

## **Riesgos microbiológicos en agua de bebida: una revisión clínica**

José de Jesús Alba R.1,3, José Luis Ortega S.4, Gerardo Álvarez H.1, Maribel Cervantes F.2,  
Estela Ruiz B.2, Norma Urtiz E.2, Aurora Martínez R.1\*

1Facultad de Ciencias Químicas Unidad Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED), México.

2Facultad de Ciencias Químicas Unidad Durango, UJED.

3Laboratorio de Asesores Especializados de la Laguna, Gómez Palacio, Durango. 4Unidad Regional de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo.

\*E-mail: [quimicaaurora@hotmail.com](mailto:quimicaaurora@hotmail.com)

Recibido 7 de octubre 2013- Reenviado 26 de Octubre 2013- Aceptado 29 de Octubre 2013

### **Resumen**

La contaminación microbiológica y química del agua potable origina efectos adversos a la salud. Un suministro adecuado de agua potable es universalmente reconocido como una necesidad humana básica. El objetivo de la presente revisión fue conocer los riesgos microbiológicos en agua de bebida. Calidad del agua, es garantizar que los consumidores no estén expuestos a agentes patógenos que puedan causar enfermedades. El agua natural puede contener una gran variedad de microorganismos patógenos, bacterias, virus y protozoos. Las cepas patógenas intestinales de *Escherichia coli* pertenecen a los prototipos: enterohemorrágica, enterotoxigénica, enteroinvasiva, enteropatógena, *E. coli* productora de la toxina Shiga y de adherencia difusa. Los coliformes totales y fecales termotolerantes se han utilizado como indicadores que afectan la calidad del agua y al evaluar la presencia de *E. coli* se mide el riesgo de la contaminación microbiana en el agua potable. Se tienen que tomar medidas de prevención para salvaguardar de contaminación futura.

*Palabras clave:* Calidad del agua, *Escherichia coli*, contaminación, control, prevención.

## **Microbiological risks in drinking water: a clinical review**

### **Abstract**

The microbiological and chemical contamination of drinking water causes adverse health effects. An adequate supply of drinking water is universally recognized as a basic human need. The aim of this review was to determine the microbiological risks in drinking water. Water quality is to ensure that consumers are not exposed to pathogens that can cause disease. Natural water may contain a wide variety of pathogens, bacteria, viruses and protozoa. Intestinal pathogenic strains of *Escherichia coli* belonging to prototypes: enterohemorrhagic, enterotoxigenic, enteroinvasive, enteropathogenic *E. coli* Shiga toxin-producing and diffusely adherent. Total coliforms and fecal coliforms are used as indicators that affect water quality and to assess the presence of *E. coli* measured the risk of microbial contamination in drinking water. They have to take preventive measures to safeguard future pollution.

*Keywords:* Water quality, *Escherichia coli*, pollution control, prevention.

## **Introducción**

El agua dio origen a la vida y la mantiene, es un factor que regula el clima del planeta, esculpe y permite la existencia de los ecosistemas y de la humanidad. La contaminación microbiana y química del agua potable origina efectos adversos a la salud, como cólera, diarrea y fiebre tifoidea, en un número significativo de individuos durante periodos prolongados de tiempo causando incapacidad en los afectados causando pérdidas económicas considerables, lo anterior se debe al crecimiento demográfico, desarrollo industrial y urbanización.<sup>1</sup> “Calidad del agua”, es un término usado para expresar apropiadamente el sustento del uso del agua para varios procesos.<sup>2</sup>

En trabajos previos, como el caso de detección de *E. coli* en tuberías de Europa,<sup>3</sup> o en Rawalpindi, Pakistan,<sup>4</sup> se ha concluido que era necesaria mayor vigilancia al sistema de agua potable, para diseñar las estrategias más adecuadas para mejorar la calidad y suministro de agua, es necesaria una evaluación continua del agua, para así, determinar la probable fuente de contaminación, analizar los entornos comunitarios, para tomar medidas de saneamiento para el líquido vital, incluyendo aquellas áreas que dependen de fuentes superficiales mejoradas de agua potable.<sup>5</sup>

Los brotes de enfermedades infecciosas transmitidas por el consumo de agua contaminada siguen siendo grave amenaza de salud en todo el mundo, a pesar de que el agua potable es uno de los recursos más estrechamente vigilados y estrictamente regulados, este fenómeno no solo sucede en los países en desarrollo sino también es amenaza en los países desarrollados. La presencia de crecimiento bacteriano en agua potable puede multiplicar los efectos adversos en los sistemas de distribución de una manera incontrolable.<sup>6</sup>

Muchos investigadores, han observado que el almacenamiento de agua en el hogar conduce a un deterioro de la calidad del agua debido a su contaminación. Incluso si las familias tienen una fuente de agua limpia para beber, el agua puede contaminarse en el hogar debido a la falta de higiene y de prácticas de mantenimiento a filtros y desinfección de contenedores de agua.<sup>5</sup>

El agua potable, es un servicio básico en cualquier parte del mundo. Pero las comunidades ubicadas en los alrededores de las ciudades, no son atendidas de igual manera que el área central de las mismas. Cada sistema de gobierno se encarga de distribuir el agua a sus comunidades. Sin embargo, no existe un monitoreo de la calidad del agua, no se lleva un control microbiológico sistemático, necesario para asegurar la potabilidad del agua. Por lo que, el objetivo de la presente revisión fue conocer los riesgos microbiológicos en agua de bebida.

## **El agua y la contaminación**

El agua, no tiene sustituto y no se conoce forma de vida que prescindiera de ella: bosques, ciudades, polos, zonas industriales, pastizales, plantíos, bebés, bacterias, ballenas, aviones y cohetes, de cualquier manera, se necesita el agua.<sup>2</sup> El agua, es uno de los

elementos más importantes para todas las formas de vida, indispensable en el mantenimiento de la vida en la Tierra y es esencial para la composición y renovación celular. El agua representa el 70% de nuestro cuerpo, participa en la composición de nuestros tejidos y transporta las sustancias más diversas en el organismo.<sup>7</sup>

El agua químicamente pura es un líquido inodoro e insípido; incoloro y transparente en capas de poco espesor, toma color azul cuando se mira a través de espesores de 6 a 8 m, porque absorbe las radiaciones rojas. A la presión atmosférica normal (760 mm Hg), el punto de congelación del agua es 0°C y su punto de ebullición de 100°C. El agua alcanza su densidad máxima a una temperatura de 4°C y se expande al congelarse.<sup>2</sup>

El agua dulce que se utiliza proviene de dos fuentes: agua superficial y agua subterránea (mantos freáticos), se encuentra en ríos, lagos, pantanos y rebalses o depósitos artificiales. Las cuencas hidrológicas o colectoras, también llamadas cuencas de captación, son aquellas áreas de tierra que captan y llevan el agua de escurrimiento hasta las denominadas masas de agua superficial. El agua que fluye por la superficie de la tierra hasta los cuerpos o masas de agua en la superficie se le conoce como escurrimiento superficial y al agua que fluye por los ríos hasta los océanos se le denomina escurrimiento fluvial. Se considera que el 69% del agua que llega a los ríos en toda la Tierra proviene de la lluvia y de la nieve derretida en sus cuencas, y el agua restante proviene de descargas de agua subterránea. Las cuencas fluviales, alimentadas en gran parte por la lluvia, ocupan el 60% del área de tierra firme y sustentan al 90% de la población mundial.<sup>2</sup>

Cualquier sociedad civilizada debe considerar el suministro de agua potable como una prioridad. Esto es así, porque el agua potable es una necesidad básica para el desarrollo humano, salud y bienestar.<sup>1</sup> Un suministro adecuado de agua potable es, universalmente reconocido como una necesidad humana básica. Sin embargo, millones de personas en el mundo en desarrollo no tienen fácil acceso a un suministro de agua adecuado y seguro.<sup>8</sup>

Con el cambio climático, el crecimiento demográfico y la escasez de agua, hay una creciente necesidad de gestionar recursos hídricos de manera sostenible. En todo el mundo 1,1 millones de personas carecen de acceso a suministros adecuados de agua y más aún por la gran demanda de afluentes de agua dulce en el mundo. Muchos de los grandes ríos, especialmente en las regiones semiáridas, han reducido significativamente el flujo y captación de agua subterránea, resultando en un descenso de los niveles freáticos en numerosas regiones.<sup>2</sup> Desde una perspectiva de salud pública, el acceso a cantidades suficientes de agua limpia y potable es una cuestión crucial. A pesar del hecho de que las grandes cantidades de agua dulce están disponibles en muchas regiones del mundo, el agua potable sigue siendo un recurso limitado.<sup>9</sup>

## Calidad del agua

Calidad del agua, es un término usado para expresar apropiadamente el sustento del uso del agua para varios procesos.<sup>2</sup> La calidad del agua es uno de los principales problemas en el tema del agua y su mejora es una de las principales preocupaciones.<sup>4</sup> El agua purificada se utiliza como el componente principal en soluciones para diálisis peritoneal en hospitales, en soluciones de nutrientes (alimento infantil), líquidos enterales, preparados en el hospital para administrar a niños y pacientes débiles que no pueden comer alimentos sólidos regulares. La contaminación puede afectar a todo el proceso en la industria farmacéutica o el medio ambiente de un nosocomio.<sup>7</sup> Aunque el agua potable es apta para el consumo humano, esto no garantiza que cuente con la calidad suficiente para ser utilizada en instalaciones industriales, equipos, preparación de medicamentos, alimentos, cosméticos, materiales químicos farmacéuticos, o unidades de los centros de salud para la limpieza y lavado de semi-áreas críticas o dispositivos anteriores a la aplicación de los procedimientos de desinfección o esterilización. Por esta razón, cada planta industrial o farmacéutica relacionada con los productos de salud debe contar con adecuados sistemas de purificación de agua, lo que le permite satisfacer sus necesidades particulares, especialmente en cuanto a los problemas relacionados con el almacenamiento y distribución interna. Este procedimiento debe garantizar el suministro de agua de acuerdo con el volumen requerido y de conformidad con los puntos críticos exigidos de calidad.<sup>7</sup>

Los sistemas de control de calidad de agua están diseñados para obtener información cuantitativa sobre la distribución temporal y espacial de la calidad del agua y, por tanto, las variables sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de los recursos hídricos.<sup>10</sup> La protección y salvaguardia de la calidad del agua, se encuentran entre las prioridades más importantes a causa de las implicaciones para el medio ambiente y la salud humana en las zonas donde puede haber contacto directo o indirecto (ingestión, aerosol o inhalación líquida, contacto con la epidermis, etc.) con los patógenos.<sup>11</sup> Entre los métodos existentes, la detección y conteo de bacterias indicadoras de base es la técnica utilizada en el monitoreo de la calidad del agua.<sup>12</sup>

## Contaminación del agua

La contaminación del agua es el grado de impurificación, que puede originar efectos adversos a la salud de un número representativo de personas durante periodos previsibles de tiempo y se debe al crecimiento demográfico, desarrollo industrial y urbanización. Estos tres factores evolucionan rápidamente y se dan uno en función del otro. En décadas recientes miles de lagos, ríos y mares se han contaminado en forma alarmantemente debido a las actividades humanas.<sup>2</sup>

Las fuentes de contaminación del agua pueden ser naturales o artificiales, la contaminación natural es generada por el ambiente, y la artificial por las actividades humanas.

La importancia que ha cobrado la calidad del agua ha permitido evidenciar que entre los factores o agentes que causan su contaminación están: agentes patógenos, desechos que requieren O<sub>2</sub>, sustancias químicas orgánicas e inorgánicas, nutrientes vegetales que ocasionan crecimiento excesivo de plantas acuáticas, sedimentos o material suspendido, sustancias radioactivas y el calor.<sup>2</sup>

El acceso al agua potable es esencial para alcanzar una buena salud en la población. Las enfermedades diarreicas causa un estimado de 1,8 millones de muertes cada año en todo el mundo, y estas enfermedades se han relacionado con el acceso limitado a agua potable. Existe una gran preocupación respecto al origen de la contaminación microbiana durante la manipulación y el almacenamiento de agua en los países en desarrollo. La desinfección y almacenamiento seguro del agua de los hogares mejora la calidad del agua potable y con ello la prevención de enfermedades.<sup>13</sup>

Cuestiones ambientales como el aumento de la salinidad y el calentamiento global pueden afectar a la sostenibilidad de nuestro actual suministro de agua potable y aumentar la amenaza de brotes de enfermedades transmitidas a través del agua.<sup>13</sup>

El estiércol es una fuente valiosa de nutrientes, sin embargo, puede ser un contaminante del medio ambiente cuando es indebidamente canalizado. Una de las principales consecuencias negativas de la aplicación al suelo del estiércol es la contaminación bacteriana de las aguas superficiales y subterráneas a través de aguas superficiales y de drenaje del subsuelo. Varios factores, tales como: humedad del suelo, lluvia y el periodo de labranza influyen en el transporte de bacterias del suelo al agua.<sup>14</sup>

El agua natural puede contener una gran variedad de microorganismos patógenos, bacterias, virus y protozoos. El principal origen de estos microorganismos patógenos son las heces humanas y de otros mamíferos de sangre caliente. Estos microorganismos fecales se introducen en los ambientes de agua dulce, principalmente mediante la liberación de efluentes de aguas residuales, las aguas superficiales de escorrentía y la lixiviación de suelos. Para determinar la calidad microbiológica del agua se utilizan indicadores bacterianos de contaminación fecal.<sup>15</sup> Patógenos, tales como *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* y *Listeria monocytogenes* se encuentran en el mismo entorno de los vegetales, mientras que los agentes patógenos entéricos (*Escherichia coli* (*E. coli*) y *Salmonella* spp) pueden contaminar los vegetales, si el estiércol del animal o el agua de riego están contaminados. Algunas bacterias tienen como hábitat natural el agua, como por ejemplo: *Flavobacterium* spp, *Pseudomonas* spp, *Acinetobacter* spp, *Moraxella* spp. *Chromobacterium*, *Achromobacter* spp y *Alcaligenes* spp, así como, numerosas bacterias ya identificadas.<sup>16</sup>

La contaminación microbiana de los suministros de agua potable puede tener graves consecuencias para la salud de los consumidores, y este hecho se ha puesto de manifiesto dramáticamente en los últimos dos incidentes ocurridos en Canadá, Walkerton, Ontario y North Battleford, Saskatchewan.<sup>17</sup>

En mayo del año 2000, el sistema de abastecimiento de agua potable de la ciudad de Walkerton se contaminó con la bacteria *E. coli* O157:H7, siete personas murieron y más de 2.300 enfermaron. La alarma provocada por este brote llevó al gobierno de Ontario a establecer una investigación, las causas del brote y cómo podría haberse evitado. La investigación no sólo informó sobre lo que había ocurrido en Walkerton, sino también se hicieron recomendaciones preventivas de contaminación, sobre todo los sistemas de abastecimiento de agua potable en Ontario.<sup>17</sup>

En abril del año 2001, un gran número de personas en el área de North Battleford en Saskatchewan presentaron una enfermedad entérica identificada posteriormente como criptosporidiosis. Aproximadamente, 5.800 a 7.100 personas de la zona de Battleford, junto con varios centenares más de otras comunidades y otras provincias que habían visitado la región se infectaron.<sup>17</sup>

Los contaminantes químicos del agua potable pueden ser plomo, cadmio, nitrato, nitrito y N-nitrosaminas, que son potencialmente nocivos para el hombre.<sup>1</sup> También, se ven implicados el excremento humano y la falta de higiene personal y doméstica en la propagación de muchas enfermedades infecciosas como: cólera, fiebre tifoidea, hepatitis, poliomielitis, criptosporidiosis, ascariasis y esquistosomiasis. En Kenia, las enfermedades diarreicas afectan a los hijos de los residentes.<sup>8</sup> La contaminación fecal en los sistemas de agua potable se ha agudizado en los últimos años de lugares recreativos y riego con patógenos emergentes, tales como *Giardia*, *Cryptosporidium* y *E. coli* O157: H7, entre otros.<sup>18</sup>

La coexistencia de saneamiento in situ y el uso de las aguas subterráneas en el pasado, han sido confinados a las áreas rurales donde hay tierras adecuadas para permitir una distancia adecuada entre las letrinas y pozos poco profundos. Con la rápida urbanización y expansión de los asentamientos de tugurios en el África subsahariana, los servicios sanitarios en el lugar y las aguas subterráneas se utilizan en algunas zonas urbanas, ya que son opciones asequibles en la ausencia de los servicios suministrados por el gobierno.<sup>8</sup> Al respecto, la OMS reporta que, en todo el mundo 1,1 millones de personas todavía no tienen acceso al agua potable, y cada día más de 6.500 niños mueren de diarrea. Muchos investigadores han observado que el almacenamiento de agua en el hogar conduce a un deterioro de la calidad del agua debido a su contaminación en el propio hogar. Incluso, si las familias tienen una fuente de agua potable, ésta puede contaminarse por la falta de higiene y malas prácticas de manipulación. Factores conocidos que afectan la recontaminación del agua en el hogar: tamaño de la boca de la vasija de almacenamiento, transferencia de agua entre los contenedores desde la recolección hasta el almacenamiento, contacto con el agua e inmersión de utensilios y el nuevo crecimiento de bacterias en el mismo recipiente. Diversos estudios también han demostrado que los organismos pueden multiplicarse como biopelículas en los mismos contenedores.<sup>5</sup>

En los EE.UU, la contaminación de agua subterránea es la fuente más común de enfermedades transmitidas por el agua, asociado con el 64% de brotes entre 1989 y 2002. El

agua subterránea constituye el 92% de los brotes, que a menudo se produjo en pequeñas comunidades.<sup>19</sup>

Las bacterias enteropatógenas representan importantes riesgos pediátricos en todo el mundo. Muchos de los agentes que causan gastroenteritis son susceptibles a responder a la terapia con antibióticos, por ejemplo, Shigella, Campylobacter, E. coli enteropatógena (EPEC), E. coli enteroinvasiva (EIEC), E. coli enterotoxigénica (ETEC), E. coli enteroagregativa (EagEC), etc. Es probable que, la terapia temprana empírica de estos agentes resulte en una resolución más rápida de la infección. Desafortunadamente, no es común el diagnóstico clínico de algunos de estos patógenos, como en los laboratorios de investigación.<sup>20</sup>

### **Escherichia coli**

E. coli, es la especie bacteriana más comúnmente aislada en los laboratorios clínicos y ha sido incriminada en enfermedades infecciosas que involucran tejidos y órganos humanos, es uno de los organismos comunes involucrados en sepsis y en shock inducido por endotoxinas. Las infecciones del tracto urinario y de heridas, neumonía en pacientes hospitalizados inmunosuprimidos y meningitis en neonatos son otras formas comunes de infección causadas por E. coli. Ciertas cepas de E. coli pueden causar enteritis o gastroenteritis por mecanismos diferentes que provocan cinco síndromes clínicos distintos. Es un bacilo Gram (-), móvil, facultativo, oxidasa (-), reductor de nitratos, no esporulado, fermenta la glucosa con producción de ácido y gas, presenta tres antígenos: somático O; flagelar H; y de superficie K.<sup>20</sup> E. coli, es miembro predominante de la flora intestinal humana.<sup>21</sup> Los seres humanos sanos suelen llevar más de un billón de células de E. coli en sus intestinos. E. coli fue introducida a los laboratorios hace casi un siglo para convertirse en uno de los organismos modelo más importantes y con mucho, es el procarionte más estudiado.<sup>22</sup>

Los grupos de Shigella y E. coli diarreogénica (DEC) tienen forma variable de causar diarrea, dependiendo de la ubicación geográfica y del estado inmunitario del huésped.<sup>23</sup> Recientemente, se han aislado e identificado cepas de DEC por el método reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la superficie del agua de ríos en la ciudad de Dhaka en Bangladesh, por lo que se determinó que la DEC es el principal problema de salud en Dhaka.<sup>24</sup> Con su amplia gama de patologías, E. coli es causa importante de morbilidad y mortalidad humana en todo el mundo.<sup>22</sup> Las cepas patógenas intestinales pertenecen a los prototipos: E. coli enterohemorrágica (EHEC), EPEC, E. coli productora de la toxina Shiga (STEC), EIEC, ETEC y E. coli de adherencia difusa (DAEC).<sup>18</sup>

### **E. coli enterotoxigénica (ETEC)**

Las cepas de ETEC, forman enterotoxinas termolábiles (TL) o termoestables (TE) que producen una diarrea secretoria similar a la que causa Vibrio cholerae. La unión superficial de las células bacterianas a las células del epitelio intestinal es un requisito para la producción de

toxina. La producción de toxinas esta mediada por plásmidos y con frecuencia involucra serogrupos de *E. coli*: 08, 015, 020, 025, 027, 063, 078, 080, 085, 092, 0115, 0128ac, 0139, 0148, 0153, 0159, 0167. La infección con las ETEC, sigue usualmente a la ingestión de agua o alimento contaminado.<sup>18,19</sup>

Las ETEC, son la causa principal de deshidratación por diarrea entre los bebés en destete en los países en desarrollo. Estos niños tenían de dos a tres episodios de ETEC, cada uno en los 2 primeros años de vida, lo que representa más del 25% de todas las enfermedades diarreicas y los resultados se estiman en unas 700.000 muertes cada año. La ETEC, es ahora reconocida como un problema de salud mundial.<sup>23</sup>

### **E. coli enteropatógena (EPEC)**

Las cepas de EPEC, causan síndromes diarreicos principalmente en lactantes. La patogenia no es clara; sin embargo, las reacciones inflamatorias y los cambios epiteliales degenerativos que se observan en cortes de tejido pueden ser secundarios a las propiedades adhesivas de las bacterias, que se cree que están relacionadas con plásmidos. Los serogrupos 055, 086, 0111, 0119, 0126, 0127, 0128ab, y 0142 están comúnmente involucrados. Las manifestaciones clínicas de las son fiebre, malestar, vómitos y diarrea, con poca sangre y una cantidad importante de moco.<sup>23</sup>

Las EPEC, son responsables de la diarrea pediátrica prolongada y constituye una amenaza importante para la salud en países en desarrollo, mientras que la EHEC causa brotes esporádicos pero mortales de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico en Europa, América del Norte, y Japón. Tanto la EPEC como la EHEC, causantes de diarreas, colonizan la mucosa intestinal y producen una característica histopatológica en las microvellosidades de los enterocitos que forman el "borde de cepillo", conocidos como cuadro de adhesión y borrado del enterocito, esta alteración resulta de la acción de un grupo de proteínas efectoras que se unen a las células huésped a través de un sistema de secreción tipo III codificada por una isla de patogenicidad conocida como locus cromosómico LEE.<sup>25</sup>

### **E. coli enteroinvasiva (EIEC)**

Las cepas EIEC, son capaces de penetrar las células del epitelio y producen una diarrea inflamatoria, similar a la causada por especies de *Shigella*. Como con *Shigella*, la mayoría de las especies son inmóviles, fermentadoras tardías de la lactosa o no fermentadoras y anaerogénicas. Se sospecha de cepas EIEC cuando se observa sangre, moco y neutrófilos segmentados en extendidos de materia fecal. Los serogrupos más comúnmente involucrados son 028ac, 029, 0112, 0124, 0136, 0143, 0144, 0152, y 0164. Los mecanismos patogénicos incluyen invasión de la mucosa del colon, similar a *Shigella*, y proliferación dentro de las células epiteliales, que culminan en muerte celular.<sup>23</sup>

### **E. coli enteroadherente (EAEC)**

La EAEC, es un término usado para describir cepas de *E. coli* que son adherentes a las células Hep-2 o Hela, no producen enterotoxinas TL, TE o verotoxina (VT) y son no invasivas, independientemente de los serogrupos. Las cepas EAEC producen diferentes patrones de adherencia a las células de los tejidos. Un patrón se caracteriza por la formación de pilas de bacterias que se observan tanto en células Hep-2 y en cubreobjetos. Las cepas que producen este patrón de adherencia se mencionan como EagEC. Hasta la fecha, estas cepas han sido recuperadas principalmente en niños con diarrea crónica.<sup>23</sup>

### **E. coli enterohemorrágica (EHEC)**

Las cepas EHEC producen diarrea, probablemente secundaria al daño por toxina a las células del endotelio vascular. Dado que estas cepas son citotóxicas para células Vero, la toxina es denominada por algunos autores como VT y las cepas que la producen como *E. coli* productoras de VT. Otros investigadores se refieren a esta toxina como toxina semejante a Shiga (SLT).<sup>23</sup> Un tema importante con la terapia empírica es que algunos episodios de diarrea bacteriana se deben a la STEC, de diversas maneras a que se refiere en la literatura como STEC, EHEC y VTES. Hay más de 100 serotipos de STEC que causan enfermedades en los seres humanos; los serotipos importantes incluyen *E. coli* O157: H7, O111: NM, y O26: H11. Las cepas pueden producir toxina Shiga 1 (Stx1), Stx2, las variantes de stx1 o stx2, o toxinas múltiples.<sup>20</sup> La Stx, representa el factor principal de virulencia en cepas de STEC, y han sido reconocidas las toxinas Stx1 y Stx2, que son similares en actividad biológica, pero distintas inmunológicamente. Varios subtipos de Stx2 se han identificado por la homología en su secuencia y reactividad inmunológica cruzada.<sup>26</sup>

Una gran proporción de aislamientos de EHEC pertenecen al serotipo O157:H7. En EE.UU, se considera que el origen de la mayoría de los casos de enfermedades relacionadas con *E. coli* es la carne molida. El aislamiento de *E. coli* O157:H7 es posible solo durante la fase aguda de la infección, el microorganismo puede no ser detectado de 5 a 7 días después del inicio de la infección. Los aislamientos sospechosos deben ser confirmados con antisueros específicos anti O157: H7.<sup>27</sup> A pesar de que *E. coli* O157:H7 en todo el mundo, se reporta que es el serotipo STEC más importante, debido a su asociación con enfermedades graves y con muchos brotes de diarrea y síndrome urémico hemolítico, las cepas STEC pertenecen a un mayor número de serotipos que se han aislado de infecciones en seres humanos.<sup>26</sup> Es particularmente importante, controlar las células viables pero no cultivables de *E. coli* O157: H7 en el agua potable y en fuentes de agua debido al potencial del sistema de distribución para transmitir este patógeno. La detección específica de patógenos viables es importante porque sólo las células viables tienen el potencial para causar infecciones y, por tanto, plantean un riesgo significativo para la salud. Los métodos basados en cultivos siguen siendo ampliamente

utilizados para la identificación positiva de E. coli O157: H7 en una muestra. Sin embargo, estos métodos no detectan células viables y puede dar resultados falsos negativos.<sup>28</sup>

## **TÉCNICAS PARA LA DETECCIÓN DE CONTAMINACIÓN FECAL**

La presencia de microbios patógenos en agua potable es un riesgo significativo para la salud de los consumidores. La mayoría de las bacterias en los sistemas de distribución de agua potable están asociadas con las biopelículas que crecen en la superficie interior de las tuberías, incluso bajo condiciones de elevada o baja velocidad en la conducción de agua de bajo o alto cizallamiento, dependiendo de las necesidades de caudal de la red.<sup>29</sup> Al evaluar el riesgo de la contaminación microbiana en agua potable, es crucial obtener resultados confiables rápidamente. Tradicionalmente, las bacterias patógenas son detectadas a través de cultivo, ya que no requieren equipo especial, y las bacterias detectadas con estos métodos son viables y activas, ello significa que los métodos de cultivo tienden a subestimar el número real de bacterias que son capaces de causar infecciones. El segundo inconveniente es que, el tiempo requerido para los resultados pueden variar desde 1 día hasta varias semanas para los diferentes microorganismos debido a las diferencias en las tasas de crecimiento (micobacterias de crecimiento lento).<sup>29</sup>

Hay varios estudios que muestran que los microbios patógenos oportunistas pueden sobrevivir más tiempo y tienen mayor resistencia al cloro cuando se presentan en las biopelículas, más que en el agua potable. En las biopelículas, el suministro de nutrientes para las bacterias es mejor, y las bacterias están protegidas contra la desinfección. Además, los virus pueden adherirse a las biopelículas y seguir siendo infecciosos durante mucho tiempo.

### **Indicadores de contaminación de tipo fecal**

Los indicadores bacterianos (IOS), que residen en el aparato digestivo de los seres humanos y animales, se utilizan en EE.UU y en todo el mundo para evaluar la seguridad microbiológica del agua potable.<sup>30</sup> Garantizar su seguridad es un proceso continuo. En los países desarrollados, los reglamentos del agua potable requieren la vigilancia de numerosos parámetros químicos y microbiológicos. Se ha demostrado que la presencia de agentes patógenos se correlaciona con la presencia de contaminación fecal, como resultado de modernos métodos para análisis de agua potable que se basan en el recuento de bacterias fecales como indicadores de contaminación fecal y la posible presencia de organismos que causan enfermedades.<sup>31</sup> Las bacterias indicadoras se utilizan con frecuencia como el identificador de la fuente de contaminación fecal y/o organismos indicadores de contaminación en el agua.<sup>30</sup> Los coliformes totales (CT), coliformes fecales termotolerantes (CF), E. coli, enterococos y bacterias se utilizan como IOS para vigilar la calidad del agua y así, la evaluación de la salud, ya que es mucho más fácil y menos costoso para detectar y cuantificar

los agentes patógenos. La detección de patógenos es difícil porque las bacterias y los virus pueden estar asociados con ciertos materiales en particular.<sup>11</sup>

La clasificación del grupo de coliformes se ha basado durante mucho tiempo sobre los criterios definidos en el siglo pasado por Breed y Norton en 1937. Actualmente, todas las especies están reconocidas como  $\beta$ -galactosidasa-positivo y *E. coli* es también  $\beta$ -glucuronidasa positiva. Además, ahora es bien sabido que un buen porcentaje de las especies, como algunas cepas de *E. coli*, no pueden fermentar la lactosa ni producen gas.<sup>32</sup> Al respecto, algunas cepas de *E. coli*, pueden dar una reacción negativa a la producción de indol. La cuantificación de los IOS con los métodos tradicionales tiene el tiempo de detección como limitante importante, pues pueden durar 72 h desde el comienzo del análisis.<sup>32</sup> El grupo coliforme, se ha sometido a revisiones sobre la base de la capacidad de clasificar los miembros de acuerdo a su genética. Dos factores clave que han llevado a la tendencia hacia el uso de *E. coli* como el "preferido" para la detección de indicadores de contaminación fecal, no sólo en agua potable sino también en otras matrices.<sup>29</sup>

La definición de CF también ha sido revisada para que coincida con la genética de sus miembros y ahora incluye el medio ambiente de especies recién identificadas. Como resultado, los CF son cada vez más referidos como coliformes "termotolerantes". Esto, combinado con la mejora de los métodos de detección de *E. coli*, se ha iniciado una tendencia hacia el uso de *E. coli*, en lugar de CF como un indicador más confiable de contaminación fecal en agua potable.<sup>31</sup> Hoy en día, los CT, CF y enterococos se utilizan como IOS de contaminación fecal en agua. Idealmente, un IOS de contaminación fecal deberá cumplir los siguientes criterios: siempre estará presente en humanos y animales de sangre caliente y en las heces se produce un mayor número de los agentes patógenos, que normalmente no se multiplican en ambientes acuáticos; ser identificables claramente por sus características y pruebas confiables, mostrando mayor resistencia a las aguas receptoras y desinfectante frente a patógenos.<sup>33</sup>

### **Técnicas tradicionales**

Frecuentemente, el indicador de *E. coli* se prefiere para el recuento de coliformes, es un buen indicador del riesgo sanitario asociado con agua contaminada. Métodos aprobados y utilizados tradicionalmente para el recuento de *E. coli* en agua, se basan en el cultivo, incluyendo la siembra múltiple en tubos de fermentación, o método de filtración por membrana, seguido de incubación en medios selectivos.<sup>15</sup> Comparando, el recuento de los IOS con los métodos de cultivo tradicionales tiene el tiempo de detección como limitante sustancial, pues puede ser tan amplio como 72 h desde el inicio del análisis. Los métodos más rápidos se basan en la detección de la actividad de una enzima en particular y no necesitan seguir los pasos de confirmación de los aislamientos. La directiva europea sobre agua potable define la norma ISO 9308-1 (2002) como un método de referencia para la detección de *E. coli* y coliformes. El método prescribe el uso de agar lactosa con Tergitol. Los pasos de confirmación son necesarios con el fin de discriminar coliformes y *E. coli*.<sup>32</sup>

La falta de certeza en cuanto a su filiación toxica y la imprecisa correlación entre los métodos recomendados para la detección de coliformes ha presentado problemas. El primero es que *E. coli* es aceptada como bacteria coliforme, la especie contiene variantes que no producen gas de la lactosa o lo hacen después de 48 h, por lo que no se les identifica por medio de esta técnica. No obstante, en la práctica la técnica ha demostrado su efectividad. Estas técnicas proporcionan resultados estadísticos de la densidad microbiana presente con base a que la probabilidad de obtener crecimiento positivo disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculado.<sup>34</sup> Los medios de enriquecimiento contienen peptona, vancomicina, cefixamina, cefsolodina y telurito de potasio, son utilizados para aumentar la detección de microorganismos. La *E. coli* forma colonias redondas, convexas y lisas, con bordes definidos. Algunas cepas son hemolíticas en gelosa sangre. En el medio de Mc Conkey o en el medio de agar Eosina Azul de Metileno, las colonias de *E. coli* tienen un brillo metálico; son colonias planas no viscosas. Los organismos aislados en los medios “diferenciales” son posteriormente identificados mediante pruebas bioquímicas, serológicas y moleculares.<sup>34</sup>

Las infecciones con este tipo de patógeno han sido, por lo tanto, motivo de preocupación cada vez mayor en el diagnóstico clínico de las enfermedades diarreicas en los últimos años. Sin embargo, las tasas actuales de las infecciones por estos patógenos entéricos son probablemente subestimadas en gran medida debido a las limitaciones de los actuales métodos de diagnóstico clínico para poder distinguirlos de la flora no patógena normal.<sup>21</sup>

### **Pruebas Bioquímicas**

Algunas pruebas bioquímicas y otros ensayos han sido utilizados para diferenciar *E. coli* de otras enterobacterias. Indol, *E. coli* produce indol en caldo que contiene triptófano. Rojo de metilo, esta prueba indica el pH final del cultivo en caldo con 0.5 % de glucosa después de una incubación de 4 días a 37°C. *E. coli* da un pH inferior a 4.5 y es por tanto, rojo de metilo positivo. Citrato, el medio de citrato de Koser modificado por Simmons contiene citrato de sodio y azul de timol como indicador, la única fuente de carbono es el citrato. Los microorganismos que pueden utilizar el citrato como fuente de carbono se desarrollan bien y el indicador se vuelve azul. Los demás microorganismos no prosperan y el medio conserva su color verde. Voges-Proskauer, depende de la producción de acetilmetilcarbinol a partir de la glucosa. En presencia de un álcali este compuesto es oxidado a diacetilo y da color rosa.<sup>35</sup>

*E. coli*, descompone carbohidratos con producción de ácido y gas; produce aproximadamente igual cantidad de CO<sub>2</sub> y de H<sub>2</sub> a partir de la glucosa. Todos los cultivos contienen variantes y mutantes estables con respecto a morfología colonial (rugosa o lisa), características antigénicas, comportamiento bioquímico y resistencia a los virus.<sup>35</sup> Debido a la importancia que representa contar con técnicas sencillas y confiables para la determinación de microorganismos indicadores de la calidad sanitaria de los alimentos, se han desarrollado métodos como el PetrifilmMR donde se utilizan medios deshidratados como medio Bilis Rojo

Violeta que contienen elementos nutritivos, una base gelificante en agua fría, un indicador de la actividad de glucoronidasa y un indicador químico para el recuento de CT y E. coli.35

### **Metodologías instrumentales para análisis de agua**

La capacidad de detectar la contaminación microbiana en el agua potable es un asunto de preocupación urgente para los servicios de agua y las autoridades de salud pública. El sistema de Colilert 18/Quanti-Traye se basa en el número más probable y la técnica es basada en enzimas, es un ensayo semi-automático reducido a multiwells. Se puede detectar simultáneamente coliformes y E. coli con una incubación de 18-22 h.32

Los métodos basados en la biología molecular, tales como el análisis de productos por PCR, dan datos precisos con respecto a la ocurrencia de las bacterias. Sin embargo, los métodos basados en ADN no demuestran la viabilidad de las bacterias, y los métodos básicos son sólo cualitativos y no cuantitativos. La fluorescencia de hibridación in situ (FISH) se basa en la unión específica de sondas de ácidos nucleicos a las regiones específicas en el rRNA.29 Este método también fue utilizado por Yang en el 2007 en el Norte de Taiwán.

En la actualidad, los métodos basados en la biología molecular se utilizan para las investigaciones epidemiológicas de brotes, control y seguimiento de la propagación de patógenos potenciales. La electroforesis de campo pulsado, es el método biomolecular más utilizado para la subtipificación de cepas de STEC.26 Tradicionalmente, los métodos por FISH se basan en el uso de sondas de ADN de oligonucleótidos convencionales que contienen alrededor de 20 bases. Recientemente, los métodos por FISH han sido desarrollados usando sondas de péptidos de ácidos nucleicos (PNA) marcados con fluorescencia, dirigidas a secuencias de genes de rRNA blanco específico. Las moléculas de PNA son imitadores de ADN, donde se sustituye la carga negativa de la columna vertebral de azúcar-fosfato por una columna vertebral aciclica, la columna vertebral neutral de poliamida formada por unidades repetitivas de N-(2-aminoetil) glicina.29 Además, se ha encontrado que las pruebas de PNA penetran mejor a través de la pared celular hidrofóbica de los microorganismos más que las pruebas tradicionales de ADN. Los métodos FISH PNA, confirman rápidamente la presencia de diversas bacterias patógenas. Asimismo, Liu y colaboradores (2008), desarrollaron un método que podría detectar específicamente un pequeño número de células de Escherichia cultivables y viables pero no cultivables O157:H7 en un litro de agua del grifo, así como en el agua de río. Las bacterias diana capturadas fueron detectadas utilizando los genes rfbE y fliC como los marcadores con la combinación de RT-PCR y el método electrónico de microarrays de ADN. Este método también demostró ser capaz de detectar células de E. coli O157: H7 viables pero no cultivables en un litro de agua del río.

El agua es esencial para la vida, es materia prima para la higiene, limpieza, actividad industrial, farmacéutica, hospitalaria, etc. La calidad sanitaria del agua para consumo humano es indiscutible para preservar la salud. Por esta razón, cada planta industrial o farmacéutica

debe conocer y saber tratar los efectos en el proceso de su producto final, contar con adecuados sistemas de purificación de agua, para el óptimo proceso de sus productos y deben contar con adecuados mecanismos de tratamiento de aguas residuales, bioacumulación, alcantarillado, residuos agrícolas, industriales, radiactivos y térmicos que son los contaminantes principales del agua en nuestro planeta. Al respecto, "UNILEVER" anunció en Enero de 2012 la creación de la Fundación Unilever, dedicada a mejorar la calidad de vida mediante la prestación de higiene, saneamiento, acceso al agua potable, nutrición básica y mejora de la autoestima, formando alianza con: Oxford Committee for Famine Relief, Population Services International, Save the Children, Fondo de Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) y el Programa Mundial de Alimentos. De la misma manera, en Marzo del 2012 el UNICEF y la OMS, publicaron que el mundo ha cumplido con la meta de los objetivos de Desarrollo del Milenio de reducir a la mitad la proporción de personas sin acceso al agua potable mucho antes de la fecha límite de 2015. Entre 1990 y 2010, más de 2.000 millones de personas tuvieron acceso a fuentes mejoradas de agua potable. No obstante, la meta de saneamiento sigue estando muy retrasada. Aunque se cuente con el equipo y personal especializado para detectar la contaminación microbiana en agua potable, se tienen que tomar medidas de prevención para salvaguardar de contaminación futura y así evitar los riesgos microbiológicos en agua de bebida, debe ser asunto de preocupación urgente para los servicios de agua y las autoridades en salud pública. El análisis microbiológico del agua es rutinario en tomas de pozos o durante el proceso de purificación. Sin embargo, en la toma domiciliaria de las comunidades no se realizan dichas pruebas. Por lo tanto, es necesario revisar periódicamente la calidad microbiológica del agua de bebida usada en toda la comunidad.

El objetivo principal de gestión de la calidad del agua desde una perspectiva de salud es garantizar que los consumidores no estén expuestos a niveles de agentes patógenos que puedan causar enfermedades. Un requisito prioritario en la prevención y la protección de la salud pública es tener resultados confiables y rápidos. Al evaluar la presencia de *E. coli* se mide el riesgo de la contaminación microbiana en el agua potable, esto es crucial para obtener resultados confiables rápidamente y así tomar las medidas de saneamiento oportunas, como floculación y filtración con arena, cloración, transporte y almacenamiento, entre otros.

## Referencias

1. Agatemor Ch, Okolo PO. University of Benin water supply system: Microbiological and physico-chemical assessments. *Environmentalist*. 2007; 27:227-239.
2. Martínez-Romero A, Fonseca-Gómez K, Ortega-Sánchez JL, García-Luján C. Monitoreo de la calidad microbiológica del agua en la cuenca hidrológica del Río Nazas, México. *Química Viva*. 2009;1:35-47.
3. Juhna T, Birzniece D, Larsson S, Zulenkovs D, Sharipo A, Azevedo NF, Ménard-Szczebara F, Castagnet S, Féliers C, Keevil CW. Detection of *Escherichia coli* in Biofilms from Pipe Samples and Coupons in Drinking Water Distribution Networks. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007; 73(22):7456-7464.
4. Farooq S, Hashmi I, Qazi IA, Qaiser S, Rasheed S. Monitoring of Coliforms and chlorine residual in water distribution network of Rawalpindi, Pakistan. *Environ Monit Assess*. 2008; 140:339-347.
5. Levy K, Nelson KL, Hubbard A, Eisenberg JNS. Following the water: a controlled study of drinking water storage in Northern Coastal Ecuador. *Environmental Health Perspectives*. 2008; 116(11):1533-1540.
6. Eichler S, Richard Ch, Hôltje C, Westphal P, Bôtel J, Brettar I, Mehling A, Hôfle MG. Composition and Dynamics of Bacterial Communities of a Drinking Water Supply System as Assessed by RNA- and DNA-Based 16S rRNA Gene Fingerprinting. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72(3):1858-1872.
7. Penna VTCh, Martins SAM, Mazzola PG. Identification of bacteria in drinking and purified water during the monitoring of a typical water purification system. *BMC Public Health*. 2002; 2(1):1-11.
8. Kimani-Murage, EW, Ngindu AM. Quality of Water the Slum Dwellers use: The Case of a Kenyan Slum. *Journal of Urban Health: Bulletin of the New York Academy of Medicine*. 2007; 84(6):829-838.
9. Lévesque B, Pereg D, Watkinson E, Maguire JS, Bissonnette L, Gingras S, Rouja P, Bergeron MG, Dewailly E. Assessment of microbiological quality of drinking water from household tanks in Bermuda. *Canadian Journal of Microbiology*. 2008; 54(6): 495-500.
10. Karamouz M, Nokhandan AK, Kerachian R, Maksimovic C. Design of on-line river water quality monitoring systems using the entropy theory: a case study. *Environ Monit Assess*. 2009; 155:61-81.
11. Ostoich M, Aimo E, Frate R, Vazzolers M, Stradella S, Osti P. Intergrated approach for microbiological impact assessment of public wastewater treatment plants. *Chemistry and Ecology*. 2007; 23(1):43-62.

12. Djuikom E, Njiné T, Nola M, Kemka N, Zébazé Togouet SH, Jugnia LB. Significance and suitability of *Aeromonas hydrophila* vs. fecal coliforms in assessing microbiological water quality. *World J Microbiol Biotechnol.* 2008; 24(11): 2665–2670.
13. Malakauskas M, Kasnauskytė N, Kudirkienė E, Sernienė L, Malakauskas A, Stimbirys A, Milius J. Microbiological evaluation of drinking water from centralized and small community supply systems in Kaunas Region, Lithuania. *Veterinarija Ir Zootechnika.* 2007; 30(60):50-56.
14. Thiagarajan A, Gordon R, Madani A, Stratton GW. Discharge of *Escherichia Coli* from agricultural surface and subsurface drainage water: tillage effects. *Water Air Soil Pollut.* 2007; 182: 3-12.
15. Prats J, Garcia-Armisen T, Larrea J, Servais P. Comparison of culture-based methods to enumerate *Escherichia coli* in tropical and temperate freshwaters. *The Society for Applied Microbiology.* 2008; 46: 243–248.
16. Aydin A. The Microbiological and Physico-Chemical Quality of Groundwater in West Thrace, Turkey. *Polish J of Environ Stud.* 2007; 16(3): 377-383.
17. Krewski D, Balbus J, Butler-Jones D, Haas ChN, Isaac-Renton J, Roberts KJ, Sinclair M. Managing the Microbiological Risks of Drinking Water. *Journal of Toxicology and Environmental Health.* 2004; 67(20-22): 1591–1617.
18. Carlos C, Alexandrino F, Vieira MAM, Stoppe NC, Sato MIZ, Gomes TAT, Ottoboni LMM. Prevalence of virulence factors in *Escherichia coli* isolated from healthy animals and water sources in Brazil. *Journal of Water and Health.* 2011; 9(1): 138-142.
19. Fong TT, Mansfield LS, Wilson DL, Schwab DJ, Molloy SL, Rose JB. Massive Microbiological Groundwater Contamination Associated with a Waterborne Outbreak in Lake Erie, South Bass Island, Ohio. *Environ Health Perspect.* 2007; 115(6).
20. Ochoa TJ, Chen J, Walker ChM, Gonzales E, Cleary TG. Rifaximin does not induce toxin production or phage-mediated lysis of Shiga toxin producing *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2007; 51(8): 2837-2841.
21. Yang J, Wu F, Tsai J, Mu J, Lin J, Chen K, Kuo SH, Chiang C, Wu H. Comparison between O Serotyping Method and Multiplex Real-Time PCR to Identify Diarrhoeagenic *Escherichia coli* in Taiwan. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(11): 3620–3625.
22. Touchon M, Hoede C, Tenaillon O, Barbe V, Baeriswyl S, Bidet P, Bingen E, Bonacorsi S, Bouchier Ch, Bouvet O, Calteau A, Chiapello H, Clermont O, Cruveiller S, Danchin A, Diard M, Dossat C, El Karoui M, Frapy E, Garry L, Ghigo JM, Gilles AM, Johnson J, Le Bouguéneq Ch, Lescat M, Mangenot S, Martinez-Jéhanne W, Matic I, Nassif X, Oztas S, Petit MA, Pichon Ch, Rouy Z, Saint Ruf C, Schneider D, Tourret J, Vacherie V, Vallenet D, Médigue C, Rocha EPC, Denamur E. Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genetics.* 2009; 5(1).

23. Hien BTT, Scheutz F, Cam PD, Serichantalergs O, Huong TT, Thu TM. Diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* Strains Isolated from Children in a Hospital Case-Control Study in Hanoi, Vietnam. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46(3): 996-1004.
24. Saurab KM, Majibur RM, Rashed N. Detection of virulence potential of diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolated from surfacewater of rivers surrounding Dhaka city. *Journal of Bangladesh Academy of Sciences*. 2012; 36(1):109-121.
25. Loukiadis E, Nobe R, Herold S, Tramuta C, Ogura Y, Ooka T, Morabito S, Kérourédan M, Brugère H, Schmidt H, Hayashi T, Oswald E. Distribution, functional expression and genetic organization of cif, a phage-encoded type III-secreted effector from enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 2008; 190(1): 275-285.
26. Vaz TMI, Irino K, Nishimura LS, Cergole-Novella MC, Guth BEC. Genetic heterogeneity of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated in Sao Paulo, Brazil, from 1976 through 2003, as revealed by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44(3): 798-804.
27. Abskharon RNN, Hassan SHA, Gad El-Rab SMF, Shoreit AAM. Heavy Metal Resistant of *E. coli* Isolated from Wastewater Sites in Assiut City, Egypt. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2008; 81: 309–315.
28. Liu Y, Gilchrist A, Zhang J, Li X-F. Detection of viable but nonculturable *Escherichia coli* O157:H7 bacteria in drinking water and river water. *Applied and Environmental Microbiology*. 2008; 74(5): 1502–1507.
29. Lehtola MJ, Torvinen E, Kusnetsov J, Pitkânen T, Maunula L, von Bonsdorff C-H, Martikainen PJ, Wilks SA, Keevil CW, Miettinen IT. Survival of *Mycobacterium avium*, *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, and Caliciviruses in drinking water associated biofilms grown under high-shear turbulent flow. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007; 73(9): 2854-2859.
30. Anderson KL, Whitlock JE, Harwood VJ. Persistence and Differential Survival of Fecal Indicator Bacteria in Subtropical Waters and Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005; 71(6): 3041-3048.
31. Tallon P, Magajna B, Lofranco C, Leung KT. Microbial indicators of faecal contamination in water: A current perspective. Springer: *Water, Air, and Soil Pollution*. 2005; 166: 139-166.
32. Bonadonna L, Cataldo C, Coccia AM, Chiaretti G, Semproni M. Evaluation of the phenotypic characteristics of coliform bacteria recovered with two methods: the European Drinking Water Directive reference method and the Colilert 18/Quanta-Tray™ system. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2006; 22: 629-634.
33. Koutsotoli AD, Dimou DS, Bezirtzoglou, EEB, Alamanos YP, Maipa VE. Long-term and short-term inducible effects of trifluralin on *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2005; 17(2): 121-127.

34. Baudart J, Lebaron P. Rapid detection of Escherichia coli in waters using fluorescent in situ hybridization, direct viable counting and solid phase cytometry. Journal of Applied Microbiology. 2010; 109(4): 1253 - 1264.

35. Brown J, Stauber C, Murphy JL, Khan A, Mu T, Elliott M, Sobsey MD. Ambient-temperature incubation for the field detection of Escherichia coli in drinking water. Journal of Applied Microbiology. 2011; 110(4): 915-923.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista QuímicaViva

Número 3, año 12, Diciembre 2013

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)