



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
INSTITUTO DE CIENCIAS**



POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

“La tierra no es de nosotros, nosotros somos de la tierra”

**Brucella spp. COMO PROBLEMA AMBIENTAL EN LA COMUNIDAD DE SAN
PEDRO, NAYARIT**

TESIS

Que para obtener el grado de:

Dr. EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta:

M.C. Lesset del Consuelo Ramos Ramírez

Directora de tesis:

D.C. Elsa Iracena Castañeda Roldán

Co- director de tesis:

D.C. Edgar Iván Jiménez Ruíz

Agosto 2020

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
INSTITUTO DE CIENCIAS**

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

“La tierra no es de nosotros, nosotros somos de la tierra”

**Brucella spp. COMO PROBLEMA AMBIENTAL EN LA COMUNIDAD DE SAN
PEDRO, NAYARIT**

TESIS

Que para obtener el grado de:

Dr. EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta:

M.C. Lesset del Consuelo Ramos Ramírez

| | |
|--------------------------------|------------------------------------|
| Directora | D.C. Elsa Iracena Castañeda Roldán |
| Co-Director | D.C. Edgar Iván Jiménez Ruíz |
| Integrante del comité tutorial | D.C. Gladys Linares Fleites |
| Integrante del comité tutorial | D.C. Ricardo Darío Peña Moreno |
| Integrante del comité tutorial | D.C. J. Santos Hernández Zepeda |

Agosto 2020

ÍNDICE

| | Página |
|---|--------|
| Índice de figuras | i |
| Índice de tablas | ii |
| 1. RESUMEN | 1 |
| 2. INTRODUCCIÓN | 3 |
| 3. ANTECEDENTES | 4 |
| 3.1 Medio ambiente y la salud humana | 4 |
| 3.2 Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua | 7 |
| 3.3 Coliformes como indicadores de calidad microbiológica en agua y productos acuícolas | 9 |
| 3.4 Zoonosis | 10 |
| 3.5 Brucelosis como problemática ambiental | 13 |
| 3.6 Género <i>Brucella</i> | 16 |
| 3.7 San Pedro Lagunillas y sus actividades socioeconómicas | 17 |
| 3.8 Proceso de crianza de tilapia en el lago San Pedro | 19 |
| 3.9 Característica de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) | 21 |
| 3.10 Sistema inmunológico en pez vertebrado | 21 |
| 4. JUSTIFICACIÓN | 23 |
| 5. PREGUNTA CIENTÍFICA | 23 |
| 6. HIPÓTESIS | 23 |
| 7. OBJETIVOS | 24 |
| 7.1 Objetivo General | 24 |
| 7.2 Objetivos específicos | 24 |
| 8. METODOLOGÍA | 25 |
| 8.1 Área de estudio y recolección de muestras | 25 |
| 8.2 Determinación de CT y CF en peces tilapia | 27 |

| | |
|---|----|
| 8.3 Determinación de CT y CF en agua superficial | 28 |
| 8.4 Análisis estadístico espacio – temporal de calidad microbiológica en agua superficial | 28 |
| 8.5 Identificación y caracterización de bacterias del género <i>Brucella</i> | 29 |
| 8.6 Pruebas de actividad metabólica para bacterias del género <i>Brucella</i> | 30 |
| 8.7 Pruebas específicas para el género <i>Brucella</i> | 31 |
| 8.8 Detección molecular para bacterias del género <i>Brucella</i> | 33 |
| 8.9 Aplicación del plan de acción participativa a la Cooperativa de Pescadores de San Pedro Lagunillas. | 35 |
| 9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 36 |
| 9.1 Calidad microbiológica del lago San Pedro, Nayarit | 36 |
| 9.2 Calidad microbiológica en peces | 41 |
| 9.3 Análisis estadístico de variables microbiológicas y fisicoquímicos | 42 |
| 9.4 Identificación de bacterias del género <i>Brucella</i> en agua y peces tilapia del lago San Pedro | 45 |
| 9.5 Resultados de la acción participativa al sector productivo | 50 |
| 10. CONCLUSIONES | 53 |
| 11. BIBLIOGRAFÍA | 55 |
| 12. ANEXOS | 65 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Título | Página |
|--------|---|--------|
| 1 | Factores ambientales y su impacto en la salud | 4 |
| 2 | Población mayormente vulnerables problemas medioambientales | 5 |
| 3 | Interacciones entre los distintos ambientes y los seres vivos | 6 |
| 4 | Interacciones que causa enfermedades zoonóticas transmitidas por agua | 8 |
| 5 | La brucelosis problema de “Una salud” | 11 |
| 6 | Situación de la brucelosis en México 2020 | 12 |
| 7 | Replicación intracelular establecido por <i>Brucella</i> en determinados tipos de células | 16 |
| 8 | Preparación del pescado para su comercialización | 18 |
| 9 | Meses de mayor venta y costos de tilapia, cultivada en el lago San Pedro, Nayarit. México | 20 |
| 10 | Diagrama de flujo del proceso de cultivo de tilapia hasta su venta | 20 |
| 11 | Ubicación geográfica del lago San Pedro | 25 |
| 12 | Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo en el lago San Pedro, Nayarit | 27 |
| 13 | Identificación morfológica de <i>Brucella</i> spp. | 30 |
| 14 | Pruebas bioquímicas para actividad metabólica | 31 |
| 15 | Siembra en medio BRUCELLABUAP ^{MT} para tipificación | 32 |
| 16 | Extracción y purificación de ADN genómico | 32 |
| 17 | Distribución espacio temporal de CT en el lago San Pedro | 38 |
| 18 | Distribución espacio temporal de CF en el lago San Pedro | 39 |
| 19 | Gráficos de cajas y bigotes para CT y CF | 43 |
| 20 | Gel de agarosa PCR multiplex Bruce – ladder V2.0 | 47 |
| 21 | Actividades de ganadería y pesca en San Pedro Lagunillas | 49 |
| 22 | Reunión con la cooperativa de pescadores del lago San Pedro | 52 |

ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla | Título | Página |
|-------|--|--------|
| 1 | Nuevas y antiguas especies del género <i>Brucella</i> | 14 |
| 2 | Concentración y vol. para la preparación de pruebas de tipificación | 32 |
| 3 | Ciclo de temperaturas adecuadas para la PCR múltiple | 33 |
| 4 | Iniciadores utilizados para identificación de <i>Brucella</i> spp. | 34 |
| 5 | Parámetros meteorológicos, microbiológicos y fisicoquímicos | 36 |
| 6 | Escala de clasificación de calidad de agua superficial con base en los CF | 37 |
| 7 | CT y CF en piel y branquias de peces tilapia | 41 |
| 8 | Matriz de correlación entre parámetros microbiológicos, meteorológicos y fisicoquímicos del agua superficial | 43 |
| 9 | Matriz de correlación entre parámetros microbiológicos, meteorológicos y fisicoquímicos de piel y branquias de peces | 43 |
| 10 | Capacidades bioquímicas para <i>Brucella</i> spp. | 46 |
| 11 | Tipificación por sensibilidad a colorantes para bacterias del género <i>Brucella</i> | 46 |

1. RESUMEN

La calidad microbiológica del agua y su disponibilidad, es un problema complejo debido a que diversos factores son los que intervienen negativamente. Uno de esos factores, podría ser el cambio del uso del agua y suelo alrededor de los cuerpos de agua, los cuales, si no se manejan adecuadamente, podrían ocasionar por lo general problemas ambientales, sociales y económicos. En este trabajo de investigación se eligió, para su estudio, el lago San Pedro que pertenece a una región hidrológica prioritaria denominada lagos cráter de Nayarit, México, en donde se cultiva tilapia (*Oreochromis niloticus*), dado que, en la ribera del lago, además de otras actividades antropogénicas, se practica la crianza semi-extensiva del ganado bovino, del que no se tiene un control eficiente de brucelosis en el Estado. Con el fin de evaluar la calidad microbiológica del lago e identificar bacterias del género *Brucella* en piel de tilapia y en agua superficial. Durante el periodo estacional del 2016-2017 se monitorearon 15 puntos específicos del lago para calidad de agua superficial con base en la Norma Mexicana NMX-AA-042-SCFI-2015, 13 puntos para identificación y aislamiento de *Brucella* spp. y 5 sitios para evaluar las especificaciones sanitarias de peces que establece la NOM-242-SSA1-2009. Además, se consideró la precipitación pluvial, temperatura del aire, temperatura del agua, conductividad y salinidad con el fin de determinar la relación espacio-temporal con la calidad del agua. Se aisló e identificó a *B. abortus* y *B. suis* mediante técnicas microbiológicas usando medios selectivos con violeta de etilo al 0.01% y antibióticos (nistatina 100 U/mL, ácido nalidíxico 5 U/mL y cicloheximida 100 µg/mL), pruebas bioquímicas y crecimiento en colorantes (tionina, safranina y fucsina). Se identificó la especie, por homología, de las colonias aisladas mediante la técnica de PCR múltiple. Los resultados de calidad microbiológica demostraron que tanto los peces como el agua superficial se encuentra por debajo de los límites permisibles de contaminación por materia fecal, según lo establecido por la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Por otro lado, el aislamiento e identificación de *B. abortus* de agua superficial, *B. abortus* y *B. suis* de piel de tilapia es un hallazgo no reportado en los

ecosistemas léntico y tilapia en México. Se concluye que las precipitaciones influyen en la calidad del agua superficial y que *B. abortus* y *B. suis* se encontró como contaminante y que es capaz de interactuar con la piel del pez, sin embargo, se requieren más estudios al respecto.

2. INTRODUCCIÓN

Un problema ambiental es definido como “cualquier impacto ambiental de origen antropogénico que se genera en los procesos de adaptación al medio ecosistémico, procesos que se han sustentado a través de los modelos culturales los cuales han sido consolidados históricamente sobre la base de la transformación de la naturaleza (Cuello, 2003). Los efectos nocivos principalmente derivadas de las actividades antropogénicas en el entorno biofísico, es un ejemplo de un problema ambiental. El aumento poblacional y el consumo desmedido de bienes naturales, son algunos de los factores que repercuten en los cuerpos de agua y del cambio del uso del suelo alrededor de los mismos (UNESCO, 2017). El aumento poblacional se calcula que crece a un ritmo de 80 millones de personas al año, lo cual demanda aproximadamente 64 mil millones de metros cúbicos anualmente de agua dulce para múltiples actividades y se pronostica que, “en el 2030, el 47% de la población mundial vivirá en zonas con estrés hídrico. La mayor parte del crecimiento de la población estará localizada en países en desarrollo, en regiones sin un acceso sostenible al agua potable ni a un saneamiento adecuado” (UNESCO, 2017). Es por ello que se deben conservar y utilizar de manera sostenible los cuerpos de agua y fomentar acciones para la recuperación y mantenimiento de los lagos, así como para evitar contaminación antropogénica o zoonótica, implementar barreras naturales y artificiales, reforestar y controlar la tala inmoderada, controlar el vertido de desechos sin y con tratamiento, monitoreo periódico de los cuerpos de agua. Además, si existe ganado a la ribera de los lagos, contemplar la reubicación de establos y mantener un control adecuado en sanidad de los animales entre otras actividades. Para lograr el equilibrio ambiente sociedad, es necesario aplicar medidas políticas junto con las necesidades de la sociedad en favor del medio ambiente, así como el desarrollo de proyectos productivos y programas de educación ambiental.

3. ANTECEDENTES

3.1 Medio ambiente y la salud humana

Los diversos factores ambientales y la salud humana están relacionados. Dado que mundialmente, ciertas enfermedades son atribuidas a los factores ambientales en aproximadamente un 23% de la población mundial y alrededor del 35% de los infantes (figura 1); además de reportarse significativamente diferencias entre países (OMS, 2016; Prüss y Corvalán, 2006). Durante los últimos años en México se han mejorado las condiciones en pro de la salud, sin embargo, diversas poblaciones aun presentan vulnerabilidad ante enfermedades y esto por la inequidad de oportunidades y servicios. Aunado a la contaminación y diversas problemáticas relacionadas con el detrimento ambiental (Riojas *et al.*, 2013).



Figura 1. Factores ambientales y su impacto en la salud. Tomada de: OMS, 2016

La exposición a factores medio ambientales tiene una distribución desigual en diferentes poblaciones, dicha desigualdad suele estar relacionada con factores sociales como los ingresos, el status social o la educación, pero también con aspectos no económicos como el sexo, la edad o la etnia (OMS, 2016). Lo anterior se refleja en

la figura 2, donde los países con menores ingresos son los que presentan más enfermedades que se relacionan con el ambiente.

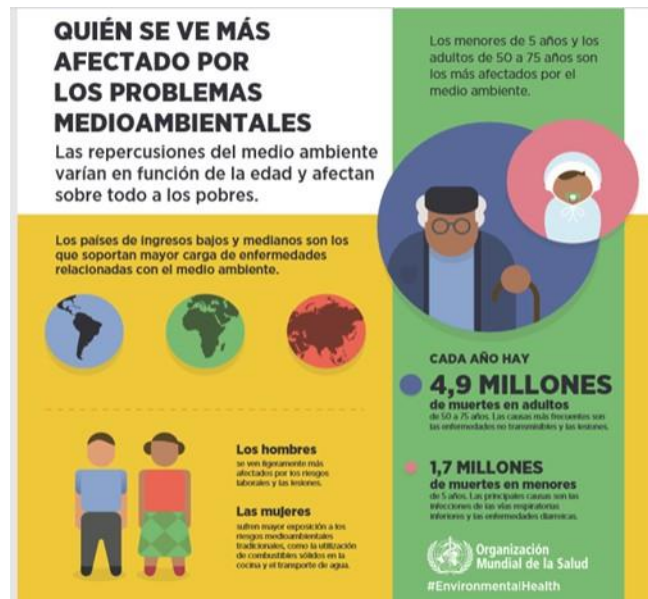


Figura 2. Población mayormente vulnerable a problemas medioambientales. Tomado de: OMS, 2016

La población mundial enfrenta diversos problemas ambientales que quizá podrían resolverse por medio de la colaboración participativa a escala global. Entre estos problemas se encuentra la dispersión de enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes entre los seres humanos, animales de crianza, animales silvestres y ecosistemas. Lo anterior como resultado de diversos factores, como el crecimiento de zonas urbanas, crecimiento poblacional de humanos y animales domésticos, así como la interacción de fauna silvestre y doméstica, aunado a las modificaciones y alteraciones de los ecosistemas, cambio climático y la comercialización global de animales y sus subproductos. Sin embargo, el aumento de la población mundial es el factor más importante es, particularmente en regiones donde la cantidad de pobres es mayor como en Asia, África y América Latina (OIE, 2009). Los problemas mencionados anteriormente ponen en riesgo a los seres humanos y animales domésticos frente a nuevos y antiguos agentes patógenos y con ello disminuye la calidad de vida, debido

a que los seres humanos no son sistemas aislados y existen conexiones con animales, plantas y el ambiente (figura 3).

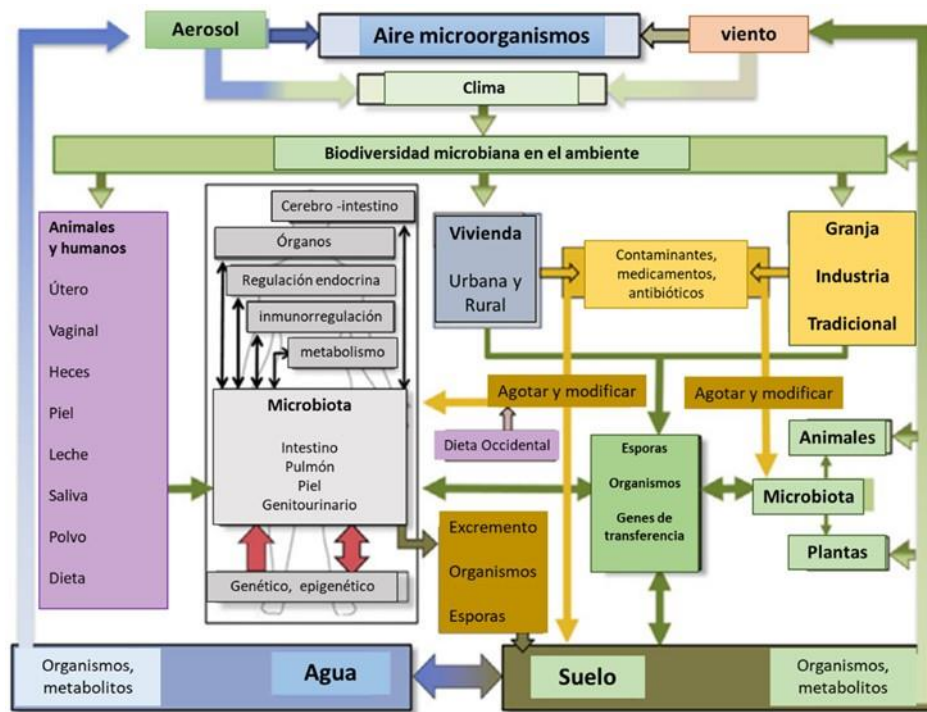


Figura 3. Interacciones entre los distintos ambientes y los seres vivos. Tomado de: Flandroy et al., 2018

Ante lo mencionado, surge el concepto: “un mundo, una salud, mismo que subraya la toma de conciencia colectiva del vínculo existente entre las enfermedades animales y la salud pública” (OIE, 2009). Este movimiento de “un mundo, una salud” trata de detectar las enfermedades oportunamente en animales que son criados para alimentar a la población, debido a que la alimentación regular de las poblaciones se basa en proteínas que se derivaban de la carne, leche y huevo. Es importante mencionar las enfermedades infecto – contagiosas, así como crónico-degenerativas (García et al., 2013), están relacionadas con la calidad de vida, dado que la calidad de vida es un indicador que mide el desarrollo y es entendida como la sensación de bienestar frente a la vida (WHO,1996)

3.2 Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua

Las enfermedades transmitidas por el agua, ocurren tanto en países desarrollados y menos desarrollados (WHO, 2004). Estas enfermedades son debido a que el agua se contamina por residuos de humanos, animales o productos químicos, aunado a la carencia de servicios de alcantarillado, drenaje, instalaciones de saneamiento adecuado y de agua potable limpia el hogar. Por lo que los residuos fecales portadores de organismos patógenos son arrastrados por el agua ocasionando diversas enfermedades y estas enfermedades al no ser atendidas causan alrededor de 12 millones de muertes por año (Holguín, 2006; CNDH, 2018). A su vez esos organismos patógenos se lixivian hasta los mantos freáticos de agua dulce y la contaminan (CNDH, 2018). “La magnitud de la propagación de estos organismos infecciosos en un manantial de agua dulce determinado depende de la cantidad de excremento humano y animal que éste contenga. Debido a esto, se produce contaminación fecal de los abastecimientos de agua, si el agua no se trata adecuadamente, el patógeno puede penetrar en un nuevo huésped al consumirla” (Díaz, 2003). La transmisión de enfermedades por agua contaminada incluye también la modalidad de inhalación por aerosoles, exposición a través del contacto tanto recreativo como ocupacional, la producción acuícola en aguas de mala calidad y por exposición directa al agua, cuando el agua se utiliza en el riego y en el procesamiento de alimentos o ingredientes (WHO, 2004). Las diversas interacciones causantes de las enfermedades zoonóticas transmitidas por el agua se presentan en la figura 4.

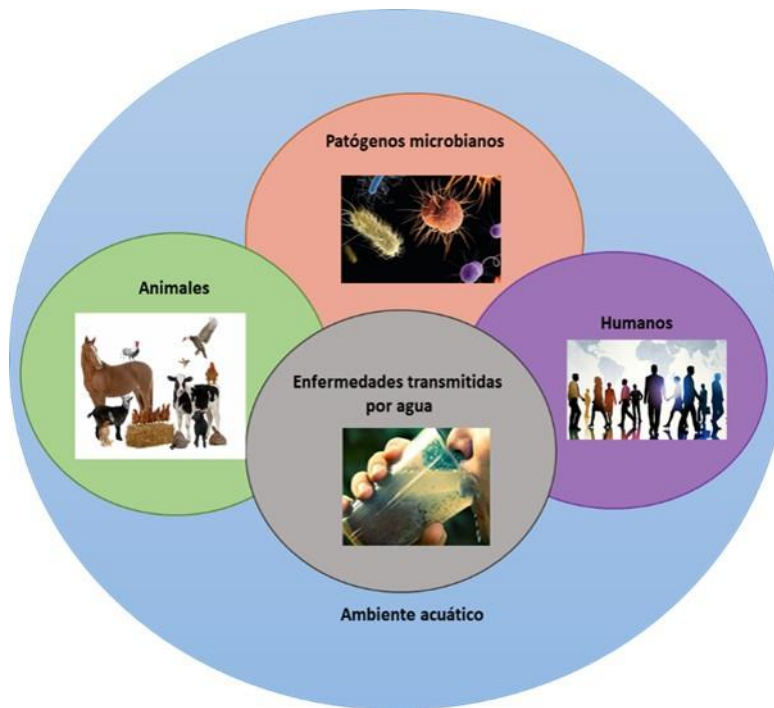


Figura 4. Interacciones que causan enfermedades zoonóticas transmitidas por agua. Elaboración propia.

En algunos casos, los patógenos se introducen en nuevas áreas geográficas a través de la importación de animales infectados (tanto ganado como mascotas exóticas) y estos patógenos pueden infectar a otros animales de la comunidad. Aquellos microorganismos considerados como contaminantes pueden ingresar al agua por el aire, tierra, plantas, excretas de origen humano y animal (Hodžić *et al.*, 2016). Usualmente, un agente patógeno que infecta a un solo huésped, rara vez se presenta en una cuenca de captación por lo que es necesario establecer barreras o limitantes para no contribuir con la propagación. Un ejemplo de lo anterior son los animales de corral o ganado, donde es conveniente que estén excluidos de las cuencas de captación y así evitar el contacto directo con los cuerpos de agua, por ello se recomienda instalar cercas para impedir que los animales puedan acceder a los ríos, lagos o lagunas.

3.3 Coliformes como indicadores de calidad microbiológica en agua y productos acuícolas

En México, el 72% de los lagos, lagunas, ríos y otros cuerpos de agua tienen algún grado de contaminación, por lo que el análisis bacteriológico es vital en la prevención de epidemias (Aguilar y Pérez, 2008; SEMARNAT, 2018). La evaluación de calidad del agua tiene por objetivo determinar bacterias del grupo coliforme debido a que indican contaminación por materia fecal de animales homeotermos; el grupo de microorganismos de coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) se utilizan debido a su fácil identificación y además de que no se multiplican fuera del tracto intestinal (Barraza, 2018; Romero *et al.*, 2010). Los CF comúnmente son utilizados como indicadores de la contaminación por materia fecal en agua y peces. “La Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua (RMN) en México utiliza entre otros indicadores los CF para la evaluación de la calidad del agua” (SEMARNAT, 2018). El grupo coliforme integra a bacterias Gram-negativas aerobias o anaerobias facultativas, de forma bacilar, no forman esporas, fermentadores de lactosa con producción de gas en un tiempo máx. de 48 h a 35 °C ± 0.5 °C. Cabe mencionar que dicho grupo está conformado por 4 géneros principalmente: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. Los CF y *E. coli* principalmente se utilizan “como indicadores de contaminación fecal dada su relación con el grupo tifoide-paratifoide, su alta concentración en diversos tipos de muestras” y su facilidad para ser detectados en cuerpos de agua (Bhumbla *et al.*, 2020; Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua, 2009; Arcos *et al.*, 2005). Así también, el grupo de los coliformes proporcionan un panorama sobre la calidad higiénica de los productos de la pesca, el recuento de CT y CF son indicadores de contaminación del producto. Para estimar el número de bacterias coliformes presentes en productos alimenticios se establece la “técnica del número más probable (NMP) (NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable)”, conocida también como dilución en tubo. La cual realiza estadísticamente una estimación de la

carga bacteriana en los tubos de crecimiento positivo, lo cual disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculado. Por otro lado, las especificaciones sanitarias microbiológicas de productos de la pesca frescos están determinadas en la NOM-242-SSA1-2009, para la cual, en pescados el límite máximo permitido de coliformes fecales y/o *E. coli* es de 400 NMP/g.

3.4 Zoonosis

“La organización mundial de la salud define a las zoonosis como un grupo de enfermedades infecciosas que se transmiten de forma natural de los animales a los seres humanos” (OMS, 2016). “Las enfermedades zoonóticas, representan un problema ambiental y de salud pública debido a que afectan a una gran parte de la población, tanto en zonas urbanas como rurales” (PRONABIVE, 2016). La Organización Mundial de Sanidad Animal reporta que un “60% de las enfermedades infecciosas humanas conocidas son de origen animal (animales domésticos o salvajes), al igual que un 75% de enfermedades humanas emergentes y un 80% de agentes patógenos que pueden ser utilizados por el bioterrorismo” (Organización Panamericana de la Salud-OPS, 2017). Mundialmente, la brucelosis es una zoonosis de gran impacto que ocasiona detrimentos económicos en el sector ganadero. Aunque se ha logrado controlar en países con altos ingresos, no así en los países con menores ingresos. Tal es el caso de México, donde aún no está controlada ni erradicada en todo el territorio, de hecho, Guzmán *et al.* (2016) lo consideran un país endémico de brucelosis.

La prevención y disminución de las enfermedades de origen zoonótica se podría lograr con una interacción armoniosa y coordinada entre los responsables sanitarios a nivel global, nacional y regional. A nivel mundial, por ejemplo, “la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) ha modernizado su sistema de información mundialmente sobre las enfermedades animales (zoonosis incluidas) creando WAHIS (siglas en inglés): Información Mundial Sobre las Enfermedades Animales”. Debido a este sistema, todos los países en red se conectan a un servidor central el cual resguarda los reportes

obligatoriamente enviados a la OIE con referente a las 100 enfermedades de origen animal tanto terrestres como acuáticos estimadas prioritarias actualmente. La OIE, la “Organización Mundial de la Salud (OMS)” y la “Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO)”, con el apoyo del “Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF)”, la “Coordinación del Sistema de las Naciones Unidas Contra la Influenza (UNSIC)” y el “Banco Mundial”, han preparado un documento consensual sobre las medidas mundiales necesarias para coordinar mejor las políticas sanitarias médicas y veterinarias a fin de tener en cuenta las nuevas exigencias de prevención y lucha contra las zoonosis (OIE, 2009). Sin embargo, aún queda trabajo por hacer para que con la colaboración entre las principales autoridades que se dedican a los animales silvestres el resultado sea eficaz, así como a través de asesorías en el marco de “Un mundo, una salud relativa al control de las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes” (OIE, 2009), como se observa en la siguiente figura (5).

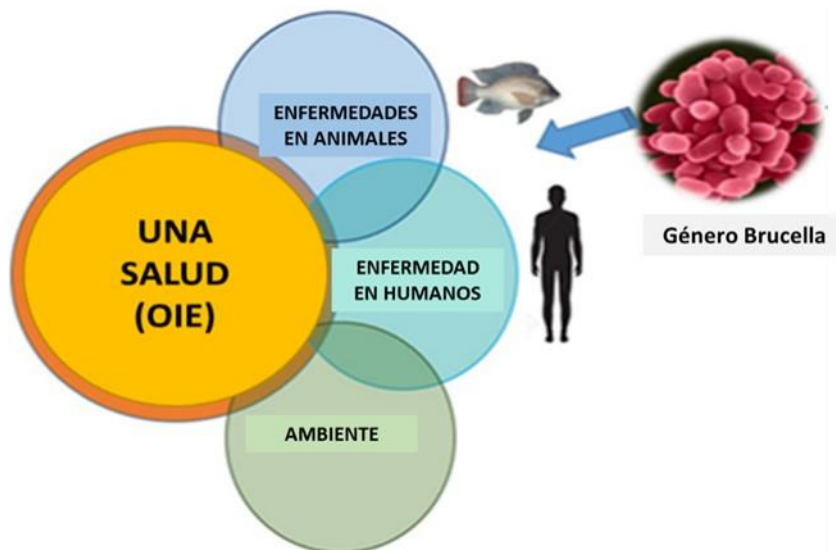


Figura 5. Brucelosis problema de “Una salud”. Enfermedad transmitida de animales a humanos, animales al ambiente y del ambiente a otros animales o humanos. Elaboración propia.

Los fines del presente trabajo es contribuir a la prevención en materia de “salud ambiental” y “una salud”, por lo que se pretende identificar bacterias que corresponda

al género *Brucella* spp. en agua del lago San Pedro y en tilapia (*Oreochromis niloticus*), la cual se extrae del lago para comercializarla en la región. Se eligió trabajar con bacterias del género *Brucella* spp. por la enfermedad zoonótica ambiental que ésta ocasiona conocida como brucelosis, la cual es de importancia mundial.

“El Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) y la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGARPA)” reportaron que la brucelosis bovina en México a principios de 2015 se encontraba en un 72.3% activa en humanos y sólo el 8.14% del territorio nacional se encontraba libre de ésta. En julio del 2019, aparte del estado de Sonora, el estado de Baja California Sur se declara libre de brucelosis bovina, caprina y ovina. Cabe mencionar que Nayarit se encuentra en fase de erradicación (SENASICA, 2020), sin embargo, estos datos sólo aplican para las especies lisas, no así para el resto de las especies de *Brucella* (figura 6).



Figura 6. Situación de la brucelosis en México hasta el 2 de julio de 2020. Tomada de: SENASICA, 2020

Hoy en día, se han reportado 16 especies del género *Brucella* (Hull y Shumaker, 2018; Amr y Waild, 2018), cambiando de hospederos mamíferos a nuevos reservorios que

incluyen peces, ranas, zorros y mamíferos marinos. Actualmente, en el país no se ha investigado la presencia de nuevas especies de *Brucella* en peces como tilapia (*Oreochromis niloticus*). Es por ello que, con la realización de este trabajo se pretende evaluar el grado de contaminación del lago San Pedro en Nayarit, así como en peces que se cultivan ahí, esto por medio de bacterias indicadoras y microorganismos patógenos del género *Brucella*.

3.5 Brucelosis como problemática ambiental

Considerando los reportes de la “Organización Mundial de Sanidad Animal” (OIE, 2015) sobre la brucelosis como una triada en donde el ambiente, los animales huéspedes y los humanos interactúan y se infectan con la bacteria, es que se ha denominado a esta zoonosis como un problema ambiental complejo. Debido a que, al enfermar los animales, enferman los humanos y los ecosistemas. El problema que causa la brucelosis origina grandes pérdidas económicas en abortos y esterilidad animal, un gran problema de salud humana que puede ser crónica. Actualmente, en diversas partes del mundo se han aislado nuevas especies de bacterias del género *Brucella* que infectan animales domésticos y silvestres, como mamíferos, peces y anfibios lo cual se ignoraba que estos pudieran ser infectados por *Brucella* spp. (Eisenberg *et al.*, 2012; Scholz *et al.*, 2008; Whatmore *et al.*, 2014). Se ha reportado que “cada especie de *Brucella* muestra una preferencia por un huésped determinado, aunque una sola de ellas puede infectar varias especies animales”. Por ejemplo, el hombre es susceptible actualmente a las especies de “*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. inopinata*, *B. ceti* y *B. pinnipediae*” (Hull y Shumaker, 2018; Amr y Waild, 2018) Durante varios años, el género *Brucella* comprendía seis especies “clásicas”, pero desde inicios de 1990, se reportaron nuevas especies de *Brucella* aisladas de animales como: *Brucella cetaceae* y *Brucella pinnipediae*, aisladas de mamíferos marinos, cetáceos y pinnípedos, respectivamente (Cloeckert *et al.*, 2003). Además, con el aislamiento de *Brucella* en ranas y mantarrayas, esta bacteria sigue expandiéndose

hacia nuevos reservorios ahora en anfibios (Eisenberg *et al.*, 2012; Eisenberg *et al.*, 2017).

Es fácil que bacterias del género *Brucella* se expandan hacia otros ecosistemas y con ellos a otros hospederos, dado que la formas y vías de propagación para este patógeno son diversas. Por ejemplo, se sabe que puede propagarse por bioaerosoles, tiene “aquaporinas que le permiten vivir en el ambiente acuático” (Rodríguez *et al.*, 2000). Por ejemplo: presenta “el fenómeno de Quorum Sensing (QS)” el cual genera la resistencia a antibióticos (Terwagne *et al.*, 2013) y con el descubrimiento de nuevas características como el flagelo en *Brucella melitensis* (Ferooz y Letesson, 2010), sirve como antecedente para mencionar que la identificación y el aislamiento de *Brucella* en diversos animales aumenta el número de especies a 16 (Hull y Shumaker, 2018). Dichas especies se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Nuevas y antiguas especies del género *Brucella*. *

| Especie | Colonia tipo | Hospedero natural | Zoonosis | Año de primo aislamiento |
|---|--------------|--|---------------|------------------------------|
| <i>B. melitensis</i> | Lisa | Ovejas, cabras y camellos | Sí - Alto | Bruce (1893) |
| <i>B. abortus</i> | Lisa | Bovinos, alce y bisonte | Sí – Alto | Schmidt (1901) |
| <i>B. suis</i> | Lisa | Cerdos, jabalí, liebres y reno/ caribú | Sí – Alto | Huddleson (1929) |
| <i>B. ovis</i> | Rugosa | Ovejas | No reportado | Buddle (1956) |
| <i>B. neotomae</i> | Lisa | Rata del desierto | Sí - Bajo | Stoenner and Lackman (1957) |
| <i>B. canis</i> | Rugosa | Perros | Sí - Moderado | Carmichael and Bruner (1968) |
| <i>B. ceti</i> (<i>B. delphini</i>) | Lisa | Cetáceos | Sí - Bajo | Foster et al. (2007) |
| <i>B. Pinnipedialis</i> (<i>B. phocae</i>) | Lisa | Pinnípedos | Sí - Bajo | Foster et al. (2007) |
| <i>B. microti</i> | Lisa | Zorros rojos y campañoles (roedores del campo) | No reportado | Scholz et al. (2008) |
| <i>B. inopinata</i> | Lisa | Human | Sí - Medio | Scholz et al. (2009) |
| <i>B. papionis</i> | (?) | Babuinos (<i>Papio</i> spp.) | No reportado | Whatmore et al. (2014) |
| <i>B. vulpis</i> | (?) | Zorros rojos (<i>Vulpes vulpes</i>) | No reportado | Scholz et al. (2016) |
| <i>B. Inopinata – 09RB8471</i> | Lisa | Rana toro africana y rana arborícola de ojos grandes | No reportado | Soler-Lloréns et al. (2016) |
| <i>B. UK8/14</i> | (?) | Rana arborícola | No reportado | Whatmore et al., (2015) |
| <i>Brucella NFXXXX</i> | (?) | Rata australiana | No reportado | Cook et al., (1964) |
| <i>B. sin identificar</i> | (?) | Raya de arrecife | No reportado | Eisenberg et al., (2016) |

*Modificado de Hull y Shumaker, 2018; Amr y Waild, 2018

Algunos autores sugieren que las especies de *Brucella* de los mamíferos marinos se pueden transmitir al ingerir peces crudos (ceviche de pescado crudo) o el contacto con mamíferos marinos infectados y secreciones en el agua de mar (Sohn *et al.*, 2003; McDonald *et al.*, 2006). “La evidencia de apoyo proviene de la infección experimental de bagres del Nilo, con una especie terrestre, *B. melitensis*, la cual se aisló de hígado y bazo” (The Center for Food Security and Public Health, 2009). Este estudio demostró que los peces son susceptibles a *Brucella* al igual si éstos son consumidos por los humanos. No se sabe qué papel o función puedan tener los peces en la transmisión o como depósitos de infección en ambientes acuáticos. Sin embargo, existen reportes de aislamientos de *Brucella* de origen marino en personas que consumen frecuentemente mariscos crudos (Sohn *et al.*, 2003; McDonald *et al.*, 2006).

En el 2010, El-Tras *et al.* lograron aislar *Brucella melitensis* en el bagre del Nilo o pez gato (*Clarias gariepinus*) de agua dulce, en el 2017, *Brucella* 141012304 fue aislada de branquias de una raya de arrecife (*Taeniura lymma*) por Eisenberg *et al.* y existe otro reporte del 2017, dónde DNA de *Brucella* spp. fue identificada en nutrias (*Enhydra lutris lutris*) por Burgess *et al.* (2017) Por casos como los mencionados anteriormente, algunas organizaciones como la “Comisión para la Conservación de las Fuentes de Vida del Antártico (CCAMLR)” y la “Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (EPA)” consideran la brucelosis como una enfermedad ambiental. Lo anterior debido a que se menciona entre otros patógenos a *Brucella* spp. como un organismo que estando en el medio ambiente puede afectar algunos animales de la vida acuática y de la vida terrestre (Ross *et al.*, 1994; Bricker *et al.*, 2000) y la salud ambiental principalmente. Se desconoce la replicación intracelular de *Brucella* en diversos tipos de células procedentes de diferentes huéspedes (figura 7).

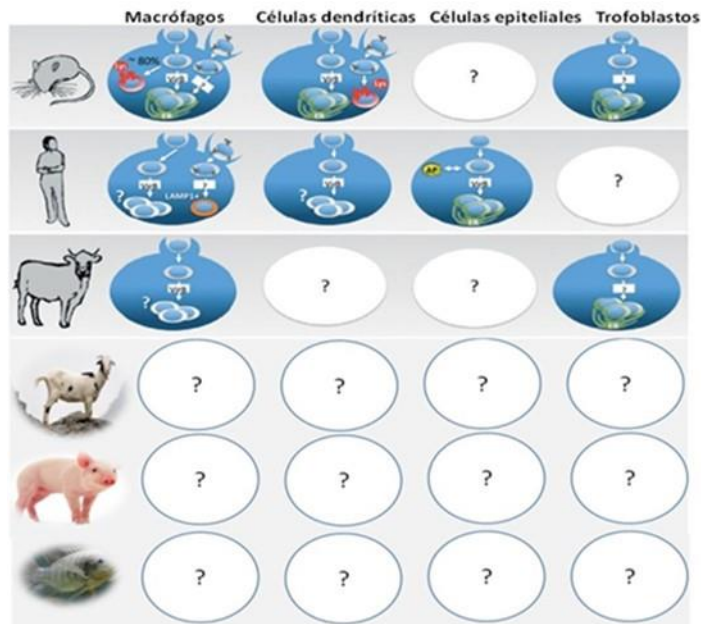


Figura 7. Replicación intracelular establecida por *Brucella* en determinados tipos de células procedentes de diferentes huéspedes. Adaptación de Bargen, 2012 y propio.

En México, la brucelosis es una zoonosis sujeta a vigilancia epidemiológica, de notificación con carácter obligatorio, con base en “la normatividad vigente, entre ellas Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-1994 y el Manual de Procedimientos Estandarizados para la notificación convencional de nuevos casos de enfermedades del Sistema Nacional para la Vigilancia Epidemiológica, establecido por la Secretaría de Salud” (Hernández *et al.*, 1996).

3.6 Género *Brucella*.

El género *Brucella* fue nombrado por el general Sir David Bruce, el cual identificó a *Brucella melitensis* como el organismo responsable de la enfermedad llamada Fiebre de Malta. En 1905, Sir Themistocles Zammit demostró que las cabras infectas transmitían la brucelosis por medio de la leche (Hull y Shumaker, 2018). Este género corresponde a la familia *Brucellaceae* y clase *Alphaproteobacteria*, morfológicamente son bacterias con forma cocobacilar, Gram negativas, no forman esporas ni toxinas, no presentan movilidad, son intracelulares facultativas, que en cantidades de 10 a 100 organismos pueden infectar una amplia gama de especies de mamíferos, incluidos los

humanos y algunos anfibios (Hayoun et al., 2020; Cloeckaert et al., 2000; Eisenberg et al., 2012). *Brucella* se aerosoliza fácilmente y sobrevive bien después de la aerosolización (Hayoun et al., 2020). La distinción entre especies y biovariedades se realiza mediante pruebas diferenciales basadas en caracterización fenotípica de antígenos lipopolisacáridos, tipificación de fagos, sensibilidad de colorantes, requerimiento de CO₂, producción de H₂S y otras pruebas de actividad metabólica (Eisenberg et al., 2012). Los ensayos de biología molecular, como la PCR de Bruce-ladder, se han empleado como otra herramienta útil para la tipificación molecular de especies de *Brucella* de animales o de origen humano (López et al., 2008).

3.7 San Pedro Lagunillas y sus actividades socioeconómicas

El municipio San Pedro Lagunillas pertenece al estado de Nayarit, el porcentaje de la población económicamente activa es de 36.82, cifra inferior a la media estatal, lo que demuestra las escasas oportunidades de empleo. Las principales actividades económicas del estado son: “actividad agrícola, ganadera, pesca, turismo, comercio, industria (minera, de la construcción y manufactura) y servicios” (INEGI, 2010). De acuerdo al INEGI, una de las principales actividades que se realizan en el municipio de San Pedro son la agricultura, la cual se ubicó preponderantemente como la primera y segunda actividad económica en el municipio, seguida por la cría y explotación de animales (bovino, porcino, ovino, caprino y aves) y posteriormente la pesca. La pesca desarrollada en el lago cuenta con 70 socios organizados internamente para la captura de peces, las especies que se reproducen y se explotan son la tilapia y bagre. Dicha producción se destina para el autoconsumo y otra parte se comercializa en el estado de Jalisco (figura 8).



Figura 8. Preparación del pescado para su comercialización. Propio, 2017

“El municipio cuenta con 7,510 habitantes, según el censo de INEGI 2010” y con 2,204 viviendas particulares, de las cuales, 111 no poseen agua entubada y drenaje, 25 viviendas carecen de energía eléctrica, además, 115 no poseen un excusado o sanitario (INEGI, 2010). Por lo anterior, es claro que la falta del servicio sanitario es un problema de contaminación para el lago San Pedro, pues según lo que mencionan algunos pescadores, existen fugas de aguas negras provenientes del pueblo, así como la abundancia de lodo producido en la temporada de lluvias y el cual es arrastrado por afluentes de ríos y arroyos provenientes de los cerros, estancándose finalmente en el lago. Para tal problema se requiere desazolvar (lo cual es muy caro y no se tiene el recurso para tal efecto), pues eso dificulta la pesca debido a que el lodo se encuentra tapando los veneros naturales de gran parte del lago (Peña *et al.*, 2013). Con ésta y las demás problemáticas expuestas anteriormente entorno a la producción pesquera en el municipio, es preciso buscar las alternativas que puedan superar la situación actual del lago para su explotación racional de recursos, aparte de los monitoreos como los que realiza la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Con el fin de mantener una vigilancia sobre calidad microbiológica en los cuerpos de agua en México hasta el año 2017, la Red Nacional de Monitoreo (RNM) contaba con 5,028

sitios donde se evalúan parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, cuyos objetivos según SEMARNAT (2017) son:

“Realizar la evaluación de las tendencias de la calidad del agua, tanto a nivel nacional, como por regiones o localidades”.

“Apoyar y en su momento, evaluar el desempeño y cumplimiento de la regulación para control de la contaminación de los cuerpos de agua”.

“Identificar problemas asociados con contaminantes específicos (metales pesados, compuestos orgánicos) presentes en el medio acuático”.

“Iniciar el diseño de un sistema de detección oportuna de contaminantes para la protección de fuentes de abastecimiento”.

“Cumplir con acuerdos y compromisos internacionales”.

Lo anterior forma parte de programas federales, pero es importante mencionar que la sociedad también debe involucrarse en actividades para crear un mejor entorno y preservar los cuerpos de agua. En el municipio de San Pedro Lagunillas, donde se desarrolló esta investigación, algunas de las acciones registradas que se realizaron hasta el año 2017, por parte de la sociedad en conjunto con gobierno fueron participar en campañas de limpieza del río San Pedro, colocar contenedores en el mirador del lago San Pedro, Capacitación en la Comisión Nacional del Agua y Comisión Estatal del Agua para llevar a cabo las pláticas en escuelas primarias y secundarias (Valle, 2017).

3.8 Proceso de crianza de tilapia en el lago San Pedro

En el lago San Pedro, la especie de tilapia que se cultiva es *Oreochromis niloticus*, la cual para comercializarla como producto entero fresco eviscerado toma un tiempo de crecimiento y engorda de 6 a 8 meses. Es importante mencionar que para la comercialización el tiempo de entrega es un lapso no mayor a 24 horas (CONAPESCA, 2010).

Las presentaciones para la comercialización de tilapia son: a) fresca eviscerada y b) fresca eviscerada sin escamas y agallas. Estas presentaciones son con base en la

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), dado que durante el periodo 2005 al 2009 establece las presentaciones de tilapia a nivel mundial para su exportación y comercialización en el mercado. En la figura 9 se muestra los meses de mayor venta de tilapia en el estado y en el diagrama de flujo (figura 10) el proceso anteriormente explicado.



Figura 9. Meses de mayor venta y costos de tilapia, cultivada en el lago San Pedro, Nayarit. México



Figura 10. Diagrama de flujo del proceso de cultivo hasta venta de tilapia, cultivada en el lago San Pedro, en el municipio de San Pedro Lagunillas, Nayarit.

3.9 Características de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)

La tilapia nilótica o tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) es un pez teleósteo que presenta resistencia a enfermedades y alta capacidad de tolerar el estrés biótico y abiótico, lo que lo hace una especie rentable para la acuicultura (Díaz y Girón, 2014). “Es una especie tropical que prefiere vivir en aguas someras, las temperaturas letales son: inferior 11-12 °C y superior 42 °C, en tanto que las temperaturas ideales varían entre 30 °C y 36 °C” (FAO, 2005). “En estanques, la madurez sexual la alcanzan a la edad de 5 ó 6 meses; el desove inicia cuando la temperatura alcanza 24 °C y la incubación y crianza se completa en un período de 1 a 2 semanas, dependiendo de la temperatura. El número de huevos es proporcional al peso del cuerpo de la hembra. Un pez hembra de 100 g desovarás aproximadamente 100 huevos, en tanto que una hembra con peso de entre 600 y 1,000 g podrá producir entre 1,000 y 1,500 huevos. “La tilapia del Nilo puede vivir más de 10 años y alcanzar un peso de 5 kg” (FAO, 2005). Por las diversas razones anteriormente mencionadas, la tilapia es el pez dulceacuícola ampliamente distribuido en regiones tropicales y subtropicales alrededor del mundo (Díaz y Girón, 2014).

3.10 Sistema inmunológico en pez vertebrado

La respuesta inmune de los peces teleósteos, presenta similitudes con los vertebrados superiores y este es afectado cuando el estado de salud es deficiente (Rubio, 2010). El estado de salud de una población, se pone en riesgo cuando las condiciones del entorno en el cual se desarrollan no son favorables. “Existen una serie de factores que influyen en el desarrollo de una respuesta favorable y en algunas ocasiones lo deprimen significativamente. Estos factores se clasifican en: factores intrínsecos o aquellos inherentes al pez como la edad y el estado sanitario y los factores extrínsecos como la temperatura, los cambios de estación y los parámetros abióticos del agua” (Olabuenaga, 2000).

El sistema inmune de los peces al igual que en los vertebrados superiores puede ser dividido en dos tipos: “Inmunidad innata, natural o inespecífico e inmunidad adquirida o específica. El primero es el que posee todos los seres vivos desde el nacimiento, formado por componentes celulares y humorales y el segundo involucra la producción de anticuerpos a través de un reconocimiento específico del antígeno, además participan elementos celulares” (Rubio, 2010; Olabuenaga, 2000). Ambos sistemas se ven influenciados por diversos factores por ejemplo la edad del pez. “En el caso de los teleósteos, el sistema defensivo está compuesto de subpoblaciones de leucocitos que incluyen los linfocitos B y T, los granulocitos, los trombocitos, los macrófagos y las células citotóxicas inespecíficas. Para comprender las reacciones inmunes de defensa desarrolladas por los peces contra los diferentes patógenos se requiere un amplio conocimiento de la biología de los linfocitos” (Olabuenaga, 2000).

4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad no existe suficiente información sobre la calidad microbiológica del agua del lago San Pedro, Nayarit y sus posibles fuentes de contaminación. Tampoco si las condiciones de crianza de peces que ahí se cultivan modifican al ecosistema al igual que las actividades agropecuarias que se realizan cerca del lago. Dada esa situación, existe la posibilidad de encontrar bacterias del género *Brucella* como un contaminante de origen zoonótico, dado que *Brucella* spp. no sólo afecta a mamíferos terrestres y marinos, sino que también se ha encontrado en peces y anfibios como en caso de mantarrayas y ranas. En la actualidad se desconoce la interacción de las bacterias del género *Brucella* con tilapia (*Oreochromis niloticus*). Por ello, el interés de realizar este estudio que generará conocimiento básico de la movilidad de *Brucella* a nuevos ecosistemas como es el agua, a la tilapia y el impacto en las actividades socioeconómicas y de salud en San Pedro, Nayarit. Además, como el lago constituye una fuente de ingresos por sus actividades socioeconómicas, se hace necesario este tipo de estudios para establecer el grado de contaminación del agua y buscar al género *Brucella* tanto en agua como en la tilapia. Los beneficios de este trabajo irán dirigidos a la comunidad, productores y a los reportes epidemiológicos del municipio para alertar a los productores de tilapia en considerar medidas de precaución.

5. PREGUNTA CIENTÍFICA

¿Cuál es la relación entre el cultivo de tilapia como actividad socioeconómica de la comunidad de San Pedro y la contaminación por *Brucella* spp?

6. HIPÓTESIS

El agua y la tilapia cultivada en el lago San Pedro, Nayarit se contaminan por bacterias del género *Brucella* spp. liberadas al ambiente por las actividades socioeconómicas de la comunidad aledaña.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo General

“Evaluar la calidad del agua y presencia de *Brucella* spp. como problema ambiental por la contaminación del agua y de la tilapia cultivada en el lago San Pedro y su relación con las actividades socioeconómicas de esa comunidad”.

7.2 Objetivos específicos

- 1.- Analizar la calidad microbiológica del agua del lago durante las cuatro estaciones del año en diferentes puntos del mismo.
- 2.- Estimar la calidad sanitaria de peces del lago durante las cuatro estaciones del año.
- 3.- Detectar bacterias del género *Brucella* como contaminante en el agua del lago San Pedro
- 4.- Comparar la homología del material genético extraído del agua y de la tilapia cultivada en el lago de San Pedro con el género *Brucella* para la identificación de especie.
- 5.- Recomendar a la Cooperativa una acción participativa sobre la prevención de contaminación microbiana y *Brucella* en el lago San Pedro.

8. METODOLOGÍA

8.1 Área de estudio y recolección de muestras

El lago San Pedro, de origen volcánico se localiza al oeste del Eje Neovolcánico Transversal Mexicano (Ferrari et al., 2003). Sus coordenadas geográficas son 21°12'33"N, 104°43'37"O (Figura 11) con una altitud de 1,261 msnm, área de captación de 2.96 km² y una profundidad (determinada en este estudio) de 7 m. La región presenta clima cálido, húmedo y subhúmedo (temperatura media anual 22.9°C) con lluvias en verano y precipitación anual media de 971 mm (Sigala et al., 2017). El lago es clasificado como de agua dulce y pertenece a una región hidrológica denominada Lagos Cráter de Nayarit, México (Arriaga et al., 2000; Sigala et al., 2017).

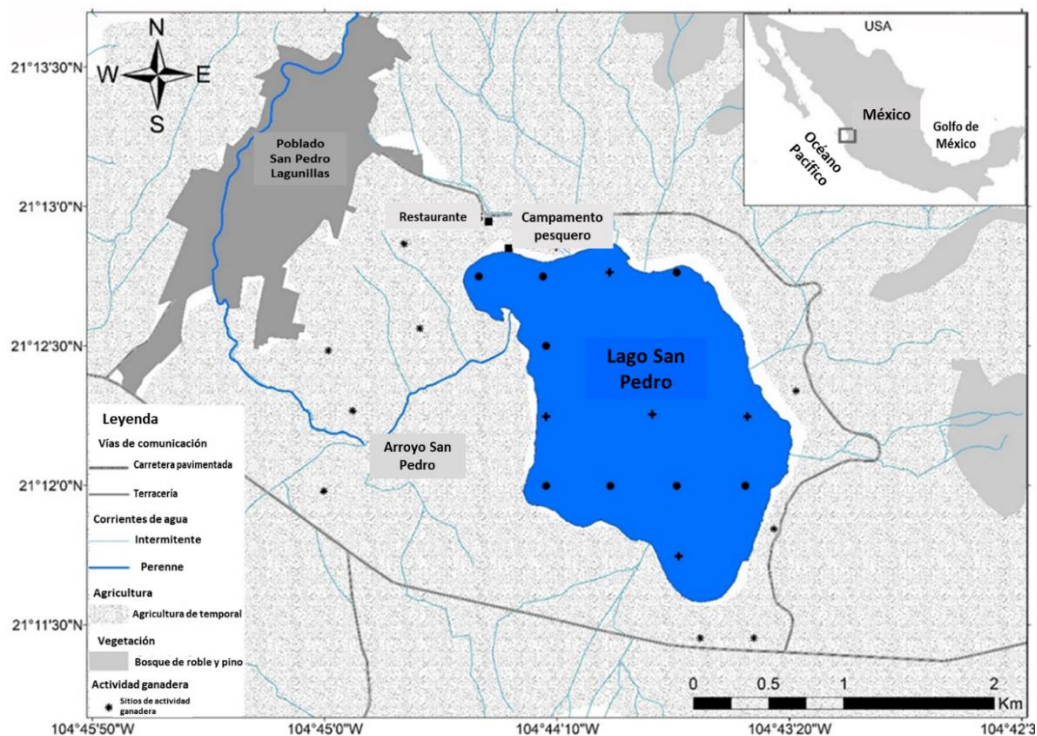


Figura 11. Ubicación geográfica del lago San Pedro en el municipio de San Pedro Lagunillas, Nayarit.

La recolección de muestras de agua superficial se realizó con base al manual de métodos de muestreo (INECC-CCA, 2010) del Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), también se aplicaron los lineamientos que establece el APHA (American Public Health Association) y la norma NMX-AA-042-SCFI-2015 (APHA, 1999, 2017; DOF, 2015). La toma de muestras se realizó en horario de 9:00 a 14:00 horas, en el caso del agua superficial se trazaron 15 puntos en el lago a su vez, se trazaron cinco sitios de muestreo para coleccionar los especímenes de peces (por triplicado) por medio de la técnica de chinchorro. Los ejemplares de tilapia (*Oreochromis niloticus*) coleccionados fueron de talla comercial, se obtuvo un total de 15 peces por estación del año. Para estas muestras el análisis de calidad microbiológica fue con base en la “NOM-112-SSA1-1994”. Cabe mencionar que el análisis microbiológico de calidad del agua superficial del lago y de los peces, se realizó en la “Unidad de Tecnología de Alimentos, Secretaria de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Nayarit (UAN)”, en un tiempo menor a 24 horas según las normas mencionadas anteriormente.

Para la determinación de bacterias del género *Brucella* en agua superficial se trazaron 13 puntos estratégicos, en la figura 12 se aprecian los mapas de los sitios de muestreo. Las posiciones geográficas fueron establecidas con un GPS (Global Positioning System por sus siglas en inglés: GPS, GARMIN® eTrex Legend® H), mientras que los valores de temperatura (°C), salinidad (ppt), conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) del agua fueron determinados por un registrador de datos HOBO U-20^{MR}. Los valores climatológicos de temperatura del aire (°C), precipitación (mm) y precipitación acumulada (mm) de 3 días previos al muestreo fueron proporcionados por el personal de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA).

La preparación de las muestras para la búsqueda de *Brucella* spp., se realizó en el “Laboratorio de Contaminación y Toxicología Ambiental, Secretaria de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Nayarit”. La caracterización e identificación de las colonias morfológicamente presuntivas se realizó en el laboratorio de Patogenicidad Microbiana de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP),

donde se llevaron a cabo pruebas fisiológicas, bioquímicas y de colorantes específicos que establece el manual de procedimientos de laboratorio INDRE/SAGAR (Hernández *et al.*,1996) y Alton *et al.*(1976), así como técnicas de biología molecular.

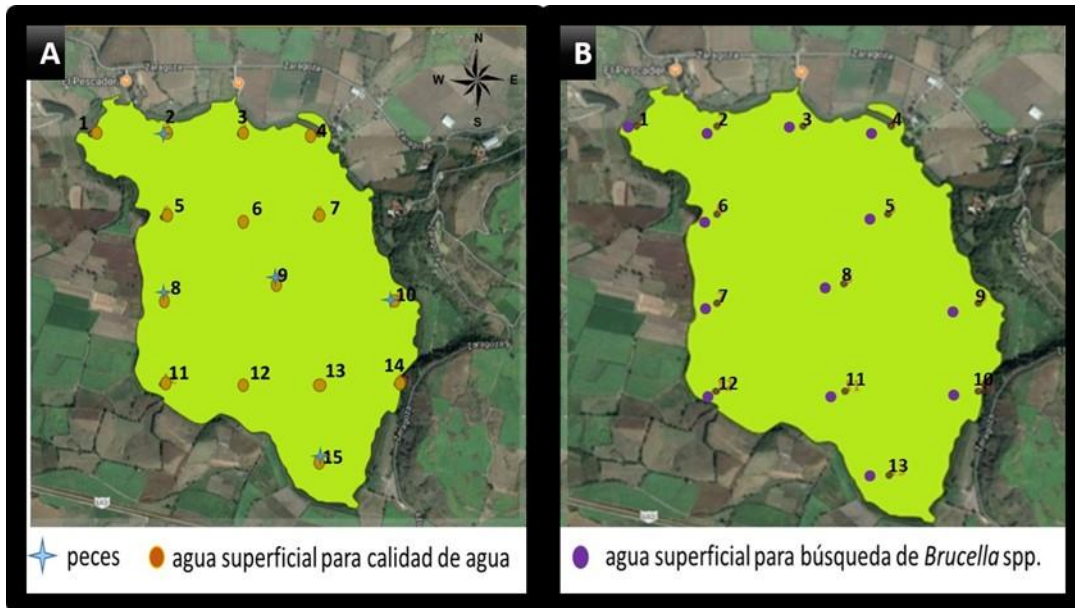


Figura 12. Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo en el lago San Pedro, Nayarit. Elaboración propia, 2017. A.- Sitios establecidos para toma de muestras de peces y agua superficial. B.- Sitios de muestreo de agua superficial para búsqueda de *Brucella* spp.

8.2 Determinación de CT y CF en peces tilapia

La evaluación de bacterias CT y CF se realizó de acuerdo a la “Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable”. Para alimentos. En condiciones de esterilidad, se realizó una solución de fosfato con un gramo de muestra para piel y branquias. Esta solución para cada órgano de interés fue alicuotada para realizar las diluciones para el NMP.

Prueba presuntiva: Se transfirieron alícuotas de 10 mL, 1 mL y 0.1 mL de muestra a una serie de 3 tubos en medio líquido selectivo de caldo lauril sulfato triptosa (CLST).

El análisis se realizó después de 24 ± 2 h de incubación a $35 \text{ °C} \pm 0.5 \text{ °C}$ donde se observó la presencia de turbidez y formación de gas.

Prueba confirmativa: De aquellos tubos con producción de gas, se tomó una asada y se sembró “en un número igual de tubos con medio de confirmación caldo lactosa bilis verde brillante. Los tubos se incubaron a $35 \pm 0.5 \text{ °C}$ por 24 ± 2 h”. Los resultados se leyeron con base en las tablas ya establecidas de NMP.

8.3 Determinación de CT y CF en agua superficial

Las determinaciones de CT y CF se realizó con base en la metodología de la “Norma Mexicana NMX-AA-042-SCFI-2015”. Una vez homogenizada la muestra en las bolsas de Thio bag, se tomaron alícuotas que establece la técnica para cada tubo. Después de inoculados y cerrados los tubos, se les retiró cualquier burbuja dentro de la “campana de Durham y se incubaron a 37 °C ” por un periodo de 24 a 48 h.

Para el análisis de coliformes fecales se inocularon medios EC (*E. coli*) con aquellos tubos positivos para coliformes totales. Los tubos con medio EC se prepararon de acuerdo a las indicaciones del marbete del producto en condiciones de esterilidad. Una vez inoculados todos los tubos con sus respectivas campanas de Durham sin burbujas de aire, se incubaron durante 24-26 h a una temperatura de 44 °C . Se registraron los tubos positivos y mediante tablas estadísticas establecidas se calculó el número más probable (NMP) para cada serie.

8.4 Análisis estadístico espacio-temporal de calidad microbiológica en agua superficial

El análisis espacio temporal de los resultados fue analizado con una matriz de correlación (coeficiente de Kendall) con el programa estadístico IBM SPSS Statistics 23. Se utilizó el programa Surfer 8 para determinar los gradientes de contaminación de los CT y CF en la superficie del lago San Pedro. Para el análisis de correlación se aplicó el coeficiente (r) de Pearson's y la significancia fue basada en un valor de p (p-

value) menor a 0.05. El coeficiente de correlación puede presentar valores de -1 (correlación negativa) a +1 (correlación positiva). La interpretación de la correlación fue con base a la guía de Evans, donde sugiere que los valores de r: "0.00-0.19 es muy débil", "0.20-0.39 es débil", "0.40-0.59 es moderado", "0.60-0.79 es fuerte" y "0.80-1.0 la correlación es muy fuerte" (Evans,1996). Los datos obtenidos no se distribuyeron normalmente, por lo tanto, se aplicó "Kruskal-Wallis" ($p < 0.05$) y así determinar la significación estadística de los valores obtenidos.

8.5 Identificación y caracterización de bacterias del género *Brucella*

Las muestras de agua recolectadas para la identificación y caracterización de *Brucella* spp. fueron filtradas (100 mL) con la ayuda de un equipo de filtrado múltiple al vacío (ADVANTEC), el tamaño del poro de los filtros de membrana fue de 0.22 μm , por cada filtrado de muestra se recuperó un filtro y 40 mL de agua en tubos Falcon™ de 50 mL y se almacenaron en refrigeración (4 °C) para su transporte (por duplicado). Los filtros de las muestras de agua, los hisopados de piel de tilapia, así como una asada de macerado de branquias se sembraron por extensión en placa en medio selectivo BRUCELLABUAP^{MT}, el cual se preparó con colorante violeta de etilo al 0.01% y sin colorante; ambos medios fueron formulados con los siguientes antibióticos: nistatina 100 U/ mL, ácido nalidíxico 5 U/mL y ciclohexemida 100 ug/mL (Alton *et al.*, 1976). Las placas de agar se incubaron a 37 °C en condiciones de atmósfera de CO₂ al 5%, se monitoreó el crecimiento de las colonias a las 24, 48 y 72 h. Las colonias que presentaron una morfología característica de *Brucella* spp. (pequeñas colonias puntiformes, sin coloración o un tenue color salmón, generalmente translúcidas) fueron aisladas nuevamente en medios BRUCELLABUAP^{MT} con y sin colorante, se incubaron los medios en tensiones de CO₂ al 5% a 37 °C y se verificó crecimiento colonial a las 24 y 48 h. Una vez observado crecimiento, se realizó una tinción Gram a cada aislamiento para observarse en el microscopio con ayuda de aceite de inmersión a 100x y se registraron aquellas en la cuales la formología eran cocobacilos Gram negativos. A estas colonias morfológicamente características se les sometió a pruebas

de actividad metabólica, los pasos de la metodología mencionada se pueden observar en la figura 13.

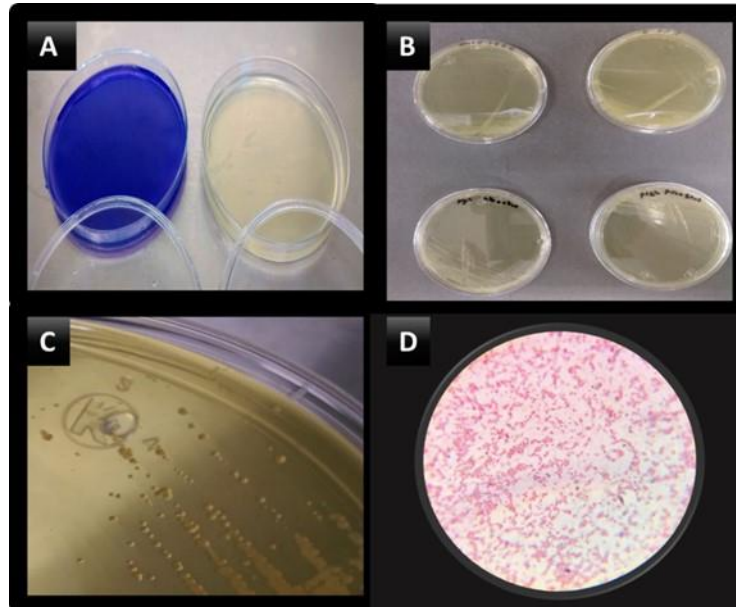


Figura 13. Identificación morfológica de *Brucella* spp. A. Medio BRUCELLABUAP^{MT} con antibióticos, con colorante y sin colorante. B. Purificación de colonias presuntivas C. aislamiento de colonia morfológicamente características. D. Colonias Gram negativas cocobacilares.

8.6 Pruebas de actividad metabólica para bacterias del género *Brucella*.

Los medios utilizados para las pruebas de actividad metabólica (figura 14) fueron: “agar hierro triple azúcar (TSI), agar hierro lisina (LIA), citrato de Simmons, con medio MIO (Movilidad-Indol-Ornitina)” se determinó la movilidad, producción de indol y la actividad enzimática ornitina descarboxilasa. Medio urea de Christensen y medio TSA (Agar de Soya tripticasa) para la producción de H₂S. Se tomó una colonia de *Brucella* spp. y se incubó a 37 °C por 24 h. Adicionalmente se efectuaron las pruebas de oxidasa y catalasa. La prueba de urea de Christensen se monitoreó cada 15 min, 30 min, cada hora, 24 y 48 h.



Figura 14. Pruebas bioquímicas para actividad metabólica.

8.7 Pruebas específicas para el género *Brucella*

Esta prueba consiste en tipificación con colorantes, los cuales se prepararon con medio base BRUCELLABUAP^{MT} y se le añadieron los colorantes tionina (1: 25,000), tionina (1: 50,000), safranina (1: 10,000) y fucsina (1: 50,000), método descrito por Hernández *et al.* (1996). En la tabla 2 se presentan las concentraciones para los colorantes. Se realizaron suspensiones bacterianas en solución salina isotónica (SSI), posteriormente se ajustaron a una densidad óptica de 1.4 a 600 nm. Con la ayuda de un asada de dilución, cuya película blanca fuese apreciable, se trazaron de afuera hacia adentro cinco líneas paralelas en la primera sección de cada placa. Se repitió el proceso, se inoculó el segmento adyacente de cada juego de placas por muestra procurando no tocar las estrías entre sí, la cepa problema se siembra en una sola placa con tres cepas de referencia, como se observa en la figura 15, se incubaron a 35 °C con tensión parcial de CO₂ al 5% y se observó su crecimiento a las 24, 48 y 120 h. Para aquellas colonias que resultaron positivas a las pruebas anteriores se les extrajo el ADN (figura 16) para continuar con el análisis de biología molecular.

Tabla 2. Concentración y volumen de colorantes para la preparación de pruebas de tipificación de bacterias del género *Brucella*

| Colorante | Solución madre | Volumen/ Litro | Concentración final |
|----------------|----------------|----------------|---------------------|
| Fucsina básica | 0.2% | 40 mL | 1/50,000 |
| Tionina | 0.2% | 40 mL | 1/50,000 |
| Tionina | 0.2% | 80 mL | 1/25,000 |
| Safranina | 0.5% | 20 mL | 1/10,000 |

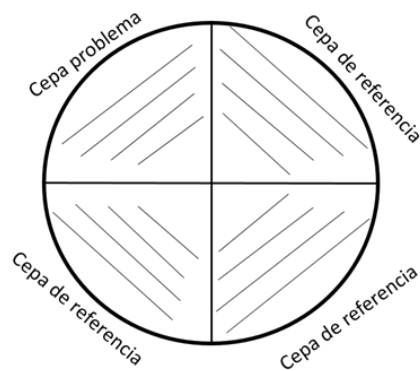


Figura 15. Siembra en medio BRUCELABUAP^{MT} para tipificación

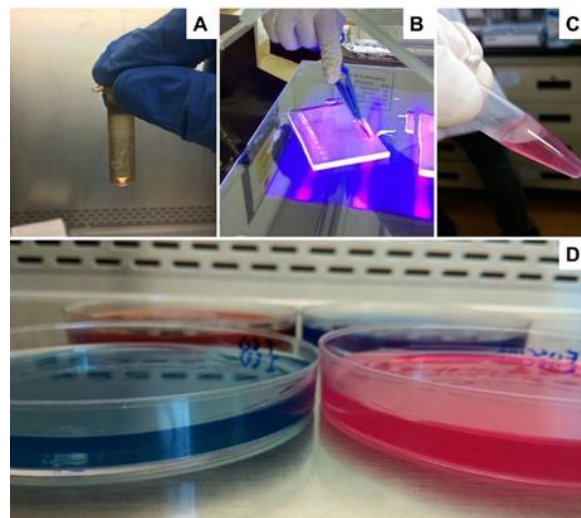


Figura 16. Extracción y purificación de ADN genómico (A -C) y medios con colorantes específicos para la identificación de la especie (D).

8.8 Detección molecular para bacterias del género *Brucella*.

La extracción y purificación del ADN genómico de las colonias que resultaron positivas al género *Brucella* se realizó con el ZymoBIOMICS^{MT} DNA Miniprep Kit, de acuerdo a las indicaciones del proveedor. La integridad del ADN fue verificada mediante electroforesis en gel al 1.5% de agarosa, su concentración fue determinada en un espectrofotómetro NanoDrop 2000, Thermo SCIENTIFIC^{MR}, la pureza se evaluó mediante la relación 260/280 nm >1.8. El ensayo para la diferenciación e identificación de presuntos aislamientos de *Brucella* spp., *B. melitensis* M16 (ATCC 23456) y *B. abortus* 2308 (vacuna ATCC) y *B. suis* biovar 1(cepa 1330) se realizó con GoTaqR Green Master Mix (2x) de PROMEGA (Ref. M7122) 12.5 µL, cebador directo 0.4 µM, cebador inverso 0.4 µM, ADN templado 1.5 µL (250 ng) y se ajustó a un volumen final para cada reacción a 25 µL con agua libre de nucleasas, lo anterior con base en las especificaciones de la marca PROMEGA. La mPCR (reacción en cadena de la polimerasa) se ejecutó en un termociclador MiniPCRTM con las condiciones que se aprecian en la tabla 3; los iniciadores aplicados en este ensayo se presentan en la tabla 4. Los productos de la mPCR fueron analizados en gel de agarosa al 1.3% según las especificaciones del marcador de peso molecular (MPM) 100 bp DNA Ladder marca PROMEGA, donde se utilizaron 5 µL de MPM, 2 µL de búfer de carga Blue/Orange 6x marca PROMEGA y 7 µL de producto de PCR, los productos amplificados fueron observados en un fotodocumentador MultiDoc-ItTM System Imaging System-UVP.

Tabla 3. Ciclo de temperaturas adecuadas para la PCR múltiple

| Pasos | Temperatura (°C) | Tiempo (s) | Ciclos |
|---------------------------|------------------|------------|--------|
| Desnaturalización inicial | 95 | 180 | 1 |
| Desnaturalización | 95 | 60 | 30 |
| Alineación | 50 | 45 | |
| Extensión | 72 | 180 | |
| Extensión final | 72 | 360 | 1 |

Tabla 4. Iniciadores utilizados para identificación de *Brucella* spp.

| Nombre del iniciador | "Secuencia (5'→3')" | Tamaño (pb) | DNA Diana | Referencia |
|----------------------|-------------------------------|-------------|---|---|
| BMEI0998f | "ATC CTA TTG CCC CGA TAA GG" | 1,682 | "Glycosyltransferasa, gen <i>wboA</i> " | "Vemulapalli et al., 1999; García et al., 2005; López et al., 2008" |
| BMEI0997r | "GCT TCG CAT TTT CAC TGT AGC" | | | |
| BMEII0843f | "TTT ACA CAG GCA ATC CAG CA" | 1,071 | "Proteína de la membrana externa, gen <i>omp31</i> " | "Vizcaíno et al., 1997; López et al., 2008" |
| BMEII0844r | "GCG TCC AGT TGT TGT TGA TG" | | | |
| BME774f | "TCG TCG GTG GAC TGG ATC AC" | 774 | "Fragmento de la región <i>twbKf-wbKd</i> " | "López et al., 2008; Zygmunt et al., 2009" |
| BME774r | "ATG GTC CGC AAG GTG CTT TT" | | | |
| BMEII0428f | "GCC GCT ATT ATG TGG ACT GG" | 587 | "Catabolismo del eritriol, gen <i>eryC</i> (D-eritrosa - 1 - fosfato deshidrogenasa)" | "Sangari et al., 1994; López et al., 2008" |
| BMEII0428r | "AAT GAC TTC ACG GTC GTT CG" | | | |
| BMEI0535f | "GCG CAT TCT TCG GTT ATG AA" | 450 | "Antígeno inmunodominante, gene <i>bp26</i> " | "Cloeckart et al., 2000; López et al., 2008" |
| BMEI0536r | "CGC AGG CGA AAA CAG CTA TAA" | | | |
| BR0953f | "GGA ACA CTA CGC CAC CTT GT" | 272 | "Proteína de unión al transportador ABC" | "Paulsen et al., 2002; Hallin et al., 2005" |
| BR0953r | "GAT GGA GCA AAC GCT GAA G" | | | |
| Bru ab2f | "TGA GCG GTG ACA GCC AAG G" | 215 | "Proteína que contiene repetición de cadena beta asociada a autotransportador" | "Alamian et al., 2019" |
| Bru ab2r | "GCC AGA ACC CAG CTT CAG A" | | | |
| BMEII0987f | "CGC AGA CAG TGA CCA TCA AA" | 152 | "Regulador transcripcional, familia CRP" | "Rajashekara et al. 2004; López et al., 2008" |
| BMEII0987r | "GTA TTC AGC CCC CGT TAC CT" | | | |

Todos los iniciadores fueron elaborados por la compañía UNIPARTS

8.9 Aplicación del plan de acción participa a la Cooperativa de Pescadores de San Pedro Lagunillas

Con base en la metodología investigación-acción participativa propuesta por Colmenares (2012). Se aplicaron las siguientes fases: Fase 1, descubrimiento de la temática; Fase 2, construcción del plan de acción por seguir en la investigación; Fase 3, ejecución del plan de acción y la Fase 4, corresponde al cierre de la investigación. La Fase 1 se desarrolló de acuerdo a los antecedentes de la situación de la Brucelosis en el estado, los resultados microbiológicos y fisicoquímicos obtenidos en este estudio. Una vez analizados los resultados y mapas de distribución espacio temporal de CT y CF, se continuo con la Fase 2. La cuál consistió en elaborar una presentación y material de apoyo para impartir una conferencia con la Cooperativa de Pescadores de San Pedro Lagunillas. A la vez se realizaron las gestiones necesarias para llevar a cabo la actividad mencionada. La Fase 3 se desarrolló en el auditorio de la presidencia Municipal de San Pedro Lagunillas. En dónde se abordaron temas de seguridad e higiene en el manejo de tilapia, tema impartido por el Dr. Edgar Iván Jiménez Ruiz, contaminación por coliformes y el tema de zoonosis generado por bacterias del género *Brucella*. Estos últimos impartidos por Lesset del Consuelo Ramos Ramírez. Finalmente, la Fase 4 que corresponde al cierre de la investigación consistió en una reunión con la Cooperativa de pescadores para exponer los resultados de la investigación y recomendar una acción participativa al sector productivo sobre las condiciones de seguridad e higiene en las áreas que resulten afectadas en el procesamiento de la tilapia en el lago San Pedro, enfatizando a *Brucella* spp. como un agente infectocontagioso capaz de propagarse hacia nuevos hospederos y señalando los riesgos que conlleva su aparición.

Una vez concluida la reunión se generó un documento en el que el Presidente de la Cooperativa agradece los resultados y recomendaciones, dejando abierta la posibilidad de continuar colaborando en investigaciones en este ecosistema.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Calidad microbiológica del lago San Pedro, Nayarit.

Los parámetros meteorológicos, microbiológicos de agua superficial y fisicoquímicos monitoreados durante las cuatro estaciones en el lago San Pedro se presentan en la tabla 5. Los resultados mostraron que, durante el verano y otoño la precipitación es mayor, mientras que en los periodos de sequía primavera e invierno, la precipitación es menor. El promedio anual de precipitación estimado en el área de estudio fue de 65.48 mm. Con respecto a la temperatura del agua superficial, esta varió estacionalmente de 18.29 ± 0.26 °C a 27.03 ± 0.46 °C, donde los valores más altos registrados fueron durante el verano y los más bajos en el invierno. El comportamiento para la temperatura del aire fue de 17.50 °C en el otoño y la máxima de 26 °C en el verano. Acerca de la conductividad y salinidad del agua del lago, los valores más altos fueron registrados en primavera y los mínimos en invierno.

Tabla 5. Parámetros meteorológicos, microbiológicos y fisicoquímicos

| | Promedio de valores (\pm desviación estándar) | | | | | | |
|-----------|--|----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------|---------------------|
| | CT MPN/100 mL | CF MPN/100 mL | Temperatura agua (°C) | Precipitación acumulada (mm) | Temperatura aire (°C) | σ (μ S/cm) | Salinidad (ppt) |
| Primavera | 87.18 (± 68.71) | 31.72 (± 18.07) | 24.73 (± 0.55) | 0.0 | 22.30 ($\pm 7.35E^{-15}$) | 374.44 (± 0.69) | 0.18 (± 0) |
| Verano | 220.45 (± 156.03) | 112.27 (± 110.45) | 27.03 (± 0.46) | 11.80 (± 0) | 26.00 ($\pm 1.83E^{-15}$) | 327.44 (± 0.97) | 0.16 (± 0) |
| Otoño | 420.04 (± 197.39) | 130.91 (± 132.72) | 20.04 (± 0.22) | 22.30 ($\pm 7.35E^{-15}$) | 17.50 (± 0) | 319.64 (± 0.27) | 0.15 (± 0) |
| Invierno | 113.31 (± 47.52) | 55.71 (± 36.23) | 18.29 (± 0.26) | 0.0 | 18.75 (± 0) | 308.22 (± 0.94) | 0.15 (± 0) |

Con respecto a la salinidad, se registraron valores mínimos de 0.15 ppt durante el invierno y los máximos durante el verano de 0.18 ppt. Los bajos niveles de salinidad observados durante el periodo de muestreo son característico del ecosistema, el cual

es de agua dulce. El análisis microbiológico de CT en agua superficial varió de un mínimo de 87.18 MPN/100 mL en el verano a un máximo de 420.04 MPN/100 mL en el otoño. Los resultados de CF fueron de comportamiento similar a los de CT, donde el valor mínimo fue de 31.72 MPN/100 mL en primavera y el máximo de 130.91 MPN/100 mL en otoño. Durante la primavera y el invierno, los valores de los CF de la superficie del agua fueron menor a 100 NMP/ 100 mL, por lo tanto, se clasifica como no contaminada y de excelente calidad, de acuerdo a lo establecido por CONAGUA (Comisión Nacional del Agua, 2016), como se presenta en la tabla 6. Durante el verano y el otoño los valores fueron de 112.27 y 130 NMP/ 100 mL, respectivamente, y se ajustan a la clasificación de agua de buena calidad con calidad satisfactoria para la vida acuática y para uso recreativo con contacto primario.

Tabla 6. Escala de clasificación de calidad de agua superficial con base en CF. CONAGUA, 2016

| Criterio (NMP/100 ml) | Clasificación | Color |
|--------------------------|---|-----------------|
| CF ≤ 100 | EXCELENTE No CONTAMINADA | AZUL |
| 100 < CF ≤ 200 | BUENA CALIDAD AGUAS SUPERFICIALES CON CALIDAD SATISFACTORIA PARA LA VIDA ACUÁTICA Y PARA USO RECREATIVO CON CONTACTO PRIMARIO | VERDE |
| 200 < CF ≤ 1,000 | ACEPTABLE AGUAS SUPERFICIALES CON CALIDAD SATISFACTORIA COMO FUENTE DE ABASTECIMIENTO DE AGUA POTABLE Y PARA RIEGO AGRÍCOLA | AMARILLO |
| 1,000 < CF ≤ 10,000 | CONTAMINADA AGUAS SUPERFICIALES CON CONTAMINACIÓN BACTERIOLÓGICA | NARANJA |
| CF > 10,000 | FUERTEMENTE CONTAMINADA AGUAS SUPERFICIALES CON FUERTE CONTAMINACIÓN BACTERIOLÓGICA | ROJO |

Respecto a lo establecido por la EPA, los resultados para CF y CT fueron menores a los del límite máximo permisible (≤1000 MPN/100 mL) para agua superficial. En la figura 17 y 18, se presentan la distribución espacio temporal de los diferentes puntos de muestro durante el periodo estacional 2016-2017.

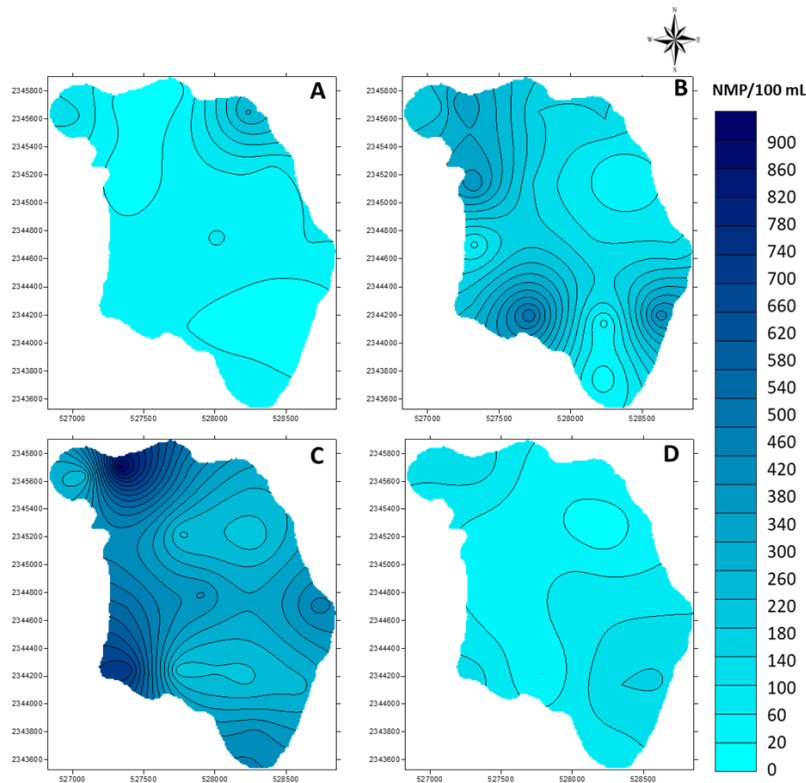


Figura 17. Distribución espacio temporal de CT en el lago San Pedro durante el periodo estacional 2016 - 2017, donde A, B, C y D corresponde a primavera, verano, otoño e invierno respectivamente. La carga bacteria de CT para agua superficial por sitio de muestreo fue de 28 a 920 NMP/100 mL

En la figura 17 se puede observar que en el centro del lago la carga bacteriana de los CT es menor y varia de 20 a 180 NMP/100 mL. Al contrario de lo que se presenta en ciertos puntos de la periferia del lago, la cual durante el otoño y el verano presenta altas cuentas CT, los cuales van desde 730 a 920 NMP/100 mL durante el otoño y de 413 a 540 MPN/100 mL durante el verano. Además, los puntos de muestreo cerca del arroyo que desemboca en el lago muestran valores CT similares de 445 MPN/100 mL en otoño y 413.33 NMP/100 mL en verano. Otro sitio importante donde se obtuvieron valores superiores a 200 MPN/100 mL fue el área circundante de un restaurante y el lugar donde los pescadores mantienen sus embarcaciones; con una carga bacteriana de 920 MPN / 100 mL para el otoño y 376.6 MPN/100 mL para el verano. Finalmente,

uno de los lugares más cercanos a la planta geotérmica Compostela-Chapalilla y al camino, donde se observó que el ganado pastaba y entraba al lago, mostró valores de 730 durante el otoño y 260 durante el verano de MPN/100 mL. Por otro lado, con respecto a los CF Según CONAGUA, el límite máximo permitido para aguas superficiales es de 1000 MPN/100 mL, el agua con valores mayores a los establecido es considera como agua superficial con contaminación bacteriológica (Comisión Nacional del Agua, 2016). En la figura 18 se muestran los valores de CF del lago San Pedro y estos valores no exceden el límite máximo permitido.

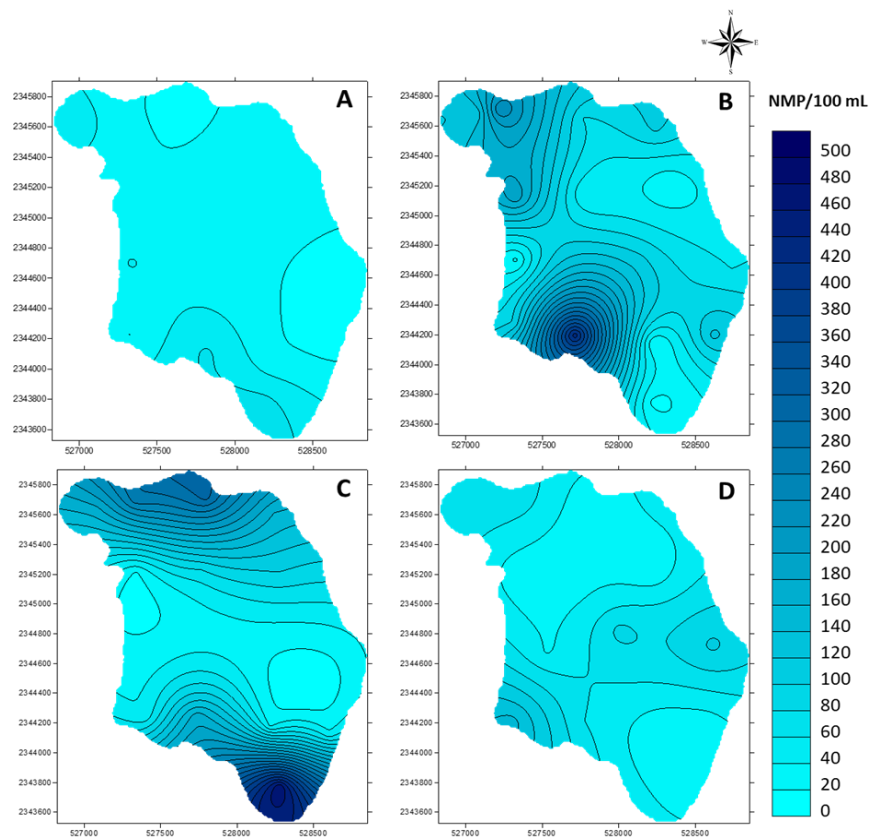


Figura 18. Distribución espacio temporal de coliformes fecales en el lago San Pedro durante el periodo estacional 2016 - 2017, donde A, B, C y D corresponden a primavera, verano, otoño e invierno respectivamente. La cuenta microbiana por CF para agua superficial por sitio de muestreo fue de 9 a 476.6 NMP/100 mL

Los resultados demostraron los mayores valores de coliformes en periodos de lluvia. Lo cual coincide con reportes de otras investigaciones en ecosistemas de cuerpos de

agua dulce (Hamilton y Luffman, 2009; Islam *et al.*, 2017). Durante el verano se registró una precipitación acumulada de 11.80 mm y en otoño de 22.30 mm. Ha sido reportado que la lluvia es un factor que influye en la permanencia y sobrevivencia de CT y CF (González *et al.*, 2010). Los CT y los CF tuvieron una mayor presencia durante la temporada de lluvias que en las sequías. Además, en la temporada de lluvias, los sitios cercanos al arroyo mostraron valores de 240 MPN/100 mL para el verano y 270 MPN/100 mL para el otoño. Los valores más altos registrados fueron sitios adyacentes a la carretera Compostela-Chapalilla y la planta geotérmica, los resultados fueron 476.6 MPN / 100 mL durante el otoño y 433.33 MPN/100 mL para el verano. No obstante, con estos valores aún se clasifican como aguas superficiales aceptables para el consumo agrícola y humano. Con respecto a los menores valores registrados de CF, se determinaron en sitios cerca del centro del lago durante todo el período estacional, con un valor mínimo de 15.5 NMP/100 mL para el verano y un máximo valor de 41 NMP/100 mL durante la primavera.

Las actividades ganaderas como el pastoreo que se desarrollan alrededor de los cuerpos de agua pueden afectar su calidad a escala local y paisajística (Belsky *et al.*, 1999; Hennani *et al.*, 2012). Existen reportes en el que los animales domésticos en una cuenca endorreica pueden causar altos niveles de CF y han sido la fuente más importante en comparación con los residuos antropogénicos (Belsky *et al.*, 1999; Hennani *et al.*, 2012). La contaminación por CF en el lago San Pedro podría atribuirse a contaminación antropogénica y animal, este último derivado de la cría y el pastoreo de ganado que se lleva a cabo en la periferia y ribera del lago. Además, el arroyo San Pedro fluye cerca de corrales de cría de ganado y áreas urbanas antes de desembocar al lago San Pedro. debido a esto, los contaminantes como la materia fecal del ganado y de humanos pueden ingresar por arrastres y escorrentías en las aguas superficiales y tener efectos perjudiciales sobre la calidad del agua.

9.2 Calidad microbiológica en peces

La cuenta microbiológica de CT y CF se presenta en la tabla 7, donde la mayor densidad de CT en piel de pez tilapia se registró en primavera con 42.74 MPN / g, mientras que el otoño se registró la más baja con 1.46 MPN / g. Con respecto a los CF en este mismo tejido, el valor promedio más alto fue 1.66 MPN / g en invierno y el valor más bajo de 0.20 MPN / g en otoño. Por otro lado, las muestras recolectadas de las branquias durante el verano presentaron la mayor carga bacteriana de CT y CF, que fueron 13.84 MPN / g y 4.12 MPN / g, respectivamente. Según la NOM-242-SSA1-2009, solo los CF se consideran indicadores sanitarios y el límite máximo permitido es 400 MPN / g. Con base en la norma anterior, la tilapia del lago San Pedro es adecuada para “la captura, extracción, procesamiento, conservación, almacenamiento, distribución, transporte, venta o importación de productos pesqueros”.

Tabla 7. Coliformes totales y fecales en piel y branquias de peces tilapia

| Valores promedio (\pm desviación estándar) | | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|
| Periodo estacional | CT en branquias MPN/g | CF en branquias MPN/g | CT en piel MPN/g | CF en piel MPN/g |
| Primavera | 0.4 (\pm 0.31) | 0.4 (\pm 0.31) | 42.74 (\pm 67.64) | 0.38 (\pm 0.40) |
| Verano | 13.84 (\pm 22.53) | 4.12 (\pm 7.24) | 10.18 (\pm 7.64) | 0.96 (\pm 0.76) |
| Otoño | 2.68 (\pm 0.94) | 1.30 (\pm 0.77) | 1.46 (\pm 1.92) | 0.20 (\pm 0) |
| Invierno | 4.90 (\pm 3.50) | 3.50 (\pm 2.62) | 3.52 (\pm 4.35) | 1.66 (\pm 1.22) |

En cuanto al resultado de la presencia de CT y CF en la tilapia tanto en piel como en las branquias, que se presentaron por debajo de los límites establecidos, podría explicarse inmunológicamente, dado que la piel del pez constituye la primera línea defensiva contra los patógenos, así como las membranas mucosas que alinean las branquias. Además, esto se correlaciona con la baja cuenta de CT y CF del lago San Pedro, que es la primera fuente de contaminación.

Otro factor importante que determina la supervivencia de los microorganismos en el agua superficial es la temperatura (Pachepsky *et al.*, 2014). Las bacterias mesofílicas crecen favorablemente entre 20 y 45 °C, con un intervalo óptimo de temperatura de crecimiento de 30-40 °C (Jay *et al.*, 2000). Se ha establecido una relación directa entre los CF y la temperatura del agua (Chigbu *et al.*, 2005), sin embargo, en este estudio, no se encontró dicha relación con ninguno de los análisis microbiológicos (CT y CF), a pesar de que la temperatura del agua del lago San Pedro fue cercana a la óptima para muchas bacterias mesofílicas en el sistema natural.

9.3 Análisis estadístico de variables microbiológicas y fisicoquímicas

Se utilizó un análisis de correlación (r) de Pearson para determinar las relaciones entre los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos, con el fin de analizar la influencia de las condiciones abióticas en los recuentos microbianos. En las tablas 8 y 9 se presentan los análisis estadísticos por “matriz de correlación de Pearson” de los resultados obtenidos. Los valores de la temperatura del aire y la temperatura del agua superficial se correlacionaron mínimamente con la carga microbiana. Sin embargo, se observó una influencia positiva con una correlación fuerte y moderada entre la lluvia con CT ($r = 0.70$, $p < 0.05$) y CF ($r = 0.40$, $p < 0.05$), respectivamente. Además, se registró una correlación positiva y significativa para la temperatura del agua con la temperatura del aire ($r = 0.93$, $p < 0.05$), lo que indica una estrecha relación entre estas dos variables. La relación entre la salinidad y la conductividad también fue fuerte y positiva ($r = 0.99$, $p < 0.05$). Del mismo modo, la temperatura del aire tiene una correlación positiva y fuerte con la conductividad y la salinidad ($r = 0.85$, $p < 0.05$). Por otro lado, la relación entre la temperatura del agua con la conductividad específica y la salinidad tiene una correlación positiva y moderada ($r = 0.57$). Asimismo, la correlación entre CT y CF también fue moderada y positiva ($r = 0.55$, $p < 0.05$).

Tabla 8. Matriz de correlación entre parámetros microbiológicos, meteorológicos y fisicoquímicos del agua superficial

| | | CT en agua | CF en agua | Conductividad específica | Salinidad | T °C en agua | Precipitación | T °C ambiente |
|--------------------------|----------------------------|------------|------------|--------------------------|-----------|--------------|---------------|---------------|
| CT en agua | Correlación de Pearson (r) | 1 | .559** | -.299* | -.299* | -.128 | .704** | -.257* |
| | P – valor | | .000 | .020 | .020 | .330 | .000 | .047 |
| | N | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| CF en agua | Correlación de Pearson (r) | .559** | 1 | -.233 | -.231 | .019 | .405** | -.021 |
| | P – valor | .000 | | .073 | .076 | .885 | .001 | .873 |
| | N | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| Conductividad específica | Correlación de Pearson (r) | -.299* | -.233 | 1 | .998** | .577** | -.363** | .390** |
| | P – valor | .020 | .073 | | .000 | .000 | .004 | .002 |
| | N | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| Salinidad | Correlación de Pearson (r) | -.299* | -.231 | .998** | 1 | .584** | -.356** | .395** |
| | P – valor | .020 | .076 | .000 | | .000 | .005 | .002 |
| | N | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| T °C en agua | Correlación de Pearson (r) | -.128 | .019 | .577** | .584** | 1 | -.011 | .932** |
| | P – valor | .330 | .885 | .000 | .000 | | .935 | .000 |
| | N | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| Precipitación | Correlación de Pearson (r) | .704** | .405** | -.363** | -.356** | -.011 | 1 | -.193 |
| | P – valor | .000 | .001 | .004 | .005 | .935 | | .140 |
| | N | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| T °C ambiente | Correlación de Pearson (r) | -.257* | -.021 | .390** | .395** | .932** | -.193 | 1 |
| | P – valor | .047 | .873 | .002 | .002 | .000 | .140 | |
| | N | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |

Tabla 9. Matriz de correlación entre parámetros microbiológicos, meteorológicos y fisicoquímicos de piel y branquias de peces.

| | | CT en branquia | CF en branquia | CT en piel | CF en piel | T °C en agua | T °C en el ambiente | Salinidad | Conductividad | Precipitación |
|---------------------|----------------------------|----------------|----------------|------------|------------|--------------|---------------------|-----------|---------------|---------------|
| CT en branquia | Correlación de Pearson (r) | 1 | .949** | -0.122 | 0.159 | 0.171 | 0.306 | -0.189 | -0.193 | 0.087 |
| | P – valor | | 0 | 0.608 | 0.504 | 0.472 | 0.189 | 0.424 | 0.416 | 0.714 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| CF en branquia | Correlación de Pearson (r) | .949** | 1 | -0.119 | 0.329 | -0.029 | 0.148 | -0.297 | -0.296 | -0.013 |
| | P – valor | 0 | | 0.619 | 0.157 | 0.904 | 0.534 | 0.204 | 0.205 | 0.956 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| CT en piel | Correlación de Pearson (r) | -0.122 | -0.119 | 1 | 0.085 | 0.246 | 0.186 | .446* | .469* | -0.264 |
| | P – valor | 0.608 | 0.619 | | 0.721 | 0.295 | 0.434 | 0.049 | 0.037 | 0.261 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| CF en piel | Correlación de Pearson (r) | 0.159 | 0.329 | 0.085 | 1 | -0.179 | 0.036 | -0.382 | -0.373 | -0.352 |
| | P – valor | 0.504 | 0.157 | 0.721 | | 0.451 | 0.88 | 0.097 | 0.105 | 0.128 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| T °C en agua | Correlación de Pearson (r) | 0.171 | -0.029 | 0.246 | -0.179 | 1 | .933** | .554* | .547* | 0.02 |
| | P – valor | 0.472 | 0.904 | 0.295 | 0.451 | | 0 | 0.011 | 0.012 | 0.933 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| T °C en el ambiente | Correlación de Pearson (r) | 0.306 | 0.148 | 0.186 | 0.036 | .933** | 1 | 0.399 | 0.392 | -0.193 |
| | P – valor | 0.189 | 0.534 | 0.434 | 0.88 | 0 | | 0.081 | 0.087 | 0.416 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Salinidad | Correlación de Pearson (r) | -0.189 | -0.297 | .446* | -0.382 | .554* | 0.399 | 1 | .997** | -0.35 |
| | P – valor | 0.424 | 0.204 | 0.049 | 0.097 | 0.011 | 0.081 | | 0 | 0.13 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Conductividad | Correlación de Pearson (r) | -0.193 | -0.296 | .469* | -0.373 | .547* | 0.392 | .997** | 1 | -0.359 |
| | P – valor | 0.416 | 0.205 | 0.037 | 0.105 | 0.012 | 0.087 | 0 | | 0.12 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Precipitación | Correlación de Pearson (r) | 0.087 | -0.013 | -0.264 | -0.352 | 0.02 | -0.193 | -0.35 | -0.359 | 1 |
| | P – valor | 0.714 | 0.956 | 0.261 | 0.128 | 0.933 | 0.416 | 0.13 | 0.12 | |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |

** “La correlación de Pearson (r) fue significativa con un valor p menor a 0.01”

* “La correlación de Pearson (r) fue significativa con un valor p menor a 0.05”

Los resultados de CT y CF por temporada se presentaron y compararon a través de diagramas de caja y pruebas de Kruskal-Wallis. Los niveles de CT y CF desde el otoño fueron significativamente diferentes de la primavera y el invierno (figura 19A y 19B), de acuerdo con una prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0.01$). Los gráficos presentados en las figuras 19B y 19C muestran que durante la temporada de lluvias (verano y otoño) la carga microbiológica de CT y CF del agua superficial aumenta, pero no en períodos de sequía (primavera e invierno) ($p < 0.05$).

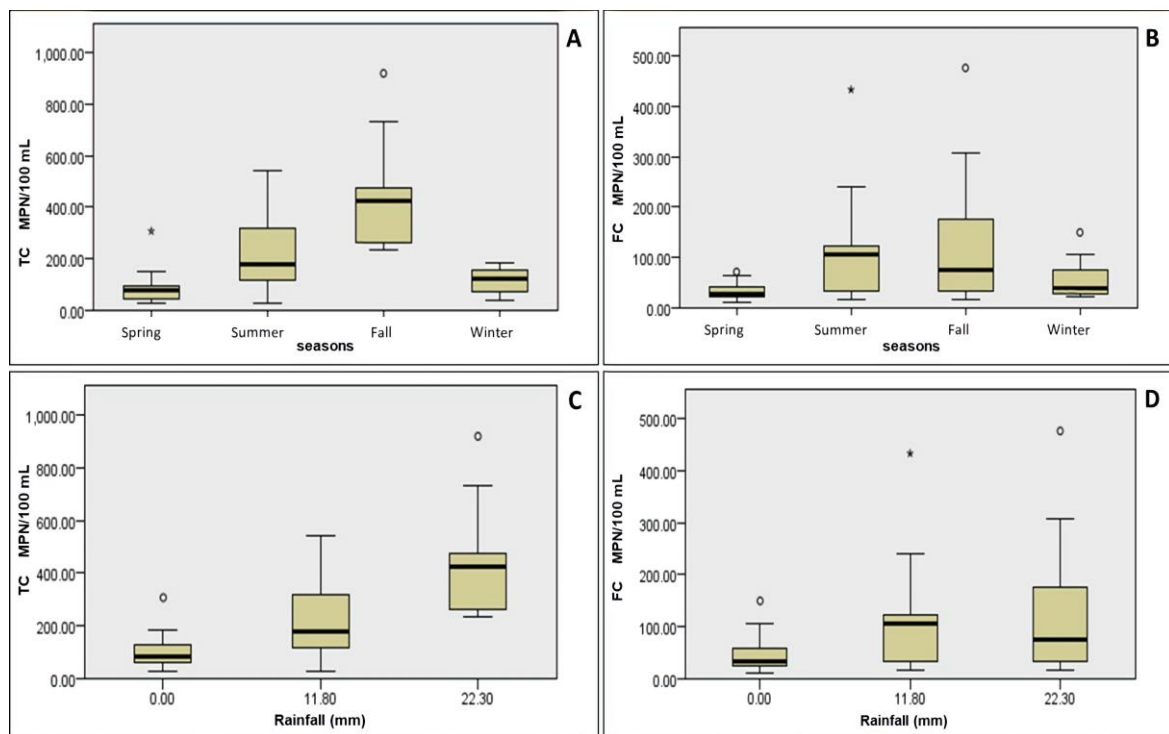


Figura 19. Gráficos de cajas y bigotes que muestran que existen diferencias entre CT y CF con períodos estacionales y precipitaciones. Las estaciones lluviosas influyen en el aumento de la carga bacteriana tanto para CT (A) como para CF (B). La lluvia está positivamente relacionada con la carga bacteriana para CT (C) y CF (D).

9.4 Identificación de bacterias del género *Brucella* en agua y peces tilapia del lago San Pedro

Se logró aislar e identificar 3 colonias de *Brucella* spp. en agua 1 colonia en verano y en tilapia, 2 colonias durante el otoño. Sin embargo, las muestras analizadas durante primavera e invierno fueron negativas. Por los resultados obtenidos se considera que probablemente por los meses de verano y otoño que son épocas de lluvias, mientras que en primavera e invierno prevalece la época de secas, aunado a que hay investigaciones que indican “mayor cantidad de materia orgánica y nutrientes disueltos en el agua en la época de lluvia” (Crawford *et al.*, 1990) que podrían servir de nutrientes para *Brucella* spp., sin embargo, deberá de investigarse más adelante.

Las colonias de *Brucella* spp. se aislaron de agua superficial y piel de pez. Posteriormente, estas colonias se identificaron mediante tinción de Gram, pruebas de actividad metabólica y crecimiento en colorantes. Los resultados de las capacidades bioquímicas con las cepas de referencia y los aislados de *Brucella* se presentan en la tabla 10 y la tipificación por colorantes se muestra en la tabla 11. Las presuntas colonias de *Brucella* aisladas en el agar BRUCELLABUAP™ por capacidades bioquímicas muestran el perfil bioquímico del género *Brucella*. Sin embargo, fue hasta que se realizaron las pruebas de biología molecular cuando los resultados demostraron que en piel de pez existían dos especies distintas de bacterias del género *Brucella*.

Tabla 10. Capacidades bioquímicas para *Brucella* spp., *Brucella melitensis* M16 (ATCC 23456) y *Brucella abortus* 2308

| Capacidades bioquímicas | <i>B. abortus</i> (2308) | <i>B. melitensis</i> (M16) | <i>B. spp.</i> de piel de tilapia | <i>B. suis</i> | <i>B. spp.</i> de agua superficial |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------------|-------------------|------------------------------------|
| Prueba de Gram | Gram – negativa | Gram – negativa | Gram – negativa | Gram – negativa | Gram – negativa |
| Morfología | cocobacilar | cocobacilar | cocobacilar | cocobacilar | cocobacilar |
| CO ₂ | positivo | crecimiento lento | crecimiento lento | crecimiento lento | positivo |
| SCM | - | - | - | - | - |
| TSI | - | - | - | - | - |
| RM | - | - | - | - | - |
| VP | - | - | - | - | - |
| LIA | - | - | - | - | - |
| Christensen Urea | ++ | + | ++ | +++ | ++ |
| Mobilidad | - | - | - | - | - |
| Indol | - | - | - | - | - |
| Ornitina | - | - | - | - | - |
| Catalasa | + | + | + | + | + |
| Oxidasa | + | + | + | + | + |

Tabla 11. Tipificación por sensibilidad a colorantes para bacterias del género *Brucella*

| Colorantes | <i>B. abortus</i> (2308) | <i>B. melitensis</i> (M16) | <i>Brucella spp.</i> de piel de pez | <i>Brucella spp.</i> de agua superficial | <i>Brucella suis</i> |
|----------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------------------|--|----------------------|
| Tionina (1:50,000) | - | + | + | - | + |
| Tionina (1: 25,000) | - | + | + | - | + |
| Fuscina (1:50,000) | + | + | + | + | - |
| Safranina (1:10,000) | + | + | + | + | - |

Se ha reportado que el perfil de PCR de *B. abortus* se distingue del resto de los perfiles por la ausencia de los fragmentos de 1071 y 272 pb (García *et al.*, 2006). Para la “PCR múltiple Bruce-ladder v2.0” (López *et al.*, 2011) de las colonias aisladas se utilizó una cepa de referencia *B. abortus* 2308 y *B. melitensis* M16 como control positivo. Para

confirmar estos resultados, utilizamos cebadores específicos que amplificaron un fragmento de 215 pb con cebadores Bru ab2, que son específicos de las especies de *B. abortus* (Alamian *et al.*, 2019). Por otro lado, la muestra de piel de tilapia capturada en otoño mostró presuntas colonias de *Brucella* spp., que luego se confirmó correspondían a *B. suis* y *B. abortus*. La PCR con el ADN del aislado primario amplificó todos los fragmentos mediante la “PCR multiplex Bruce-ladder v2.0”. Sin embargo, el perfil de PCR no correspondía con ninguna de las especies de *Brucella* reportada por García *et al.* (2006), debido a que el ADN del aislado primario era una mezcla de ambas especies identificadas más tarde. Por lo tanto, se seleccionaron colonias individuales y se estriaron en nuevo agar BRUCELLABUAP^{MT} para aislar y repetir la PCR multiple Bruce-ladder v2.0 (López *et al.*, 2011). El perfil de PCR de las colonias aisladas mostró colonias con un perfil específico de *B. abortus* y *B. suis*, respectivamente, el cual se presenta en la figura 20.

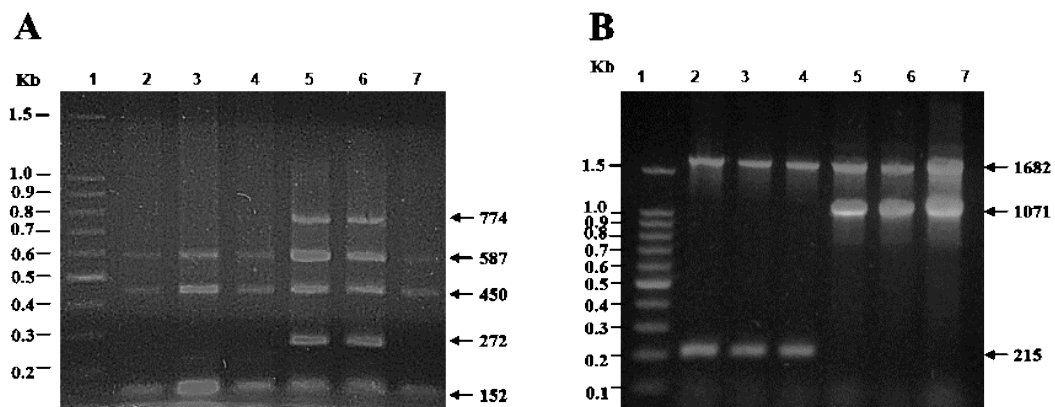


Figura 20. Gel de agarosa PCR multiplex Bruce-ladder V2.0 utilizada para confirmar las especies *Brucella* aisladas. A) Perfil de PCR que muestra fragmentos de 152, 272, 450, 587 y 774 pb. Carril 1; marcador de peso molecular 100 pb, carril 2; perfil de PCR del aislado de *Brucella* del agua superficial, carril 3; aislado de *Brucella* de piel de pez, carril 4; perfil de PCR *B. abortus* 2308, carriles 5; perfil de PCR aislado de *Brucella* de piel de pez, carril 6; *Brucella suis* 1330 y carril 7; *B. melitensis* M16. B) Perfil de PCR que muestra fragmentos de 215, 1071 y 1682 pb. Las bandas de 1682 y 1071 pb se resolvieron débilmente en la PCR del panel A), por lo tanto, se amplificaron en una PCR separada con un fragmento de 215 pb, que es específico de *B. abortus*. Carril 1; marcador de peso molecular 100 pb, carril 2; perfil de PCR del aislado de *Brucella* del agua superficial, carril 3; aislado de *Brucella* de piel de pez, carril 4; perfil de PCR *B. abortus* 2308, carriles 5; perfil de PCR aislado de *Brucella* de piel de pez, carril 6; *Brucella suis* 1330 y carril 7; *B. melitensis* M16.

Una muestra de agua superficial aislada en verano fue positiva para *B. abortus* según lo confirmado por la PCR multiplex Bruce-ladder v2.0 (López *et al.*, 2011), como se presentó en la figura 20. Para las colonias aisladas de piel de pez, en otoño, el producto de PCR mostró colonias con un perfil específico de *B. abortus* y *B. suis*. Según lo reportado, este es el primer informe de dos especies de *Brucella* aisladas de la piel de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y solo existe una investigación donde especies de *B. melitensis* se aislaron de la piel, el bazo, el hígado y el riñón del bagre del Nilo (*Malopterus electricus*) (El-Tras *et al.*, 2010) En ese estudio realizado con bagre, se sugirió que este había sido infectado naturalmente por materiales contaminados de rumiantes infectados que alcanzan los canales de agua y el contacto directo con el pez, lo que también puede ser una fuente de brucelosis humana (El-Tras *et al.*, 2010). En comparación con el lago San Pedro, las actividades que se realizan son la pesca de tilapia, el pastoreo de ganado y la agricultura alrededor del lago Se ha reportado que *Brucella* spp. puede sobrevivir en el agua del grifo durante 10 días a 25 °C o 57 días a 8 °C y pH 6.5, pero en presencia de materia orgánica como orina y heces de ganado, tierra e incluso agua del lago a 25 °C, puede sobrevivir por más de 2 años (Chichon *et al.*, 2003). En el caso del lago cráter de este estudio, la temperatura promedio del agua en verano y otoño fue de 27.03 ± 0.46 °C y 20.04 ± 0.22 °C, respectivamente, por lo que se considera adecuada para permitir a *Brucella* sobrevivir y lograr aislarse en las muestras de estudio. Sin embargo, no hay trabajos sobre las especies de *Brucella* que sobrevivan en la piel de los peces y podrían ser una fuente de infección para los humanos. Las cepas aisladas probablemente provenían de mamíferos terrestres, como cerdos infectados con *Brucella suis* de ganado doméstico y granjas porcinas, como las que rodean el lago (figura 21) y ganado infectado con *Brucella abortus*, esta última derivada de la cría y pastoreo de ganado que tiene lugar en la periferia y en la orilla del lago (figura 21B y 21C).

Es importante mencionar que cuando se realizó el muestreo fue posible observar que algunos bovinos ingresaron al lago (figura 21A) y dada la temperatura del agua, la

materia orgánica presente en el mismo y la lluvia que transporta desechos animales de pastizales y entornos urbanos, pudieron ser la fuente de contaminación. Además, como ya se mencionó, el arroyo San Pedro fluye cerca de corrales de cría de ganado y áreas urbanas antes de desembocar al lago, los contaminantes como la materia fecal del ganado doméstico y humano pueden lavarse de manera relativamente fácil y rápida en las aguas superficiales y contaminar el lago cráter y los peces que viven allí.

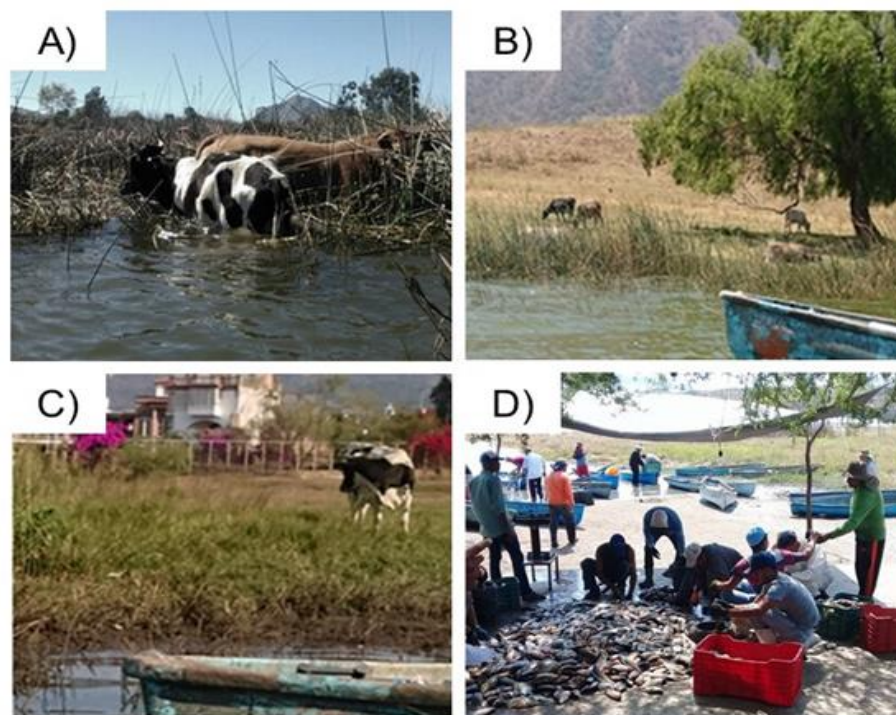


Figura 21. Actividades de ganadería y pesca en San Pedro Lagunillas. A) Ganado vacuno dentro del lago san pedro en el verano. B) y C) crianza de ganado vacuno a la ribera de lago san pedro. D) colecta de tilapia para su distribución local y nacional.

El lago San Pedro es una cuenca endorreica receptora de esorrentías que arrastran desechos de su alrededor, en parte por la presencia de ganado bovino común en la región y residuos agrícolas, entre otros. Aunque la Secretaría de Salud reporta que la región ha disminuido en la incidencia de brucelosis, Nayarit aún no está libre de esta zoonosis (SENASICA, 2020). Cabe señalar que, en países en vías de desarrollo, los informes oficiales comúnmente subestiman la incidencia real de la enfermedad (OIE,

2018), a pesar de que en los últimos años reportes de diferentes partes del mundo demuestran que continúan descubriéndose nuevas especies de *Brucella* en animales silvestres, tanto mamíferos, anfibios, y hasta en algunos peces. De hecho, hasta hace poco se desconocía que estas especies pudiesen ser susceptibles por este género bacteriano, por lo que se continúa explorando su papel como portadores o nuevos hospederos de estos agentes patógenos (Eisenberg *et al.*, 2017; Dahouk *et al.*, 2017; Whatmore *et al.*, 2014).

9.5. Resultados de la acción participativa al sector productivo

La Cooperativa recibió las recomendaciones emergidas de los resultados de este proyecto. El presidente de esta organización y SEMARNAT (Anexo 1) permitieron mediante un documento inicial la evaluación del grado de contaminación del agua del lago y peces. En la reunión organizada por la Universidad de Nayarit, BUAP y Sector productivo se gestó un nuevo documento que indica el cierre del proyecto y la apertura de una colaboración continua (Anexo 2).

Las fases de una investigación-acción participativa se cumplieron en su totalidad, y los beneficios fueron recibidos para las medidas preventivas que se sugieren para su aplicación por la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera pescadores de San Pedro Lagunillas R. L de C.V. Dado que un medio para promover la integridad de la naturaleza con la sociedad es a través de un enfoque de servicios ecosistémicos, el cual se centra en los beneficios que las personas obtienen de los ecosistemas incluyendo la salud (Ford *et al.*, 2015). Es por ello que realizaron pláticas con la sociedad cooperativa de pescadores y sus familias para dar a conocer la importancia sobre el ecosistema, sus características, la adecuada manipulación del producto de la pesca, además de mencionar la propagación de *Brucella* spp. hacia nuevos hospederos y los riesgos que conlleva su aparición. Dado que el estilo de vida es un vínculo entre la salud pública y sostenibilidad del medio ambiente (OMS, 2016) y aunque existe el reconocimiento por parte de la “Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)”, la cual otorgó el reconocimiento

de Fase de Erradicación al estado de Nayarit, en el marco de la Campaña Nacional contra la Brucelosis, junto con el “Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)” que constató que los productores cumplieron las disposiciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995 “Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales” (SENASICA, 2015) y entre los municipios favorecidos se encuentra San Pedro Lagunillas. SAGARPA reporta en el “Programa Sanitario 2015 – 2018” que la frecuencia de Brucelosis en bovinos fue del 2.53% y de 0.00% tanto en caprinos como en ovinos (SENASICA, 2016), existen antecedentes de una investigación realizada en San Pedro durante el 2006, donde de 464 animales bovinos muestreados el 0.216%, resultó positivo a Brucelosis (Isiordia, 2006) aun así se hizo hincapié en el manejo adecuado de los productos de ganado bovino, la contaminación en los productos de la pesca y la calidad del agua. La plática se realizó en las instalaciones de la presidencia municipal de San Pedro Lagunillas (figura 22) y la respuesta fue favorable, debido a que estuvieron interesados, participativos y abiertos a colaborar con la universidad (UAN-BUAP) para realizar más investigaciones que favorezcan las condiciones del lago. Es importante la participación de la sociedad cooperativa de los pescadores y sus familias. De acuerdo a Chinchilla (2013), es un derecho de los pueblos y de solidaridad, la participación en la búsqueda de soluciones ante una problemática ambiental y no “sólo por parte del estado, sino también de otros actores sociales que tienen intereses en la misma materia y que incluso tienen posiciones” y propuestas distintas con el mismo.



Figura 22. Reunión con el sector productivo de tilapia y responsable del proyecto tilapia-*Brucella*. Recomendaciones sobre las condiciones de seguridad e higiene en el área de captura y procesamiento de tilapia en el lago San Pedro y *Brucella* su propagación hacia nuevos hospederos y los riesgos que conlleva su aparición

La vinculación de este proyecto de investigación con el sector productivo de tilapia, se llevó a cabo mediante dos reuniones. Una de forma informal llevada a cabo en el área de trabajo y una segunda en un auditorio, en donde se presentaron los resultados y se agradeció por las facilidades otorgadas. Dentro de las conclusiones que se les informó fueron:

1. Los microorganismos indicadores CT y CF estuvieron en niveles permisibles y la calidad del agua de la laguna fue de buena calidad con base en lo establecido en CONAGUA.
2. El uso de lanchas sin motor ha permitido conservar el ecosistema
3. El respeto de los periodos de veda y las campañas de limpieza que realizan favorecieron la calidad del agua.

10. CONCLUSIONES

El lago San Pedro mostró una calidad satisfactoria para la vida acuática de acuerdo con los criterios establecidos por CONAGUA. Aunque hubo cierta variabilidad en la calidad del agua y la presencia de FC y TC en los peces durante el ciclo estacional, las densidades de TC y FC fueron típicamente más altas durante la época de lluvias en comparación con las secas. La densidad de TC fue mayor que la de FC en la piel y las branquias de la tilapia (*O. niloticus*), y la densidad de FC en las branquias fue mayor que en la piel. La calidad sanitaria de peces del lago durante las cuatro estaciones del año cumplió con las normas y fue apta para crianza y consumo. Sin embargo, se demostró la presencia de bacterias del género *Brucella* como contaminante en el agua del lago San Pedro y piel de pez en la época de lluvias. La comparación de la homología del material genético extraído de agua y tilapia cultivada en el lago de San Pedro correspondió al género *Brucella* y especie *abortus* y *suis*. La metodología empleada y el medio BrucellaBUAP^{MT}, para el aislamiento e identificación de *Brucella* en cuerpos de agua, resultó favorable.

Se puede concluir que la investigación de acción participativa realizada en este proyecto fue importante para la apertura de oportunidades de investigación con la Cooperativa de los pescadores, debido al cumplimiento de compromisos y la exposición del problema ambiental que las bacterias del género *Brucella* puede generar en el lago y tilapia en el tiempo sin un manejo adecuado de esos ecosistemas. La contribución de esta investigación en el campo de las ciencias ambientales fue demostrar que la calidad microbiológica del agua es adecuada y apta para el cultivo de tilapia, sin embargo, el lago puede tener el riesgo de contaminación con bacterias coliformes y patógenas como es *Brucella* spp. por el manejo inadecuado de animales de granja y los desechos vertidos a éste. Por lo que se puede concluir que la presencia humana y las actividades ganaderas, pesqueras que se desarrollan en la cuenca aún no tienen las medidas preventivas para conservarlo de manera sustentable. Este trabajo también generó que la Cooperativa pueda integrar las recomendaciones

surgidas como resultado de la investigación y seguir investigando sobre la salud de los ecosistemas en colaboración sociedad-universidad.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar IA, Pérez ERH (2008). La contaminación agrícola del agua en México: retos y perspectivas. *Problemas del desarrollo*, 39(153):205-215.
- Alamian S, Salehi TZ, Kolyani KA, Esmaelizad M, Etemandi A (2019). Development of New Modified Simple Polymerase Chain Reaction and Real-time Polymerase Chain Reaction for the Identification of Iranian *Brucella abortus* Strains. *Arch Razi Inst.* 74(3):235-241. <https://doi.org/10.22092/ari.2018.122128.1218>
- Alton GG, Jones LM, Pietz DE, World Health Organization & Food, Agriculture Organization of the United Nations (1976). *Laboratory techniques in brucellosis*. 2nd ed. World Health Organization.
- American_Public_Health_Association (1999). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.
- American_Public_Health_Association (2017). *Microbiological Examination, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Recuperado de <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.184>
- Arcos PM, Ávila de NS, Estupiñán TS, Gómez PA (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Rev. Nova*. 3 (4).
- Arriaga, C. L., Aguilar, S. V., Alcocer, D. J. (2000). Aguas continentales y diversidad biológica de México. *Aguas Continentales y Diversidad Biológica de México*, 332. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.11899>
- Amr ES y Walid A (2018) Brucellosis: Evolution and expected comeback. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*,6(1):31-35, DOI:10.1016/j.ijvsm.2018.01.008
- Bargen KV, Gorvel JP, Salcedo PS (2012). Internal affairs: investigating the *Brucella* intracellular lifestyle. *Rev. FEMS Microbiol.* 36:533-562; DOI: 10.1111/j.1574-6976.2012.00334.x
- Barraza E. (2018). Niveles de coliformes fecales en el lago de Coatepeque. *Boletín Científico Del ICTI -UFG*, (September 2018), 6.
- Belsky AJ, Matzke A, Uselman S (1999). Survey of livestock influences on stream and riparian ecosystems in the western United States. *Journal of Soil and Water Conservation*. 54(1):419-431.

- Bhumbla U., Majumdar S., Jain S., Dalal A. (2020). A study of isolation and identification of bacteria from lake water in and around Udaipur, Rajasthan. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 9(2), 751. https://doi.org/10.4103/jfmmpc.jfmmpc_1032_19
- Bricker BJ, Ewalt DR, Mac Millan AP, Foster G, Brew S (2000). Molecular characterization of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *J Clin Microbiol.* 38(3):1258-1
- Burgess TL, Jhonson CK, Burdin A, Gill VA, Doroff AM, Tuomi P, Smith WA, Goldstein T (2017). *Brucella* Infection in Asian Sea Otters (*Enhydra lutris lutris*) on Bering Island, Russia. *J. of Wildlife Diseases.* 53(4):864-868 <https://doi.org/10.7589/2016-09-220>
- Comité de Seguridad Alimentaria Mundial. CSA (2016). Roma, Italia. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/meeting/026/MD776s.pdf>
- Crawford RP, Huber JD, Adams BS (1990) "Epidemiology and surveillance" in Animal Brucellosis, CRP, Press, ed. J.R.D. K. Nielsen. Boca Raton, FL
- Cichon R, Platt SA, Uradziński J, Caballero B (2003): ZONOSSES. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. Edited by: Academic Press: 6284-6289
- Chigbu P, Gordon S, Tchounwou PB (2005). The seasonality of fecal coliform bacteria pollution and its influence on closures of shellfish harvesting areas in Mississippi Sound. *Int J Environ Res Public Health.* 2(2):362-373.
- Chinchilla MM (2013). Medio Ambiente y Construcción de Ciudadanía. *Rev. de Inv. Educ.* 6(3):181-201.
- Cloekaert A, Grayon M, Grepinet O (2000) An IS711 element downstream of the bp26 gene is a specific marker of *Brucella* spp. isolated from marine mammals. *Clin Diagn Lab Immunol* 7:835-839 <https://doi.org/10.1128/CDLI.7.5.835-839.2000>
- Cloekaert A, Grayon M, Grépinet O, Boumedine K (2003). Classification of *Brucella* strains isolated marine mammals by infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. *Microbes Infect.* 5:593-602.
- Colmenares EAN (2012). Investigación-acción participativa: una metodología integradora del conocimiento y la acción. *Voces y Silencios: Revista Latinoamericana de Educación.* 3(1):102-115
- Comisión Nacional del Agua (2016). Monitoreo de Calidad de Agua. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/145524/Monitoreo_de_calidad_del_agua_en_M_xico_2012-2015.pdf

- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (2010). Programa Maestro del Modelo de Optimización de Redes de Valor. Recuperado de https://cadenasproductivas.conapesca.gob.mx/pdf_documentos/comites/csp/Programa_Maestro_Estatal_Tilapia_Nayarit.pdf
- Comisión Nacional de los Derechos Humanos (2018). ESTUDIO SOBRE LA PROTECCIÓN DE RÍOS, LAGOS Y ACUÍFEROS DESDE LA PERSPECTIVA DE LOS DERECHOS HUMANOS. Recuperado de https://www.cndh.org.mx/sites/all/doc/Informes/Especiales/ESTUDIO_RIOS_LAGOS_ACUIFEROS.pdf
- Cuello GA (2003) Documento de trabajo para la Estrategia Andaluza de Educación Ambiental. España.
- Dahouk SA, Köhler S, Occhialini A, Jiménez de Bagüés MP, Jens AH, Eisenberg T, Vergnaud G, Cloeckart A, Zygmunt MS, Whatmore AM, Melzer F, Drees KP, Foster JT, Wattam AR, Scholz HC (2017). *Brucella* spp. of amphibians comprise genomically diverse motile strains competent for replication in macrophages and survival in mammalian hosts. *Sci Rep.* 7. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep44420>
- Díaz DC (2003) Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua. RIPDA-CYTED
- Díaz RKJG, Girón PMI (2014). Effect of chlorpyrifos on the immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Revista Bio Ciencias* 3(1):59-64
- Dwight RH, Caplan JS, Brinks MV, Catlin SN, Buescher G, Semenza JC (2011). Influence of variable precipitation on coastal water quality in southern California. *Water Environ Res.*, 83(12):2121-2130.
- Eisenberg T, Hamann HP, Kaim U, Schlez K, Seeger H, Schauerte N, Melzer F, Tomaso H, Scholz HC, Koylass MS, Whatmore AM, Zschöck M (2012). Isolation of potentially novel *Brucella* spp. from frogs. *Appl. Environ. Microbiol.* 78:3753–3755.
- Eisenberg T, Ribe K, Shauerte N, Geiger C, Blom J, Scholz HC (2017). Isolation of a novel 'atypical' *Brucella* strain from a bluespotted ribbontail ray (*Taeniura lymma*). *Antonie van Leeuwenhoek* 110:221–234. DOI:10.1007/s10482-016-0792-4
- El-Tras WF, Tayel AA, Eltholth MM, Guitian J (2010). *Brucella* infection in fresh water fish: Evidence for natural infection of Nile catfish (*Clarias gariepinus*) with *Brucella*

melitensis. Vet Microbiol.141(3-4):321-325.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.09.017>

Evans JD. (1996). Straightforward statistics for the behavioral sciences. Pacific Grove: Brooks/Cole Pub. Co.

Ferooz J, Letesson JJ (2010). Morphological analysis of the sheathed flagellum of *Brucella melitensis*. BMC Research Notes. 3:333. DOI:10.1186/1756-0500-3-333

Flandroy L, Poutahidis T, Berg G, Clarke G, Dao MC, Decaestecker E, Furman E, Haahtela T, Massart S, Plovier H, Sanz Y, Rook G (2018). The impact of human activities and lifestyles on the interlinked microbiota and health of humans and of ecosystems. Science of the Environment. 627:1018-1038. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.288

Ford SAE, Graham H, White PCL (2015). Integrating Human and Ecosystem Health Through Ecosystem Services Frameworks. EcoHealth. 12:660–671. DOI:10.1007/s10393-015-1041-4

García J, Ramírez BG, Hernández VE, Orozco BM, Hernández CH, Luz M, Jiménez LJ (2013). Brucellosis: condición socioeconómica familiar y calidad de vida en dos zonas contrastantes del estado de Tlaxcala, México. Estudios sociales (Hermosillo, Son.). 21(41):239-259

García YD, Marín CM, López GI (2005) Restriction site polymorphisms in the genes encoding new members of group 3 outer membrane protein family of *Brucella* spp. FEMS Microbiol Lett 245:79-84

García YD, Marín CM, María J. de Miguel MJ, Muñoz PM, Vizmanos JL, López GI (2006). Multiplex PCR Assay for the Identification and Differentiation of all *Brucella* Species and the Vaccine Strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella melitensis*. Rev1 Clinical Chemistry. 52(4):779-781. DOI: 10.1373/clinchem.2005.062596

González AM, Paranhos R, Lutterbach MS (2010). Relationships between fecal indicators and pathogenic microorganisms in a tropical lagoon in Rio de Janeiro, Brazil. Environ. Monit. Assess. (164):207-219. DOI: 10.1007/s10661-009-0886-9

Guzmán, HR, Contreras RA, Ávila CE, Morales GR (2016). Brucellosis: zoonosis de importancia en México. Revista chilena de infectología. 33(6)

Hamilton J., Luffman, I. (2009). Precipitation, Pathogens, and turbidity trends in the little river, Tennessee. Physical Geography, 30(3), 236–248. <https://doi.org/10.2747/0272-3646.30.3.236>

- Hayoun MA, Muco E, Shorman M (2020). Brucellosis. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441831/>
- Hennani M, Maanan M, Robin M, Chedad K, Assobhei O (2012). Temporal and Spatial Distribution of Faecal Bacteria in a Moroccan Lagoon Pol. J. Environ. Stud. (21):627-634
- Hernández MI, Peña FG, Betancourt MX (1996). Manual de procedimientos de laboratorio INDRE/SAGAR: brucelosis. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos: D.F., México
- Hodžić S, Širanović S, Avdić A, Husejnagić D, Almedina D, Vuković N (2016) MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF THE LAKES BISTARAC AND VIDARA WATER QUALITY. Works of the Faculty of Forestry University of Sarajevo 2:68 – 76
- Holguín C, Rubio H, Olave ME, Saucedo R, Gutiérrez M, Bautista R (2006). Calidad del agua del Río Conchos en la región de Ojinaga, Chihuahua: parámetros fisicoquímicos, metales y metaloides. Universidad y Ciencia, 22(1):51-63. ISSN: 0186-2979. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=154/15402204>
- Hull NC, Schumaker BA (2018). Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. Infection ecology & epidemiology, 8(1):1500846. doi:10.1080/20008686.2018.1500846
- INECC-CCA (2010). MANUAL DE MÉTODOS DE MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS DE LAS SUSTANCIAS PRIORITARIAS PARA LAS MATRICES PRIORITARIAS DEL PRONAME. México, p. 55
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Sistema de cuentas nacionales de México. [monografía en internet] México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2010). http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/derivada/regionales/pib/2005_2009_seg/PIBE2009.pdf
- Isiordia LMT (2006). *ANÁLISIS EPIDEMIOLOGICA DE BRUCELOSIS Y TUBERCULOSIS BOVINA EN EL MUNICIPIO DE SAN PEDRO LAGUNILLAS NAYARIT* (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma de Nayarit. Compostela, Nayarit.
- Islam, M. M. M., Hofstra, N., Islam, M. A. (2017). The Impact of Environmental Variables on Faecal Indicator Bacteria in the Betna River Basin, Bangladesh. Environmental Processes, 4(2), 319–332. <https://doi.org/10.1007/s40710-017-0239-6>
- Jay JM, Loessner MJ, Golden DA (2000). Modern Food Microbiology. New York: Springer US.

Kistemann T, Classen T, Koch C, Dangendorf F, Fischeder R, Gebel J, Vacata V, Exner M (2002). Microbial load of drinking water reservoir tributaries during extreme rainfall and runoff. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(5):2188-2197. DOI: 10.1128/AEM.68.5.2188-2197.2002

López GI, García YD, Marín MC, de Miguel MJ, Barquero CE, Guzmán VC, Albert D, Garin BB (2011). New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis*. *Vet Microbiol.* 154(1-2):152-155. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.06.035>

López GI, Garcia YD, Marin CM, de Miguel MJ, Munoz PM, Blasco JM, Jacques I, Grayon M, Cloeckert A, Ferreira AC *et al* (2008) Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including the vaccine strains. *J Clin Microbiol* 46:3484-3487 doi:10.1128/JCM.00837-08

McDonald WL, Jamaludin R, Mackereth G, Hansen M, Humphrey S, Short P, Taylor T, Swingler J, Dawson CE, Whatmore AM, Stubberfield E, Perrett LL, Simmons G. (2006). Characterization of a *Brucella* spp. strain as a marine-mammal type despite isolation from a patient with spinal osteomyelitis in New Zealand. *J. clin. Microbiol.* 44(12):4363-4370.

NMX-AA-042-SCFI-2015. Norma Mexicana. Análisis de agua, enumeración de organismos coliformes totales, organismos coliformes fecales (termotolerantes) y *Escherichia coli*. Método del número más probable en tubos múltiples. Secretaría de economía.

NOM-112-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. Fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, 1994.

NOM-017-SSA2-1994. Norma Oficial Mexicana Para la Vigilancia Epidemiológica. Secretaria de Salud.

NOM-242-SSA1-2009. Norma Oficial Mexicana Productos y Servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. Secretaria de Salud

Olabuenaga SE (2000). FISH IMMUNE SYSTEM. *Gayana (Concepción)*.64(2):205-215. Recuperado de: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-65382000000200010&lng=es&tlng=en. 10.4067/S0717-65382000000200010.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2005). Cultured Aquatic Species Information Programme *Oreochromis niloticus*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Rakocy, J. E. In: Departamento de

Pesca y Acuicultura de la FAO. Recuperado de http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/es

Organización Mundial de la Salud (2016). Temas de salud ambiental. Recuperado de http://www.who.int/topics/environmental_health/es/

Organización Mundial de Sanidad Animal. OIE (2009). Un mundo, una salud. Boletín informativo No. 2.

Organización Mundial de Sanidad Animal. OIE (2015). Enfermedades de los animales silvestres Animales, hombres y enfermedades. Recuperado de <http://www.oie.int>

Organización Mundial de Sanidad Animal. OIE (2018). Una sola salud. Informe, París, Francia. Recuperado de: <http://www.oie.int/es/para-los-periodistas/una-sola-salud/>

Organización Panamericana de la Salud (2017). Zoonosis y Enfermedades Desatendidas: Intervenciones e Investigación. Recuperado de http://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com_content&view=article&id=137&Itemid=371

Pachepsky YA, Blaustein RA, Whelan G, Shelton DR (2014). Comparing temperature effects on *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Enterococcus* survival in surface waters. *Lett Appl Microbiol.* 59(3):278-283.

Paulsen IT, Seshadri R, Nelson KE, Eisen JA, Heidelberg JF, Read TD, Dodson RJ, Umayam L, Brinkac LM, Beanan MJ, et al (2002) The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99:13148-13153 <https://doi.org/10.1073/pnas.192319099>

Peña PV, Meza RE, Valdiviezo OGS (2013). Estrategias para el desarrollo local en el municipio de San Pedro Lagunillas, Nayarit. Edición electrónica Nov. 2014

Productora Nacional de Biológicos Veterinarios – PRONABIVE (2016). Las enfermedades zoonóticas en México. Recuperado de: <http://www.gob.mx/pronabive/articulos/las-enfermedades-zoonoticas-en-mexico#documentos>

Prüss ÜA, Corvalán C (2006). Preventing disease through healthy environments. Towards an estimate of the environmental burden of disease: Ginebra: World Health Organization.

Rajashekara G, Glasner JD, Glover DA, Splitter GA (2004) Comparative whole-genome hybridization reveals genomic islands in *Brucella* species. *J Bacteriol* 186:5040-5051 <https://doi.org/10.1128/JB.186.15.5040-5051.2004>

- Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua (2009). Indicadores de contaminación fecal en aguas. Recuperado de http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/pdfs/Capitulo_20.pdf
- Riojas RH, Schilman A, López CL, Finkelman J (2013). La salud ambiental en México: situación actual y perspectivas futuras. *Salud Pública de México*. 55(6):638-649.
- Rodríguez MC, Froger A, Rolland JP, Thomas D, Agüero S, Delamarche C, García LJM (2000). A functional water channel protein in the pathogenic bacterium *Brucella abortus*. *Microbiology*. (146):3251-3257
- Romero S, García HJ, Valdez SB, Vega M (2010). Calidad del Agua para Actividades Recreativas del Río Hardy en la Región Fronteriza México-Estados Unidos. *Información Tecnológica*. 21(5)
- Ross HM, Foster G, Reid RJ, Jahans KL, Mac Millan AP (1994). *Brucella* species infection in sea-mammals. *Vet Rec*. (134):359.
- Rubio GM (2010). Inmunología de los peces óseos. Revisión. *SIÓN Rev Mex Cienc Pecu*.1(1):47-57
- Sangari FJ, Garcia LJM, Agüero J (1994) The *Brucella abortus* vaccine strain B19 carries a deletion in the erythritol catabolic genes. *FEMS Microbiol Lett* 121:337-342
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Dirección General de Estadística e Información Ambiental (2017). Recuperado de: <http://app.conagua.gob.mx/ConsultaPublicaciones.aspx>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2018). Compendio de Estadísticas Ambientales 2018. Recuperado de https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/compendio_2018/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/ibi_apps/WFServlet28b9.html
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (2015). Eleva SAGARPA estatus zoonosario de Brucelosis en Nayarit [en línea]. SENASICA. <https://www.gob.mx/senasica/prensa/eleva-sagarpa-estatus-zoonosario-de-brucelosis-en-nayarit-20715>
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (2016). Nayarit Programa Sanitario 2016-2018. [publico.senasica.gob.mx > includes > asp > download](http://publico.senasica.gob.mx/includes/asp/download)

- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (2020). Situación actual del control de la brucelosis en México [en línea]. SENASICA. Recuperado de: <http://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-del-control-de-la-brucelosis-en-mexico>
- Scholz HC, Hubalek Z, Sedlacek I, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, Melzer F, Kampf P, Neubauer H, Cloeckert A, Maquart M, Zygmunt MS, Whatmore AM, Falsen E, Bahn P, Gollner C, Pfeffer M, Huber B, Busse HJ, Nockler K (2008). *Brucella microti* spp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. Int J Syst Evol Microbiol. 58:375-82.
- Shehane SD, Harwood VJ, Whitlock JE, Rose JB (2005). The influence of rainfall on the incidence of microbial faecal indicators and the dominant sources of faecal pollution in a Florida river. J Appl Microbiol. 98(5):1127-1136.
- Sigala I, Caballero M, Correa MA, Lozano GS, Vázquez G, Pérez L, Zawisza E (2017). Basic limnology of 30 continental waterbodies of the Transmexican Volcanic Belt across climatic and environmental gradients. Boletín de La Sociedad Geológica mexicana. 317-370. DOI:10.18268/BSGM2017v69n2a3
- Sohn AH, Probert WS, Glaser CA, Gupta N, Bollen AW, Wong JD, Grace EM, Mc Donald W. C. (2003). Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. Emerg. infect Dis., 9(4):485-488.
- Terwagne M, Mirabella A, Lemaire J, Deschamps C, De Bolle X, Letesson JJ (2013). Quorum Sensing and Self-Quorum Quenching in the Intracellular Pathogen *Brucella melitensis*. PLoS ONE. 8(12):1–14.
- The Center for Food Security & Public Health / Institute for International Cooperation in Animal Biologics. Brucellosis en mamíferos marinos. (2009). Ames, Iowa: Iowa State University. Recuperado de: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucellosis-en-mamiferos-marinos.pdf>
- UNESCO (2017) Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos (WWAP) Recuperado de <http://www.unesco.org/new/es/natural-sciences/environment/water/wwap/facts-and-figures/all-facts-wwdr3/fact1-demographics-consumption/>
- Valle GJC (2017). AYUNTAMIENTO CONSTITUCIONAL DE SAN PEDRO LAGUNILLAS. Primer Informe de Gobierno
- Vemulapalli R, McQuiston JR, Schurig GG, Sriranganathan N, Halling SM, Boyle SM (1999) Identification of an IS711 element interrupting the wboA gene of *Brucella abortus*

vaccine strain RB51 and a PCR assay to distinguish strain RB51 from other *Brucella* species and strains. Clin Diagn Lab Immunol 6:760-764

Vizcaino N, Verger JM, Grayon M, Zygmunt MS, Cloeckaert A (1997) DNA polymorphism at the omp-31 locus of *Brucella* spp.: evidence for a large deletion in *Brucella abortus*, and other species-specific markers. Microbiology 143:2913-2921:
<https://doi.org/10.1099/00221287-143-9-2913>


Whatmore AM, Davison N, Cloeckaert A, Al Dahouk AS, Zygmunt MS, Brew SD, Perrett LL, Koylass MS, Vergnaud G, Quance C, Scholz H, Jr Dick JE, Hubbard GNE, Schlabritz LNE (2014). *Brucella papionis* sp. nov. isolated from baboons (*Papio* spp.). Int J Syst Evol Microbiol.


World Health Organization. (2004). Waterborne Zoonoses. Identification, Causes and Control. London, UK: IWA, Publishing

World Health Organization. (1996). Quality of Life Assessment Group. Que es calidad de vida? / Grupo de la OMS sobre la calidad de vida. Foro mundial de la salud. 17(4) :385-387
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/55264>

Zygmunt MS, Blasco JM, Letesson JJ, Cloeckaert A, Moriyon I (2009) DNA polymorphism analysis of *Brucella* lipopolysaccharide genes reveals marked differences in O-polysaccharide biosynthetic genes between smooth and rough *Brucella* species and novel species-specific markers. BMC Microbiol 9:92 <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-92>

ANEXO 1. Permiso para obtención de muestras del lago San Pedro, Nayarit

 **AGRICULTURA**
SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y DESARROLLO RURAL

 **2020**
LEÓN VICARIO

Representación Estatal en Nayarit
DDR 096 Compostela

Compostela, Nayarit a 10 de marzo de 2020

COMPROMISO DE BUEN MANEJO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

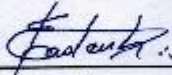
Título del artículo de investigación: "*Brucella abortus* and *suis* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*) and surface water from a Crater Lake"

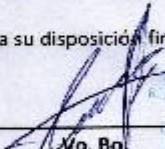
Investigadores: M. en C. Lesset del C. Ramos Ramírez, Dr. Zeus Saldaña Ahuactzi, Dra. Laura Morales Lara, Dr. Ignacio Martínez Laguna, Dra. Elsa I. Castañeda Roldán


Los investigadores informan que conocen y cumplieron con la legislación y normas vigentes para el manejo de animales para experimentación. Cabe señalar que en este caso los especímenes productos de la pesa, fueron proporcionados por la Cooperativa de San Pedro Lagunillas, Nayarit México. Obtenidos por la técnica de chinchorro la cual cumplen según la **NORMA Oficial Mexicana NOM-060-SAG/PESC-2014, Pesca responsable en cuerpos de aguas continentales dulceacuícolas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos. Especificaciones para el aprovechamiento de los recursos pesqueros.** Las muestras fueron un total de 15 peces tilapia (*Oreochromis niloticus*) de talla comercial durante un año, obteniendo un total de 60 peces. El objetivo del uso de estos animales fue analizar la calidad microbiológica en branquia y piel.

Afirmamos que:

Los animales involucrados no fueron utilizados para el desarrollo de otras investigaciones
Los peces fueron productos de la pesca, no fueron inoculados, ni se realizaron experimentos con ellos
Aseguramos que el personal que llevó a cabo los procedimientos es técnicamente competente y ha recibido el entrenamiento adecuado sobre el manejo de calidad microbiológica en alimentos en este caso producto de la pesca.
Los residuos generados fueron manejados adecuadamente para su disposición final.


Investigador responsable
Dra. Elsa Iracena Castañeda Roldán


Vo. Bo.
El Encargado del Despacho del Distrito de
Desarrollo Rural 096 Compostela
M.V.Z. Ernesto Sandoval Castro



Cal. Gilberto Plutarco Rincón, 160 Colonia Estrellas, Compostela, Nayarit C.P. 63705. Teléfono (327) 2770736. <http://www.gub.mex/agricultura>

Anexo 2. Colaboración universidad – productores pesqueros

M.C. Lesset del Consuelo Ramos Ramírez
Posgrado en Ciencias Ambientales. BUAP
Presente:

La Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Pescadores de San Pedro Lagunillas R.L. de C.V. agradece el empeño y la contribución llevada a cabo en el estudio denominado: "Calidad microbiológica del agua y tilapia del Lago San Pedro" llevado a cabo entre esta cooperativa, la Universidad Autónoma de Nayarit y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

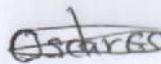
Las reuniones entre las universidades y cooperativa realizadas durante la investigación ofrecieron un panorama sustentable del lago y los potenciales riesgos que puede originar el manejo inadecuado del cultivo de tilapia y en consecuencia la contaminación de este ecosistema que es un bien natural del que depende la actividad económica de esta Cooperativa.

Por la experiencia grata, estamos dando apertura a futuras colaboraciones en pro del Lago y las actividades de investigación en agua y tilapia que las universidades consideren de importancia para mantener el bien natural.

Sin otro particular, se despide de Ud.

Tepic Nayarit a 15 de julio de 2020

ATENTAMENTE



ÓSCAR MANUEL ESCOBEDO CORTÉS
PRESIDENTE DE LA
SOCIEDAD COOPERATIVA DE PRODUCCIÓN
PESQUERA PESCADORES
DE SAN PEDRO LAGUINILLAS R.L. DE C.V.
R.F.C. PPS800322LF3

