIENTO DE ORIGEN MICROBIANO: CARACTERIZACIÓN DE CUENCAS E IDENTIFICACIÓN DE ORIGEN

Berenise Rivera and Dr. Channah Rock

La Calidad del Agua y Contaminación fecal.

La calidad del agua es una preocupación para numerosos grupos de interés y ha sido objeto de observación durante muchas décadas, en particular desde la promulgación de la Ley de Agua Limpia de 1972. Sin embargo, más de 30 años después de que se puso en práctica esta ley solo una fracción importante de los ríos, lagos y estuarios de Estados Unidos siguen siendo clasificados por no cumplir con su categoría de uso debido a los altos niveles de bacterias fecales (US EPA 2005). Como consecuencia, la protección contra la contaminación fecal y de bacterias es uno de los retos más importantes y difíciles que enfrentan los científicos ambientales, reguladores, y comunidades que tratan de proteger el suministro de agua pública, así como las aguas utilizadas para recreación (contacto primario y secundario). El monitoreo tradicional de calidad del agua ha ayudado a mejorar el saneamiento del agua para proteger la salud pública, pero también dio lugar a pérdidas económicas debido a los cierres de áreas recreativas de playas, lagos y ríos. Además, las soluciones a la contaminación no siempre son fácilmente evidentes o identificables. La capacidad de discriminar entre las fuentes de contaminación fecal es

necesaria para poder hacer una evaluación más definida de los riesgos para la salud humana y para poder hacer aguas seguras para uso humano.

Las fuentes potenciales de contaminación fecal que causan estos trastornos se pueden clasificar en dos grupos: fuentes puntuales que son fácilmente identificables (por ejemplo, las aguas residuales crudas y tratadas y derrames de aguas negras combinadas) y las fuentes no puntuales que están difusas en el ambiente y pueden ser difíciles de identificar (por ejemplo, la agricultura, la silvicultura, la vida silvestre, y la escorrentía urbana) (Okabe *et al.* 2007). Comprender el origen de la contaminación fecal es de suma importancia en la evaluación de riesgos para la salud, así como la identificación de las acciones necesarias para solucionar el problema (Scott *et al.* 2002). Como resultado, numerosos métodos se han desarrollado para identificar la contaminación fecal, así como diferenciar entre estas fuentes de contaminación. La identificación precisa de estas fuentes puede ayudar a facilitar la eliminación de las enfermedades microbianas transmitidas por el agua como una amenaza principal para la salud pública (Simpson, Santo Domingo y Reasoner 2002) (Figura 1).

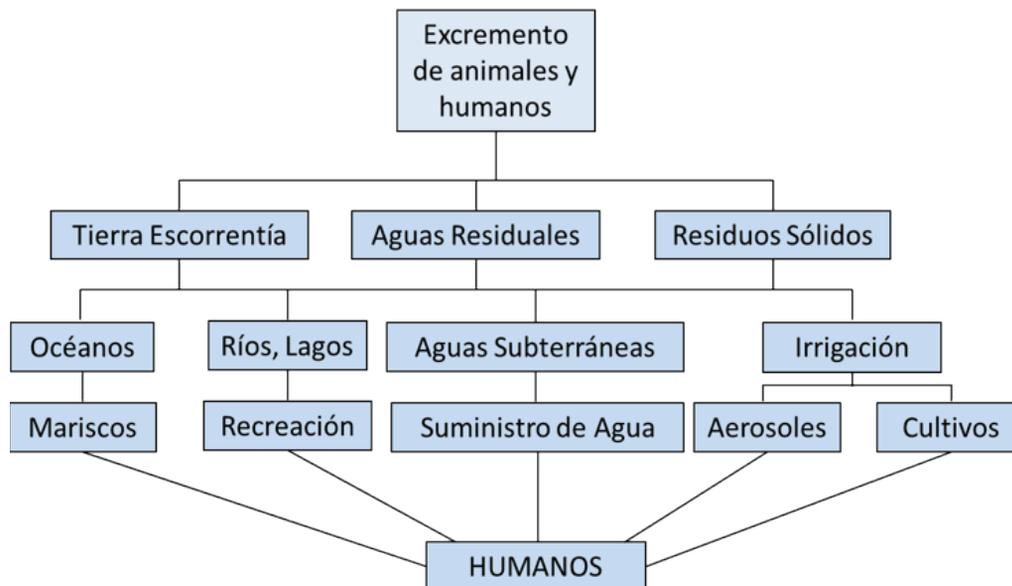


Figura 1. Transmisión de agentes patógenos a través del agua.

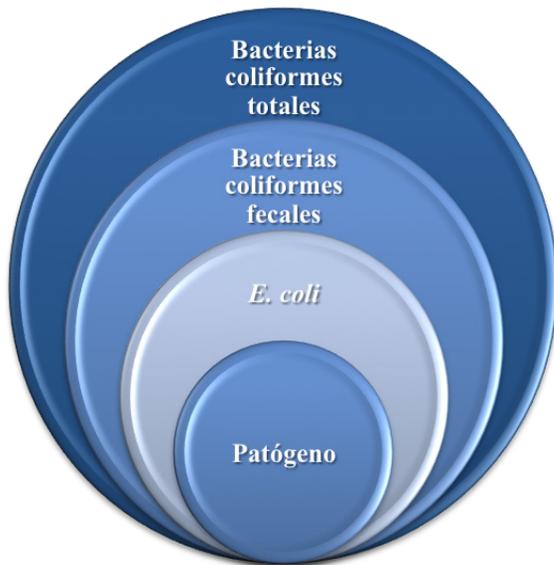


Figura 2. Relación entre los indicadores y patógenos.

Coliformes fecales y *Escherichia coli*.

Bacterias indicadoras se utilizan para indicar la presencia / ausencia o reducir el riesgo potencial asociado con microorganismos patógenos (Scott *et al.* 2002). Los coliformes fecales son un grupo de bacterias que se originan en las heces de mamíferos e incluyen los géneros *Escherichia* y *Klebsiella* (Figura 2). Estas bacterias indicadoras se identifican en el laboratorio con el uso de ciertas pruebas para evaluar su capacidad para utilizar lactosa como fuente de alimento. *Escherichia coli* o *E. coli* son bacterias coliformes fecales que se han utilizado extensivamente para indicar la presencia de patógenos humanos en agua (Parveen *et al.* 2001). Un patógeno se define como un microorganismo que tiene el potencial de hacer que un individuo sano se enferme. Métodos como el IDEXX Colilert y Colisure (IDEXX Laboratories Inc., Westwood, Maine) han sido ampliamente utilizados por los municipios, agencias reguladoras, investigadores y voluntarios para evaluar la salud y seguridad del agua. Estos métodos funcionan mediante la estimación de la concentración o cantidad de *E. coli* en una muestra de agua que es capaz de crecer y producir un cambio de color utilizando medios específicos (Figura 3). *E. coli* son ampliamente utilizados como indicadores de contaminación fecal, debido al hecho de que los métodos de cultivo y detección son relativamente baratos, se necesita poco entrenamiento para llevar a cabo las pruebas, y su presencia puede indicar la presencia de patógenos. Debido a los muchos riesgos de salud que la presencia de *E. coli* puede plantear, entidades como la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los E.U. y el Departamento Estatal de Calidad Ambiental (DEQ) han puesto en práctica métodos para evaluar y regular el uso de aguas que contienen *E. coli*. Niveles reglamentarios de *E. coli* se han establecido para determinar si el agua es adecuada para el contacto parcial o total del cuerpo sobre la base de un riesgo aceptable para la salud humana. De acuerdo con el EPA de los E. U., el contacto corporal parcial

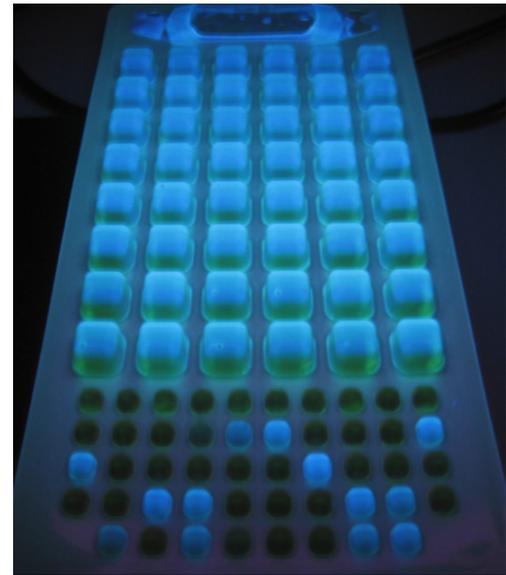


Figura 3. Visualización de una muestra de agua contaminada con material fecal. Células azules fluorescentes indican la presencia de *E. coli* en el agua.

(CCP) significa el uso recreativo de las aguas superficiales que pueden causar que el cuerpo humano entre en contacto directo con el agua, pero por lo general no hasta el punto de inmersión completa. El uso es tal que la ingestión del agua no es probable y órganos más sensibles del cuerpo, como los ojos, las orejas o la nariz, no estará expuesto al contacto directo con el agua. Contacto corporal completo (CCC) significa el uso de las aguas superficiales para nadar u otra actividad recreativa que hace que el cuerpo humano entre en contacto directo con el agua hasta el punto de inmersión completa. El uso es tal que la ingestión de agua es probable y órganos del cuerpo sensibles, tales como los ojos, los oídos o la nariz, puede estar expuesto a contacto directo con el agua. Numerosos estudios epidemiológicos se han llevado a cabo en todo el mundo para evaluar la asociación entre la calidad de las aguas recreativas y los resultados adversos de salud, incluyendo síntomas gastrointestinales (GI), infecciones oculares, irritaciones de la piel, oído, nariz y garganta, infecciones y enfermedades respiratorias, y han indicado que las tasas de algunos resultados adversos de salud son más altos en nadadores en comparación con los no nadadores (Soller *et al.* 2010). Las concentraciones de *E. coli* no puede exceder 575 unidades formadoras de colonias (UFC) por 100 ml para el contacto corporal parcial (CCP), mientras que el contacto corporal completo (CCC) no puede exceder de 235 UFC por 100 ml a efectos de regulación y protección de la salud humana. Este valor normativo de CCC equivale al riesgo aceptable de aproximadamente 8 casos de enfermedad gastrointestinal (diarrea) por 1.000 nadadores por año (US EPA 2009).

Aunque la presencia de *E. coli* en el agua indica la presencia de contaminación fecal y patógenos potenciales, se ha establecido que la mayoría de los animales de sangre caliente pueden liberar bacterias coliformes fecales y *E. coli* a un cuerpo de agua (Buchan, Alber y Hodson 2001). En consecuencia, la presencia de *E. coli* en el agua no es exclusiva de fuentes de contaminación humanas. Bacterias

coliformes fecales se encuentran en las heces humanas y animales, por lo tanto, pueden presentar una herramienta única para las fuentes de contaminación o de seguimiento. El seguimiento y control de la fuente de contaminación es crítica para la identificación de problemas y remediación (Fong, Griffin y Lipp 2005). El método más utilizado para medir la contaminación fecal es determinar la cantidad de bacterias coliformes fecales viables mediante el cultivo de ellos. Sin embargo, los métodos basados en la cultura no identifican la fuente de contaminación fecal (Field y Bernhard 2000).

¿Qué es el Seguimiento de Origen Microbiano?

Métodos de seguimiento de fuente microbiana (SFM) están destinados a discriminar entre fuentes humanas y no humanas de contaminación fecal, y algunos métodos están diseñados para diferenciar entre contaminación fecal procedentes de especies animales individuales (Griffith, Weisberg y McGee 2003). SFM es un área activa de investigación con el potencial de proporcionar información importante para gestionar eficazmente los recursos hidráulicos (Stoeckel *et al.* 2004).

Los métodos SFM suelen dividirse en dos categorías. La primera categoría es llamada biblioteca-dependiente, basándose en aislar-por-aislar la identificación de las bacterias cultivadas a partir de diversas fuentes fecales y muestras de agua y compararlas con una “biblioteca” de cepas bacterianas a partir de fuentes conocidas fecales. Métodos de biblioteca-dependientes requieren el desarrollo de las huellas dactilares bioquímicos (fenotípica) o moleculares (genotípica) para las cepas bacterianas aisladas de presuntas fuentes fecales (US EPA 2005). Estas huellas son comparadas en las bibliotecas desarrolladas para la

clasificación. El uso de bacterias fecales para determinar el origen animal huésped de contaminación fecal se basa en la suposición de que ciertas cepas de bacterias fecales se asocian con animales hospederos específicos y que las cepas de diferentes animales huésped pueden ser diferenciados en base a marcadores fenotípicos o genotípicos (Layton *et al.* 2006). Los métodos de biblioteca-dependientes tienden a ser más costosos y requieren más tiempo y personal con experiencia para completar el análisis debido al tiempo que se necesita para desarrollar una biblioteca (Figura 4). Además, una de las principales desventajas de los métodos de biblioteca-dependiente es que las bibliotecas tienden a ser temporal y geográficamente específicas. Mientras que esto puede ser útil para un lugar específico, por lo general no son muy aplicables a escalas más amplias como al nivel de una cuenca o estatal.

La segunda categoría es llamada biblioteca-independiente, y se basa en la detección de un marcador genético asociado con un hospedero específico o sea un gen identificado en el material molecular aislado de una muestra de agua. Estos métodos pueden ayudar a identificar las fuentes de contaminación basadas en una característica conocida del huésped específico (marcador genético) de la bacteria sin la necesidad de una “biblioteca”. Uno de los enfoques más ampliamente utilizados de los métodos biblioteca-independientes es utilizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar un gen diana que se encuentra específicamente en una población huésped (Shanks *et al.* 2010). PCR permite a los investigadores detectar material genético de las bacterias (por ejemplo, ácido desoxirribonucleico [ADN] o ácido ribonucleico [ARN]) aislado de una muestra de agua para una secuencia diana específica o en período relativamente corto de tiempo (Figura 5). Estos métodos no dependen del aislamiento de ADN directamente de la fuente original, aunque algunos de



Figura 4. Estudiante de doctorado, Berenise Rivera, demuestra una técnica estéril, mientras analiza muestras de agua para las bacterias fecales.

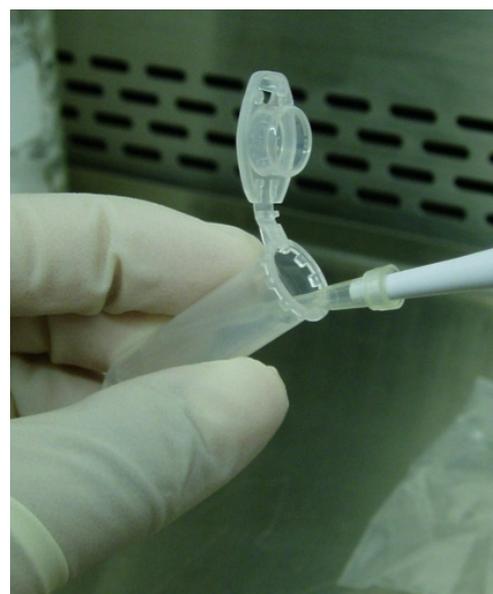


Figura 5. Extracción/Concentración de ADN.

Tabla 1. Tipos comunes de métodos de seguimiento de fuente microbiana (SFM). Ref: US EPA 2011

Biblioteca-dependiente		Biblioteca-independiente	
Cultivo-dependiente		Culture-independent	
Bioquímico	Molecular	Bioquímico o Molecular	Molecular
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Resistencia a antibióticos ▪ Utilización de carbono 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rep-PCR ▪ PFGE ▪ Ribo tipo 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bacteriófago ▪ Cultivo bacteriano 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ PCR de huésped bacteriano específico ▪ PCR de huésped viral específico ▪ PCR cuantitativo de huésped específico

estos métodos a menudo requieren un pre-enriquecimiento para aumentar la sensibilidad del método (US EPA 2005).

¿Qué métodos del SFM se están utilizando en la actualidad?

Recientemente ha habido un fuerte interés en comprender mejor los diversos tipos de métodos de SFM disponibles, así como cuales métodos son más útiles para los objetivos de identificación de la fuente y la caracterización de cuencas. De acuerdo con la EPA de los E. U., mientras que ha habido un progreso significativo en los últimos 10 años hacia el desarrollo de métodos; desafortunadamente variabilidad de las mediciones de rendimiento y métodos de validación de los estudios de laboratorio y de campo ha dado lugar a un cuerpo de literatura que es muy difícil de interpretar (US EPA 2005). Estudios comparativos han demostrado que ningún método es claramente superior a los otros (US EPA 2005). Por lo tanto, ningún método ha surgido como el método preferido para la determinación de las fuentes de contaminación fecal en todos los cuerpos de agua fecalmente deteriorados. Sin embargo, usando el método e indicador apropiado, las fuentes de contaminación fecal se pueden encontrar y caracterizar en cuanto a origen animal o humano (Simpson, Santo Domingo y Reasoner 2002). El SFM basado en la identificación de marcadores moleculares específicos puede proporcionar una imagen más completa de los usos del suelo y los riesgos ambientales para la salud asociados con la carga de contaminación fecal en una cuenca de lo que actualmente es posible con los indicadores y los métodos tradicionales (Jenkins et al. 2009). Los métodos SFM tienen la capacidad de identificar “quién” está contribuyendo a la contaminación, mientras que los métodos tradicionales basados en cultivos sólo te dicen “si” y “cuándo” la contaminación fecal está presente. En la siguiente tabla se describen los métodos SFM existentes que se están utilizando actualmente y los objetivos generales para cada uno (Tabla 1).

Una reciente revisión de literatura ha identificado un aumento en los métodos de biblioteca-independientes disponibles para la caracterización de las cuencas hidrográficas. En particular, PCR bacteriana y viral de huésped específico, así como PCR cuantitativa de huésped específico parecen haber conducido el reciente desarrollo de métodos. En teoría, la PCR huésped específico (biblioteca-independiente SFM) utiliza secuencias marcadoras genéticas que no sólo son específicos para las bacterias fecales, pero también son específicos de la especie huésped que producen las heces, lo que permite la discriminación entre las diferentes fuentes potenciales (Field, Bernhard y Brodeur 2003). PCR específico del huésped promete ser un método eficaz para la caracterización de una población microbiana sin cultivar los organismos en cuestión (Scott *et al.* 2002). Además, estos métodos son rentables, rápidos, y potencialmente más específico que los métodos de biblioteca-dependientes. Se espera que estos métodos moleculares específicos del huésped continuarán desarrollándose con énfasis en los métodos que utilizan la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), el cual es una técnica que mide la cantidad de ADN microbiana presente en la muestra de agua en lugar de simplemente detectar la presencia o ausencia de ADN microbiano (Santo Domingo *et al.* 2007). Al cuantificar la cantidad de ADN microbiano se pueden hacer comparaciones con respecto a los impactos relativos de una fuente específica a una ubicación específica dentro de la cuenca. En particular, una de las bacterias más citadas analizadas para la biblioteca independiente de SFM es *Bacteroides*.

¿Qué es Bacteroides?

El género *Bacteroides* es anaeróbica e incluye bacteria Gram negativa, no forman esporas, son inmóviles, en forma de vara y generalmente son aisladas del tracto gastrointestinal (tracto GI) de los humanos y animales (Smith, Rocha y Paster 2006). Como miembros de la flora nativa desempeñan

una variedad de funciones que contribuyen a la fisiología intestinal y función normal. Estos incluyen funciones benéficas como la disolución de polisacáridos o ciclo del Nitrógeno (Smith, Rocha y Paster 2006). De acuerdo con Smith *et al.* (2006) *Bacteroides* generalmente causan infecciones oportunistas que pueden ocurrir en cualquier momento y la integridad de la pared de la mucosa del intestino está comprometida. Tales condiciones son la cirugía gastrointestinal, apendicitis perforada o gangrenosa, úlcera perforada, diverticulitis, trauma y enfermedad inflamatoria del intestino. Otro aspecto importante de la biología de *Bacteroides* es la falta de capacidad de proliferar en el medio ambiente, así como su potencial para sobrevivir en el medio ambiente a una velocidad directamente proporcional a los patógenos de interés. *Bacteroides* dependen principalmente de la temperatura y la presencia de depredadores, y se ha encontrado que pueden sobrevivir hasta seis días bajo condiciones de reducción de oxígeno (Field y Dick 2004) similar a otros patógenos.

Debido a la abundancia de esta bacteria en las heces humanas y de animales, la bacteria ha permitido para el análisis dirigido a los genes huésped presentes en el genoma *Bacteroides*. Layton *et al.* (2006) expresa que las bacterias que pertenecen al género *Bacteroides* se han sugerido como indicador fecal alternativo a *E. coli* o bacterias coliformes fecales ya que constituyen una porción significativa de la población de bacterias fecales, tienen poco potencial para el crecimiento en el medio ambiente, y tienen alto grado de especificidad de huésped que probablemente refleja las diferencias en los sistemas digestivos de origen animal de acogida.

Numerosos métodos han sido diseñados para secuencias diana específicas de diagnóstico de *Bacteroides* dentro del gen 16S ARNr (que es vital para la síntesis de proteínas y por lo tanto presente en todas las bacterias) presentes en las heces de diferentes animales. Katherine Field y colegas, en particular, han realizado una amplia investigación sobre el uso de *Bacteroides* 16S ARNr PCR ensayos basados en SFM. Field and Bernard (2004) desarrollaron 16S ARNr genes responsables de *Bacteroides* para detectar la contaminación fecal y distinguir entre recursos humanos y rumiantes (por ejemplo, ganado bovino, caprino, ovino, venados, y otros) por PCR. El desarrollo de métodos SFM específicos a los marcadores moleculares dentro del gen diana permitirá diferenciar entre *Bacteroides* asociados con humanos y rumiantes, por lo tanto, ayudando con la identificación de la posible fuente de contaminación. Como Scott *et al.* (2002) menciona, este enfoque ofrece la ventaja de evitar la necesidad de una etapa de cultivo, lo que permite una identificación más rápida del organismo.

Mientras que se ha avanzado en la identificación de marcadores genéticos que son útiles para el SFM, pocos son los estudios que han evaluado cómo estos marcadores moleculares utilizados como dianas de SFM varían en el tiempo y en el espacio después de la contaminación fecal de las aguas superficiales (Bower *et al.* 2005). Hay

varios estudios que han utilizado métodos de SFM, en particular análisis de huésped asociado basados en PCR dirigidos a marcadores genéticos de *Bacteroides* para investigar las fuentes y los niveles de contaminación fecal en aguas recreativas y cuencas hidrográficas. En un estudio realizado por Gourmelon *et al.* (2007), tres estuarios fueron comparados por PCR utilizando marcadores específicos de *Bacteroides* humano en combinación con diana específica de humanos y animales. PCR resultó ser un indicador confiable de la contaminación fecal. *Bacteroides* se observó en el 95% de las muestras fecales en todas las plantas de tratamiento de aguas residuales y el estiércol de cerdo líquido. Otro estudio dirigido a *Bacteroides*, Shanks *et al.* (2010), compararon siete análisis de PCR y qPCR dirigidos a genes de *Bacteroides* que fueron relacionados con heces rumiantes o bovinas. PCR demostró niveles de prevalencia que variaron de 54% a 85% de todos los extractos de ADN de 247 muestras fecales bovinas individuales y especificidad (que preciso el análisis de PCR detectó muestras fecales bovinas conocidos) varió de 76% a 100% para los análisis estudiados. Un estudio previo por Griffith, Weisberg y McGee (2003), utilizando muestras ciegas demostró que métodos de fuente específicos para *Bacteroides*, SFM identificó fuentes fecales correctamente cuando las fuentes compuestas con tan poco como 1% del total de la contaminación fecal en las muestras. Aunque existe una gran cantidad de conocimiento en la literatura, todavía hay muchos estudios de SFM en curso dirigidas al gen 16S ARNr de *Bacteroides* para mejorar la detección y caracterización de cuencas.

Aunque SFM de *Bacteroides* ha sido útil para la caracterización de la contaminación, todavía es una ciencia emergente e investigaciones se están realizando actualmente para validar métodos publicados y comprender mejor la eficacia de las tecnologías disponibles. Extensas pruebas de campo está en curso para determinar la eficacia de análisis publicados y la distribución geográfica de presuntos marcadores específicos de humanos (McLain *et al.* 2009). Varios estudios recientes han revelado las pruebas de heces de los animales domésticos, ganado, aves y mamíferos silvestres, así como peces y otras especies acuáticas para la amplificación cruzada con análisis humanos y los marcadores moleculares que previamente se pensaba ser específico ha humano (McLain *et al.* 2009). Por lo tanto, es fundamental que los métodos basados en SFM sean evaluados cuenca por cuenca para finalmente comprender la utilidad de los métodos para la caracterización de la contaminación exacta.

SFM Apoya Caracterización de Cuencas e identificación de fuentes en Arizona.

El Departamento de Calidad Ambiental de Arizona (ADEQ) fue establecido por la Legislatura Estatal de Arizona en 1986. El objetivo de ADEQ es proteger y mejorar la salud pública, el bienestar y el medio ambiente en Arizona. Hoy



Figura 6. Voluntarios del equipo de monitoreo de calidad del agua reciben entrenamiento organizado por personal de Extensión Cooperativa de la UA.



Figura 7. Voluntario de monitoreo de calidad del agua en el Río Santa Cruz, Arizona.



Figura 8. Muestras de agua ambientales colectadas en el campo.

en día, ADEQ administra una variedad de programas para crear conciencia de los problemas del agua que actualmente enfrenta Arizona. Además, ADEQ utiliza programas para mejorar el bienestar y la salud de los habitantes de Arizona a través de asegurar que los recursos de agua cumplan con los estándares regulatorios. Esta agencia regulatoria mantiene una lista nombrada 303d de los lugares que no cumplen con los estándares regulatorios de agua limpia en todo el estado de Arizona (ADEQ 2010). Sección 303d requiere cargas totales máximas diarias (TMDL) se establezcan para las aguas afectadas por los estados, territorios y tribus autorizadas con la supervisión de la EPA de E. U. (Simpson, Santo Domingo y Reasoner 2002). Un TMDL se define como la cantidad máxima de un contaminante en el cuerpo de agua que puede recibir y aún cumplir con los límites regulados para ese contaminante. A partir de 2008, ADEQ listó 17 cuencas deterioradas en todo el estado de Arizona en la lista 303d debido a la presencia de *E. coli* en niveles más altos que las criterios establecidos (US EPA 2008). Se anticipa que el número de cuencas deterioradas se incrementará en el año 2013. ADEQ trabaja diligentemente para traer esas cuencas deterioradas a estándar.

Recientemente, un método utilizado por la sección de ADEQ encargada de la ejecución TMDL ha involucrado un seguimiento intensivo de calidad del agua por voluntarios capacitados, junto con el uso de métodos innovadores de SFM. Este enfoque tiene como objetivo entender y describir las líneas de acción necesarias para restablecer aguas afectadas y para proteger y mantener las aguas no afectadas en todo el Estado de Arizona. Como parte de este enfoque, los grupos interesados en cuencas locales y la agencia estatal han comenzado a colaborar con las instituciones de investigación, la Universidad de Arizona y la Universidad del Norte de Arizona, para utilizar técnicas de SFM para identificar las fuentes de bacterias fecales y la contaminación microbiana dentro de las cuencas hidrográficas deterioradas. El objetivo de este enfoque es identificar y caracterizar apropiadamente las fuentes de contaminantes que causan el deterioro. En las cuencas donde las fuentes no se conocen ni se entienden, las técnicas de SFM pueden ayudar a identificar y eliminar las fuentes potenciales de bacterias fecales.

Hasta la fecha, más de 181 muestras de agua de superficie han sido colectadas por voluntarios entrenados por profesores, personal y estudiantes de la Universidad de Arizona Extensión Cooperativa en tres cuencas actualmente calificadas como deterioradas por bacteria de *E. coli* por ADEQ (Figuras 6, 7 and 8). Investigaciones en la Universidad de Arizona está en marcha para evaluar los métodos MST actualmente publicados que produzcan datos fiables a partir de estas cuencas para el desarrollo e implementación del TMDL. Los métodos de SFM fueron elegidos específicamente dentro de estas regiones seleccionadas en el estado debido a la(s) fuente(s) de lo previsto de las bacterias no visiblemente evidentes en estas cuencas. Más específicamente, los métodos fueron seleccionados para diferenciar entre las fuentes humanas y bovinas de *Bacteroides* presente en muestras de agua

Tabla 2. Términos de uso general (ref. US EPA 2011)

Términos de uso general:

Métodos Bioquímicos (fenotípicas) se refieren a la capacidad de observar físicamente una característica de las bacterias aisladas que podrían haber sido adquiridos de la exposición a diferentes especies huésped o el medio ambiente. Ejemplos pueden ser la resistencia a ciertos antibióticos o la utilización de carbono como fuente de nutrientes.

Métodos de cultivo que dependen en bacterias de las muestras de agua que se cultivan en un laboratorio.

Unidades formadoras de colonias (UFC) se refiere a la unidad de medida o de la concentración de bacterias cultivadas.

Métodos de cultivo independientes aíslan e identifican el ADN directamente a partir de una muestra de agua sin primero tener que cultivar las bacterias de la muestra.

Fuente fecal se refiere a un huésped humano o animal donde un microbio origina en los residuos fecales de ese huésped. Dependiendo de la especificidad de un método de SFM, una fuente fecal podría referirse a un grupo general de huéspedes (por ejemplo, todos los seres humanos, todos los animales, o un grupo de animales, tales como los rumiantes), o un huésped específico animal (por ejemplo, ganado, venados, perros, etc.)

Métodos de biblioteca dependientes identifican las fuentes de material fecal de las muestras de agua basado en datos de huellas dactilares fenotípicas o genotípicas de las cepas de bacterias de las fuentes fecales conocidas.

Métodos de biblioteca independientes identifican las fuentes fecales sobre las características conocidas de huéspedes específicos de las bacterias sin necesidad de una biblioteca.

Seguimiento de fuente microbiana (SFM) se refiere a un grupo de métodos destinados a discriminar entre fuentes humanas y no humanas de la contaminación fecal. Algunos métodos están diseñados para diferenciar entre contaminación fecal originarios de especies de animales individuales.

Cepa microbiana es una variante genética o subtipo de un microorganismo (por ejemplo, las especies bacterianas).

Métodos moleculares (genotípica) utilizan las variaciones en la composición genética o el ADN de cada organismo individual o bacterias. Esto se conoce como "huellas de ADN".

recogidas por voluntarios. Cada una de las diferentes cuencas hidrográficas incluidas en este estudio tienen una diferente caracterización del uso del suelo (urbano o rural) y las entradas potenciales dentro de su área. El uso de los métodos mencionados anteriormente para identificar las fuentes de contaminación fecal facultará a ADEQ para trabajar con las partes interesadas dentro de la comunidad para supervisar y solucionar lugares que contribuyen a la contaminación con la intención de remover aguas afectadas de la lista en Arizona.

Referencias

- Arizona Department of Environmental Quality. 2010 Water Quality [Online] <http://www.azdeq.gov/environ/water/index.html>.
- Bower, P. A., Scopel, C. O., Jensen, E. T., Depas, M. M., and McLellan, S. L. 2005. Detection of Genetic Markers of Fecal Indicator Bacteria in Lake Michigan and Determination of Their Relationship to *Escherichia coli* Densities Using Standard Microbiological Methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(12): 8305-8313.
- Buchan, A., Alber, M., and Hodson, R. E. 2001. Strain-specific differentiation of environmental *Escherichia coli* isolates via denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis of the 16S-23S intergenetic spacer region. *FEMS Microbiol. Ecol.* 35: 313-321.
- Field, K. G., and Bernhard, A. E. 2000. Identification of Nonpoint Sources of Fecal Pollution in Coastal Waters by Using Host-Specific 16S Ribosomal DNA Genetic Markers from Fecal Anaerobes. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1587-1594.
- Field, K. G., Bernhard, A. E., and Brodeur, T. J. 2003. Molecular Approaches To Microbiological Monitoring: Fecal Source Detection. *Environ. Monitoring and Assessment* 81: 313-326.
- Field, K. G., and Dick, L. K. 2004. Rapid Estimation of Numbers of Fecal Bacteroidetes by use of a Quantitative PCR Assay for 16S rRNA Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 5695-5697.
- Fong, T. T., Griffin, D. W., and Lipp, E. K. 2005. Molecular Assays for Targeting Human and Bovine Enteric Viruses in Coastal Waters and their Application for Library-Independent Source Tracking. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 2070-2078.
- Gourmelon, M., Caprais, M. P., Segura, R., Le Mennec, C., Lozach, S., Piriou, J. Y., and Rince, A. 2007. Evaluation of Two Library-Independent Microbial Source Tracking

- Methods To Identify Sources of Fecal Contamination in French Estuaries. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 4857-4866.
- Griffith, J. F., Weisberg, S. B., and McGee, C. D. 2003. Evaluation of microbial source tracking methods using mixed fecal sources in aqueous test samples. *J. Wat. Health* 1: 141-151.
- Jenkins, M. W., Sangam, T., Lorente, M., Gichaba, C. M., and Wuertz, S. 2009. Identifying human and livestock sources of fecal contamination in Kenya with host-specific Bacteroidales assay. *Water Research* 43: 4956-4966.
- Layton, A., McKay, L., Williams, D., Garrett, V., Gentry, R., and Saylor, G. 2006. Development of Bacteroides 16S rRNA Gene TaqMan-Based Real-Time PCR Assays for Estimation of Total, Human, and Bovine Fecal Pollution in Water. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 4214-4224.
- McLain, J. E., Ryu, H., Kabiri-Badr, L., Rock, C. M., and Abbaszadegan, M. 2009. Lack of specificity for PCR assays targeting human *Bacteroides* 16S rRNA gene: cross-amplification with fish feces. *FEMS Microbiology Letters* 299: 38-43.
- Okabe, S., Okayama N., Savichtcheva O., and Ito, T. 2007. Quantification of host-specific *Bacteroides-Prevotella* 16SrRNA genetic markers for assessment of fecal pollution in freshwater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 74: 890-901.
- Parveen, S., Hodge, N. C., Stall, R. E., Farrah, S. R., and Tamplin, M. L. 2001 Phenotypic and Genotypic Characterization of Human and Nonhuman *Escherichia coli*. *Water Res.* 35: 379-386.
- Santo Domingo, J. W., Bambic, D. G., Edge, T. A., and Wuertz, S. 2007. Quo Vadis Source Tracking? Towards a Strategic Framework for Environmental Monitoring of Fecal Pollution. *Water Res.* 41: 3539-3552.
- Scott, T. M., Rose, J. B., Jenkins, T. M., Farrah, S. R., and Lukasik, J. 2002. Microbial Source Tracking: Current Methodology and Future Directions. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 5796-5803.
- Shanks, O. C., White, K., Kelty, C. A., Hayes, S., Sivaganesan, M., Jenkins, M., Varma, M., and Haugland, R. A. 2010. Performance Assessment PCR-Based Assays Targeting Bacteroidales Genetic Markers of Bovine Fecal Pollution. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 1359-1366.
- Simpson, J. M., Santo Domingo, J. W., and Reasoner, D. J. 2002. Microbial Source Tracking: State of the Science. *Environ. Sci. Technol.* 36: 5279-5288.
- Smith, C. J., Rocha, E. R., and Paster, B. J. 2006. The Medically Important *Bacteroides* spp. in Health and Disease. *Prokaryotes* 7: 381-427.
- Soller, J. A., Schoen, M. E., Bartrand, T., Ravenscroft, J. E., and Ashbolt, N. J. 2010. Estimated human health risks from exposure to recreational waters impacted by human and non-human sources of faecal contamination. *Water Research* 30: 1-18.
- Stoeckel, D. M., Mathes, M. V., Hyer, K. E., Hagedorn, C., Kator, H., Lukasik, J., O'Brien, T. L., Fenger, T. W., Samadpour, M., Strickler, K. M., and Wiggins, B. A. 2004. Comparison of Seven Protocols To Identify Fecal Contamination Sources Using *Escherichia coli*. *Environ. Sci. Technol.* 38: 6109-6117.
- US Environmental Protection Agency. 2005. Microbial source tracking guide. Document EPA/600/R-05/064. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- US Environmental Protection Agency. 2008. Arizona 2008 Water Quality Assessment Report [Online] http://iaspub.epa.gov/waters10/attains_index.control?p_area=AZ#wqs
- US Environmental Protection Agency. 2009. Water Quality Standards [Online] http://www.epa.gov/waterscience/standards/wqslibrary/az/az_9_wqs.pdf
- US Environmental Protection Agency, Region 10. 2011. Using Microbial Source Tracking to Support TMDL Development and Implementation [Online] http://www.epa.gov/region10/pdf/tmdl/mst_for_tmdls_guide_04_22_11.pdf



COLLEGE OF AGRICULTURE
AND LIFE SCIENCES
COOPERATIVE EXTENSION

THE UNIVERSITY OF ARIZONA
COLLEGE OF AGRICULTURE AND LIFE SCIENCES
TUCSON, ARIZONA 85721

BERENISE RIVERA, MPH, PHD. STUDENT
Candidata a Doctorado, Suelo / Agua y Ciencias Ambientales

DR. CHANNAH ROCK
Especialista en Calidad del Agua de extensión/ Profesor, Suelo / Agua y Ciencias Ambientales

CONTACT:
CHANNAH ROCK
channah@cals.arizona.edu

This information has been reviewed by University faculty.
cals.arizona.edu/pubs/water/az1547.pdf

Other titles from Arizona Cooperative Extension can be found at:
cals.arizona.edu/pubs

La Universidad de Arizona no avala ningún producto, servicio u organización que se mencione, muestre o se implique indirectamente en esta publicación.

Emitido en promoción del trabajo de la Extensión Cooperativa, leyes del 8 de mayo y 30 de junio de 1914, en colaboración con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Jeffrey C. Silvertooth, Associate Dean & Director, Economic Development & Extensión Cooperativa, Facultad de Agricultura y Ciencias de la Vida, Universidad de Arizona.

La Universidad de Arizona es una institución de oportunidades iguales y acción afirmativa. La Universidad no discrimina, en sus programas y actividades, por razones de raza, color, religión, sexo, nacionalidad de origen, edad, discapacidad, condición de veterano ni preferencia sexual.