

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"LOS MICROORGANISMOS COMO INDICADORES DE LA CALIDAD AMBIENTAL EN CUERPOS DE AGUA DE USO TURÍSTICO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN: UNA PROPUESTA DE MANEJO EN EL CONTEXTO DE LA POLÍTICA AMBIENTAL"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN MANEJO SUSTENTABLE DE ZONAS COSTERAS

PRESENTA:

KAREN RIOS CONTRERAS

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Leticia Arena Ortiz

YUCATÁN 2020







UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DATOS DEL ALUMNO

RIOS CONTRERAS KAREN

No. de teléfono: 5561748793

Universidad Nacional Autónoma de México - Facultad de Ciencias Unidad Académica de Ciencias y Tecnología de la UNAM en Yucatán Licenciatura en Manejo Sustentable de Zonas Costeras

No. de cuenta UNAM: 312026787

DATOS DEL TUTOR

Dra, María Leticia Arena Ortiz

FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

DATOS DE LOS SINODALES

DRA. JOANNA MARÍA ORTIZ ALCÁNTARA

FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL

AUTÓNOMA DE MÉXICO

DR. FRANCISCO XAVIER CHIAPPA CARRARA

FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL

AUTÓNOMA DE MÉXICO

MTRO. ERNESTO CUAUHTÉMOC SÁNCHEZ HOSPITAL O'HORAN, SERVICIOS DE SALUD

Rodríguez de Yucatán

MTRO. ESTEBAN GARCÍA-PEÑA
VALENZUELA
OCEANA MÉXICO

DATOS DEL TRABAJO ESCRITO

LOS MICROORGANISMOS COMO INDICADORES DE LA CALIDAD AMBIENTAL EN CUERPOS DE AGUA DE USO TURÍSTICO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN: UNA PROPUESTA DE MANEJO EN EL CONTEXTO DE LA POLÍTICA AMBIENTAL, 135 PP.

YUCATÁN, MÉXICO, 2020

A las que ya no están,

A las que están y no se rinden,

A las que fueron reducidas a una cifra más y a las que ni siquiera existen aún en las cifras,

A las que luchan por las presentes y las ausentes,

A todas aquellas que no pueden sentir más las olas del mar, porque fueron alcanzadas por la ola de violencia de nuestro país.

KAREN RIOS

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme navegar entre tus aguas del conocimiento lleno de riquezas académicas, culturales y personales. Por becar mis sueños y brindarme la oportunidad de conocer el mundo.

A la Universidad de Jaén, por la calidez con que me acogió entre sus olivos y por obsequiarme una de las mejores experiencias de mi vida.

A la Dra. Leticia Arena, por inculcarme el amor a las ciencias genómicas. Por haber sido mí guía intelectual y personal. Por confiar en mí y alentarme día tras día hasta concluir esta investigación.

A la Dra. Joanna Ortiz, por las enseñanzas y el apoyo dentro del laboratorio de estudios ecogenómicos. Por hacer del trabajo de campo una experiencia placentera.

Al Dr. Cuauhtémoc Sánchez, al Dr. Xavier Chiappa y al Mtr. Esteban García-Peña por aceptar ser guías y partes. Por su tiempo y sus aportaciones médicas, políticas y biológicas a este trabajo.

A la M. en C. Karla Escalante, por su apoyo y su infinita paciencia durante mi estancia en el laboratorio de biología molecular.

A las profesoras admirables que enriquecieron mi vida académica universitaria. En especial a la M. en C. Esteffany Espinosa y a la Dra. María Cristina Garza. Para ambas, gracias por sembrar una semilla en mí.

A todo el personal técnico y de campo, quienes hicieron factibles cada uno de los viajes a los sitios de muestreo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgar el financiamiento gracias al cual fue posible realizar este trabajo enmarcado en el proyecto 293354 de la convocatorio Problemas Nacionales.

DEDICATORIA

A mi madre. Por tu amor y tus consejos. Por ser mi guía. Por darme siempre alas para volar y raíces para volver.

A mi padre. Por tu inconmensurable apoyo en cada una de las decisiones que he tomado en mi vida. Por ayudarme a materializar cada uno de mis sueños.

A Leticia Arena. Por abrirme las puertas de su casa y de su vida. Por ser maestra y amiga.

Por contagiarme su pasión por los viajes, la fotografía y la vida.

Gracias por absolutamente todo.

A los que estuvieron a la distancia

Eugenia, por ser un pedazo de mi alma que me acompaña siempre. Isabel, por haber estado ahí desde el comienzo de todo e impulsarme a volar. Ian, por todo tu cariño y por recordarme siempre que nuestros logros son mutuos.

A mis amigos, los de la vida junta al mar

A mi apreciado Adrián, por siempre abrigarme en sus aguas tranquilas y decirme que todo estará bien. Por demostrarme que la distancia que divide América de Europa es ínfima cuando se trata de amistad.

A mis queridos Alex, Emmanuel, José Juan e Hiram, por acompañarme en ese profundo mar de tormentas y calmas llamada universidad. Por las risas, los bailes, las sobremesas, las cervezas y las noches estrelladas.

A las que están al sur de este bello continente

Amali, Antonieta, Belén y Valentina. Porque de todas mis vivencias, fueron la cereza de este pastel llamado juventud. Por los viajes que hicimos juntas en el mundo, a bordo del tren de la vida. La distancia no separa lo que une el corazón. En la piel, para siempre.

A todos los que me hicieron tan dichosa en mi vida de Erasmus en España

A María y a Pech. Por su inocente y canina existencia, que me hizo compañía en mis noches de desvelo.

Gracias a la vida.

INDICE DE (CONTENIDO	
AGRADECIN	4	
DEDICATORIA		5
ÍNDICE DE CONTENIDO		6
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS		9
RESUMEN		11
INTRODUCCIÓN		12
CAPÍTUL	O I. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN	16
1.1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
1.2.	Justificación	19
1.3.	Objetivos	20
1.3	.1. General	20
1.3	.2. Específicos	21
1.4.	HIPÓTESIS	21
CAPÍTUL	O II. MARCO TEÓRICO	22
2.1.	EL ESCENARIO DEL AGUA EN EL MUNDO	22
2.2.	El escenario del agua en México	23
2.3.	El escenario del agua en la Península de Yucatán	26
2.4.	EL ACUÍFERO: UN ESCENARIO PARTICULAR	28
2.5.	LOS CENOTES: DEL MAYA TS'ONO'OT	32
2.5	.1. Características	32
2.5	.2. Localización	35
2.5	.3. Relevancia	35
2.5	.4. LOS CENOTES COMO ESPACIOS RECREATIVOS	36
CAPÍTUL	O III. MARCO LEGAL E INSTITUCIONAL	38
3.1.	MARCO LEGAL NACIONAL	40
3.1	.1. ARTÍCULOS CONSTITUCIONALES	40
3.1	.2. Leyes	40
2 1	1 REGLAMENTOS	42

3.	1.2.	Normas Oficiales Mexicanas	42
3.	1.3.	NORMAS MEXICANAS	43
3.2.	MA	ARCO LEGAL ESTATAL	43
3.	.2.1.	ARTÍCULOS CONSTITUCIONALES	43
3.	.2.2.	LEYES	44
3.	.1.1.	REGLAMENTOS	44
3.	1.2.	Decretos	45
CAPÍTU	LO I	V. METODOLOGÍA	46
4.1.	TIP	O DE INVESTIGACIÓN	46
4.2.	CR	ITERIO DE SELECCIÓN DE LOS SITIOS DE ESTUDIO	46
4.	.2.1.	CENOTE PÁJAROS	48
4.	.2.2.	CENOTE XLACAH	50
4.	.2.3.	CENOTE X'BATUN	51
4.	2.4.	CENOTE DE YAXBACALTUN	53
4.	.2.5.	Cenote de Santa María	54
4.3.	Co	lecta de Muestras Ambientales	55
4.4.	Dis	SEÑO Y VALIDACIÓN DEL ARREGLO	56
4.5.	PR	OCESAMIENTO DE MUESTRAS	58
4.	.5.1.	FILTRADO	59
4.	.5.2.	Extracción	59
4.	.5.3.	ELECTROFORESIS	59
4.	.5.4.	Cuantificación	59
4.	.5.5.	DIGESTIÓN	59
4.	.5.6.	Marcaje	59
4.6.	HIE	BRIDACIÓN EN EL ARREGLO Y ANÁLISIS DE DATOS	60
4.	.6.1.	Inyección	61
4.	.6.2.	Hibridación	61
4.	.6.3.	LAVADO Y TINCIÓN	61
4.	.6.4.	LECTURA Y ANÁLISIS DE DATOS	61
4.7.	CL	ASIFICACIÓN GENERAL DEL MONITOREO	62
4.8.	CL	ASIFICACIÓN DE LOS AGENTES DETECTADOS	63
4.9.	CL	ASIFICACIÓN DE LAS AFECCIONES ASOCIADAS	64
4.10.	I	Elaboración del análisis de conglomerados	65
4.11.		Selección de instrumentos ambientales	67

CAPITULO V. RESULTADOS			68
5.1	Validación del arreglo		68
5.2.	Detección y clasificación de microorganismos		69
5.3.	Clasificación de las afecciones asociadas		80
5.4	DETERMINACIÓN DE INSTRUMENTOS AMBIENTALES		82
5.5	Análisis de conglomerados		84
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN			86
6.1.	Sobre los agentes etiológicos		86
6.2.	Sobre las fuentes evidentes de contaminación		87
6.3.	Sobre los instrumentos de política		89
NORMAS OFICIALES MEXICANAS			89
Áreas Naturales Protegidas			90
6.4.	Sobre las políticas públicas		92
D	E LA PARTICIPACIÓN DEL GOBIERNO		92
De la participación de otras instancias			94
D	E LAS FUENTES DE INFORMACIÓN		95
CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES			97
PROPUESTA DE MANEJO			98
LITERATURA CONSULTADA		103	
ANEXO A. GLOSARIO		111	
ANEXO B. SIGLAS Y ACRÓNIMOS		114	
ANEXO C. METODOLOGÍAS			
ANEXO D. FLEMENTOS CONTENIDOS EN EL MICROARREGIO			

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS

FIGURA 1. PRINCIPALES FUENTES DE CONTAMINACIÓN EN EL ACUÍFERO DE YUCATÁN	17
Figura 2. Principales estructuras hidrogeológicas en la Península de Yucatán	27
FIGURA 3. PRINCIPALES FLUJOS DE AGUA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN	29
Figura 4. Vulnerabilidad del acuífero kárstico a la contaminación	31
Figura 5. Proceso de formación de los cenotes en la Península de Yucatán	33
Figura 6. Tipos de cenotes en la Península de Yucatán	34
Figura 7. Localización en el espacio de los lugares de estudio	.47
Figura 8. Vista del cenote Pájaros, Reserva Ecológica El Corchito	.48
Figura 9. Fauna dentro de la Reserva Ecológica El Corchito	.49
Figura 10. Vista del cenote Xlacah, Zona Arqueológica de Dzibilchaltún	50
Figura 11. Vista del cenote X'batun, San Antonio Mulix (a)	51
Figura 12. Vista del cenote X'batun, San Antonio Mulix (b)	52
Figura 13. Vista del cenote Yaxbacaltun, Homún	53
Figura 14. Vista del cenote Santa María, Homún	54
Figura 15. Metodología de extracción y cuantificación del adn metagenómico	58
Figura 16. Metodología de hibridación en el arreglo y análisis de datos	60
Figura 17. Clasificación de los microorganismos de acuerdo a su potencial de ries a la salud	
Figura 18. Clasificación de microorganismos detectados de acuerdo a taxonomía	
Figura 19. Clasificación de las afecciones asociadas a los microorganismos	66
Figura 20. Fluorescencia detectada por el sistema lector de microarreglos	68

ANÁLISIS GENERAL	
FIGURA 22. AGENTES ETIOLÓGICOS DETECTADOS EN LOS CUERPOS DE AGUA DE USO RECR	
FIGURA 23. AFECCIONES ASOCIADAS A LOS AGENTES ETIOLÓGICOS DETECTADOS	80
Figura 24. Afecciones asociadas a los agentes etiológicos detectados por sit	1082
FIGURA 25. ANÁLISIS DE DISIMILITUD ENTRE LOS SITIOS MUESTREADOS	85
TABLAS	
Tabla 1. Instrumentos normativos aplicables en relación al uso, ma	NEJO Y
PROTECCIÓN DE LOS CENOTES EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN	39
Tabla 2. Bacterias identificadas en las muestras de agua de cenote	70
Tabla 3. Virus identificados en las muestras de agua de cenote	73
Tabla 4. Microalgas identificados en las muestras de agua de cenote	75
TABLA 5 HONGOS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE	76
Tabla 6. Protozoos identificados en las muestras de agua de cenote	77
Tabla 7. Nemátodos identificados en las muestras de agua de cenote	78
TABLA 8. PLATELMINTOS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE	78
Tabla 9. Artrópodos identificados en las muestras de agua de cenote	78
Tabla 10. Instrumentos ambientales de contaminación microbiológica de importancia para la salud pública (OMS, 2011)	
Tabla 11. Criterios para clasificar los cuerpos de agua dulce para uso rece	
Tabla 12. Propuestas de manejo en relación al monitoreo, evaluación, con gestión de los cenotes como cuerpos de uso recreativo	

RESUMEN

El agua es vital para todo ser humano, no obstante, es considerada como uno de los principales medios de transmisión de agentes etiológicos a nivel mundial. En México, las enfermedades transmitidas por aqua se encuentran dentro de las principales causas de morbilidad. En el tema del agua, la Península de Yucatán dispone de gran relevancia, ya que alberga el 85% de los recursos hídricos subterráneos del país, a los cuales tenemos acceso en el exterior gracias a esos cuerpos llamados cenotes, elementos característicos del paisaje en la región, cuyos valores estéticos y culturales les permiten jugar un papel muy importante en la oferta turística. Sin embargo, la mala regulación en los cenotes, ante la creciente tendencia de las prácticas recreativas, representa un peligro tanto para la protección del ambiente como para la salud en general. A pesar de que existen normativas que sirven de base para determinar la aptitud de los cuerpos de agua para uso recreativo en función de la calidad microbiológica, los antiguos métodos aplicados hoy en día únicamente se centran en determinar los límites máximos permisibles de coliformes fecales y coliformes totales. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue coadyuvar en las labores de monitoreo y prevención de riesgos a la salud humana, especialmente para los pobladores locales y los turistas que hacen uso de los cuerpos de agua recreativos en Yucatán; así como de contribuir a través de la evidencia presentada en la mejora del marco normativo ambiental regional. Para la detección oportuna de los agentes etiológicos, se implementó tecnología de ADN. Se eligieron localidades de importancia turística y con gran afluencia. El muestreo se realizó en dos momentos anuales —años 2016 y 2017— en periodos que abarcaron los meses de septiembre, octubre y noviembre, en los cenotes Pájaros (El Corchito), Xlacah (Dzibilchaltún), X'batun (San Antonio Mulix), Yaxbacaltun y Santa María (Homún). Los resultados obtenidos mostraron que la tecnología empleada permitió detectar agentes etiológicos presentes en las muestras de agua de los cenotes; organismos asociados principalmente a enfermedades de tipo gastrointestinal y respiratorias. Por lo tanto, se concluye que los cenotes usados con fines recreativos en la región, son vulnerables ante la contaminación y representan un riesgo potencial para la salud de los turistas y la población en general.

Palabras clave: agentes etiológicos, cenotes, turismo, microarreglos, marco normativo

"Todos somos comunidades de bacterias caminando. El mundo resplandece, un paisaje de puntillismo hecho de diminutos seres vivos"

Lynn Margulis

INTRODUCCIÓN

El acceso a agua potable segura y a servicios de saneamiento de calidad es vital para asegurar el desarrollo sostenible y el bienestar humano (UNESCO, 2016). Recordemos que la superficie de nuestro planeta, a pesar de ser llamado Tierra, está conformado en su mayoría por agua. De tal volumen existente (71%), únicamente el 2.5% es agua dulce, de la cual, tan solo menos del 1% se encuentra accesible al ser humano al estar presente en lagos, ríos y atmósfera (CCA, 2017a).

Hoy en día, somos más de 7,000 millones de personas coexistiendo en la Tierra, los cuales día a día hacemos uso del agua para poder realizar un sinfín de actividades, generando una fuerte presión sobre los recursos hídricos (ONU, 2018a). Como consecuencia, se ha suscitado una creciente contaminación del agua, entendida como una modificación en la calidad por elementos del tipo físicos, químicos -orgánicos e inorgánicos- o biológicos, que la vuelven impropia para su utilización (Gómez-Duarte, 2018).

La Organización de las Naciones Unidas (ONU) asegura que en la actualidad la tendencia creciente de la contaminación del agua se debe principalmente a un mayor crecimiento demográfico y económico y a la falta de sistemas de gestión de aguas residuales. Así mismo, la ONU coloca a la carga de nutrientes como el mayor desafío que enfrentamos en el tema de calidad del agua, asociada directamente con la presencia de patógenos. Por lo tanto, la contaminación microbiana se vuelve un tema de prioridad mundial (ONU, 2018a).

Si bien las actividades recreativas en ambientes acuáticos pueden ser beneficiosas para el bienestar humano, también pueden ocasionar graves repercusiones en la salud humana cuando la calidad del agua no sea la óptima (OMS, 2018).

Los visitantes o usuarios en general no sólo se encuentran expuestos a condiciones ambientales extremas como la radiación de la luz solar, sino que también existen otros factores de riesgo a la salud como son los microorganismos patógenos. La posibilidad de contraer una enfermedad por dichos agentes dependerá de la dosis, la invasión, el potencial patógeno del organismo, así como del estado inmunológico de la persona (OMS, 2011).

Los cenotes de la Península de Yucatán no son la excepción, ya que en los últimos años se ha generado evidencia significativa que pone de manifiesto el problema de la contaminación del agua en el acuífero de la península (Méndez-Novelo et al., 2009; Árcega-Cabrera et al., 2014; Soler et al., 2015; Nava-Galindo, 2015).

Lo anterior, se convierte en un problema de salud pública, puesto que se incrementa la probabilidad de contraer enfermedades a causa de la mala calidad del agua en la región; aunado a las carentes normativas relacionadas con la calidad de agua recreacional a nivel nacional y regional (Febles-Patrón, Nava-Galindo, & Hoogesteijn-Reul, 2015).

En ese contexto, el objetivo del presente trabajo fue coadyuvar en las labores de prevención de transmisión de enfermedades mediante la detección oportuna de agentes etiológicos presentes en los cuerpos de agua de uso turístico en la Península de Yucatán, implementando herramientas

biotecnológicas llamadas microarreglos de ADN (también denominados *DNA chip* o *gene chip*), capaces de proporcionar rangos de detección de microorganismos más amplios y eficientes que aquellos obtenidos a través de las metodologías tradicionales de cultivo.

Para ello, se colectaron muestras de agua en cinco cenotes considerados con afluencia turística en el estado de Yucatán: cenote Pájaros (Reserva Ecológica El Corchito), cenote Xlacah (Zona Arqueológica de Dzibilchaltún), cenote X'batun (San Antonio Mulix), y los cenotes de Yaxbacaltun y Santa María (Homún).

El muestreo se realizó en dos momentos anuales —años 2016 y 2017— en periodos que abarcaron los meses de septiembre, octubre y noviembre. De manera general, los resultados mostraron que, en Yucatán, los ambientes acuáticos usados con fines recreativos son vulnerables ante la contaminación y representan un riesgo potencial para la salud de los turistas y la población en general.

En cuanto a la estructura del trabajo, éste se encuentra dividido en siete capítulos. En el Capítulo I se expone el contexto de la investigación a través del planteamiento del problema, la justificación del estudio, los objetivos y la hipótesis.

En el Capítulo II se presenta el marco teórico, el cual abarca el escenario del agua en distintos niveles geográficos, así como lo referente al acuífero de la Península de Yucatán y a los cenotes.

Sucesivamente, en el Capítulo III —compuesto por el marco legal— se enlistan algunos de los lineamientos que pueden servir de base para regular la gestión y el uso del agua de los cenotes.

Más adelante se describen en el Capítulo IV, los métodos de campo y laboratorio necesarios para llevar a cabo el estudio.

Los resultados son descritos en el capítulo V y discutidos a modo de un análisis de carácter multidisciplinario en el Capítulo VI, que va desde el análisis general del marco legal en México aplicable en aguas recreativas, hasta la propuesta de nuevos instrumentos para evaluar la contaminación microbiológica.

Finalmente, en el Capítulo VII se exponen a manera de conclusión las ideas generales extraídas en la presente investigación.

CAPÍTULO I. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

En los últimos años se ha generado evidencia significativa que pone de manifiesto el problema de la contaminación del agua en el acuífero de la Península de Yucatán (Méndez-Novelo et al., 2009; Árcega-Cabrera et al., 2014; Soller et al., 2015; Nava-Galindo, 2015; Hoogesteijn-Reul et al., 2015), principalmente debido a la mala regulación de las actividades antropogénicas del sector primario. Sin embargo, el crecimiento del sector turismo también representa un peligro para la protección del acuífero (ver Figura 1).

Los cenotes en particular, son sistemas considerados altamente vulnerables a dicha contaminación, situación tal que resulta alarmante si consideramos que, desde los últimos años, estos elementos del paisaje natural juegan un papel muy importante en la oferta turística del estado, por lo que la probabilidad de transmisión de enfermedades entre la gente local y los visitantes se ha vuelto mayor (Ayora, 2011); ya que, citando a Nava-Galindo (2015), "... no existen antecedentes de las consecuencias ecológicas de su uso como fuente de agua recreacional".

Hoogesteijn y colaboradores (2015) señalan que, a partir de estudios realizados en los cenotes turísticos del estado de Yucatán se ha detectado una alta contaminación microbiana; sin mencionar la presencia significativa en el acuífero de nitratos, plaguicidas, fármacos y estupefacientes. Así mismo, Hernández (2018) ha demostrado la presencia de virus entéricos en cenotes de uso recreativo en la Península de Yucatán.



FIGURA 1. PRINCIPALES FUENTES DE CONTAMINACIÓN EN EL ACUÍFERO DE YUCATÁN

FUENTES LOCALIZADAS O DIFUSAS: A) RESIDUOS GANADEROS, B) LIXIVIADOS AGRÍCOLAS, C) SUSTANCIAS CONTAMINANTES DERIVADAS DE LAS ACTIVIDADES TURÍSTICAS, D) DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES/INSUFICIENCIA DE FOSAS SÉPTICAS, E) VERTEDEROS INDUSTRIALES, F) INTRUSIÓN SALINA POR BOMBEO EXCESIVO, G) MALA DISPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS. LAS PROFUNDIDADES FUERON CONSIDERADAS CON BASE EN EL ESTUDIO HIDROLÓGICO DEL ESTADO DE YUCATÁN (INEGI, 2002). FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, CON FINES ÚNICAMENTE ILUSTRATIVOS.

Con lo que respecta a la contaminación microbiana, señalan que las descargas de aguas residuales en el acuífero han favorecido la proliferación de microorganismos patógenos. Es importante mencionar que el saneamiento de aguas en Yucatán es de apenas 5% (Rodríguez, 2018). De ahí que, de acuerdo con Rendón (2016), alrededor del 75% de los cenotes en la Península de Yucatán están contaminados por bacterias patógenas provenientes en gran medida de las aguas residuales.

La situación anterior afecta a la salud de la población local y de los turistas, quienes corren el riesgo de contraer enfermedades infecciosas a través del contacto primario con los cuerpos de agua contaminados (Aguilar-Duarte, y otros, 2016).

Evidencia de ello es el caso de los cenotes de Hunucmá. De acuerdo con Vega (2019), desde el año 2016 los habitantes de dicho municipio han denunciado ante las autoridades que a partir del inicio de operación de las granjas ganaderas en la zona, los infantes de la comunidad padecen con mayor frecuencia de enfermedades estomacales y de las vías respiratorias al hacer uso del agua de los cenotes.

De acuerdo al Anuario de Morbilidad del portal único del gobierno de México, la lista de las veinte principales causas de enfermedad en Yucatán para el año 2016 estuvo encabezada por las infecciones respiratorias agudas, seguido de las infecciones intestinales (SSA, 2016).

Los cenotes turísticos del estado de Quintana Roo no son un caso aislado. En el año 2018, a través de un estudio realizado por el Centro de Investigación Científca y Tecnológica de Yucatán (CICY) se detectó la presencia de virus entéricos —p. ej. norovirus, orthoreovirus, reovirus— en cenotes turísticos del estado de Quintana Roo, responsables de provocar enfermedades gastrointestinales a través de la ingesta del agua contaminada (ver Hernández Flores, 2018).

A pesar de que en México existen normativas que sirven de base para monitorear y evaluar la calidad del agua de uso recreacional en ambientes artificiales —capaces de ser sometidos a procesos químicos y físicos de desinfección—, no existe normativa alguna que a través de indicadores bacteriológicos establezca criterios para determinar si un ambiente natural —p. ej. ríos, lagos, aguas termales, cenotes— es apto o no para su uso recreativo (Febles-Patrón, Nava-Galindo, & Hoogesteijn-Reul, 2015).

Por otra parte, los altos costos de las nuevas tecnologías y los excesivos tiempos que conllevan los análisis a través de los métodos tradicionales de cultivo han sido un impedimento para detectar oportunamente la presencia de agentes de riesgo a la salud en los ambientes acuáticos recreativos.

De modo que, la interrogante es ¿cómo conocer y evaluar la calidad del agua de los cenotes turísticos de la Península de Yucatán en función de la presencia de microorganismos de riesgo a la salud, implementando tecnologías de ADN?

1.2. Justificación

El contacto humano con el agua de uso recreacional contaminada en los ambientes naturales de la Península de Yucatán es hoy día un tema que puede convertirse en un problema de salud pública, ya que las investigaciones realizadas por diversos autores (Febles-Patrón et al., 2015; Aguilar-Duarte et al., 2016; Batllori, 2016; Chávez-Guzmán, 2016; Hernández Flores, 2018) demuestran que la calidad del agua en la región se encuentra en detrimento.

Por esta razón, se necesita contar con bases científicas sólidas para determinar si un cuerpo de agua es apto o no para la recreación. En ese sentido, el presente estudio proporciona información acerca de los riesgos y amenazas que la contaminación microbiológica del agua en los cenotes turísticos de la región representa para la salud de los turistas y de la población en general.

Por otra parte, se espera que la información generada y las medidas propuestas sean de utilidad para la toma de decisiones por parte de los autores competentes en materia de regulación y evaluación de la calidad del agua. Puesto que resulta de urgente necesidad actualizar los instrumentos legales que actualmente sirven de base para regular los ambientes acuáticos recreativos.

Si bien es cierto que las políticas públicas promueven a los cenotes como espacios aptos para la recreación, es también una realidad que no existen suficientes herramientas normativas que permitan estimar la calidad del agua desde el punto de vista microbiológico. Por ello, la importancia de generar evidencia sólida que permita a los tomadores de decisiones contribuir a la mejora del marco normativo para determinar la aptitud de los cuerpos de agua recreativos a través de la propuesta de nuevos indicadores de contaminación microbiológica.

Finalmente, se espera que los futuros recursos humanos en formación dentro del área se motiven a continuar con la presente línea de investigación, ya que aún se requiere de mayor esfuerzo para implementar las nuevas metodologías desarrolladas, de tal forma que se identifiquen y evalúen oportunamente las amenazas generadas por la contaminación del agua en los ambientes recreativos.

1.3. Objetivos

1.3.1. **General**

Detectar oportunamente la presencia de agentes de riesgo a la salud en el agua de los cenotes turísticos de la Península de Yucatán a través de tecnologías

de ADN, estableciendo una relación entre la evidencia presentada y el marco legal vigente.

1.3.2. Específicos

- → Generar una metodología independiente de cultivo, que permita ampliar el rango de detección de agentes etiológicos que ofrecen los métodos tradicionales.
- → Analizar el marco legal en México que establece los lineamientos en materia de detección de agentes etiológicos en cuerpos de agua de uso turístico.
- → Determinar indicadores de contaminación microbiológica distintos a los ya establecidos en la normatividad nacional, que establezcan criterios de sitios aptos o no para uso recreativo.
- → Identificar las posibles fuentes de contaminación microbiológica en los cuerpos de agua de uso turístico.
- → Sugerir medidas de utilidad en la toma de decisiones, con el propósito de disminuir los riesgos de transmisión de enfermedades por agentes etiológicos presentes en cuerpos de agua de uso turístico.

1.4. Hipótesis

Los microarreglos pueden detectar en un único experimento la presencia de un gran número de microorganismos de riesgo a la salud que afectan la calidad del agua de los cenotes turísticos de la Península de Yucatán.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. El escenario del agua en el mundo

De acuerdo con el Informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos de la ONU (2018a), se sabe que más de 2,4 mil millones de personas carecen de acceso al agua potable y más del doble no cuentan con acceso a servicios de saneamiento seguro. Por su parte, la Organización Mundial de la Salud (2018) asegura que cada día dos millones de toneladas de aguas residuales generadas por las actividades humanas son descargadas en los cuerpos de agua y conducidas por medio de efluentes al mar, afectando de forma significativa la calidad del agua.

Según los últimos datos publicados en la Agenda 2030 de la ONU, se sabe que más del 80% del volumen total, se vierte sin recibir ningún tratamiento previo, generando graves repercusiones en el entorno natural y en la salud humana. Lo anterior resulta alarmante si consideramos que aproximadamente 159 millones de personas aún recolectan agua para consumo directamente de fuentes de agua de superficie contaminadas (OMS, 2017b).

Entre los contaminantes del agua más importantes a nivel global se encuentran los microorganismos patógenos tales como bacterias, virus y parásitos, quienes provocan grandes impactos en la salud humana, especialmente aquellos relacionados con la materia fecal (FCA, 2016). De las enfermedades transmitidas por estos microorganismos destacan la diarrea, el cólera, fiebre tifoidea, hepatitis, paludismo y conjuntivitis (PNUMA, 2015).

Se calcula que alrededor del 80% de las enfermedades que se generan en el mundo tienen relación con la mala calidad del agua y el saneamiento inadecuado ocasionando 3.4 millones de muertes al año (CCA, 2017a). Tan solo las enfermedades gastrointestinales constituyen el mayor problema de salud pública atribuido a las deficiencias en materia de agua y saneamiento (UNICEF, 2018). Cada año en el mundo mueren alrededor de 1.8 millones de personas a causa de estas enfermedades, en donde la mayor parte de los afectados resultan ser infantes menores a cinco años, colocando a la diarrea como la segunda causa de mortalidad infantil (ONU, 2015).

De acuerdo con Giampaoli y Romano (2014), las enfermedades entéricas también representan a nivel mundial uno de los principales problemas de salud relacionados con la exposición a aguas recreativas contaminadas. Sin embargo, la evidencia (MSSSI, 2012; MSSSI, 2018; SEMTSI, 2016; OMS, 2017a) señala que los microorganismos patógenos presentes en estos ambientes también pueden generan afecciones respiratorias y cutáneas a través de la ingestión, inhalación o contacto con agua contaminada.

2.2. El escenario del agua en México

Las regiones de México presentan diferencias significativas en cuanto a la disponibilidad y calidad del agua (CONAGUA, 2016). Las regiones centro y norte enfrentan la escasez de agua por ser consideradas zonas áridas o semiáridas; en contraste con las regiones del sureste quienes albergan dos terceras partes del agua renovable en el país (CCA, 2017b). Dicho escenario toma relevancia si consideramos que el 75% de la población nacional se encuentra asentada en las primeras regiones mencionadas (CONAPO, 2015).

Lo anterior ha generado que las tarifas por la prestación de servicios de agua potable, alcantarillado y saneamiento varíen considerablemente en nuestro país con base en la relación disponibilidad-demanda. Mientras que el metro cúbico para uso doméstico costaba \$20.93 pesos en el estado de Aguascalientes para el año 2014, en Mérida costaba \$3.90 pesos (CONAGUA, 2015).

Sin embargo, la sobreexplotación y contaminación de los acuíferos es un grave problema que ha ido en aumento (INEGI, 2015a). De acuerdo con datos de CONAGUA (2015) al 2014, 106 de los 653 acuíferos del país se encontraban sin disponibilidad de agua subterránea y/o sobreexplotados. Así mismo, a nivel nacional, en el año 2016 se identificaron un total de 18 acuíferos costeros que presentaban intrusión salina (CONAGUA, 2017).

Ante tal escenario, el tema de la escasez del agua adquiere mayor prioridad sobre la problemática de la mala calidad del agua. Como resultado, millones de personas en nuestro país padecen las consecuencias de estar expuestos a tal contaminación (Ortiz-Pérez, 2015).

De acuerdo con CONAGUA (2015), alrededor del 12% de la población en México carece de agua potable y en cuanto a las instalaciones sanitarias básicas, los rezagos se concentran principalmente en los estados de Guerrero, Oaxaca y Yucatán. Al respecto, es importante recordar que, en el caso particular de nuestro país, más del 75% del agua que se emplea para las actividades productivas y para el uso cotidiano de la población tiene su origen en el subsuelo (Ortiz-Pérez, 2015).

Sin embargo, de acuerdo con la misma fuente, se sabe que apenas poco más del 50% de las aguas residuales de origen doméstico que son vertidas han recibido un tratamiento previo para la remoción de los contaminantes. Este porcentaje resulta aún menor en el caso de las aguas residuales industriales, pues tan sólo alrededor del 30% de las aguas residuales generadas son tratadas en las plantas operadas por las mismas industrias.

De los padecimientos relacionados con el uso y consumo de agua contaminada, las enfermedades infecciosas gastrointestinales y las infecciones respiratorias agudas, son las de mayor incidencia y las que causan más fallecimientos (Pahua, Soto, & Moreno, 2016).

Durante los meses en que se registran las temperaturas más altas, incrementan las enfermedades diarreicas agudas (SSA, 2015a). Dicho momento del año coincide con la temporada alta vacacional, en la que se llevan a cabo un sinfín de actividades, destacando las actividades recreativas acuáticas, ya sea en piscinas públicas o ambientes naturales (CINVESTAV, 2018).

De acuerdo con Gutiérrez (2019), existe evidencia que alerta sobre el riesgo de contraer enfermedades causadas por microorganismos, al momento de realizar tales actividades. Las más comunes son las infecciones en el intestino ocasionadas por la bacteria *E. coli*; infecciones en la piel por *Staphylococcus aureus*, el llamado "pie de atleta" originado por la bacteria *Tinea pedís;* así como infecciones en las vías respiratorias, conjuntivitis, cistitis y gastroenteritis causadas por los adenovirus.

Además, en parques acuáticos se han reportado infecciones agudas del sistema nervioso cental causadas por *Naegleria fowleri*, patógeno que prospera durante la época de verano en aguas templadas y que ocasiona la enfermedad de meningoencefalitis, cuyos síntomas pueden ser dolores de cabeza intensos, fiebre, náuseas, vómito y alteraciones del estado mental (Milenio, 2018). Se ha

comprobado que este organismo infecta al cerebro introduciéndose a través del agua que entra por las cavidades nasales hasta llegar al cerebro (Serrano-Luna, y otros, 2007). De acuerdo con Bennett (2019), los informes de muertes debido a este patógeno han sido más frecuentes en los años recientes.

2.3. El escenario del agua en la Península de Yucatán

La Península de Yucatán posee una superficie continental de 139,897 km², extensión a lo largo de la cual, a causa de la geología y de las condiciones climáticas es evidente la ausencia de cuerpos de agua superficial, sobre todo en la zona norte (Schmitter-Soto, y otros, 2002). Como consecuencia, el aprovechamiento del agua en la región se realiza de forma subterránea a través de cenotes y pozos (CONAGUA, 2015).

Debido a las características del suelo kárstico, alrededor del 85% del agua que precipita se infiltra al subsuelo; mientras que la combinación de las altas temperaturas y la abundante vegetación, generan una rápida evapotranspiración de los escasos cuerpos de agua que llegan a formarse en la superficie (Chávez-Guzmán, 2016). Tales condiciones hidrogeológicas, dan lugar a zonas de descarga que originan los paisajes propios de la región como son los cenotes, grutas y cavernas (INEGI, 2002).

Las estructuras geológicas en la península con mayor influencia en el movimiento del agua subterránea son el Anillo de Cenotes, la Falla de Ticul, la Fractura de Holbox, la Falla de Río Hondo y la Falla de La Libertad (Figura 2) (Perry, Velázquez-Oliman, & Socki, 2003; Bauer-Gottwein, y otros, 2011); cuyos orígenes no se han determinado con precisión, sin embargo, hoy día se relaciona con eventos tectónicos del pasado y con la presencia del Cráter de Chicxulub,

formado a partir de la caída del meteorito en la región hace aproximadamente 66 millones de años (Saavedra, 2018; Torres Díaz, y otros, 2014; Heise, 2013).

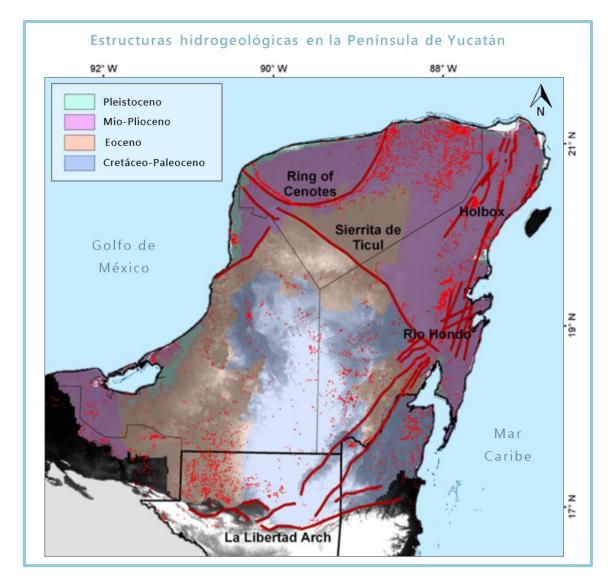


FIGURA 2. PRINCIPALES ESTRUCTURAS HIDROGEOLÓGICAS EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN

Las fallas que determinan los flujos preferenciales del agua se encuentran representadas mediante líneas rojas. Los puntos rojos indican la ubicación de los cenotes. Los colores representan las edades geológicas de la placa continental. Fuente: Tomado y modificado de Bauer-Gottwein y colaboradores (2011).

Considerando la relación población-superficie (4.6 millones de habitantes/165,000 km²), la península se encuentra posicionada en el quinto lugar de un total de trece regiones hidrológico-administrativas en cuanto a menor densidad de población; lo que hace que el grado de presión sobre los

recursos hídricos en el área sea clasificado como bajo (4 498 millones de m³/año) (CONAGUA, 2016; INEGI, 2015a).

Acosta (2016) sostiene que a pesar de que el acuífero recibe una recarga total anual de aproximadamente 25.3 hm³, su aprovechamiento se encuentra limitado a un volumen anual de 7.9 hm³, de los cuales 3.4 hm³ se encuentran concesionados para cubrir la demanda de los sectores agrícola, industrial, público urbano, entre otros (Graniel-Castro, 2011).

Sin embargo, de acuerdo con CONAGUA (2017), la mayor parte del volumen de agua extraída del subsuelo, se destinada principalmente para satisfacer la demanda agrícola en la región (1744 hm³/año); desarrollada sobre todo en al sur del estado de Yucatán y responsable en gran medida de la contaminación del acuífero.

De tal forma que, la principal problemática en cuanto al uso del agua en la Península de Yucatán no se atribuye a la disponibilidad del recurso, sino a la mala calidad del agua (Chávez-Guzmán, 2016).

2.4. El acuífero: un escenario particular

El acuífero de la Península de Yucatán es reconocido a nivel nacional como la gran reserva de agua dulce del país (Rendón, 2016). Del mismo modo, funge como la fuente de agua más importante para llevar a cabo las actividades humanas en la región, destacando las relacionadas con el sector industrial, la agricultura, la ganadería y el turismo (Bautista, 2011). Se trata de un solo acuífero de tipo kárstico conformado principalmente por rocas calcáreas altamente porosas y permeables; susceptibles a una rápida disolución, producto de la

reacción entre el bióxido de carbono (CO_2) y el agua (H_2O) (García-Gil & Graniel-Castro, 2011; Gutiérrez, 2007).

De manera general se sabe que el flujo de agua subterránea en el acuífero avanza desde las zonas de mayor precipitación —ubicadas al sur del estado—hasta la zona costera, lugar en el que se lleva a cabo la descarga natural del acuífero, cerca de las comunidades de Celestún, Dzilam de Bravo y San Felipe (Graniel-Castro, 2011).

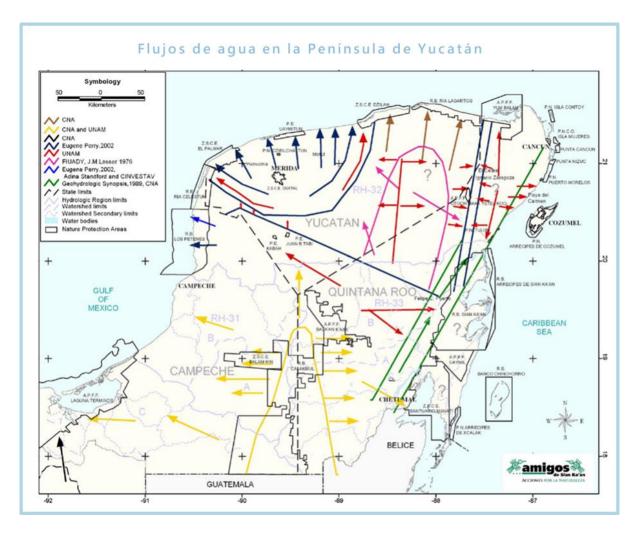


FIGURA 3. PRINCIPALES FLUJOS DE AGUA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN Fuente: Tomado de Bauer-Gottwein y colaboradores (2011).

Para obtener una idea aproximada de cómo se comporta este fenómeno a escala regional, Bauer-Gottwein y colaboradores (2011), dieron a conocer un

mapa de los flujos de agua subterránea, construido a partir del consenso de los resultados obtenidos por diversos expertos, los cuales pueden observarse en la Figura 3.

Es importante mencionar que los espesores y profundidades del nivel freático varían considerablemente a lo largo de toda la península —de más de 100 metros en el interior hasta 0 metros en el litoral, aproximadamente—, lo que indica un sistema subterráneo discontinuo con compartimentos conectados (Perry, Velázquez-Oliman, & Socki, 2003; Bauer-Gottwein, y otros, 2011).

En el año 2002, el INEGI realizó un estudio hidrológico en el estado de Yucatán mediante el cual se lograron identificar variaciones estratificadas en la calidad del agua del manto freático. Los niveles más altos de contaminación se encontraron en la capa superior -20 metros de profundidad aproximadamente-al estar más expuesta a la superficie, contaminación asociada principalmente a las descargas de aguas residuales. Seguida, se estableció una capa de agua dulce -que va de los 20 a los 40 metros- a partir de la cual se extrae la mayor parte del agua en la región considerada de "buena calidad". Después de esa profundidad se localiza la cuña de agua salina.

Sin embargo, la CONAGUA a partir de los resultados obtenidos por la Red Nacional de Monitoreo en el año 2017, aseguró que la calidad del agua en la Península de Yucatán se clasificaba en un rango de aceptable a excelente; evaluación que se realizó únicamente a través de los indicadores de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBOs) y Sólidos Suspendidos Superficiales.

Graniel-Castro (2011), señala que la alta vulnerabilidad del acuífero a la contaminación se debe principalmente a las características del terreno kárstico,

el cual favorece la rápida infiltración de las sustancias contaminantes en la superficie. En relación a lo anterior, un estudio realizado por Aguilar-Duarte y colaboradores (2016), reveló que el nivel extremo de vulnerabilidad a la contaminación se presenta especialmente a lo largo del área del Anillo de Cenotes y en la zona noreste del estado de Yucatán, donde predominan dolinas en contacto con el acuífero (Ver Figura 4).

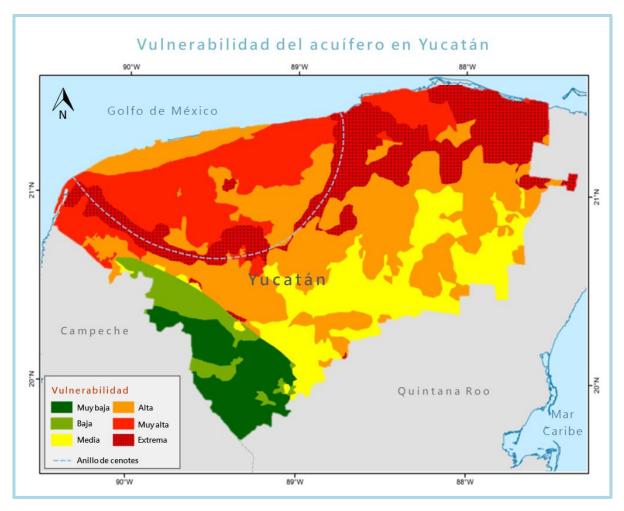


FIGURA 4. VULNERABILIDAD DEL ACUÍFERO KÁRSTICO A LA CONTAMINACIÓN
La vulnerabilidad se determinó considerando el relieve kárstico, las condiciones edáficas y los climas. Fuente: Tomado y modificado de Aguilar-Duarte y colaboradores (2016).

Diversos autores (Andrade Hernández, 2011; Batllori, 2016; Graniel-Castro, 2011) sostienen que, de los principales problemas que causan la contaminación del acuífero, destacan el fecalismo al aire libre en las comunidades rurales, la mala

disposición de los residuos sólidos, el insuficiente tratamiento de las aguas residuales, las fosas sépticas con baja eficiencia, la aplicación de fertilizantes y pesticidas no autorizados, así como de otras sustancias contaminantes.

Dicha contaminación es generada en su mayoría tierra adentro y conducida por medio de afluentes al mar, afectando de igual forma los ecosistemas costeros (INEGI, 2011). De forma inversa, se produce un fenómeno de contaminación desde el mar hacia los cuerpos de agua tierra dentro denominado intrusión salina; el cual consiste en una pérdida del equilibrio entre las cuñas de agua salada y agua dulce en la zona costera, ocasionado entre otras causas, por la sobreexplotación del acuífero (Graniel, Vera, & González, 2004).

2.5. Los cenotes: del maya ts'ono'ot

2.5.1. Características

Los cenotes «del maya *ts ono ot:* caverna de agua» son sistemas complejos y dinámicos, que conforman depresiones kársticas del terreno, muy características del paisaje en la Península de Yucatán (CONANP, 2011). Para que el término "cenote" sea empleado correctamente, Schmitter-Soto y colaboradores (2002), sugieren como condición que la estructura kárstica se encuentre conectada en el interior directamente con el sistema de agua subterránea; mientras que en la superficie, tenga salida al exterior en algún punto.

La formación de los cenotes ocurre a través de una secuencia de eventos geomorfológicos. Beddows y colaboradores (2007) separan estos procesos kársticos en a) disolución, b) colapso y, c) construcción. El primero de ellos consiste en la acción del agua sobre la roca. El segundo mecanismo hace referencia al desplome por falta de soporte, de la estructura kárstica en la

superficie; formando depresiones en el terreno. Finalmente, la construcción no es más que la acumulación del material disuelto en los procesos anteriores, que da origen a estructuras secundarias como estalactitas, estalagmitas y columnas (Ver Figura 5).

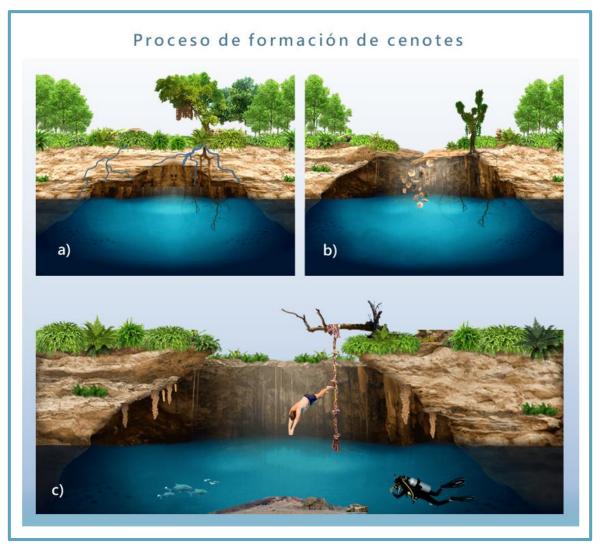


FIGURA 5. PROCESO DE FORMACIÓN DE LOS CENOTES EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN
En la primera imagen, el agua se infiltra a través del karst. Posteriormente, se debilita la
estructura kárstica hasta desplomarse. Finalmente, se forma un nuevo cenote. Fuente:
Elaboración propia. Imagen de base tomada de *Aquaworld* (2015).

Dependiendo de la secuencia y la intensidad con que ocurran los eventos anteriores, se pueden formar distintos tipos de cenotes. Conforme a las características particulares de cada uno, se han propuesto diversas clasificaciones a lo largo del tiempo. La sugerida por Hall (1936) se ha mantenido por diversos

autores hasta hoy día; la cual se encuentra conformada por cuatro categorías: a) cavernas o grutas, b) cántaros, c) verticales y, d) aguadas (Ver Figura 6¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.).



FIGURA 6. TIPOS DE CENOTES EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN

Cenotes tipos: a) cavernas o grutas (en maya: aktún), b) cántaro (ch´e´n), c) vertical (ts´ono´ot) y

d) aguada (akalché). Fuente: Elaboración propia.

Las cavernas o grutas suelen ser cuerpos irregulares, a los cuales se puede acceder en la superficie únicamente a través de pequeñas aberturas. Los cenotes en forma de cántaro se caracterizan por poseer una abertura superior menor al tamaño del lente de agua, de tal modo que las paredes se ensanchan conforme

la profundidad aumenta. Por su parte, los verticales, poseen paredes en forma cilíndrica, confiriéndole a la boca un diámetro de aproximadamente las mismas dimensiones que el lente de agua. Finalmente, los de tipo aguada, son cuerpos de agua que se asemejan a pequeñas lagunas, por lo general de forma ovalada, con poca profundidad (Beddows, Blanchon, Escobar, & Torres, 2007).

2.5.2. Localización

Los cenotes se encuentran distribuidos a lo largo de toda la Península de Yucatán, en una cantidad que no se ha podido determinar con precisión (Maldonado, 2007). Tan solo en el estado de Yucatán, se ha considerado un número que oscila entre los 7000 y los 8000 cenotes (Beddows, Blanchon, Escobar, & Torres, 2007). La mayoría de ellos, localizados en la parte centro-norte del estado, alrededor de la estructura geológica llamada Anillo de Cenotes, una alineación semicircular de casi 200 kilómetros de diámetro, que desemboca en la costa este a la altura de Celestún y en las bocas de Dzilam de Bravo del lado oeste (INEGI, 2002).

2.5.3. Relevancia

La dependencia sobre los cenotes en la región ha sido históricamente crucial (Schmitter-Soto, y otros, 2002). Sin duda, estos cuerpos de agua han sido escenarios de gran relevancia cultural y desde tiempos ancestrales. Para los mayas, el control práctico y simbólico de los cenotes, representaba el poder sobre la vida y la muerte (Rendón, 2016). Por una parte, consideraban a los cenotes, cuerpos de agua virgen donde nacía la vida o *Suhuy ha'*¹; y por otra parte, estos

1 En maya, significa agua pura o agua virgen (Hirose-López, 2008).

35

representaban portales o ventanas a través de los cuales se podía acceder al inframundo, llamado *Xibalba*² (Rojas, 2007).

De allí, que se hayan encontrado en la profundidad de sus aguas, un gran número de vestigios arqueológicos —joyas, textiles, artefactos, fósiles de animales y restos humanos— como resultado de los rituales que se practicaban en su interior (Maldonado, 2007; Ribeiro, 2013).

Además de su importancia sociocultural, los cenotes poseen también gran relevancia ecológica. Desde la antigüedad, el acceso al agua en la región para abastecer las necesidades de la población se hacía a través de los cenotes y de pozos primitivos que permitían el acceso al agua subterránea (Perry, Velázquez-Oliman, & Socki, 2003). En la actualidad, siguen siendo centros de veneración y culto; sin embargo, su principal importancia radica en el sustento que proporcionan a las comunidades rurales como cuerpos abastecedores de agua (Rendón, 2016).

2.5.4. Los cenotes como espacios recreativos

En los últimos años, estos elementos distintivos de la región han logrado obtener un papel muy importante en la oferta turística del estado, gracias a sus atributos escénicos. Cada vez más cenotes han pasado de ser simples elementos naturales a ser atractivos para el consumo turístico (Alvarado-Sizzo, López , & Mínguez, 2018). De acuerdo con Schmitter-Soto y colaboradores (2002), las actividades que se pueden llevar a cabo en estos espacios pueden ser del tipo

2 Xibalba, era la forma en que los mayas llamaban al inframundo, lugar donde moraban los dioses, los antepasados y

demás seres sobrenaturales, ubicado físicamente en el subsuelo, bajo el agua (Rojas, 2007).

36

escénicas —como en el Cenote Sagrado de Chichen Itzá— o las relacionadas con la natación y el buceo; siendo estas últimas las más comunes.

Sin embargo, las actividades recreativas en los cenotes pueden tener efectos negativos en la salud de los turistas, ya que estos contienen mezclas de microorganismos patógenos provenientes de las diversas actividades de origen antropogénico que se llevan a cabo ya sea en el interior de los mismos o en las zonas circundantes, produciendo enfermedades en los humanos (SSA, 2015b).

En el año 2008, se reportaron casos de leptospirosis pulmonar hemorrágica —causados por bacterias del género *Leptospira*— en personas que tenían antecedentes de haber estado expuestas a aguas potencialmente contaminadas de cenotes y cavernas. Los síntomas fueron dolor muscular y de articulaciones, hemorragia pulmonar y fallas respiratorias (Vado Solís, y otros, 2013).

De acuerdo con Salazar (2018), el Instituto Mexicano del Seguro Social del estado de Yucatán ha advertido a los turistas sobre el riesgo de contraer infecciones en cenotes turísticos y parques acuáticos provocadas por diferentes tipos de bacterias u hongos. Muestra de ellos son los casos de otitits —infección del oído— cuyas cifras aumentan durante los periodos vacacionales, cuyos síntomas —en los casos relacionados con aguas recreativas— se presentan 72 horas después de haber realizado actividades de nado.

CAPÍTULO III. MARCO LEGAL E INSTITUCIONAL

Dentro del orden jurídico mexicano, existen distintos instrumentos normativos que regulan el uso, manejo y protección del agua en todo el territorio. En primer lugar, se encuentra la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, máxima norma en términos jurídicos que preside a la nación desde el año 1917 a través de sus artículos constitucionales, en función de los cuales se establecen los demás instrumentos. Posteriormente, respetando la jerarquía del marco legal, debajo de la constitución se encuentran las leyes —así como sus respectivos reglamentos—, quienes regulan directamente el uso y la calidad del agua a nivel nacional.

Finalmente, existen otros instrumentos de regulación a nivel federal como son las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) y las Normas Mexicanas (NMX). Las primeras son regulaciones de carácter obligatorio, elaboradas por dependencias gubernamentales —publicadas en el Diario Oficial de la Federación—, en las cuales se establecen las reglas, requisitos y procedimientos necesarios para llevar a cabo producciones, servicios o actividades. Por su parte, las NMX son normas de aplicación voluntaria en donde se enuncian recomendaciones de parámetros o procedimientos que únicamente sirven de referencia para las actividades, productos o servicios. Estas últimas pueden ser expedidas tanto por entidades gubernamentales como por organismos privados

De todos los anteriormente mencionados, los más relevantes se encuentran enlistados en la Tabla 1 y puntualizados posteriormente.

TABLA 1. INSTRUMENTOS NORMATIVOS APLICABLES CON RELACIÓN AL USO, MANEJO Y PROTECCIÓN DE LOS CENOTES EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN

A NIVEL NACIONAL		A NIVEL ESTATAL			
ARTÍCULOS CONSTITUCIONALES	Artículo No. 4 Artículo No. 27 Artículo No. 115	Artículo No. 85 Bis Artículo No. 85 Ter Artículo No. 86 Artículo No. 96			
LEYES	Ley de Aguas Nacionales Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección del Ambiente Ley de Desarrollo Rural Sustentable Ley Federal de Responsabilidad Ambiental Ley General de Salud Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos	Ley de Protección al Medio Ambiente del Estado de Yucatán Ley de Desarrollo Rural Sustentable del Estado de Yucatán			
REGLAMENTOS	Reglamento De la Ley de Aguas Nacionales	Reglamento de la Ley de Protección al Medio Ambiente del Estado de Yucatán en Materia de Cenotes, Cuevas y Grutas			
Normas	NOM-179-SSA1-1998 NOM-245-SSA1-2010 NOM-001-SEMARNAT-1996 NOM-002-SEMARNAT-1996 NMX-AA-148-SCFI-2008 NMX-AA-042-SCFI-2015				
DECRETOS	_	Decreto número 117 que establece el Área Natural Protegida denominada Reserva Estatal Geohidrológica del Anillo de Cenotes.			

3.1. Marco Legal Nacional

3.1.1. Artículos constitucionales

- Artículo No. 4. Estipula que toda persona tiene derecho a un ambiente sano para su desarrollo y bienestar.
- Artículo No. 27. Establece a la nación como la encargada de regular el aprovechamiento de los elementos naturales susceptibles de apropiación, con objeto de cuidar de su conservación y mejorar las condiciones de vida de la población, para preservar y restaurar el equilibrio ecológico.

Así mismo, en cuanto a las aguas del subsuelo, establece que si bien, podrán ser apropiadas por los dueños de los predios, el Ejecutivo Federal podrá reglamentar su utilización y establecer zonas vedadas cuando lo exija el interés público o cuando se afecte su aprovechamiento.

■ Artículo No. 115. Otorga a los municipios las funciones y servicios públicos relacionados con el tratamiento y disposición de las aguas residuales

3.1.2. Leyes

- Ley de Aguas Nacionales. Regula la explotación, uso, distribución, control, cantidad y calidad de las aguas nacionales.
- Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección del Ambiente. En el capítulo III, sobre la prevención y control de la contaminación del agua y de los ecosistemas acuáticos, puntualiza que corresponde al Estado y a la sociedad prevenir la contaminación del agua en el país, incluidas las del subsuelo.

Así mismo, establece que le compete a la SEMARNAT expedir las normas oficiales mexicanas que se requieran para la prevención y control de la contaminación de las aguas nacionales.

- Ley de Desarrollo Rural Sustentable. En cuanto a la conservación y el mejoramiento de las tierras y el agua dentro de las comunidades rurales, establece que será el Gobierno Federal el encargado de fomentar el uso del suelo más pertinente de acuerdo con sus características y potencial productivo. Por otra parte, menciona que la Comisión Intersecretarial mediante acciones conjuntas con el Consejo Mexicano, promoverá la cultura del cuidado del agua.
- Ley Federal de Responsabilidad Ambiental. Regula la responsabilidad de los daños regulados al ambiente, así como la reparación y compensación de dichos daños; considerando también los valores sociales y económicos.

En las disposiciones generales, comprende dentro de las actividades altamente riesgosas, aquellas que impliquen la generación de sustancias biológico-infecciosas.

■ Ley General de Salud. Establece que el Sistema Nacional de Salud tiene como uno de sus objetivos, atender los factores que condicionen y causen daños a la salud, con especial interés en las acciones preventivas.

En el Capítulo IV, se estipula la extricta prohibición de la descarga de aguas residuales sin el debido tratamiento, a cuerpos de agua de uso humano que conlleven riesgos para la salud pública.

Así mismo, menciona que le corresponde a la Secretaría de Salud emitir las Normas Oficiales Mexicanas aplicables al tratamiento del agua para uso humano; así como establecer criterios sanitarios para la descarga, el tratamiento y uso de aguas residuales o en su caso, para la elaboración de Normas Oficiales Mexicanas ecológicas en la materia.

■ Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Establece que, con el objetivo de prevenir y reducir los riesgos a la salud, se deberá considerar la vulnerabilidad de los seres humanos y demás organismos que se expongan a factores de riesgo como son los agentes infecciosos.

3.1.1. Reglamentos

■ Reglamento de la Ley de Aguas Nacionales. Establece los lineamientos para cumplir con la legislación vigente en materia de protección de la calidad del agua de los acuíferos en sus artículos 7, 143 y octavo transitorio.

3.1.2. Normas Oficiales Mexicanas

- NOM-179-SSA1-1998. Establece los requisitos y especificaciones que deberán observarse en las actividades de control de la calidad del agua para uso humano. En el caso de los estudios microbiológicos, se menciona que éste debe consistir en la determinación de organismos coliformes totales y *E. coli*.
- NOM-245-SSA1-2010. Determina los requisitos sanitarios y calidad del agua que deben cumplir las albercas con el propósito de minimizar o controlar riesgos a la salud de los usuarios. En cuanto a los parámetros microbiológicos, se establece un límite permisible de coliformes fecales menor a 40 NMP/100 ml.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Establece los requerimientos de los límites máximos permisibles en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

■ NOM-002-SEMARNAT-1996. Determina los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbanos y municipales.

3.1.3. Normas Mexicanas

- NMX-AA-148-SCFI-2008. Metodología para evaluar la calidad de los servicios de aqua potable, drenaje y saneamiento.
- NMX-AA-042-SCFI-2015. Metodología de enumeración en aguas naturales y residuales de organismos coliformes, coliformes fecales y *E. coli* mediante el cálculo del número más probable.

3.2. Marco Legal Estatal

A nivel estatal —en el mismo orden jerárquico— existen también reglamentaciones de base en materia de recursos hídricos, aplicables al uso, manejo y protección de los cenotes de uso recreativo. Los más relevantes se mencionan a continuación:

3.2.1. Artículos constitucionales

- Artículo No. 85 bis. Atribuye a los municipios las funciones y servicios públicos referentes al agua potable, tratamiento y disposición de aguas residuales.
- Artículo No. 85 ter. Establece que los municipios deberán converger con las autoridades estatales y federales en materia de salud, turismo y protección al medio ambiente.
- Artículo No. 86. Establece que el Estado deberá "...garantizar el respeto al derecho humano de toda persona de gozar de un ambiente ecológicamente

equilibrado y la protección de los ecosistemas que conforman el patrimonio natural de Yucatán" .

■ Artículo No. 96. Estipula que el Estado deberá incluir dentro de la planeación, mecanismos para el uso racional de los recursos naturales, la salud y el desarrollo sostenible.

3.2.2. Leyes

■ Ley de Protección al Medio Ambiente del Estado de Yucatán. En el Capítulo I, quedan establecidas dentro de los objetivos del artículo primero, las acciones de prevenir y controlar la contaminación del agua en el estado de Yucatán, así como la tarea de establecer los instrumentos mediante los cuales se evaluará la política ecológica.

En el Capítulo II, se exponen cuatro artículos de las disposiciones relativas a la protección de los ecosistemas existentes en los cenotes, grutas y cuevas.

En el capítulo V queda estipulado que cualquier obra o actividad que se realice dentro o alrededor de cenotes, grutas y cuevas, deberá ser autorizada previamente por la misma secretaría.

■ Ley de Desarrollo Rural Sustentable del Estado de Yucatán. Promueve el uso eficiente del agua y su saneamiento para prevenir la contaminación ambiental y sus efectos en la salud humana.

3.1.1. Reglamentos

■ Reglamento de la Ley de Protección al Medio Ambiente del Estado de Yucatán en Materia de Cenotes, Cuevas y Grutas. Establece los lineamientos de regulación para la prevención de la contaminación en las áreas donde se localicen

cenotes, cuevas y grutas. Dentro de las atribuciones del reglamento se encuentran visitas de inspección de las autoridades competentes para verificar el cumplimiento de las disposiciones que en él se plantean.

De los cenotes de uso turístico, en los artículos 15, 16 y 17 quedan establecidos los requerimientos mínimos con los que deberán de contar, así como las obligaciones de los propietarios.

En cuanto al tratamiento de las aguas generadas por los servicios sanitarios en los complejos turísticos, se decreta que éstas deberán ser tratadas por biodigestores sellados, situados a una distancia mínima de setenta y cinco metros fuera del radio que comprende la superficie acuática del cenote.

3.1.2. Decretos

■ Decreto número 117 que establece el Área Natural Protegida denominada Reserva Estatal Geohidrológica del Anillo de Cenotes. Establece una zona de protección en 13 municipios calificados con un amplio potencial para el desarrollo turístico sustentable, por albergar cenotes de gran relevancia desde el punto de vista hidro-cultural —todos ellos correspondientes a la zona de recarga del anillo de cenotes—.

CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA

4.1. Tipo de investigación

Los elementos que deberán ser tomados en cuenta para diseñar la estrategia de muestreo, se contemplarán en función de los objetivos del presente estudio de carácter multidisciplinario, en el cual se pretende determinar la calidad ambiental de los cenotes turísticos de la Península de Yucatán a través de la presencia de los elementos de riesgo a la salud, así como su relación con la normativa aplicable en materia ambiental.

4.2. Criterio de selección de los sitios de estudio

En atención a la problemática expuesta, con el fin de detectar microorganismos patógenos en los cuerpos de agua de uso recreacional de la Península de Yucatán que puedan poner en riesgo la salud de los turistas y de la población en general, se seleccionaron 5 cenotes (ver Figura 7) considerados con afluencia turística en la región: cenote Pájaros (Reserva Ecológica El Corchito), cenote Xlacah (Zona Arqueológica de Dzibilchaltún), cenote X batun (San Antonio Mulix), y los cenotes de Yaxbacaltun y Santa María (Homún).

Así mismo, para la selección de los sitios fueron consideradas otras variables como son la accesibilidad al terreno y la distancia existente entre los sitios de muestreo y el laboratorio de análisis. Lo anterior, con la finalidad de mantener expuesto al material colectado, el menor tiempo posible previamente a su procesamiento.

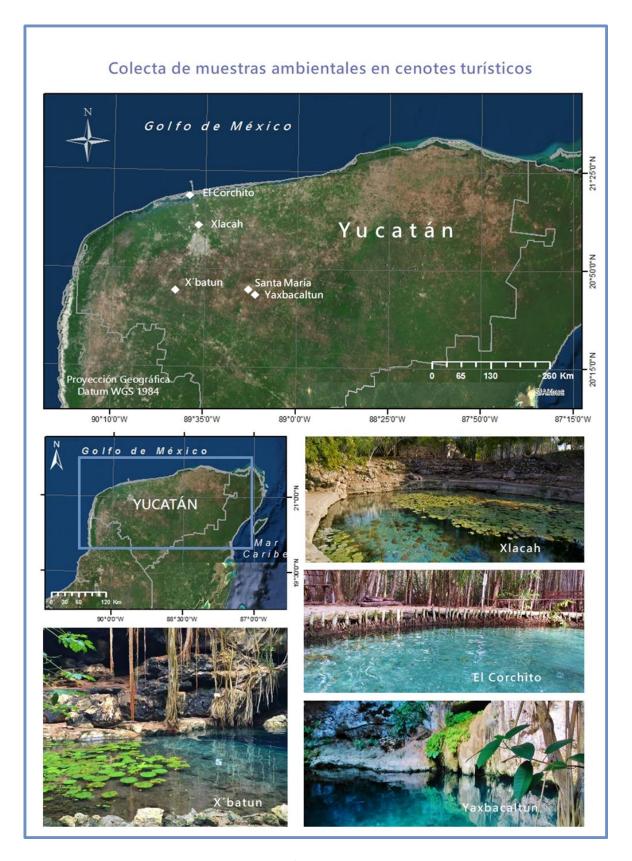


FIGURA 7. LOCALIZACIÓN DE LOS LUGARES DE ESTUDIO

A los sitios les corresponden las siguientes coordenadas geográficas: El Corchito (21°16′58″ N, 89°39′49″ O); Xlacah (21°05′50″ N, 89°35′57″ O); Yaxbacaltun (20°43′55.9″ N, 89°16′18.9″ O'); Santa María (20°44′27.9" N, 89°17′23.456" O) y X'batun (20°40′39.1″ N, 89°46′37.4″ O). Fuente: Elaboración en ArcMap. Imagen satelital: Google Earth. Fotografías propias.

4.2.1. Cenote Pájaros

El cenote Pájaros es el más grande de los tres cenotes y ojos de agua que conforman la Reserva Ecológica El Corchito, un parque recreativo ubicado a 37 kilómetros al norte de Mérida y a tan solo tres kilómetros de Puerto Progreso.

El parador turístico ha tenido varias reestructuraciones administrativas a lo largo del tiempo. A partir de información recabada en trabajos de campo anteriores, se sabe que el sitio fue fundado en 1992 por un grupo de locatarios organizados bajo el concepto de Sociedad de Solidaridad Social (S.S.S).

De acuerdo con Paredes-Pérez y Castillo-Burguete (2018), durante los años en que los socios de la cooperativa estuvieron a cargo del sitio, se llevaron a cabo distintas acciones de rescate ambiental como fueron la reforestación del manglar y el desazolve de manantiales (ver Figura 8).



FIGURA 8. VISTA DEL CENOTE PÁJAROS, RESERVA ECOLÓGICA EL CORCHITO

A partir del año 2015, debido a los constantes conflictos que ocurrían al interior de la administración encargada de la financiación y mantenimiento de la reserva, ésta pasó a ser administrada por CULTUR (Patronato de las Unidades de Servicios Culturales y Turísticos), una entidad paraestatal encargada de impulsar el turismo en el estado de Yucatán.

En los últimos años, el parador ha adquirido un lugar importante en la oferta turística de la región, atrayendo a turistas locales y extranjeros debido a la belleza escénica del sitio (ver Figura 9) —atribuida principalmente a su abundante fauna y vegetación— y en gran parte, gracias a la promoción que el nuevo órgano administrativo ha hecho del lugar como atractivo ecoturístico.

De acuerdo con la página oficial del sitio en Internet, se puede acceder al parador de lunes a domingo por un costo de \$35 MXN.



FIGURA 9. FAUNA DENTRO DE LA RESERVA ECOLÓGICA EL CORCHITO

4.2.2. Cenote Xlacah

El cenote Xlacah se localiza a 21 kilómetros del centro de Mérida, dentro de la Zona Arqueológica de Dzibilchaltún, sobre la carretera Mérida-Progreso. Se trata de un cenote de tipo abierto, de aproximadamente 22 metros de largo por 36 metros de ancho, con una profundidad que varía considerablemente a causa de una cueva que alberga en su interior (ver Figura 10). Este cuerpo de agua posee un valor histórico de suma importancia ya que de las profundidades se han recuperado un sinfín de piezas arqueológicas.

El cenote forma parte de los paradores turísticos administrados por CULTUR, y al tratarse de una zona que alberga vestigios arqueológicos, es también administrado por el Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH).

El costo de admisión para turistas locales y nacionales es de \$97 MXN y \$120 MXN en el caso de turistas extranjeros.



FIGURA 10. VISTA DEL CENOTE XLACAH, ZONA ARQUEOLÓGICA DE DZIBILCHALTÚN

4.2.3. Cenote X'batun

El cenote X'batun (ver Figura 11) se ubica a 45 kilómetros del centro de Mérida, en el poblado de San Antonio Mulix, perteneciente al municipio de Umán. X'batun es uno de los dos cenotes que conforman el Centro Ecoturístico *Xúux Eek'*, operado por la cooperativa de nombre homónimo, fundada por el biólogo Juan Caamal Llan.

Debido a lo cristalina de sus aguas, desde la superficie podría aparentar ser un cenote somero (ver Figura 12), sin embargo, en su interior existe una cueva en la cual se puede descender hasta los 55 metros aproximadamente, de acuerdo a los reportes de la Asociación de Actividades Subacuáticas de Yucatán (2009). Gracias a ello, además de ser un sitio idóneo para practicar actividades tales como el nado y el snorkel, es un espacio favorecedor para las buzos de caverna.



FIGURA 11. VISTA DEL CENOTE X'BATUN, SAN ANTONIO MULIX (A)

Para llegar hasta el cenote X'batun desde la caseta de cobro, es necesario pasar por un tramo de terracería de aproximadamente dos kilómetros, el cual se puede recorrer en automóvil, a pie, o bien a bordo de una bicicleta —transporte que puede alquilarse en el lugar—.

Dentro del portal web del sitio —administrado por la cooperativa *Xúux Eek*— se menciona que la organización a cargo se autoreconoce como una agrupación comprometida con el ambiente, al ofrecer experiencias para convivir en la armonía de la naturaleza, a través de servicios alternativos a las actividades que se pueden llevar a cabo dentro del cenote, como son el hospedaje en cabañas, una zona de acampado, servicio de restaurante y ciclismo de aventura.

El costo de entrada al centro ecoturístico es de \$25 MXN por persona.



FIGURA 12. VISTA DEL CENOTE X'BATUN, SAN ANTONIO MULIX (B)

4.2.4. Cenote de Yaxbacaltun

El cenote de Yaxbacaltun (ver Figura 13) se sitúa a 55 kilómetros de Mérida, dentro del municipio de Homún. El acceso al sitio se realiza a través de un camino de terracería. Se trata de un cenote de tipo vertical de aproximadamente 50 metros de diámetro, al cual se accede mediante una escalera de unos 15 metros de profundidad. La administración del sitio es de tipo privada.

Además de las actividades recreativas que se pueden realizar dentro del cenote, el sitio ofrece otros espacios como son un área de descanso en hamacas, un pequeño espacio de avistamiento de especies endémicas, área de baños y regaderas, un restaurante de comida típica y una zona para rentar equipo de snorkel, kayaks y bicicletas. La cuota de acceso al sitio es de \$30 MXN.



FIGURA 13. VISTA DEL CENOTE YAXBACALTUN, HOMÚN

4.2.5. Cenote de Santa María

El cenote de Santa María (ver Figura 14), se ubica de igual forma dentro del municipio de Homún, a escasas calles del centro del poblado. El cenote es administrado por los dueños del predio en el que se encuentra localizado. El sitio cuenta en el exterior con servicios de baño y alumbrado en el interior de la cueva.

Al tratarse de un cenote tipo gruta, para descender, es necesario apoyarse de una cuerda hasta llegar al interior, guiados por la luz natural que entra a través del pequeño acceso en la superficie, junto a las raíces de un gran árbol. La actividad que más se practica dentro de la gruta es el baño de barro.

El costo de acceso es de \$25 MXN por persona en un horario de 10 de la mañana a 5 de la tarde.



FIGURA 14. VISTA DEL CENOTE SANTA MARÍA, HOMÚN

4.3. Colecta de Muestras Ambientales

Para llevar a cabo el procedimiento de colecta-transporte-conservación de las muestras, se tomaron como base procedimientos establecidos oficialmente, a nivel nacional (Bautista Zúñiga, Palacio Prieto, & Delfín González, 2011). La toma de muestras se efectuó tomando como referencia la NOM-245-SSA1-2010. La conservación de las muestras se realizó con base en la NMX-AA-3-1980.

Las muestras fueron colectadas a una profundidad de 50 cm de la superficie del agua en los lugares donde los turistas se encontraban llevando a cabo actividades de recreación. En cada sitio se colectaron un total de 12 litros de agua, en envases estériles de plástico de 4 litros de capacidad. Con el propósito de no contaminar la muestra, los envases fueron abiertos una vez que se encontraban sumergidos en el agua, y cerrados antes de salir a la superficie.

Subsiguiente a la toma de muestras, con el fin de conservar el buen estado del material genético, se almacenaron a 4°C en un contenedor con hielo durante su traslado vía terrestre a las instalaciones del Laboratorio de Estudios Ecogenómicos en el Parque Científico y Tecnológico de Yucatán, donde se mantuvieron en congelación a -20°C hasta su análisis.

Adicionalmente, de manera *in situ* se registraron con la ayuda de una sonda multiparamétrica a una profundidad aproximada de 50 centímetros, las variables fisicoquímicas de la columna de agua —temperatura (T °C), conductividad eléctrica (CE ms/cm), sólidos totales disueltos (TDS g/l), salinidad (SAL ‰), oxígeno disuelto (DO% y DO mg/l), pH y potencial redox (ORP mV)—.

4.4. Diseño y validación del arreglo

El modelo del microarreglo implementado en el presente estudio de nombre *AFFX-Yucateco*, fue diseñado por el grupo de trabajo de la Dra. Ma. Leticia Arena ³ —médicos, biólogos e informáticos— y construido por la plataforma de *Affymetrix*—compañía líder en la fabricación de estos dispositivos a nivel mundial— a partir de un proyecto enmarcado en la convocatoria *Atención a Problemas Nacionales* financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia (CONACYT).

El microarreglo o microchip de ADN, es un dispositivo que dispone de una superficie sólida en la cual se encuentran inmovilizadas de manera sintética sondas especie-específicas (Vallin, 2007). Particularmente, los microarreglos utilizados en el presente trabajo poseen un total de 38,000 sondas especie-específicas pertenecientes a 270 elementos que fungen como instrumentos para evaluar la calidad ambiental, conformados por 258 microorganismos —en su mayoría agentes etiológicos— y 12 genes de resistencia a antibióticos (ver Anexo D).

Los microorganismos fueron seleccionados por el grupo de expertos siguiendo una serie de criterios que básicamente pretendían estandarizar una lista en la cual se englobaran aquellos microorganismos que fueran considerados un problema de salud pública por generar enfermedades de manera directa en

-

³ Profesora de Carrera Titutlar A de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en Yucatán.

⁴ Segmentos del genoma de microorganismos de interés

la región, siempre que ya se contara con información fidedigna de los mismos en las bases de datos públicas.

La lista de los microorganismos incluyó 37 virus, 29 hongos, 116 bacterias, 11 protozoos, 44 microalgas, 1 artrópodo, 8 nemátodos y 8 platelmintos. De ellos, el 85% se encuentran identificados a través de las sondas como especies y el resto únicamente hasta la categoría taxonómica de género. Esto debido a que, especialmente tratándose de virus y bacterias, existen casos en donde todas las especies englobadas en un mismo género son consideradas patógenas; por lo que bastaría con detectar a través de la categoría taxonómica de género posibles riesgos a la salud humana.

Después de su fabricación se llevó a cabo una validación del dispositivo a través de técnicas *in silico* realizadas por la compañía *Affimetrix* y un equipo de bioinformáticos. Posteriormente, se construyó una muestra de referencia, a partir de una mezcla de cepas de distinta clase y en concentraciones diversas, proporcionadas por el Instituto Nacional de Salud Pública. Lo anterior, con la finalidad de simular el comportamiento de una muestra ambiental.

Una vez validado el dispositivo, se procedió a utilizarlo con las muestras ambientales propias de la investigación, dentro del Laboratorio de Estudios Ecogenómicos, equipado con uno de los lectores de microarreglos más robusto en el mercado, construido también por la compañía *Affimetrix* y único en la región.

4.5. Procesamiento de muestras

El procesamiento de la muestra previo a su inyección en el microarreglo consistió en: a) filtrado, b) extracción de ADN metagenómico, c) electroforesis, d) cuantificación, e) digestión y, f) marcaje (ver Figura 15).

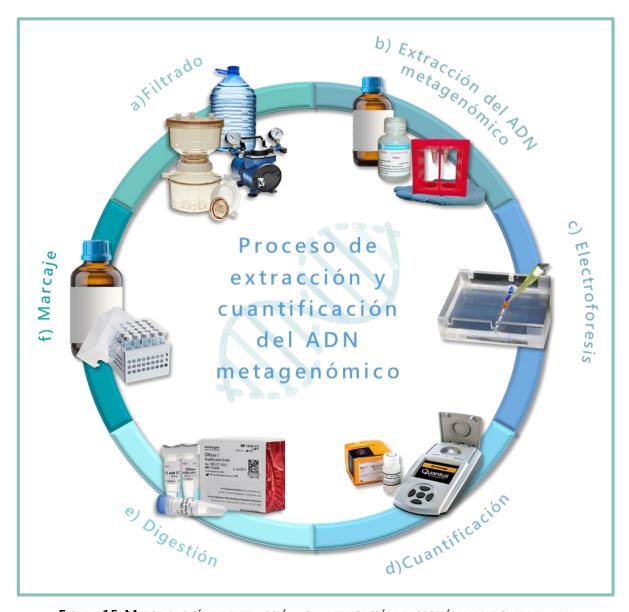


FIGURA 15. METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN, CUANTIFICACIÓN, DIGESTIÓN Y MARCAJE DEL ADN METAGENÓMICO
Elaboración propia.

4.5.1. Filtrado

Para la obtención del ADN metagenómico, las muestras de agua fueron filtradas con la ayuda de una bomba de vacío a través de membranas *MF-Millipore* de 0.45 μm. Una vez concluido el filtrado, las membranas fueron introducidas en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml y conservadas en frío (-20°C) hasta iniciar el proceso de extracción del ADN.

4.5.2. Extracción

La extracción del ADN metagenómico —adherido a las membranas, producto de la filtración— de los microorganismos presentes en las muestras, se realizó utilizando la metodología descrita por Rojas et al. (2008), omitiendo el uso de proteinasa K y RNAsa (ver Anexo C).

4.5.3. Electroforesis

Una vez obtenidos los productos de la extracción, se procedió a realizar una electroforesis para identificar la presencia y la integridad del ADN, en un gel de agarosa al 1%.

4.5.4. Cuantificación

Posteriormente, para la cuantificación del ADN se utilizó el kit QuantiFluor® dsDNA System, siguiendo el protocolo del fabricante.

4.5.5. Digestión

A continuación, se realizó el proceso de digestión (corte) con la enzima DNAsa I, a partir del cual se obtuvieron fragmentos de diferentes pares de bases.

4.5.6. Marcaje

Finalmente, el ADN fue marcado con biotina.

4.6. Hibridación en el arreglo y análisis de datos

El procedimiento que se llevó a cabo para la implementación del microarreglo AFFX-Yucateco, una vez tratada la muestra, estuvo conformado por los siguientes pasos: g) inyección, h) hibridación, i) lavado, y j) lectura y, k) análisis de datos. Estos se encuentran ilustrados en la Figura 16 y explicados con más detalle posteriormente.

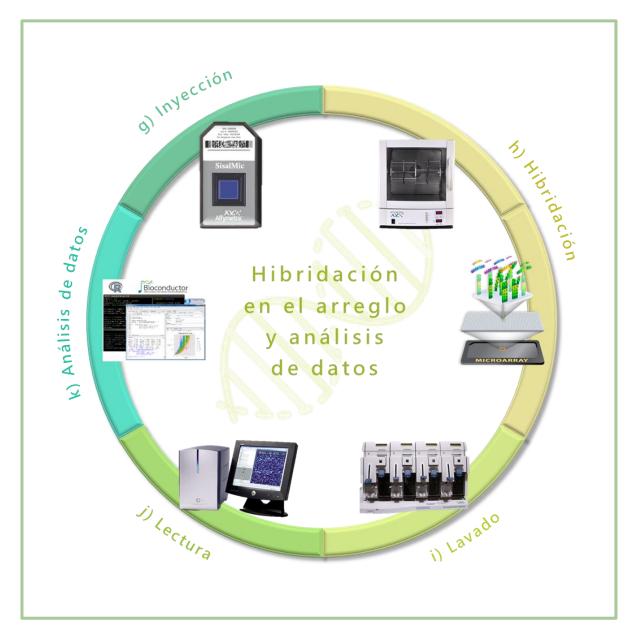


FIGURA 16. METODOLOGÍA DE HIBRIDACIÓN EN EL ARREGLO Y ANÁLISIS DE DATOS Elaboración propia.

4.6.1. Inyección

Como punto de partida, la muestra tratada fue inyectada —a través de un orificio ubicado en la parte posterior del microarreglo con la ayuda de una micropipeta— y sellada para evitar la pérdida del material genético.

4.6.2. Hibridación

Posteriormente, los microarreglos fueron introducidos en un horno de hibridación durante 16 horas a 49°C, en donde los fragmentos de ADN de la muestra hibridaron específicamente a las sondas de ADN complementario inmovilizadas en el microarreglo.

4.6.3. Lavado y tinción

Más adelante, en la estación de fluidos fue lavado todo el material genético que no hibridó en el paso anterior. El material genético hibridado fue teñido.

4.6.4. Lectura y análisis de datos

Para finalizar, el arreglo fue introducido al escáner, el cual utiliza un láser para excitar las moléculas fluorescentes unidas al ADN complementario. Posteriormente, a través de un software, se calculó la intensidad de los pixeles en cada área definida, utilizando la fluorescencia emitida por cada uno de los fragmentos de ADN a cierta longitud de onda. Como resultado, el lector asignó distintos niveles de intensidad en función de la cantidad de fluorescencia emitida, dando como resultado una imagen de puntos con coordenadas y valores de intensidad para cada uno de los puntos en el arreglo. Cuanto mayor fuera la hibridación de un fragmento de alguna especie presente en la muestra con la sonda especie-específica fija en el arreglo, mayor era la fluorescencia detectada por el lector.

Para la interpretación de los resultados, el análisis de los archivos que genera el lector del microarreglo se realizó utilizando los programas incluidos en el paquete *Bioconductor* (https://www.bioconductor.org/) sobre la base operativa de *R* (https://cran.r-project.org/). Se utilizó la librería llamada *makecdfenv* para construir el ambiente de trabajo a partir del archivo tipo CDF. A cada uno de los arreglos de este trabajo se le restó en este algoritmo los valores lumínicos que generó previamente un microarreglo control hibridado sin ADN, como control negativo. Adicionalmente, por convención se restaron todos aquellos valores por debajo del 30% de intensidad luminosa para evitar falsos positivos.

4.7. Clasificación general del monitoreo

En primer lugar, una vez obtenidos los resultados de los agentes etiológicos presentes en los cuerpos de agua, estos fueron clasificados en tres categorías (Ver Figura 17):

- Microorganismos que pueden propiciar el desarrollo de una enfermedad tanto en humanos como en otros organismos (p. ej. mamíferos, peces y plantas).
- 2. Microorganismos que no representan una amenaza para la salud humana pero sí para otros seres vivos.
- 3. Microorganismos incluidos en el microarreglo por su potencial biotecnológico, presentes en las muestras de agua, pero que aún no existe evidencia de que representen una amenaza para la salud.

En función de los objetivos del presente estudio, únicamente fueron tomados en consideración para los siguientes análisis los agentes etiológicos pertenecientes a la primera categoría.

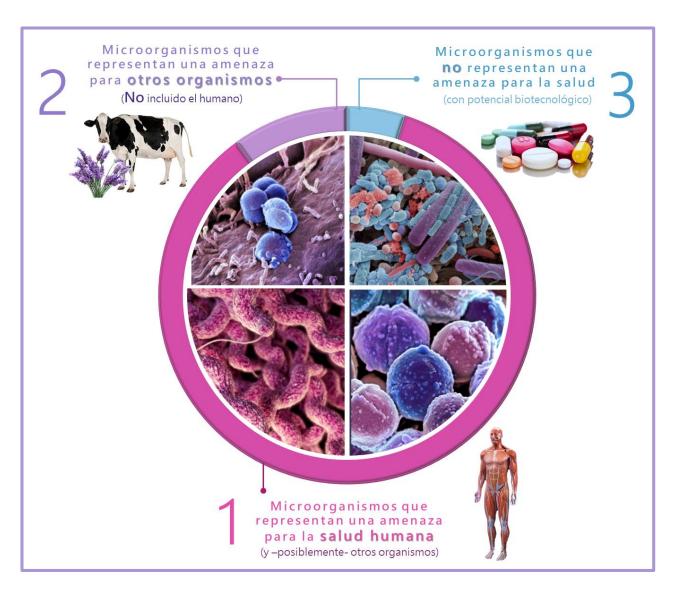


FIGURA 17. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE ACUERDO CON SU POTENCIAL DE RIESGO A LA SALUD Elaboración propia.

4.8. Clasificación de los agentes detectados

Posteriormente, una vez detectados los agentes etiológicos considerados de riesgo a la salud humana, fueron clasificados en función de su taxonomía en las siguientes categorías: a) bacterias, b) virus, c) artrópodos, d) nemátodos, e) platelmintos, f) hongos, g) microalgas y, h) protozoos (ver Figura 18).



FIGURA 18. CLASIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DETECTADOS DE ACUERDO CON SU TAXONOMÍA Elaboración propia.

4.9. Clasificación de las afecciones asociadas

Para señalar las afecciones asociadas a los agentes etiológicos presentes en las muestras, se realizó una búsqueda exhaustiva en las bibliotecas digitales de instituciones especializadas en biología molecular como NCBI — Center for Biotechnology Information— y EMBL — European Molecular Biology Laboratory—; en informes de organizaciones internacionales — p. ej. OMS: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_7.pdf—; en fuentes

oficiales proporcionadas por las instituciones públicas a nivel nacional —SSA, CONAGUA—; así como en libros, artículos y revistas publicados por instituciones académicas.

Como resultado, a cada microorganismo le correspondieron una o más afecciones —dependiendo del caso—, considerando siempre las más referenciadas por la literatura antes mencionada (ver Anexo D).

Posteriormente se clasificaron los padecimientos asociados a los organismos presentes en los cuerpos de agua en las siguientes categorías: a) gastrointestinales, b) respiratorias, c) del sistema nervioso, d) musculares y de los tejidos blandos, e) inmunológicas, f) oftalmológicas, g) cardiovasculares, h) urinarias y, i) otras enfermedades. Esta última categoría engloba padecimientos del tipo auditivos, congénitos y óseos (ver Figura 19).

4.10. Elaboración del análisis de conglomerados

Se realizó un análisis de conglomerados —también llamado *Cluster Analysis*— en el programa *Primer 6*, el cual es una técnica estadística que tiene por objetivo ligar un conjunto de muestras en un número determinado de grupos o conglomerados —*clusters*— empleando una medida de asociación que puede estar dada ya sea por una distancia o una similaridad (Vicente Villardón, 2007).

Tomando en cuenta que en este caso lo que se pretende es conocer la distancia entre las muestras —representadas por los sitios recreativos— con base en variables cualitativas nominales —dadas por nombres de especies presentes o ausentes—, se eligió como medida de asociación a la distancia euclídea, mediante la cual se espera que los grupos resultantes se encuentren formados por individuos parecidos.

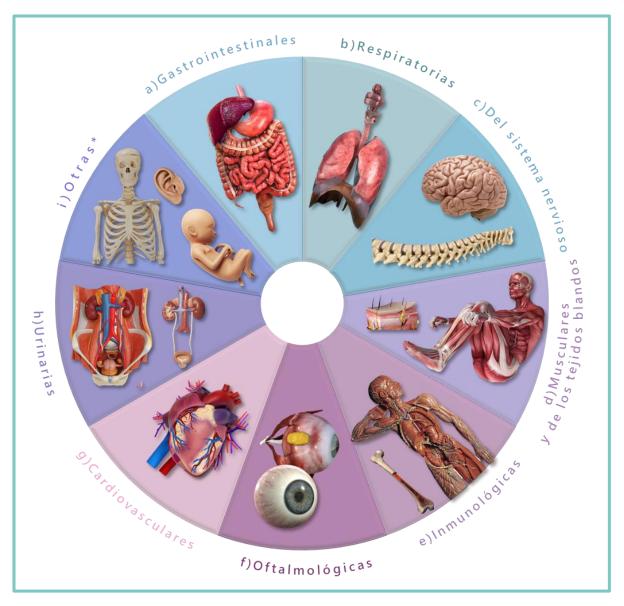


FIGURA 19. CLASIFICACIÓN DE LAS AFECCIONES ASOCIADAS A LOS MICROORGANISMOS Elaboración propia.

Al finalizar el análisis de conglomerados, se obtiene un dendograma, al cual podemos definir como una herramienta visual que nos permite determinar el número de grupos que mejor representan la estructura de los datos, mediante un corte transversal en el gráfico —a partir de un valor determinado arbitrariamente—considerando visualmente la disimilitud existente entre las muestras.

4.11. Selección de instrumentos ambientales

Finalmente, una vez conocidos los principales parámetros que conforme a la ley determinan si un cuerpo de agua es apto o no para realizar actividades recreativas, se buscó proponer nuevos instrumentos ambientales de evaluación de la contaminación microbiológica, con base en los agentes etiológicos detectados, en función de los peligros potenciales de las especies y su posible trazabilidad con fuentes de contaminación.

CAPÍTULO V. RESULTADOS

5.1 Validación del arreglo

En cuanto a la validación del microarreglo —previa a su implementación—, el dispositivo fue capaz de detectar todos los controles contenidos en la muestra de referencia hecha a partir de la mezcla de cepas de distintos agentes etiológicos. Este resultado permitió proceder con la implementación del dispositivo en las muestras del presente estudio (Ver Figura 20).

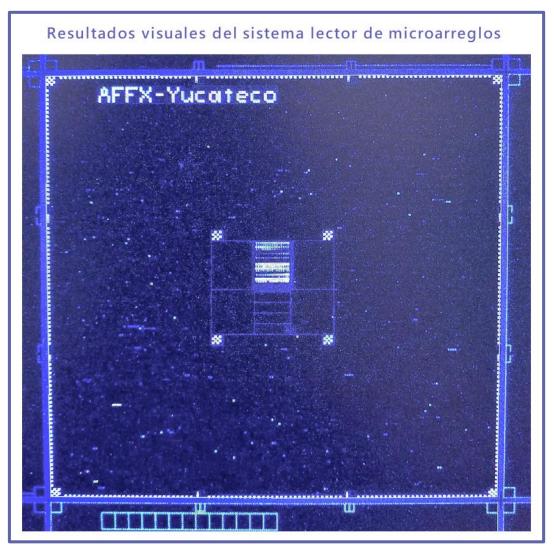


FIGURA 20. FLUORESCENCIA DETECTADA POR EL SISTEMA LECTOR DE MICROARREGLOS La imagen emitida corresponde al cenote Pájaros de la Reserva Ecológica El Corchito.

5.2. Detección y clasificación de microorganismos

Como resultado del filtro de clasificación de los 258 microorganismos contenidos en el arreglo (Anexo D), un total de 240 fueron englobados dentro de la clasificación 1: microorganismos que representan una amenaza para la salud humana —fig. 17—, o bien, definidos en este estudio como agentes etiológicos.

De ellos, fueron identificados el 85% en las muestras de agua de cenotes usados con fines recreativos; es decir, 203 agentes etiológicos. Dicha cifra estuvo compuesta por 90 bacterias, 33 virus, 27 microalgas, 26 hongos, 10 protozoos, 8 nemátodos, 8 platelmintos y 1 artrópodo (ver Figura 21).

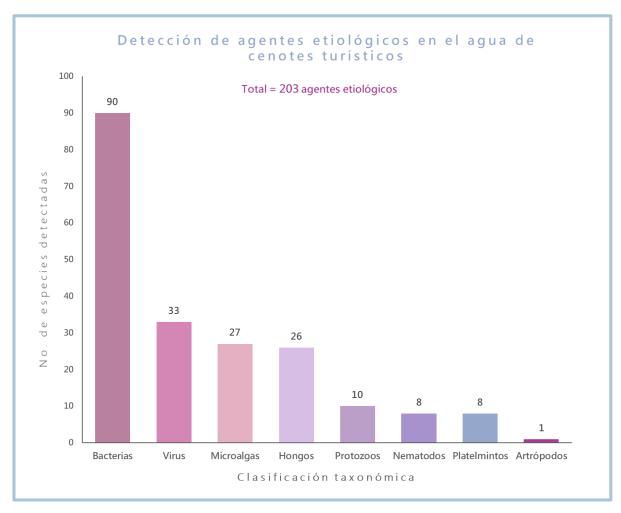


FIGURA 21. NÚMERO DE ESPECIES POR TIPO DE AGENTE ETIOLÓGICO DETECTADO EN LOS CUERPOS DE AGUA DE USO RECREATIVO

Ahora bien, para hablar de número de especies identificadas, fue necesario considerar las situaciones de los agentes etiológicos que se encontraban clasificados hasta el nivel de género, en cuyos casos los resultados arrojaron más de una especie. Teniendo presente lo anterior, se encontraron un total de 222 spp. consideradas de riesgo a la salud; cuya identidad se encuentra señalada al final de las respectivas tablas —conforme a la clasificación— y señaladas en la lista a partir de superíndices para conocer los sitios específicos en donde fueron identificadas (ver Tabla 2 a 9).

TABLA 2. BACTERIAS IDENTIFICADAS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE

No	AGENTE ETIOLÓGICO	У в у S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
1	Acinetobacter baumannii	×	×	×	×
2	 Acinetobacter calcoaceticus 	X	×	X	×
3	 Aeromonas caviae 	×		×	×
4	Aeromonas hydrophila	×	×	×	×
5	 Aeromonas veronii 	×		×	×
6	Alcaligenes sp.	×	×	×	×
7	Anabaena sp.	×	×	×	×
8	Aphanizomenon sp.	×	×	×	×
9	Bacillus anthracis	×			×
10	Bacillus cereus	×	×	×	×
11	Bordetella parapertusis	×	×	×	×
12	Bordetella pertussis	×		×	×
13	Borrelia burgdorferi	×	×		×
14	Borrelia recurrentis	×		×	×
15	 Brucella melitensis 	×			×
16	 Burkholderia cepacia 	×	×	×	×
17	 Burkholderia pseudomallei 	×	X	X	Х

No	AGENTE ETIOLÓGICO	У в у S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
18	Campylobacter coli	X	X	X	Х
19	 Campylobacter fetus 	×	×	×	×
20	 Campylobacter jejuni 	×	×	×	×
21	 Campylobacter laridis 	×		×	
22	• Cedecea lapagei		×	×	×
23	Chlamydia psittaci	×		×	×
24	Chlamydia trachomatis	×	×	×	×
25	 Chlamydophila pneumoniae 	×	×	×	×
26	Clostridium botulinum	×	×	×	×
27	 Clostridium difficile 	×	×	×	×
28	Clostridium perfringens	×	×	×	×
29	Clostridium tetani	×	×	×	×
30	Corynebacterium diphteriae	×	×		×
31	• Coxiella burnetii	×	×	×	×
32	• Ehrlichia canis	×	×	×	×
33	• Ehrlichia spp. + +	X a, b	Χa	X a, b	X a, b
34	• Enterobacter cloacae	×	×	×	×
35	 Enterococcus faecalis 	×	×	×	×
36	 Escherichia coli (ECEH, ECET,ECEP,ECEI,ECEA,ECAD) 	×	×	×	×
37	• Ewingella americana	×	×	×	×
38	• Francisella tularensis	×	×	×	×
39	 Haemophilus influenzae 	×	×	×	×
40	 Haemophilus parainfluenzae 	×	X	Х	Х
41	Helicobacter pylori	×		Х	Х
42	 Klebsiella oxytoca 	×	X	Х	Х
43	Klebsiella pneumoniae	×	X	×	Х
44	• Kocuria rosea	×	X	×	Х

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
45	Leclercia adecarboxylata	X		X	Х
46	 Legionella pneumophila 	×	×	×	×
47	Leptospira alexanderi	×	×	×	×
48	 Leptospira borgpetersenii 	×	×	×	×
49	 Leptospira interrogans 	×	×	×	×
50	 Leptospira kirschneri 	×	×	×	×
51	Leptospira noguchii	×			×
52	Leptospira santarosai	×	×	×	×
53	Leptospira weilii	×	×	×	×
54	Listeria monocytogenes	×	×	×	×
55	 Mannheimia haemolytica 	×	×	×	×
56	 Microcystis aeruginosa 	×	×	×	×
57	 Moraxella catarrhalis 	×	×	×	×
58	Moraxella lacunata	×	×	×	×
59	Mycobacterium avium	×		×	×
60	Mycobacterium chelonae			×	×
61	Mycobacterium kansasii	×	×	×	×
62	 Mycobacterium tuberculosis 	×	×	×	×
63	 Mycobacterium xenopi 	×	×	×	×
64	Neisseria meningitidis	×	×	×	×
65	 Nocardia asteroides 	×	×	×	×
66	Ochrobactrum anthropi	Х	X	×	Х
67	Pantoea agglomerans	Х	X	×	Х
68	• Pasteurella sp.	Х	X	×	Х
69	Plesiomonas shigelloides	Х	X	×	Х
70	Proteus mirabilis	Х	X	×	Х
71	Pseudomonas aeruginosa	Х	X	×	Х

No	AGENTE ETIOLÓGICO	У в у S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
72	Rahnella aquatilis	Х	X	×	Х
73	 Raoultella planticola 	×	×	×	X
74	Rickettsia spp.	×	×	×	X
75	 Salmonella enterica serovar Paratyphi 	×	×	×	X
76	 Salmonella enterica serovar Typhi 	×	×	×	X
77	 Serratia marcescens 	×		×	X
78	• Shigella spp. + + +	X c, e	X c, e	X c, e	X c , d, e
79	Staphylococcus aureus	×			X
80	Staphylococcus haemolyticus	×	×	×	X
81	 Stenotrophomonas maltophilia 	×	×	×	X
82	Streptococcus pneumoniae	×	×	×	X
83	 Trichodesmium erythraeum 	×	×	×	X
84	 Vibrio alginolyticus 	×		×	X
85	 Vibrio cholerae 	×	×	×	X
86	 Vibrio mimicus 	×	×	×	X
87	Vibrio parahaemolyticus	Х		×	X
88	 Vibrio vulnificus 	Х	Х	×	X
89	Yersinia enterocolítica	×	Х	×	X
90	 Yersinia pseudotuberculosis 	×		X	X

33. Se identificaron a) *Erlichia chaffeensis* y b) *Erlichia* sp..
78. Se identificaron c) *Shigella dysenteriae* , d) *Shigella flexneri* y e) *Shigella sonnei*

TABLA 3. VIRUS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
1	 Alphavirus Chikungunya virus 	×		×	X
2	Arenavirus Junin virus	×	×	×	X
3	• Ebolavirus + +	X a, b	Χa	X a, b	X ^{a, b}
4	Enterovirus Human echovirus 30	X	X		Х

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
5	Erythrovirus Human parvovirus	X	Х	Х	Х
6	Hantavirus	X	X	×	Х
7	 Hepacivirus Hepatitis C virus 	X		Х	Х
8	Hepatovirus Hepatitis A virus	×	×	×	×
9	Hepevirus Hepatitis E virus	X		×	×
10	• Human herpesvirus 3	X	X		×
11	• Human herpesvirus + +	X c, d, e	Χq	X c, d, e	X c, e
12	Human papillomavirus			×	×
13	• Influenzavirus + +	X ^{f, g}	X f, g	X ^{f, g}	X f, g
14	Lentivirus Human inmmunodeficiency virus	X	X	×	×
15	Lyssavirus rabies virus	×	×	×	×
16	Mamastrovirus Human astrovirus + + + +	X h, i, j, k	X j, k	Хì	X h, i, j, k
17	Marbugvirus	X	X	×	×
18	Mastadenovirus Human adenovirus	×	×	×	×
19	 Morbillivirus measles virus 	X	X	×	×
20	Norovirus	×	×		×
21	Orthohepadnavirus Hepatitis B virus	X		×	×
22	 Orthopoxvirus Variola major 	×		×	×
23	Orthoreovirus Mammalian orthoreovirus 3	X	X		×
24	Polyomavirus JC polyomavirus	×	×	×	×
25	Respirovirus Human Parainfluenza virus	×			×
26	Respirovirus Human Parainfluenza virus 3	X		Х	Х
27	Rhinovirus Human Rhinovirus	X		Х	Х
28	• Rotavirus Human rotavirus + + +	X I, m, n	X ^{I, m, n}	X I, m, n	X ^{I, m, n}
29	 Rubivirus Rubella virus 	X		Х	Х
30	Rubulavirus Human Parainfluenza virus2	X	X	×	Х
31	Rubulavirus Human Parainfluenza virus4	X			X

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
32	Rubulavirus	×			X
33	Sapovirus	×	×	×	×

3. Se identificaron a) Sudan ebolavirus y b) Zaire ebolavirus

11. Se identificaron c) *Human herpesvirus 2* y d) *Human herpesvirus 3* y e) *Human herpesvirus 8* 13. Se identificaron f) *Influenzavirus A* y g) *Influenzavirus B*

16. Se identificaron h) *Human astrovirus 2*, i) *Human astrovirus 3*, j) *Human astrovirus 4* y k) *Human astrovirus 7*

28. Se identificaron l) *Human rotavirus A* , m) *Human rotavirus B* y n) *Human rotavirus C*

TABLA 4. MICROALGAS IDENTIFICADAS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
1	 Alexandrium catenella 	Х	X	Х	Х
2	 Alexandrium minutum 	X	×	×	X
3	Alexandrium sp.	×	×	×	X
4	 Amphidinium carterae 	×	×	×	×
5	Amphidinium spp.	×		×	X
6	Coolia monotis	×	×	×	×
7	Dinophysis acuminata	×	×	×	×
8	Dinophysis caudata	×	×	×	X
9	Gambierdiscus caribaeus	×	×	×	×
10	 Gambierdiscus toxicus 	×	×		×
11	• Gymnodinium catenatum	×		×	X
12	Karenia brevis	×	×	×	X
13	 Nitzschia longissima 	×	×	×	X
14	Ostreopsis heptagona	×		×	×
15	Prorocentrum concavum	×	×	×	X
16	 Prorocentrum foraminosum 	×	×	×	×
17	Prorocentrum hoffmanianum	×		×	×
18	Prorocentrum lima	×		×	×
19	Prorocentrum mexicanum	Х	X	×	Х

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X 'BATUN	Corchito	XLACAH
20	Prorocentrum minimum	×			
21	Prorocentrum rhathymum	×	×	×	×
22	Prorocentrum sculptile	×	×	×	×
23	Pseudonitzschia calliantha	×	×	×	×
24	Pseudonitzschia cuspidata	×		×	×
25	Pseudonitzschia pungens	×	×	×	×
26	Pseudonizschia delicatissima	×		×	×
27	Pyrodinium bahamense	Х	Х	Х	Х

TABLA 5.. HONGOS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Соксніто	ХІАСАН
1	 Ajellomyces capsulatus 	Х	×	Х	Х
2	Ajellomyces dermatitidis	×	X	X	X
3	Alternaria spp. + + +	X a, b, c	X b, c	X a, b, c	X a, b, €
4	 Aspergillus flavus 	X			
5	Aspergillus niger	×	×	×	×
6	• Aspergillus sp. + +	X d, e	X d, e	X d, e	X d, e
7	 Aureobasidium pullulans 	×	×	X	×
8	Boeremia exigua	×	×	X	×
9	 Candida glabrata 	×	×	X	×
10	 Coccidioides immitis 	×	×	×	×
11	 Coccidioides posadasii 	×	×	X	×
12	• Colletotrichum spp. + +	\times f, g	X f, g	X f, g	X ^{f, g}
13	• Encephalitozoon sp.	×	×	X	X
14	Enterocytozoon bieneusi	×	×	×	×
15	• Fusarium graminearum	×		×	×
16	Fusarium oxysporum	X	X	Х	x

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
17	• <i>Nosema</i> spp.	X			X
18	 Paracoccidioides brasiliensis 	×	×	×	×
19	Penicillium digitatum	×	×	×	×
20	Penicillium italicum	×	×	×	×
21	• Pichia kudriavzevii	×	×	×	×
22	Pleistophora sp.	×	×	×	×
23	Pneumocystis jirovecii	×	×	×	×
24	Saccharomyces cerevisiae	×	×	×	×
25	Trachipleistophora hominis	×	×	×	×
26	 Vittaforma corneum 	×	×	×	×

^{3.} Se identificaron a) *Alternaria alternata,* b) *Alternaria jesenskae,* y c) *Alternaria* sp.6. Se identificaron d) *Aspergillus oryzae* y e) *Aspergillus* sp.

TABLA 6. PROTOZOOS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE

No	AGENTE ETIOLÓGICO	У в у S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
1	• Acanthamoeba spp. + +	Х ^{а, b}	X a, b	X a, b	X a, b
2	Balantidium coli	X		×	X
3	Cryptosporidium parvum	X	×	×	X
4	Cyclospora cayetanensis	X	×	×	X
5	Cystoisospora belli	×	×	×	X
6	Entamoeba histolytica	X		×	X
7	 Giardia intestinalis 	X	×	×	X
8	Naegleria fowleri	X	×	×	X
9	Toxoplasma gondii	X	×	×	X
10	 Trypanosoma cruzi 	X	X	X	X

^{12.} Se identificaron f) Colletotrichum gloeosporioides y g) Colletotrichum boninense

TABLA 7. NEMÁTODOS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	Хьасан
1	• Ancylostoma spp. + +	X a, b	X a, b	X a, b	X a, b
2	Anisakis simplex	×	×	X	X
3	 Ascaris lumbricoides 	×		×	X
4	Dracunculus medinensis	×	×	×	X
5	Enterobius vermicularis	×	×	×	X
6	• Eustrongylides sp.	×	×	×	X
7	Onchocerca volvulus	×	×	×	X
8	Trichuris trichiura	×	×	×	×
	1. Se identificaron a) <i>Ancycloston</i>	na braziliense y	b) <i>Ancyclosto</i>	ma duodenal	

TABLA 8. PLATELMINTOS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE AGUA DE CENOTE

No	AGENTE ETIOLÓGICO	У в у S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH		
1	Diphyllobothrium spp. + +	X a, b	Χa	X a, b	X a, b		
2	• Fasciola gigantica	×	×	×	×		
3	• Fasciola hepatica	×	×	×	×		
4	Nanophyetus salminicola	×		×	×		
5	Schistosoma spp.	×	×	×	×		
6	Taenia saginata	×	×	×	×		
7	Taenia solium	×	×	×	×		
8	• <i>Taenia</i> sp.	×	×	×	×		
1. Se identificaron a) <i>Diphyllobothrium klebanovzkii</i> y b) <i>Diphyllobothrium latum</i>							

Tabla 9. Artrópodos identificados en las muestras de agua de cenote

No	AGENTE ETIOLÓGICO	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
1	Sarcoptes scabiei	X	×	X	X

En cuanto al análisis de los agentes etiológicos por sitio (ver Figura 22), los resultados arrojaron que el valor más alto respecto al número de especies de microorganismos de riesgo a la salud presentes en el agua, se encontró en la muestra correspondiente al cenote Xlacah —ubicado en la zona arqueológica de Dzibilchaltún— con un total de 218 especies. En segundo lugar, con una diferencia mínima, se posicionaron los cenotes de Santa María y Yaxbacaltun, quienes en conjunto presentaron un total de 216 especies de riesgo a la salud. La tercera posición correspondió al cenote Pájaros — ubicado en la Reserva Ecológica El Corchito— con un total de 200 especies; y finalmente, el valor más pequeño se obtuvo en las muestras de agua del cenote X'batun, en donde se detectaron 169 especies.

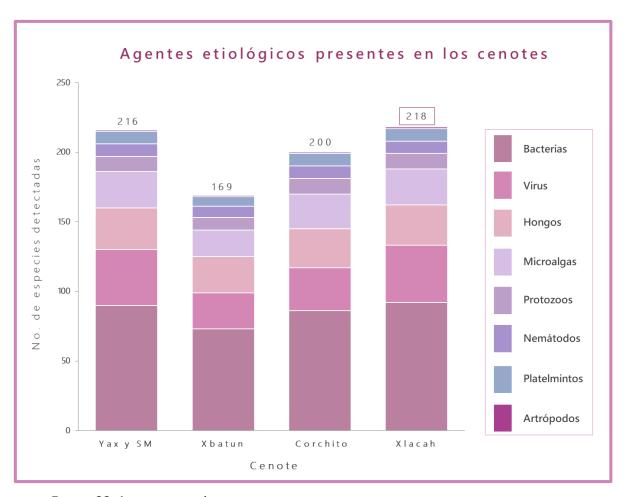


FIGURA 22. AGENTES ETIOLÓGICOS DETECTADOS EN LOS CUERPOS DE AGUA DE USO RECREATIVO: ANÁLISIS POR SITIO

Clasificación de las afecciones asociadas

Respecto a la clasificación de las enfermedades que pueden causar los agentes etiológicos detectados, las afecciones gastrointestinales, del sistema nervioso y respiratorias encabezan la lista de los resultados —con un 27%, 16% y 15% respectivamente—. Por el contario, se halló como las menos frecuentes a las clasificadas como inmunológicas, oftalmológicas y otras —auditivas, congénitas y óseas— (Figura 23).

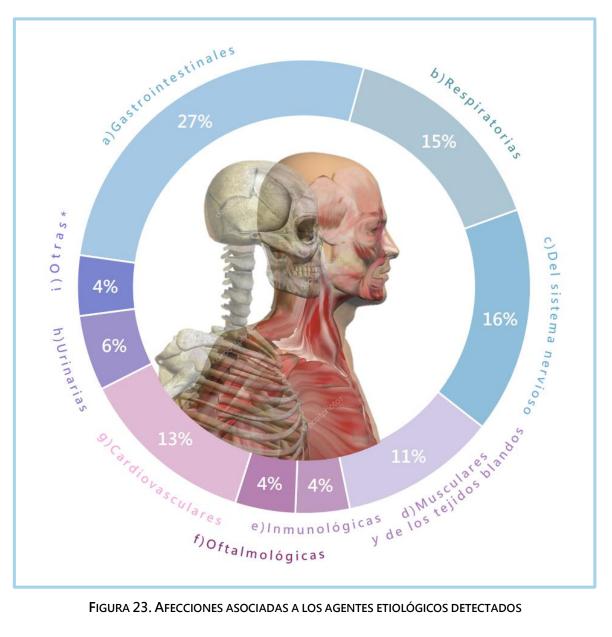


FIGURA 23. AFECCIONES ASOCIADAS A LOS AGENTES ETIOLÓGICOS DETECTADOS

Entre las más frecuentes del primer tipo se encontraron padecimientos como la gastroenteritis, la colitis, la diarrea crónica y la diarrea común. Del segundo tipo predominaron desde síntomas —que no son enfermedades en sí—como la fiebre y el dolor de cabeza, hasta afecciones más graves como son las intoxicaciones por neurotoxinas y los padecimientos cerebrales —p. ej. abscesos, encefalitis—.

En cuanto a las afecciones respiratorias, sobresalieron desde infecciones respiratorias leves hasta padecimientos agudos como la neumonía, la bronquitis y la sinusitis (consultar Anexo D).

Es importante mencionar que un solo agente etiológico puede generar más de una enfermedad. Por lo tanto —en la mayoría de los casos—, se asignó más de un tipo de afección a un solo microorganismo.

En lo concerniente al análisis por sitios, el mayor número de afecciones asociadas se halló en el cenote Pájaros, ubicado en la Reserva Ecológica El Corchito —con un total de 466 afecciones—; seguido por los cenotes Xlacah, Yaxbacaltun y Santa María —todos ellos con 390 afecciones —; y finalmente, el cenote X'batun —con 317 afecciones—.

En todos los casos, se mantuvo la tendencia general, en donde las afecciones gastrointestinales, respiratorias y del sistema nervioso, encabezaron los primeros lugares —con base en la frecuencia— (ver Figura 24).

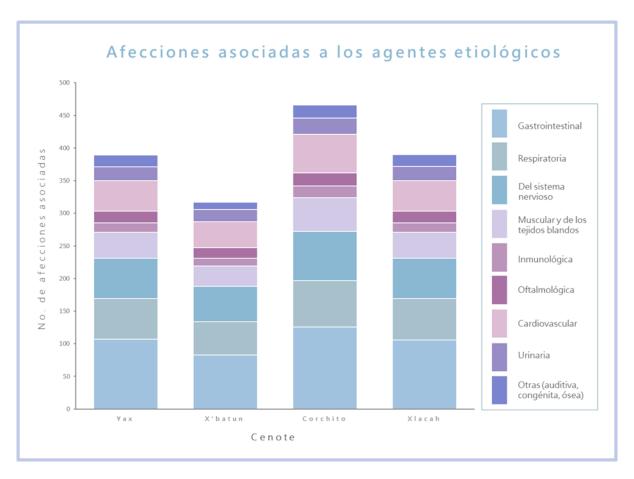


FIGURA 24. AFECCIONES ASOCIADAS A LOS AGENTES ETIOLÓGICOS DETECTADOS POR SITIO

5.4 Determinación de instrumentos ambientales

Considerando que el espectro de detección de agentes etiológicos en el presente estudio fue bastante amplio, se realizó una selección más puntual de aquellos microorganismos que pudieran fungir como instrumentos ambientales dentro de las evaluaciones de riesgos microbiológicos en ambientes acuáticos recreativos. Para ello, fueron considerados los agentes patógenos más comunes relacionados con las enfermedades transmitidas por el agua de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (2011).

Este organismo especializado ha publicado fichas informativas que contienen datos detallados sobre los microorganismos patógenos de acuerdo con historias de caso y estudios epidemiológicos, en los cuales se han

considerado la incidencia y persistencia de los microorganismos, así como la gravedad de las enfermedades que pueden generar. Con base en ello, los microorganismos han sido clasificados en tres grupos: a) de alta importancia para la salud pública, b) de moderada importancia y, c) de baja importancia.

TABLA 10. INSTRUMENTOS AMBIENTALES DE EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DE ALTA IMPORTANCIA PARA LA SALUD PÚBLICA (OMS, 2011)

	F	INFECTIVIDAD	Presencia en muestra			
_	ESPECIE/GÉNERO/GRUPO	RELATIVA	Ү в ү S м	X'BATUN	Corchito	XLACAH
ERIA	Burkholderia pseudomallei	Ваја	√	√	√	√
	Campylobacter coli	Moderada	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Campylobacter jejuni	Ваја	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	● Escherichia coli O157	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
BACTERIA	Francisella tularensis	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Legionella pneumophila	Moderada	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Shigella dysenteriae	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Vibrio cholerae	Ваја	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Norovirus	Alta	√	V		V
	Sapovirus	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
VIRUS	Virus de la hepatitis E	Alta	\checkmark		\checkmark	\checkmark
	Enterovirus	Alta	\checkmark	\checkmark		\checkmark
	Virus de la hepatitis A	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Rotavirus	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
Ркотохоо	Cryptosporidium parvum	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Cyclospora cayetanensis	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Entamoeba histolytica	Alta	\checkmark		\checkmark	\checkmark
	Giardia intestinalis	Alta	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
	Naegleria fowleri	Moderada	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
N ЕМÁТОВО	Dracunculus medinensis	Alta	V	√	√	V

En la Tabla 10, se enlistan aquellos microorganismos comprendidos únicamente dentro de la clasificación de «alta importancia para la salud pública» que fueron detectados —al menos en un sitio— en las muestras ambientales del presente estudio.

La infectividad relativa de cada microorganismo puede variar en alta, moderada y baja. Esta variable ha sido estimada por la OMS a través de evidencia epidemiológica reportada en humanos y animales. Se considera «infectividad alta» cuando la dosis infecciosa va de 1 a 10^2 microorganismos, «moderada» en un rango de 10^2 a 10^4 y «baja» cuando la dosis es menor a 10^4 microorganismos.

Microorganismos de riesgo a la salud dentro de otras clasificaciones taxonómicas como son artrópodos, hongos, microalgas y platelmintos, no aparecen dentro de las fichas informativas de la OMS (2011).

5.5 Análisis de conglomerados

A partir del análisis de conglomerados se obtuvo un árbol de clasificación llamado dendograma, en el cual se utilizó un valor de corte igual a 5 para determinar el grado de disimilitud que existía entre los sitios muestreados con relación a la presencia o ausencia de las especies detectadas.

A partir de dicho valor —elegido considerando la estructura de los datos y el momento evidente en que ocurren los saltos— se logró visualizar el proceso de agrupamiento en dos conglomerados —*clusters*— claramente definidos (ver Figura 25). El primer grupo quedó representado por el cenote X´batun y el segundo grupo por el resto de los cenotes — El Corchito, Xlacah, Yaxbacaltun y Santa María—. Lo anterior, nos indica que los sitios que conforman el segundo grupo son más parecidos entre sí con base en las especies detectadas.

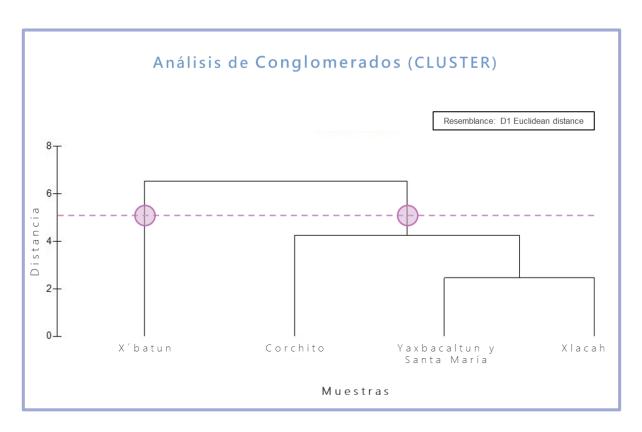


FIGURA 25. ANÁLISIS DE DISIMILITUD ENTRE LOS SITIOS MUESTREADOS

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN

6.1. Sobre los agentes etiológicos

En relación con la detección oportuna de agentes etiológicos, tal como expresan González-De la Cruz y colaboradores (2011), la ausencia de protocolos estandarizados de extracción de ADN metagenómico, limitan el conocimiento de la diversidad microbiana en cualquiera que sea el medio estudiado. En este caso, a través de la estandarización del protocolo para la detección de agentes etiológicos en el agua utilizando microarreglos de ADN, se sumó un éxito en los estudios de genómica ambiental.

Por otra parte, una vez detectados los microorganismos de riesgo a la salud, resulta complicado conocer el origen de las rutas de transmisión, en gran medida por la naturaleza propia de los cuerpos de agua. De igual forma, si el origen se hallase en dichos reservorios, podría tratarse únicamente del inicio de una ruta de infección. Es decir, una vez que el humano ha estado en contacto directo con el agua, éste puede transmitir los agentes infecciosos a otras personas, organismos o al ambiente aumentando la probabilidad de infección.

Aunque las enfermedades relacionadas con las actividades recreativas se transmiten generalmente por la ruta fecal-oral, pueden ocurrir también a través de otras rutas de transmisión como los oídos, ojos, cavidad nasal y tracto respiratorio superior (SSA, 2015b). En cuanto a los efectos de los agentes etiológicos en la salud humana, es importante recordar que estos pueden variar dependiendo de las circunstancias del huésped —p. ej. de la edad y el sexo, el estado de salud y las condiciones de vida—, el organismo infectante en cuestión,

los cambios en el ambiente y en estilo de vida de la población, la aparición de nuevos organismos patógenos o la mutación de los ya existentes (OMS, 2011).

6.2. Sobre las fuentes evidentes de contaminación

En cuanto a las posibles fuentes de contaminación directa, las más evidentes fueron detectadas en el cenote Yaxbacaltun —ubicado en el municipio de Homún— y en el cenote Pájaros —Reserva Ecológica El Corchito—.

En el primero de los anteriormente mencionados, se encuentran construídos en la parte superior de la dolina kárstica, corrales a modo de un pequeño zoológico —albergando ejemplares de fauna local— como parte de las atracciones que se ofrecen a los turistas en el sitio, pese a que, en el artículo octavo del Reglamento de la Ley de Protección al Medio Ambiente del Estado de Yucatán en Materia de Cenotes, Cuevas y Grutas, se encuentre estipulado que:

"[...] Los propietarios o encargados deberán constuir los corrales para animales de granja a una distancia mínima de setenta y cinco metros de los cenotes, cuevas o grutas, para evitar la contaminación del agua por desechos animales, o en su caso a la distancia necesaria para evitar que el estiércol y otros desechos ingresen al interior del cuerpo de agua [...]"

Por su parte, la Reserva Ecológica El Corchito ha sido objeto de estudio de varios trabajos de carácter antropológico-ambiental (Nava-Galindo, 2015; Vázquez & Azahalia, 2016; Paredes-Pérez & Castillo-Burguete, 2018), a partir de los cuales los trabajadores del sitio han manifestado su inconformidad respecto a la actual administración del parador turístico. Consideran, entre otras cosas, que la afluencia de turistas y la derrama económica de los últimos años en la reserva son suficientes para invertir de manera efectiva en el saneamiento del sitio.

Así mismo, sostienen que, desde hace tiempo, perciben severas afectaciones al ambiente generadas principalmente por la contaminación

derivada del mal manejo de los residuos sólidos y el insuficiente tratamiento de las aguas negras en la reserva, particularmente las generadas por las instalaciones sanitarias ubicadas dentro de la zona de recreación, a escasos metros del cenote Pájaros.

La detección de agentes etiológicos relacionados con la infiltración de aguas residuales en el cenote Pájaros, pone en evidencia el problema de contaminación del agua por desechos fecales. De tal forma que no resulta difícil pensar que el problema de contaminación del agua no sea un hecho aislado del cenote Pájaros, sino que éste afecte a toda la reserva —conformada además por ojos de agua—, por la proximidad entre los cuerpos de agua que la conforman y su evidente conectividad en superficie por la unión de canales artificiales.

En lo que respecta a la construcción de las instalaciones sanitarias, en el artículo 23 del reglamento anteriormente mencionado, se establece que:

"[...] Toda construcción e instalación de servicios sanitarios requerirá de un estudio para verificar la dirección de los flujos subterráneos y definir la ubicación de dichos servicios en sitios que no afecten la calidad del agua de los cenotes, cuevas y grutas.

Los módulos sanitarios deberán contar con la infraestructura necesaria para otorgar el servicio, de acuerdo con el estudio de capacidad de carga turística del cenote, cueva o gruta.

Las instalaciones de estos servicios deberán localizarse a una distancia de por lo menos setenta y cinco metros a partir de la boca del cenote, cueva o gruta

Las aguas utilizadas para los servicios sanitarios deberán ser tratadas mediante biodigestores sellados, los cuales estarán situados a una distancia mínima de setenta y cinco metros fuera del radio que comprende la superficie acuática del cenote, cueva o gruta para prevenir su contaminación [...]"

A pesar de estar establecidos los lineamientos anteriores, estos no habían sido cumplidos en los sitios visitados —a excepción del Centro Ecoturístico *Xúux*

Eek' que alberga al cenote X'batun y a la zona arqueológica de Dzibilchaltún, en donde las instalaciones sanitarias se encontraban distantes a los cuerpos de agua—.

6.3. Sobre los instrumentos de política

Normas Oficiales Mexicanas

En lo que respecta a las Normas Oficiales Mexicanas para evaluar la calidad del agua, únicamente la NOM-245-SSA1-2010 —expedida por la secretaría de salud— es aplicable a cuerpos de agua que ofrezcan servicios de esparcimiento.

A manera de introducción, ésta norma establece como finalidad:

"[...] Prevenir y minimizar riesgos a la salud pública por enfermedades gastrointestinales, de la piel y otras, ocasionadas por ingestión, contacto e inhalación de microorganismos patógenos y sustancias químicas en el agua [...]"

Así mismo, dentro del mismo apartado señala que:

"[...] Es necesario llevar a cabo el control y vigilancia de las condiciones sanitarias de operación y mantenimiento de las instalaciones; así como el monitoreo sistematizado de parámetros fisicoquímicos y de microorganismos que determinan la calidad del agua [...]"

Sin embargo, esta norma únicamente es aplicable al agua de albercas⁵ en centros vacacionales, clubes deportivos, balnearios, centros de enseñanza, hoteles, moteles, desarrollos turísticos, parques acuáticos o cualquiera que preste un servicio público. De esta forma, quedan exentas las albercas construidas por encauces naturales; estos últimos definidos por la misma norma como obras

_

De acuerdo a la NOM-245-SSA1-2010, una alberca se define como un estanque artificial de agua construido para facilitar el nado, la recreación, el relajamiento, la enseñanza o entrenamiento deportivo.

dentro de un río o arroyo cuya corriente ha sido modificada con el fin de construir una alberca.

Dentro de la definición de "encauces naturales" no se menciona explícitamente a los cenotes; no obstante, al ser cuerpos de agua naturales abastecidos en términos hidrológicos por el acuífero, podemos considerarlos dentro de dicha clasificación. Por lo tanto, tampoco pueden ser regulados bajo esta norma, puesto que no pueden ser sometidos a la aplicación de productos químicos —como la cloración— para evitar la proliferación de microorganismos patógenos.

Respecto a las metodologías establecidas dentro de las normas para determinar la calidad del agua, llaman la atención las técnicas empleadas, mismas que poseen rangos de detección limitados y tardíos. Sin mencionar la antigüedad de las normas, considerando que en el momento de su creación no se contaba con las herramientas tecnológicas de hoy en día.

Áreas Naturales Protegidas

El caso de Yaxbacaltun y Santa María

En el año 2013, el gobierno publicó en el Diario Oficial de la Federación el decreto que establecía el Área Natural Protegida denominada "Reserva Estatal Geohidrológica del Anillo de Cenotes", comprendida por trece municipios ubicados en una de las zonas más importantes de recarga del acuífero. Bajo esa delimitación únicamente entrarían dentro del área de protección decretada, los

_

⁶ De acuerdo con el decreto, la zona geohidrológica del anillo de cenotes es considerada como la segunda área con mayor densidad de cenotes por kilómetro cuadrado en el estado de Yucatán.

cenotes de Yaxbacaltun y Santa María, por ubicarse fisiográficamente dentro del denominado "círculo de cenotes" .

Sin embargo, tomando en cuenta que el acuífero de la Península de Yucatán puede considerarse como una misma unidad en términos de gestión por estar conectado hidrológicamente, el decreto establece por otra parte que:

"[...] para la gestión integrada del agua en atención a la problemática de la contaminación, además de la zona de recarga del acuífero, deben considerarse los municipios ubicados dentro del área de tránsito y del área de descarga del acuífero [...]"

Bajo tal consideración, pueden adherirse a las acciones de saneamiento de la Reserva, los cenotes Pájaros y Xlacah. El cenote Pájaros por considerarse dentro del área de descarga —al estar ubicado en el municipio de Progreso— y el cenote Xlacah por ubicarse en la zona de tránsito —al situarse en el municipio de Mérida—.

No obstante, como señalan Hernández y colaboradoras (2011), más allá de evaluar la calidad del agua:

"[...] para controlar la elevada morbilidad causada por enfermedades transmitidas por microorganismos, es necesario mejorar la calidad de vida de la población mediante el suministro de agua potable, drenaje, y los servicios básicos que hacen falta sobre todo en comunidades rurales".

El caso de Xlacah

En términos de planeación y regulación, el cenote Xlacah toma relevancia por situarse dentro del Parque Nacional Dzibilchantún, el cual cuenta con un programa de manejo desde el año 2016.

En lo que respecta al cenote, en dicho documento se estableció como resultados a corto y mediano plazo promover la realización de estudios e

investigaciones sobre la calidad del agua, establecer medidas de protección y control del cenote y analizar la factibilidad de un programa de aguas negras. Sin embargo, no fue posible hallar información referente a los resultados de tales actividades.

6.4. Sobre las políticas públicas

De la participación del gobierno

El Gobierno Federal desde el año 2003 lleva a cabo acciones conjuntas a través de las Secretarías de Salud, Turismo y Medio Ambiente y Recursos Naturales para determinar la calidad de agua de uso recreativo en los principales centros turísticos del país.

La Secretaría de Salud en su "Manual Operativo: vigilancia de agua de contacto primario (2015)" argumenta que monitorear la calidad del agua en cuerpos de agua dulce donde los usuarios llevan a cabo actividades recreativas de contacto primario es un factor trascendental para garantizar la protección de la salud de los turistas, incrementar la competitividad del mercado turístico y asegurar el desarrollo sustentable en México.

Por tal motivo, la SSA instauró a la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) como la dependencia federal encargada de llevar a cabo las actividades de vigilancia de la calidad del agua de contacto primario en actividades recreativas a nivel nacional, entre los que se encuentran los cuerpos de agua dulce. Dicha evaluación —conforme al manual— debería ocurrir de forma mensual, preferentemente en los días con mayor afluencia de turistas.

Así mismo, se establece que la determinación de la calidad del agua para determinar la aptitud de estos cuerpos con fines recreativos, se debe realizar conforme la caracterización fisicoquímica y microbiológica de las muestras de agua y su comparación con las normas y estándares de calidad vigentes. Los criterios para clasificar las áreas recreativas en función de la calidad microbiológica se pueden observar en la siguiente tabla:

TABLA 11. CRITERIOS PARA CLASIFICAR LOS CUERPOS DE AGUA DULCE PARA USO RECREATIVO

E. coli (NMP/100 ML)	CLASIFICACIÓN DEL ÁREA RECREATIVA
0-200	Apta para su uso recreativo
>200	No apta para su uso recreativo

^{*} Conforme al Manual Operativo: vigilancia de agua de contacto primario (SSA, 2015)

Con base en dichos criterios, en el caso de que la calidad del agua resultara no apta para su uso recreativo, la periodicidad del muestreo debería cambiar a una frecuencia semanal, hasta que las condiciones del agua se reestablecieran.

Por otro lado, de acuerdo con la Dirección General de Estadística e Información Ambiental, a cargo de la SEMARNAT, esta secretaría efectúa muestreos que permiten desde el año 2005 evaluar la calidad del agua en 5,068 sitios turísticos estratégicos del país —1,080 de ellos en agua subterránea— a través de la Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua, utilizando como principal indicador bacteriológico a los enterococos fecales.

Sin embargo, ambas evaluaciones descritas anteriormente —en el caso de efectuarse—se llevan a cabo únicamente en aguas recreativas marinas. No existen registros de estudios de esta índole realizados por las dependencias

federales en el agua de los cenotes utilizados con fines recreativos en la Península de Yucatán.

A nivel estatal, se han puesto en marcha esfuerzos más puntuales con lo que respecta al presente estudio por parte del gobierno. Por ejemplo, durante el año 2010, el gobierno en turno del estado de Yucatán, presentó una iniciativa de ley que derogaría la Ley de Protección al Medio Ambiente publicada en 1999, con base en una serie de motivos entre los que destacan la necesidad de emitir normas técnicas ambientales para la protección de los cenotes, cuevas y grutas que favorecen el desarrollo sustentable.

En ella, se menciona también la necesidad de crear un fondo ambiental para el fomento de las investigaciones ambientales, la educación y la cultura ambiental, así como la apertura de un mecanismo mediante el cual los ciudadanos podrían denunciar delitos en materia ambiental.

De la participación de otras instancias

Existen también otras instancias de participación que se involucran en la gestión de los recursos hídricos a nivel nacional, como los consejos y comités de cuenca, los comités técnicos de aguas subterráneas (COTAS), el Consejo Consultivo del Agua A. C. (CCA) y la Asociación Nacional de Empresas de Agua y Saneamiento de México A. C. (ANEAS) —por mencionar algunos—.

Dentro de los esfuerzos realizados, se puede destacar la propuesta de regulación presentada por el CCA a la CONAGUA en el año 2017, en donde se expusieron las severas deficiencias existentes en la administración de los organismos encargados de la gestión física del agua, la calidad de los servicios

hídricos y el manejo ambiental. Así mismo, se manifestó la urgencia de contar con mayores facultades de regulación, control y supervisión.

A nivel estatal, colaboran también organismos no gubernamentales, así como entidades de investigación y académicas en el estudio, conservación y gestión de los recursos hídricos. Un ejemplo de participación es la asociación civil *Expedición Grosjean,* quienes llevan a cabo desde el año 1999 labores de saneamiento, limpieza y recuperación de cenotes. A través de su presidente —el arqueólogo Sergio Grosjean— durante varios años han solicitado a las autoridades competentes, la modificación de las leyes aplicables en materia ambiental (EFE, 2019).

Por otra parte, de los centros académicos y de investigación podemos destacar por las investigaciones relevantes llevadas a cabo en el campo de la hidrogeología al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) —Unidad Mérida— a la Unidad Académica de Ciencias y Tecnología de la UNAM en Yucatán (UACyT) y a la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY).

Sin embargo, estos organismos no pueden incidir directamente en la toma de decisiones al no ser considerados como instancias gubernamentales conforme a lo establecido en la Ley de Aguas Nacionales.

De las fuentes de información

En cuanto a las fuentes de información, en lo que concierne al tema de la calidad del agua, de acuerdo con Perevochtchikova (2013) las podemos clasificar en dos grandes categorías: oficiales y alternas. Las oficiales pueden subdividirse

a su vez en internacionales, federales, regionales y estatales. En nuestro país, los secretarías encargadas de generar la información oficial con lo que respecta al tema de la calidad del agua en espacios recreativos, son SEMARNAT —a través de la organismos como la CONAGUA y el IMTA—, SEDUMA y SECTUR.

Si bien, en la fracción III del artículo 86 dentro de la Constitución Política del Estado de Yucatán, se encuentra establecido que:

"[...]toda persona tiene el derecho de acceder a la información actualizada acerca del estado del ambiente, así como de participar en las actividades destinadas a su conservación y mejoramiento [...]"

No existe ningún espacio de consulta —físico o virtual— creado por las entidades oficiales, en donde el turista pueda conocer la situación ambiental del cenote de su interés —contrariamente al caso de las playas—. En cuanto a las publicaciones oficiales sobre calidad del agua, en la mayoría de los casos los registros se encuentran desactualizados o no especifican los métodos a partir de los cuales se obtuvieron los resultados.

Las fuentes alternas, por su parte, hacen referencia a las fuentes generadas por instituciones académicas, organizaciones no gubernamentales (ONG), consultorías y laboratorios certificados. De estas últimas, la academia juega un papel muy importante en la generación de la información, ya que constantemente se encuentra recopilando y publicando información útil y actual. Sin embargo, la limitante de este tipo de información es que se encuentra dirigida a un público muy específico.

CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES

En la Península de Yucatán, los ambientes acuáticos usados con fines recreativos son vulnerables a la contaminación y su condición actual representa un riesgo potencial para la salud de los turistas y la población en general.

Si bien, en el estado de Yucatán existe un gran número de cenotes en superficie, a partir de los cuales tenemos acceso a los recursos hídricos subterráneos, su aprovechamiento se encuentra limitado a causa de la mala calidad del agua. Por ello, se requiere una mejor aplicación de la normativa, así como la implementación de nuevas tecnologías para la detección de agentes etiológicos en muestras ambientales complejas.

La principal ventaja del uso de microarreglos como herramienta para estimar la calidad del agua —en relación con las técnicas tradicionales de biología molecular— es que, a través de uno de estos dispositivos se pueden detectar en un único experimento cientos de microorganismos a través de las secuencias conocidas de ADN, sin pasar por su cultivo. Gracias a ello, esta tecnología proveerá a los tomadores de decisiones bases sólidas para la protección del ambiente y por lo tanto de la salud humana, evitando brotes epidémicos.

Aunque en la actualidad existe un esfuerzo cada vez más notable por parte de diversos actores por atender las problemáticas en relación con el tema de los recursos hídricos; gran parte de la solución al problema de la contaminación del agua dependerá de nuestra capacidad como individuos de trabajar con la naturaleza y no en contra de ella.

PROPUESTA DE MANEJO

A nivel mundial, la diversificación del sector turístico conlleva a la generación de normativas ambientales más estrictas y al aumento de los requerimientos ambientales por parte de los turistas —quienes demandan cada vez estándares más altos de calidad y muestran un mayor interés por conocer las condiciones ambientales de los sitios turísticos de su preferencia— (OMS, 2017a).

Con base en el diagnóstico realizado en el presente trabajo, se puso en evidencia la existencia de alteraciones negativas sobre la calidad ambiental de los ambientes recreativos objeto de estudio, mismas que podrían traducirse en posibles afectaciones en la salud pública. Lo anterior, debido en gran parte a la inadecuada regulación de las actividades antropogénicas que se llevan a cabo en las zonas adyacentes a los espacios de esparcimiento —y las malas prácticas *in situ*—. Sin mencionar la inadecuada aplicación del marco legal ya presentado y las mencionadas políticas públicas inconclusas.

Durante la realización del presente estudio, las actividades turísticas en nuestro país se encontraban respaldadas por el Plan Nacional de Desarrollo 2013-2018 y el Programa Sectorial de Turismo 2013-2018. Ambos mencionaban la necesidad de establecer modelos de desarrollo turístico sustentable, a través de la preservación y el mejoramiento de los recursos naturales y culturales, así como del cumplimiento del marco legal.

En el Plan Nacional de Desarrollo se establecía como necesario:

"[...] Crear instrumentos para que el turismo sea considerado una industria limpia; consolidando así un modelo turístico basado en criterios de sustentabilidad social, económica y ambiental. [...]"

Adicionalmente, se mencionaba lo siguiente:

"[...] Se requiere fortalecer el impacto del turismo en el bienestar social de las comunidades receptoras, para mejorar las condiciones de vida de las poblaciones turísticas [...]".

Por otra parte, dentro del Programa Sectorial de Turismo se estipulaba que:

"[...] La sustentabilidad en el turismo es uno de los principales retos de gestión, cuya tendencia a la masificación conduce a repensar no sólo los patrones de desarrollo de los destinos, sino en los patrones de consumo que exigen destinos más limpios, más seguros y responsables con el medio ambiente [...]"

Actualmente, los lineamientos generales a seguir en materia de turismo y sustentabilidad se encuentran estipulados por los documentos rectores del nuevo gobierno —aprobados por la Cámara de Diputados el presente año—. En esta ocasión, el Plan Nacional de Desarrollo 2019-2024 no incluye al turismo dentro de su lista de actividades prioritarias para impulsar la derrama económica. Sin embargo, en el apartado de los proyectos regionales se hace gran hincapié sobre el Tren Maya, posicionándolo como el proyecto más importante de desarrollo socioeconómico y turismo del presente sexenio. No se lee acerca de turismo en ecosistemas costeros ni en ambientes acuáticos.

En cuanto a la sustentabilidad, únicamente se menciona lo siguiente:

"[...] El gobierno de México está comprometido a impulsar el desarrollo sostenible. El hacer caso omiso de este paradigma no sólo conduce a la gestación de desequilibrios de toda suerte en el corto plazo, sino que conlleva una severa violación a los derechos de quienes no han nacido. Por ello, el ejecutivo federal considerará en toda circunstancia los impactos que tendrán sus políticas y programas en el tejido social, en la ecología y en los horizontes políticos y económicos del país [...]"

Por ello, resulta de suma importancia para la toma de decisiones y el cumplimiento de las políticas públicas nacionales, la elaboración y ejecución de estrategias en conjunto entre los actores involucrados —autoridades competentes, instituciones académicas, organismos no gubernamentales y la población local—, que respondan a la necesidad de realizar un manejo adecuado de los sitios recreativos, con el fin de mantener las condiciones ambientales en niveles permisibles para su uso.

En consecuencia, se han elaborado una serie de propuestas conformadas por objetivos, metas y acciones específicas, definidas en determinados periodos de tiempo, para atender las problemáticas en lo que concierne al uso, manejo y protección de los cenotes —como cuerpos abastecedores de agua y sitios óptimos para la recreación—. Dichas propuestas se enlistan en la siguiente tabla:

TABLA 12. PROPUESTAS DE MANEJO EN RELACIÓN CON EL MONITOREO, EVALUACIÓN, CONTROL Y GESTIÓN DE LOS CENOTES COMO CUERPOS DE USO RECREATIVO

	Objetivo	Objetivo Metas Acciones		Plazo*
Monitoreo	Detectar oportunamente la presencia de agentes etiológicos	Ampliar los parámetros estudiados	Complementar la metodología estandarizada con parámetros fisicoquímicos	Corto
		Ampliar radio de muestreo	Aplicar la metodología empleada en el presente estudio -independiente de cultivo- en el rango ampliado de muestreo	Mediano
			Gestionar la obtención de apoyos financieros para las tareas de monitoreo	Corto
Evaluación		Identificar las posibles fuentes de contaminación microbiológica	Evaluar el manejo de residuos fecales <i>in</i> situ de los espacios de recreación	Corto
	Determinar la aptitud de los		Evaluar las tareas de saneamiento	Corto
	cuerpos de agua para su uso con fines recreativos	Focalizar sitios prioritarios para su evaluación	Detectar focos rojos mediante estudios de caso de las enfermedades -por contacto directo con agua- que predominan en la región	Largo

	Objetivo	Metas	Acciones	Plazo*
Control	Prevenir la contaminación de los cuerpos de agua de uso recreativo	Disminuir los riesgos de transmisión de enfermedades por agentes etiológicos presentes en el agua de cenotes Mantener las condiciones ambientales de los cenotes en niveles permisibles para su uso	Desarrollar y mantener un sistema de indicadores de calidad ambiental	Corto
			Evaluar las labores de control ambiental por parte de la Secretaría competente	Mediano
			Concientizar a los gestores de los sitios turísticos sobre las posibles consecuencias de generar alteraciones negativas en las condiciones ambientales	Mediano
	Fortalecer la toma de decisiones, la	Mejorar la calidad de los destinos turísticos y de los prestadores de servicios	Realizar talleres de capacitación ambiental y cultural dirigidos a los prestadores de servicios	Corto
			Desarrollar herramientas de acreditación como los esquemas de certificación turística o el pago por servicios ambientales	Mediano
			Establecer mecanismos que incentiven a los propietarios/administradores de los sitios a coadyuvar en acciones de control y mitigación de la contaminación	Mediano
			Crear corresponsabilidad entre los pobladores locales y las autoridades competentes en las tareas de gestión ambiental	Mediano
Gestión	coordinación y la planificación		Promover y vigilar las buenas prácticas de higiene en los turistas	Corto
	entre los actores involucrados Mejorar la capacidad institucional y la aplicación del marco legal	Crear un mecanismo mediante el cual los turistas puedan denunciar -a la brevedad- delitos en materia ambiental	Corto	
		capacidad institucional y la aplicación del	Analizar las nuevas políticas públicas del gobierno en turno e identificar posibles vacíos en el marco legal	Corto
			Proponer la modificación de los lineamientos que determinan la aptitud de los cuerpos de agua para su uso con fines recreativos	Mediano
			Corroborar en los cenotes –a modo de inspección- que se estén acatando las restricciones establecidas en el Reglamento de la Ley de Protección al	Corto

	Objetivo	Metas	Acciones	Plazo*
			Medio Ambiente del Estado de Yucatán en Materia de Cenotes, Cuevas y Grutas	
		Mejorar la participación de las instituciones académicas en las tareas de gestión	Promover el uso de instrumentos existentes (p ej. Reglamentos, manuales de buenas prácticas) entre los actores involucrados y asegurar el seguimiento de los mismos	Mediano
			Compartir los resultados obtenidos a través de medios de comunicación accesibles para toda la población	Mediano
			Elaborar material de educación ambiental dirigido a público de diferentes edades	Mediano
			Informar a los tomadores de decisiones sobre la posibilidad de desarrollar nuevos instrumentos de evaluación de la calidad ambiental con base en los datos obtenidos	Mediano

^{*} Un plazo corto se considera de 1 a 2 años; uno mediano de 2 a 5 años; y uno largo aquel mayor a 5 años.

LITERATURA CONSULTADA

- ACOSTA, J. (2016). UNIDADES HIDROLÓGICAS DE LA REGIÓN XII, PENÍNSULA DE YUCATÁN. EN M. CHÁVEZ-GUZMÁN, *EL MANEJO DEL AGUA A TRAVÉS DEL TIEMPO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN* (PÁGS. 48-50). YUCATÁN, MÉXICO: UADY, FGRA, CCPY.
- AGUAWORLD. (2015). AQUAWORLD WATER
 FUN EXPERTS. OBTENIDO DE ¿QUÉ SON
 LOS CENOTES?:
 HTTPS://AQUAWORLD.COM.MX/QUESON-LOS-CENOTES/
- AGUILAR, A., & DURÁN, N. (2010). CONCEPTOS DE CALIDAD DEL AGUA: UN ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO. EN A. AGUILAR-IBARRA, *CALIDAD DEL AGUA. UN ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO* (PÁGS. 11-24). MÉXICO: UNAM, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ECONÓMICAS.
- AGUILAR, A., MAZARI, M., & JIMÉNEZ, B. (2010). EL MARCO JURÍDICO E INSTITUCIONAL PARA LA GESTIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA EN MÉXICO. EN A. AGUILAR-IBARRA, *CALIDAD DEL AGUA. UN ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO* (PÁGS. 281-304). MÉXICO: UNAM, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ECONÓMICAS.
- AGUILAR, A., PÉREZ, R., & ÁVILA, S. (2010).
 SOLUCIONES DE LA TEORÍA ECONÓMICA
 PARA LA CONTAMINACIÓN DEL AGUA. EN A.
 AGUILAR-IBARRA, CALIDAD DEL AGUA. UN
 ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO (PÁG. 221).
 MÉXICO: UNAM, INSTITUTO DE
 INVESTIGACIONES ECONÓMICAS.
- AGUILAR-DUARTE, Y., BAUTISTA, F., MENDOZA, M., FRAUSTO, O., IHL, T., & DELGADO, C. (2016). IVAKY: ÍNDICE DE LA VULNERABILIDAD DEL ACUÍFERO KÁRSTICO YUCATECO A LA CONTAMINACIÓN. REVISTA MEXICANA DE INGENIERÍA QUÍMICA, 15(3), 913-933.
- ALVARADO-SIZZO, I., LÓPEZ, Á., & MÍNGUEZ, M. (2018). REPRESENTACIONES VISUALES DE LOS DESTINOS TURÍSTICOS A TRAVÉS DE INTERNET: EL CASO DE VALLADOLID (MÉXICO). PASOS. REVISTA DE TURISMO Y PATRIMONIO CULTURAL, 16(2), 335-351.
- Andrade Hernández, M. (2011). Transformación de los sistemas naturales por actividades

- ANTROPOGÉNICAS. EN R. DURÁN, & M. MÉNDEZ, *BIODIVERSIDAD Y DESARROLLO HUMANO EN YUCATÁN* (PÁGS. 316-319). MÉXICO: CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.
- ÁRCEGA-CABRERA, F., VELÁZQUEZ-TAVERA, N., FARGHER, L., DERRIEN, M., & NOREÑA-BARROSO, E. (2014). FECAL STEROLS, SEASONAL VARIABILITY, AND PROBABLE SOURCES ALONG THE RING OF CENOTES, YUCATAN MEXICO. JOURNAL OF CONTAMINANT HYDROLOGY (168), 41-49.
- BALAGURUSAMY, N. (2014). METAGENÓMICA: CONCEPTO Y APLICACIONES EN EL MUNDO MICROBIANO. EN M. CUETO, & N. DE LA FUENTE, FRONTERAS EN MICROBIOLOGÍA APLICADA (PÁGS. 185-207). MÉXICO: AUTONOMOUS UNIVERSITY OF COAHUILA.
- BATLLORI, E. (2016). CONDICIONES ACTUALES DEL AGUA SUBTERRÁNEA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. EN M. CHÁVEZ-GUZMÁN, EL MANEJO DEL AGUA A TRAVÉS DEL TIEMPO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN (PÁGS. 201-227). YUCATÁN, MÉXICO: UADY, FGRA, CCPY.
- Bauer-Gottwein, P., Gondwe, B., Charvet, G., Marín, L., Rebolledo-Vieyra, M., & Merediz-Alonso, G. (2011). Review: The Yucatán Peninsula karst aquifer, Mexico. *Hydrogeology Journal*, 507-524.
- BAUTISTA ZÚÑIGA, F., PALACIO PRIETO, J., & DELFÍN GONZÁLEZ, H. (2011). TÉCNICAS DE MUESTREO PARA MANEJADORES DE RECURSOS NATURALES. SEGUNDA EDICIÓN. MÉXICO: CENTRO DE INVESTIGACIONES EN GEOGRAFÍA AMBIENTAL. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
- BAUTISTA, F. (2011). VULNERABILIDAD Y RIESGO DE CONTAMINACIÓN DE LAS AGUAS SUBTERRÁNEAS EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. *TROPICAL AND SUBTROPICAL AGROECOYSTEMS*, 13(2), VII-VIII.
- Beddows, P., Blanchon, P., Escobar, E., & Torres, O. (2007). Los cenotes de la Península de Yucatán. *Arqueología Mexicana*, *83*(14), 32-35.

- BENNETT, C. (2019). 5 COSAS QUE DEBES SABER SOBRE LA AMEBA "COME CEBREBROS". CNN. OBTENIDO DE HTTPS://CNNESPANOL.CNN.COM/2019/07/26/NO-ENTRES-EN-PANICO-5-COSAS-QUE-NECESITAS-SABER-SOBRE-LA-AMEBA-COME-CEREBROS/
- BOTELLO, A., VILLANUEVA, S., & PONCE, G. (2010).

 LA CONTAMINACIÓN DE LAS COSTAS MEXICANAS. EN A. AGUILAR-IBARRA, CALIDAD DEL AGUA. UN ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO (PÁGS. 79-120).

 MÉXICO: UNAM, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ECONÓMICAS.
- CAMACHO, A., GILES, M., ORTEGÓN, A., PALAO, M., SERRANO, B., & VELÁZQUEZ, O. (2009).
 TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS. 2A ED.
 MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES, COLIFORMES FECALES Y ESCHERICHIA COLI POR LA TÉNICA DE DILUCIONES EN TUBO MÚLTIPLE (NMP).
 MÉXICO: FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.
- CÁMARA DE DIPUTADOS DEL H. CONGRESO DE LA UNIÓN. (1992). LEY DE AGUAS NACIONALES. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN (ÚLTIMA REFORMA PUBLICADA DOF 11-08-2014).
- CÁMARA DE DIPUTADOS DEL H. CONGRESO DE LA UNIÓN. (2003). LEY GENERAL PARA LA PREVENCIÓN Y GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RESIDUOS. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN (ÚLTIMA REFORMA PUBLICADA DOF 19-01-2018).
- CCA. (2017a). PANORAMA DEL AGUA EN EL MUNDO. OBTENIDO DE CONSEJO CONSULTIVO DEL AGUA, A.C.: HTTP://WWW.AGUAS.ORG.MX/SITIO/INDE X.PHP/PANORAMA-DEL-AGUA/AGUA-EN-EL-MUNDO
- CCA. (2017B). PANORAMA DEL AGUA EN MÉXICO.

 OBTENIDO DE CONSEJO CONSULTIVO DEL
 AGUA, A.C.:

 HTTP://WWW.AGUAS.ORG.MX/SITIO/INDE
 X.PHP/PANORAMA-DELAGUA/DIAGNOSTICOS-DEL-AGUA
- Ceballos, A. (2016). Propuestas de una agrupación campesina en torno al aprovechamiento de la sabiduría Maya ancestral para un mejor manejo del agua. En M. Chávez-Guzmán, *El manejo del agua a través*

- DEL TIEMPO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN (PÁGS. 290-303). YUCATÁN, MÉXICO: UADY, FGRA, CCPY.
- CEBALLOS-UC, J. (2009). XUUX EEK, ECOTURISMO A LA VUELTA DE LA ESQUINA. *ARTÍCULO 7*.
- CERVERA-MONTEJANO, M. (2011). CONTEXTO SOCIAL Y ECONÓMICO. ESCENARIO HISTÓRICO-SOCIAL. SALUD Y BIODIVERSIDAD: RELACIONES Y SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA. EN R. DURÁN, & M. MÉNDEZ, BIODIVERSIDAD Y DESARROLLO HUMANO EN YUCATÁN (PÁGS. 85-89). MÉXICO: CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.
- Chávez-Guzmán, M. (2016). *El manejo del AGUA A TRAVÉS DEL TIEMPO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN.* YUCATÁN: UADY, UCS, CCPY, FGRA.
- CINVESTAV. (2018). UNAM GLOBAL. OBTENIDO

 DE RIESGOS AL NADAR EN AGUAS

 CONTAMINADAS DURANTE LAS

 VACACIONES: RIESGOS AL NADAR EN

 AGUAS CONTAMINADAS DURANTE LAS

 VACACIONES
- CM. (2017). CALIDAD MICROBIOLÓGICA.
 OBTENIDO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO:
 COLIFORMES FECALES:
 HTTP://WWW.CALIDADMICROBIOLOGICA.C
 OM.CO/MICROBIOLOGIA/COLIFORMESFECALES
- COLPOS. (2016). COLEGIO DE POSTGRADUADOS.

 OBTENIDO DE MARCO NORMATIVO
 DEFINICIÓN:

 HTTPS://WWW.COLPOS.MX/WB/INDEX.PH
 P/MARCO-NORMATIVO
- CONAGUA. (2015). *NUM3RAGUA MÉXICO* 2015. COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA.
- CONAGUA. (2016). ATLAS DEL AGUA EN MÉXICO.
 SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y
 RECURSOS NATURALES.
- CONAGUA. (2017). ESTADÍSTICAS DEL AGUA EN MÉXICO. EDICIÓN 2017. MÉXICO: SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. RECUPERADO EL 2018 DE 08 DE 23, DE WWW.GOB.MX/CONAGUA
- CONANP . (2011). SECRETARÍA DE DESARROLLO URBANO Y MEDIO AMBIENTE. OBTENIDO DE PROYECTO: SANEAMIENTO Y MANEJO INTEGRAL DE CENOTES (SITIO RAMSAR

- ANILLO DE CENOTES):
 HTTP://WWW.SEDUMA.YUCATAN.GOB.MX/
 CENOTESGRUTAS/DOCUMENTOS/PROYECTO_SANEA
 MIENTO_Y_MANEJO_ESPECIAL_DE_CENOTE
 S.PDF
- CONAPO. (2015). PROYECCIONES DE LA POBLACIÓN DE MÉXICO 2015. MÉXICO: CONSEJO NACIONAL DE POBLACIÓN.
- CORTINA, S., BRACHET, G., IBÁÑEZ, M., & QUIÑONES, L. (2007). *OCÉANOS Y COSTAS.*ANÁLISIS DEL MARCO JURÍDICO E INTRUMENTOS DE POLÍTICA AMBIENTAL EN MÉXICO. MÉXICO: SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. INSTITUTO DE ECOLOGÍA.
- Diario Oficial de la Federación. (2004).

 **Decreto por el que se reforman, adicionan y derogan diversas disposiciones de la Ley de Aguas Nacionales. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. (2007).

 ACUERDO POR EL QUE SE DETERMINA LA CIRCUNSCRIPCIÓN TERRITORIAL DE LOS ORGANISMOS DE CUENCA DE LA COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA. MÉXICO: SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES.
- EFE. (2019). CENOTES EN MÉXICO, CONTAMINADOS Y SIN POLÍTICAS PÚBLICAS PARA SU CUIDADO. PULSO. DIARIO DE SAN LUIS. OBTENIDO DE HTTPS://PULSOSLP.COM.MX/NACIONAL/C ENOTES-EN-MEXICO-CONTAMINADOS-Y-SIN-POLITICAS-PUBLICAS-PARA-SU-CUIDADO/940111
- ESPINOSA, A., AGUILAR, M., & MAZARI, M. (2010).

 CALIDAD, UNA LIMITANTE MÁS PARA LA
 DISPONIBLIDAD DEL AGUA. EN A. AGUILARIBARRA, CALIDAD DEL AGUA. UN ENFOQUE
 MULTIDISCIPLINARIO (PÁGS. 25-54).
 MÉXICO: UNAM, INSTITUTO DE
 INVESTIGACIONES ECONÓMICAS.
- FCA. (2016). CONTAMINACIÓN DEL AGUA. MÉXICO.

 OBTENIDO DE FONDO PARA LA
 COMUNICACIÓN Y LA EDUCACIÓN
 AMBIENTAL, A.C., MÉXICO:
 HTTPS://AGUA.ORG.MX/CONTAMINACION
 -DEL-AGUA/

- Febles-Patrón, J., Nava-Galindo, V., & Hoogesteijn-Reul, A. (7 de diciembre de 2015). La contaminación fecal en cenotes de interés turístico y recreacional del estado de Yucatán. (U. A. Yucatán, Ed.) *Ingeniería. Revista Académica, 19*(3), 169-175.
- Gallareta, T. (2007). Cenotes y asentamientos humanos en Yucatán. *Arqueología Mexicana*(83), 36-46.
- GARCÍA-GIL, G., & GRANIEL-CASTRO, E. (2011).

 CONTEXTO FÍSICO: GEOLOGÍA. EN R.

 DURÁN, & M. MÉNDEZ, BIODIVERSIDAD Y

 DESARROLLO HUMANO EN YUCATÁN

 (PÁGS. 4-6). MÉXICO: CICY, PPD-FMAM,

 CONABIO, SEDUMA.
- GIAMPAOLI, S., & ROMANO SPICA, V. (2014).

 HEALTH AND SAFETY IN RECREATIONAL
 WATERS. BULL WORLD HEALTH ORGAN,
 2(92), 79.
- GÓMEZ-DUARTE, O. (2018). CONTAMINACIÓN DEL AGUA EN PAÍSES DE BAJOS Y MEDIANOS RECURSOS, UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA. REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA, 66(1).
- GONZÁLEZ-DE LA CRUZ, U., DELFÍN-GONZÁLEZ, H.,
 DE LA CRUZ-LEYVA, M., ROJAS-HERRERA,
 R., & ZAMUDIO-MAYA, M. (2011).
 PROTOCOLO PARA LA EXTRACCIÓN DE
 ADN METAGENÓMICO BACTERIANO DEL
 LANGOSTINO MACROBRACHIUM
 CARCINUS L. TROPICAL AND SUBTROPICAL
 AGROECOSYSTEMS, 14(3).
- Graniel, E., Vera, I., & González, L. (2004).

 Dinámica de la interfase salina y calidad del agua en la costa nororiental de Yucatán. *Ingeniería. Revista Académica, 8*(3), 15-25.
- Graniel-Castro, E. (2011). Contexto Físico: Hidrología. En R. Durán, & M. Méndez, *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán* (págs. 12-13). México: CICY, PPD.FMAM, CONABIO, SEDUMA.
- GUTIÉRREZ, J. (2019). CONTAMINACIÓN EN ALBERCAS: ESTO ES EN LO QUE ESTÁS NADANDO. EL HERALDO DE MÉXICO. OBTENIDO DE HTTPS://HERALDODEMEXICO.COM.MX/TEN DENCIAS/CONTAMINACION-EN-ALBERCAS-ESTO-ES-EN-LO-QUE-ESTAS-NADANDO/

- GUTIÉRREZ, M. (2007). BIOLOGÍA Y CALIDAD DEL AGUA DEL ACUÍFERO NORTE DE QUINTANA ROO. *TEORÍA Y PRAXIS*(3), 135-141.
- HALL, F. (1936). PHYSICAL AND CHEMICAL SURVEY OF CENOTES OF YUCATAN. EN A. PEARSE, C. HUBBS, E. CREASER, & F. HALL, THE CENOTES OF YUCATAN: A ZOOLOGICAL AND HYDROGRAPHIC SURVEY (PÁGS. 5-16). WASHINGTON: CARNEGIE INSTITUTE OF WASHINGTON.
- HEISE, L. (2013). DYNAMICS OF THE COASTAL KARST AQUIFER IN NORTHERN YUCATÁN PENINSULA. SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO: AGENDA AMBIENTAL.
- HERNÁNDEZ CORTÉS, C., AGUILERA ARREOLA, M., & CASTRO ESCARPULLI, G. (2011). SITUACIÓN DE LAS ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES EN MÉXICO. ENFINE MICROBIOL, 31(4), 137-151.
- HERNÁNDEZ FLORES, C. (2018). OCURRENCIA DE NOROVIRUS, VIRUS DE HEPATITIS A Y REOVIRUS EN CUERPOS DE AGUA DEL NORTE DE QUINTANA ROO: PREDICCIONES DE RIESGOS PARA LA SALUD. CANCÚN, QUINTANA ROO: CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A.C..
- HERNÁNDEZ, L., & ORTEGA, D. (2016). EL AGUA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. EN M. CHÁVEZ-GUZMÁN, EL MANEJO DEL AGUA A TRAVÉS DEL TIEMPO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN (PÁGS. 35-47). YUCATÁN, MÉXICO: UADY, FGRA, CCPY.
- Hirose-López, J. (2008). El ser humano como eje cósmico: Las concepciones sobre el cuerpo y la persona entre los mayas de la región de los Chenes, Campeche.
 Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- INEGI. (2002). ESTUDIO HIDROLÓGICO DEL ESTADO DE YUCATÁN. AGUASCALIENTES, AGS.: INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, GEOGRAFÍA E INFORMÁTICA.
- INEGI. (2015A). *CUÉNTAME INEGI*. OBTENIDO DE SOBREEXPLOTACIÓN Y CONTAMINACIÓN: HTTP://CUENTAME.INEGI.ORG.MX/TERRITO RIO/AGUA/SOBREEXPLOTA.ASPX?TEMA=T
- INEGI. (2015b). *RESULTADOS DEFINITIVOS DE LA ENCUESTA INTERCENSAL 2015.* MÉRIDA, YUCATÁN: INSTITUTO NACIONAL DE

- ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA. BOLETÍN DE PRENSA NÚM. 530/15.
- Jiménez, B. (2010). Soluciones tecnológicas a la contaminación del agua. En A. Aguilar-Ibarra, *Calidad del agua. Un enfoque multidisciplinario* (págs. 177-198). México: UNAM, Instituto de Investigaciones Económicas.
- MALDONADO, R. (2007). CENOTES Y ASENTAMIENTOS HUMANOS EN YUCATÁN. *ARQUEOLOGÍA MEXICANA* (83), 36-43.
- Maldonado, R. (2007). El cenote Xlacha Dzibilchaltún, Yucatán. *Arqueología Mexicana* (83), 46-49.
- MÉNDEZ NOVELO, R., CASTILLO BORGES, E., VÁZQUEZ BORGES, E., BRICEÑO PÉREZ, O., CORONADO PERAZA, V., PAT CANUL, R., & GARRIDO VIVAS, P. (2009). ESTIMACIÓN DEL POTENCIAL CONTAMINANTE DE LAS GRANJAS PORCINAS Y AVÍCOLAS DEL ESTADO DE YUCATÁN. INGENIERÍA, 13(2), 13-21.
- MÉNDEZ, R. (2011). CONTEXTO SOCIAL Y ECONÓMICO. POBLACIÓN Y REGIONALIZACIÓN. LA SALUD EN YUCATÁN. EN R. DURÁN, & M. MÉNDEZ, BIODIVERSIDAD Y DESARROLLO HUMANO EN YUCATÁN (PÁGS. 82-84). MÉXICO: CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.
- MILENIO. (2018). ¿DEBES PREOCUPARTE POR LA AMEBA "COME CEREBROS"? *MILENIO*. OBTENIDO DE HTTPS://WWW.MILENIO.COM/CIENCIA-Y-SALUD/DEBES-PREOCUPARTE-POR-LA-AMEBA-COME-CEREBROS
- MORAIS , S., PALAU, A., & SILVA, P. (2009).

 APLICAÇÃO DE MÉTODOS FÍSICOS,
 QUÍMICOS E BIOLÓGICOS NA AVALIAÇÃO DA
 QUALIDADE DAS ÁGUAS EM ÁREAS DE
 APROVEITAMENTO HIDRELÉTRICO DA BACIA
 DO RIO SÃO TOMÁS, MUNICIPIO DE RIO
 VERDE GOIÁS. SOCIEDADE & NATUREZA,
 UBERLÂNDIA, 21(3), 392-412.
- MORALES-SALINAS, N. (2011). ¿QUÉ ES UN BIOINDICADOR? APRENDIENDO A PARTIR DEL CICLO DE INDAGACIÓN GUIADA CON MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICOS. PROPUESTA METODOLÓGICA. LETICIA, COLOMBIA: UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA.

- MSSSI. (2012). VIAJES INTERNACIONALES Y SALUD.

 MADRID: MINISTERIO DE SANIDAD,
 SERVICIOS SOCIALES E IGUALDAD,
 ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.
- MSSSI. (2018). GUÍA DE CONSEJOS Y RECOMENDACIONES SANITARIAS.

 OBTENIDO DE MINISTERIO DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES E IGUALDAD, ESPAÑA: HTTP://WWW.MSSSI.GOB.ES/SANITARIOS/CONSEJOS/INICIOACTION.DO
- NAVA, A. (2017). CONACYT: AGENCIA INFORMATIVA. OBTENIDO DE EXPERIMENTOS IN SILICO.
- NAVA-GALINDO, V. (2015). PERCEPCIÓN, CONOCIMIENTO LOCAL Y DESCRIPCIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DE CENOTES DE INTERÉS TURÍSTICO Y RECREACIONAL.

 YUCATÁN: CENTRO DE INVESIGACIONES Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL. UNIDAD MÉRIDA.
- OMS. (2011). GUÍAS PARA LA CALIDAD DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO. CUARTA EDICIÓN QUE INCORPORA LA PRIMERA EDICIÓN. GINEBRA.
- OMS. (2017a). AGUA, SANEAMIENTO E HIGIENE:

 AGUAS RECREATIVAS. OBTENIDO DE

 HTTP://WWW.WHO.INT/WATER_SANITATI

 ON_HEALTH/WATER
 QUALITY/RECREATIONAL/ES/.
- OMS. (2017b). PROGRESOS EN MATERIA DE AGUA POTABLE, SANEAMIENTO E HIGIENE. INFORME DE ACTUALIZACIÓN DE 2017 Y LINEA BASE DE LOS ODS. GINEBRA: OMS, WHO, UNICEF.
- OMS. (2018). AGUA, SANEAMIENTO Y SALUD (ASS). OBTENIDO DE AGUAS RECREATIVAS: HTTP://WWW.WHO.INT/WATER_SANITATI ON_HEALTH/BATHING/ES/
- ONU. (2015). OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE. OBTENIDO DE LA ASAMBLEA GENERAL ADOPTA LA AGENDA 2010 PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE: HTTPS://WWW.UN.ORG/SUSTAINABLEDEVE LOPMENT/ES/2015/09/LA-ASAMBLEA-GENERAL-ADOPTA-LA-AGENDA-2030-PARA-EL-DESARROLLO-SOSTENIBLE/
- ONU. (2017). ESTRATEGIA SOBRE EL AGUA DULCE 2017-2021. OBTENIDO DE PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL MEDIO AMBIENTE:

 HTTPS://WEDOCS.UNEP.ORG/BITSTREAM/

- HANDLE/20.500.11822/20479/FRESHW ATER_STRATEGY_2017-2021_SP.PDF?SEQUENCE=4&ISALLOWE D=Y
- ONU. (2018A). INFORME MUNDIAL DE LAS NACIONES UNIDAS SOBRE EL DESAROLLO DE LOS RECURSOS HÍDRICOS (WWAP) 2018: SOLUCIONES BASADAS EN LA NATURALEZA PARA LA GESTIÓN DEL AGUA. PARÍS: UNESCO.
- ONU. (2018B). THE UNITED NATIONS WORLD WATER DEVELOPMENT REPORT 2018: NATURE-BASED SOLUTIONS FOR WATER. PARÍS: UNESCO.
- ORELLANA, R., & ESPADAS, C. (2016). EL PAPEL DE LA CUBIERTA VEGETAL EN LA CONSERVACIÓN DEL AGUA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. EN M. CHÁVEZ-GUZMÁN, EL MANEJO DEL AGUA A TRAVÉS DEL TIEMPO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN (PÁGS. 161-177). YUCATÁN, MÉXICO: UADY, FGRA, CCPY.
- Orellana-Lanza, R., Espadas-Manrique, C., & Nava-Marín, F. (2011). Contexto Físico:. En R. Durán, & M. Méndez, Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán (págs. 10-11). México: CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.
- Ortíz, M. (2015). El agua para el consumo humano en México. Obtenido de El Colegio de San Luis, A.C.: http://www.colsan.edu.mx/investiga cion/pays/archivo/El_agua_para_consumo_humano_Mexico-2015-07.pdf
- Ortiz-Pérez, M. (2015). *El agua para el consumo humano en México.*Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Pahua, D., Soto, G., & Moreno, L. (2016).
 Panoramaepideiológico en México,
 principales causas de morbilidad y
 mortalidad. *Revista de la Facultad de Medicina, 59*(6).
- PAREDES-PÉREZ, M., & CASTILLO-BURGUETE, M. (2018). INCERTIDUMBRE EN EL MANEJO DE RECURSOS Y SUS EFECTOS EN EL DESARROLLO DEL TURISMO EN "EL CORCHITO". EN M. NAVARRO-FAVELA, TURISMO Y SUS IMPACTOS SOCIALES, ECONÓMICOS Y AMBIENTALES (PÁGS. 110-

- 126). QUINTANA ROO: UNIVERSIDAD INTERCULTURAL MAYA DE QUINTANA ROO.
- Perevochtchikova, M. (2013). Retos de la información del agua en México para una mejor gestión. *Realidad, Datos y Espacio. Revista Internacional de Estadística y Geografía, 4*(1), 42-57.
- PÉREZ, R. (2010). LA CONTAMINACIÓN DIFUSA. EN A. AGUILAR-IBARRA, *CALIDAD DEL AGUA. UN ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO* (PÁGS. 121-144). MÉXICO: UNAM, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ECONÓMICAS.
- Perry, E., Velázquez-Oliman, G., & Socki, R. (2003). Hydrogeology of the Yucatán Peninsula. *ResearchGate*.
- PNUMA. (2015). WETLANDS INTERNATIONAL.

 OBTENIDO DE PROMOTING ECOSYSTEMS
 FOR DISASTER RISK REDUCTION AND
 CLIMATE CHANGE ADAPTATION:
 OPPORTUNITIES FOR INTEGRATION:
 HTTPS://WWW.WETLANDS.ORG/PUBLICATI
 ONS/PROMOTING-ECOSYSTEMS-FORDISASTER-RISK-REDUCTION-ANDCLIMATE-CHANGE-ADAPTATIONOPPORTUNITIES-FOR-INTEGRATION/
- RAMÍREZ-CARRILLO, L. (2011). CONTEXTO SOCIAL Y ECONÓMICO. ESCENARIO HISTÓRICO-SOCIAL. LAS RELACIONES PELIGROSAS: SOCIEDAD, NATURALEZA Y CONSTRUCCIÓN DE LA MODERNIDAD. EN R. DURÁN, & M. MÉNDEZ, BIODIVERSIDAD Y DESARROLLO HUMANO EN YUCATÁN (PÁGS. 29-34). MÉXICO: CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.
- RANGEL-BUITRAGO, N., & POSADA-POSADA, B. (2013). DETERMINACIÓN DE LA VULNERABILIDAD Y EL RIESGO COSTERO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE HERRAMIENTAS SIG Y MÉTODOS MULTICRITERIO. REVISTA INTRÓPICA, 8, 29-42.
- RENDÓN, J. (2016). CONTAMINACIÓN DE CENOTES CON PLAGUICIDAS EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. CAMPECHE: INSTITUTO EPOMEX, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CAMPECHE.
- RIBEIRO, M. (2013). EL SACRIFICIO HUMANO ENTRE LOS MAYAS: LOS CENOTES DE YUCATÁN COMO CEMENTERIOS ACUÁTICOS. ESPAÑA: UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

- ROBLES, R. (2016). LAS ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS, EL AGUA Y LOS RESIDENTES LOCALES. EN M. CHÁVEZ-GUZMÁN, EL MANEJO DEL AGUA A TRAVÉS DEL TIEMPO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN (PÁGS. 186-200). YUCATÁN, MÉXICO: UADY, FGRA, CCPY.
- Rodríguez, Ó. (2018). Saneamiento de aguas en Yucatán es de apenas cinco por ciento. *La Jornada Maya*.
- ROJAS, C. (2007). CEMENTERIOS ACUÁTICOS MAYAS. *ARQUEOLOGÍA MEXICANA*(83), 58-63.
- ROJAS-HERRERA, R., NARVÁEZ-ZAPATA, J., ZAMUDIO-MAYA, M., & MENA-MARTÍNEZ, M. (2008). A SIMPLE SILICA-BASED METHOD FOR METAGENOMIC DNA EXTRACTION FROM SOIL AND SEDIMENTS. *MOLECULAR BIOTECHNOLOGY, 40*(1), 7-13. DOI:10.1007/S12033-008-9061-8
- RUBIO-GUERRI, C., VICENTE-RUBIANO, M., & SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, J. (2012). *METAGENÓMICA, LA TÉCNICA QUE "DESCUBRE" NUEVOS VIRUS.* ESPAÑA: CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.
- RUIZ, D., & CADENAS, C. (2005). ¿QUÉ ES UNA POLÍTICA PÚBLICA? IUS REVISTA JURÍDICA DE LA UNIVERSIDAD LATINA, 5(18).
- SAAVEDRA, D. (2018). NUEVAS LUCES SOBRE EL IMPACTO DEL METEORITO EN CHICXULUB. GACETA DIGITAL UNAM, 968(4).
- SALAZAR, J. (2018). ¡CUIDADO YUCATÁN!
 INFECCIÓN DE OÍDO PUEDE ATACAR EN
 VACACIONES! NOVEDADES YUCATÁN.
 OBTENIDO DE
 HTTPS://SIPSE.COM/NOVEDADESYUCATAN/VACACIONES-TRAERAINFECCION-OIDO-DECENAS-YUCATECOSOTITIS-SALUD-289394.HTML
- SÁNCHEZ, D. (2016). LA FALTA DE POTABILIZACIÓN DEL AGUA Y SU RELACIÓN CON LAS ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES EN MÉXICO. OBTENIDO DE UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO: HTTPS://WWW.UAEH.EDU.MX/SCIGE/BOLE TIN/ATOTONILCO/N8/E1.HTML
- Schmitter-Soto, J., Elias-Gutierrez, M., Alcocer, J., Marín, L., Escobar-Briones, E., & Suárez-Morales, E.

- (2002). LOS CENOTES DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. *RESEARCHGATE*.
- SEGOB. (2017). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-245-SSA1-2010, REQUISITOS SANITARIOS Y CALIDAD DEL AGUA QUE DEBEN CUMPLIR LAS ALBERCAS. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN.
- SEMTSI. (2016). *RIESGOS SANITAROS DE ORIGEN ALIMENTICIO Y POR EL AGUA. .* ESPAÑA: SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MEDICINA TROPICAL Y SALUD INTERNACIONAL.
- Serrano-Luna , J., Cervantes-Sandoval, I., Tapia-Malagón, J., Pacheco-Yépez, J., Silvia-Olivares, A., Galindo-Gómez, S., . . . Shibayama, M. (2007). Caracterización de cepas de Naegleria fowleri aisladas de casos de meningoencefalitis amibiana primaria en México. *Revista de Investigación clínica, 59*(5), 342-347.
- SOLLER, J., MOLINA, M., BARTRAND, T., & SCHOEN, M. (2015). ESTIMATED HUMAN HEALTH RISKS FROM RECREATIONAL EXPOSURES TO STORMWATER RUNOFF CONTAINING FAECAL MTERIAL. *ENVIRONMENTAL MODELLING AND SOFTWARE, 72*, 21-32.
- SOTELO, L. (2016). REPRESENTACIONES DEL AGUA EN LOS CÓDICES MAYAS. EN M. CHÁVEZ-GUZMÁN, *EL MANEJO DEL AGUA A TRAVÉS DEL TIEMPO EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN* (PÁGS. 51-77). YUCATÁN, MÉXICO: UADY, FGRA, CCPY.
- SSA. (2015a). ENFERMEDADES DIARREICAS AGUDAS (EDAS). OBTENIDO DE HTTPS://WWW.GOB.MX/SALUD/ARTICULO S/ENFERMEDADES-DIARREICAS-AGUDAS-EDAS
- SSA. (2015B). MANUAL OPERATIVO. VIGILANCIA

 DE AGUA DE CONTACTO PRIMARIO EN

 PLAYAS Y CUERPOS DE AGUA DULCE.

 CIUDAD DE MÉXICO: COMISIÓN FEDEARAL

 PARA LA PROTECCIÓN CONTRA RIESGOS

 SANITARIOS.
- SSA. (2016). VEINTE PRINCIPALES CAUSAS DE ENFERMEDAD EN YUCATÁN, POR GRUPO DE EDAD. POBLACIÓN GENERAL. MÉXICO: SISTEMA ÚNICO DE INFORMACIÓN PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA.
- THERBURG, A., D'INCA, V., & LÓPEZ, M. (2002).

 ENVIRONMENTAL INDICATORS MODEL.

 ENVIRONMENTAL OBSERVATORY. *REVISTA*

- *PROYECCIÓN, 1*(3). OBTENIDO DE HTTP://BDIGITAL.UNCU.EDU.AR/OBJETOS_DIGITALES/3152/THERBURGDINCALOPEZPROYECCION3.PDF
- TORRES DÍAZ, M., BASULTO SOLIS, Y., CORTÉS ESQUIVEL, J., KOH SOSA, Á., PUERTO ROMERO, F., & ÁVILA, J. (2014). EVALUACIÓN DE LA VULNERABILIDAD Y EL RIESGO DE CONTAMINACIÓN DEL AGUA SUBTERRÁNEA EN YUCATÁN. ECOSISTEMAS Y RECURSOS AGROPECUARIOS, 1(3).
- UNESCO. (2016). PROGRAMA MUNDIAL DE EVALUACIÓN DE LOS RECURSOS HÍDRICOS (WWAP). OBTENIDO DE ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA EDUCACIÓN, LA CIENCIA Y LA CULTURA: HTTP://WWW.UNESCO.ORG/NEW/ES/NAT URAL-SCIENCES/ENVIRONMENT/WATER/WWAP/FACTS-AND-FIGURES/WATER-SUPPLY-SANITATION-AND-HEALTH/
- UNICEF. (2018). ENFERMEDADES COMUNES

 RELACIONADAS CON EL AGUA Y EL

 SANEAMIENTO. OBTENIDO DE

 HTTPS://WWW.UNICEF.ORG/SPANISH/WAS

 H/WES_RELATED.HTML
- VADO SOLÍS, I., CÁRDENAS MARRUFO, M., JIMÉNEZ DELGADILLO, B., PÉREZ OSORIO, C., SUÁREZ SOLIS, V., & ZAVALA VELÁZQUEZ, J. (2013). LEPTOSPIROSIS: UNA ZOONOSIS ENDÉMICA EN YUCATÁN. *REVISTA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN*(262), 26-32.
- VALLIN, C. (2007). MICROARREGLOS DE ADN Y SUS APLICACIONES EN INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. *REVISTA CENIC CIENCIAS BIOLÓGICAS*, 38(2).
- VÁZQUEZ, R., & AZAHALIA, L. (2016).

 MEGAPROYECTOS TURÍSTICOS Y
 ECOTURÍSTICOS: DEL DESPOJO AL
 CERCAMIENTO DE BIENES COMUNES DE
 COMUNIDADES RURALES EN MÉXICO.
 ECOLOGÍA POLÍTICA(52), 57-61.
- VEGA, A. (20 DE NOVIEMBRE DE 2019). CERROS DE EXCREMENTO ENFERMAN A LA POBLACIÓN Y CONTAMINAN CENOTES EN HUNUCMÁ, YUCATÁN. ANIMAL POLÍTICO.
- VELÁZQUEZ-TORRES, D. (2006). AGUA Y POBLACIÓN EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN: CASO QUINATA ROO. CAOS CONCIENCIA, 31-39.

- VICENTE VILLARDÓN, J. (2007). *INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS DE CLUSTER*. ESPAÑA: UNIVERSIDAD DE SALAMANCA.
- Water.org. (2017). La Crisis del Agua.

 Obtenido de Water Charity For Safe
 Water & Sanitation:

 https://water.org/ourimpact/water-crisis/
- Zambrano, L. (2010). Soluciones ecológicas a la contaminación del agua. En A. Aguilar-Ibarra, *Calidad del agua. Un enfoque multidisciplinario* (págs. 199-220). México: UNAM, Instituto de Investigaciones Económicas.

ANEXO A. GLOSARIO

- Acuífero: Conjunto de formaciones geológicas hidráulicamente conectadas entre sí, por las que circulan o se almacenan aguas del subsuelo que pueden ser extraídas para su uso o aprovechamiento (Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, 1992).
- **ADN metagenómico:** Totalidad del material genético que está contenido en todos los microorganismos que se encuentran en una muestra ambiental (Balagurusamy, 2014).
- Agente etiológico: Elemento que puede propiciar el desarrollo de una enfermedad, tales como virus o bacterias (OMS, 2000). Microorganismo capaz de causar una enfermedad si se reúnen las condiciones para ello, y cuya presencia en un residuo lo hace peligroso (Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, 2003).
- Agua Renovable: Cantidad máxima de agua que es factible explotar anualmente en un país sin alterar el equilibro del ecosistema. Es equivalente a la que es renovada por lluvia (CONAGUA, 2015).
- Amenaza: Probabilidad de ocurrencia de un evento perjudicial para el hombre ya sea de origen natural o antropogénico (Rangel-Buitrago & Posada-Posada, 2013). En este caso se trata de la probabilidad de enfermar a causa de los patógenos presentes en el agua contaminada.
- **Bioindicador:** Organismo que a través de su presencia indica el nivel de preservación o el estado de un hábitat (Morais , Palau, & Silva, 2009). Especies que viven bajo condiciones ambientales muy particulares, sensibles a las alteraciones del medio (Morales-Salinas, 2011).
- **Cenote:** Del maya "ts' on' ot: pozos de agua profundos; son depresiones kársticas del terreno formado como consecuencia del hundimiento del techo de cuevas o cavernas (CONANP, 2011).
- Cenotes turísticos: Aquellos cenotes que se encuentren abiertos al público y que cobren una tarifa a los usuarios por su acceso (Febles-Patrón, Nava-Galindo, & Hoogesteijn-Reul, 2015).
- Coliformes fecales: Microorganismos de origen fecal comúnmente empleados como indicadores de contaminación, ya que su presencia en el agua

- suele estar relacionada con aguas residuales y otros desechos. *Escherichia coli* suele ser la especie más prominente (CM, 2017).
- Coliformes totales: Grupo heterogéneo de microorganismos con hábitat primordialmente intestinal. Comprende todos los bacilos Gramnegativos aerobios o anaerobios facultativos que fermentan la lactosa en un lapso máximo de 48h. Destacan principalmente cuatro géneros: Enterobacter, Escherichia, Citrobacter y Klebsiella (Camacho, y otros, 2009)
- Contaminación del agua: Por contaminación del agua se entiende generalmente a una modificación en la calidad de la misma, ya sea por elementos del tipo físicos, químicos -orgánicos e inorgánicos- o biológicos, que la vuelven impropia para su utilización (ONU, 2018a).
- **Desinfección:** Acción de inactivar o destruir microorganismos patógenos por medio de la aplicación de productos químicos o procesos físicos (SEGOB, 2017).
- Disponibilidad de agua subterránea: Volumen medio anual que puede ser extraído de una unidad hidrogeológica, adicional a la extracción ya concesionada y a la descarga natural comprometida, sin poner en peligro el equilibrio del ecosistema (Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, 1992).
- **Evaluación de riesgo ambiental:** Proceso metodológico para determinar la probabilidad o posibilidad de que se produzcan efectos adversos, como consecuencia de la exposición de los seres vivos a las sustancias contenidas en los residuos peligrosos o agentes infecciosos que los forman (Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, 2003).
- Indicador ambiental: Variable -o suma de variables- que proporciona una información sintética sobre un fenómeno ambiental complejo que permite conocer y evaluar el estado de la calidad ambiental (Therburg, D'Inca, & López, 2002).
- In silico: En las ciencias biológicas, expresión que hace referencia a los experimentos que se realizan a través de simulaciones computacionales (Nava, 2017).

- Límite permisible: En las ciencias biológicas, expresión que hace referencia a los experimentos que se realizan a través de simulaciones computacionales (Nava, 2017).
- Marco normativo: Valor máximo o intervalo de concentración de un parámetro, que no causa efectos nocivos a la salud (SEGOB, 2017).
- Metagenómica: Conjunto de técnicas que permiten obtener todos los fragmentos de ADN que contiene una muestra concreta, para luego ser traducido a un lenguaje que pueda ser leído mediante la secuenciación y sea posible compararlo con la información conocida y publicada en las bases de datos (Rubio-Guerri, Vicente-Rubiano, & Sánchez-Vizcaíno, 2012).
- **Microarreglo:** Dispositivo en el cual se encuentran adheridos múltiples fragmentos de ADN complementario de secuencias conocidas o sondas especie-específicas, en una superficie sólida (Vallin, 2007).
- Políticas Públicas: Acciones o programas emitidos por el gobierno -cualquiera que sea- desarrollos en función de una situación determinada, generalmente como un uso estratégico de recursos para aliviar los problemas nacionales.
- Riesgo: Probabilidad de pérdidas humanas o materiales debido a la ocurrencia de un evento -en este caso, afectaciones a la salud humana-. Se calcula estimando el producto de la amenaza por la vulnerabilidad (Rangel-Buitrago & Posada-Posada, 2013).
- Sitio contaminado: Lugar, espacio, suelo, cuerpo de agua, instalación o cualquier combinación de éstos que ha sido contaminado con materiales o residuos que, por sus cantidades y características, pueden representar un riesgo para la salud humana, a los organismos vivos y el aprovechamiento de los bienes o propiedades de las personas (Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, 2003).
- Vulnerabilidad: Grado de pérdida o daños que cabe esperar si se llegase a producir una amenaza de una magnitud determinada (Rangel-Buitrago & Posada-Posada, 2013).

ANEXO B. SIGLAS Y ACRÓNIMOS

ANEAS Asociación Nacional de Empresas de Agua y Saneamiento

de México A.C.

CCA Consejo Consultivo del Agua A.C.

CEPAL Comisión Económica para América Latina y el Caribe

COFEPRIS Comisión Federal para la Protección contra Riesgos

Sanitarios

CONAGUA Comisión Nacional del Agua

IMTA Instituto Mexicano de Tecnología del Agua

INE Instituto Nacional de Ecología

INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía

NMP Número más probable

MXN Peso mexicano

OMS Organización Mundial de la Salud

ONU Organización de las Naciones Unidas

PNUD Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo

PNUMA Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente

RHA Regiones Hidrológico-Administrativas

SECTUR Secretaría de Turismo

SEDUMA Secretaría de Desarrollo Urbano y Medio Ambiente

SEMARNAT Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales

SSA Secretaría de Salud

SSY Secretaria de Salud de Yucatán

UADY Universidad Autónoma de Yucatán

UNAM Universidad Nacional Autónoma de México

UNESCO* Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la

Ciencia y la Cultura

WWAP* Programa Mundial de las Naciones Unidas de Evaluación

de los Recursos Hídricos

* Acrónimos en inglés

ANEXO C. METODOLOGÍAS

Extracción y purificación de ADN Metagenómico

La extracción del ADN metagenómico de los microorganismos presentes en las muestras de agua se realizó utilizando la metodología descrita por Rojas et al. (2008), omitiendo el uso de proteinasa K y RNAsa.

Para ello, se agregó 1 ml de *buffer TEN* a cada tubo de microcentrífuga que contenían los filtros de las muestras y se agitaron en un *vortex* durante 30 s para separar la muestra del filtro. Se añadieron 20 µl de solución de lisozima (10 mg/ml) a cada tubo y se agitaron manualmente. Se incubaron a 37°C durante 1 h, agitando por inversión cada 10 min. Transcurrido el tiempo de incubación, los tubos fueron sumergidos durante 10 min en un baño de hielo/alcohol y luego incubados por 5 min en un termo-baño a 65°C, replicando 3 veces los dos últimos pasos. Posterior a esto, se añadieron 100 µl de dodecilsulfato sódico (SDS) al 20% (p/v), se agitaron en *vortex* por 1 min y se incubaron durante 30 min a 30°C. Transcurrido el tiempo de incubación, los tubos se centrifugaron durante 10 min a 10,000 xg a temperatura ambiente. Los sobrenadantes obtenidos del paso anterior fueron colocados en nuevos tubos de microcentrífuga, se les añadieron 500 µl de acetato de potasio 5M, fueron incubados nuevamente durante 5 min a 65°C y colocados en un baño de hielo/alcohol durante 20 min. A continuación, los tubos fueron centrifugados a 4°C durante 30 min a 12,000 xg. Los sobrenadantes fueron pasados a nuevos tubos de microcentrífuga, se les añadieron 200 µl de óxido de silicio (SiO2) al 4% (p/v) y fueron agitados por inversión durante 3 minutos. En seguida, los tubos se centrifugaron 2 minutos a 11,000 xg a temperatura ambiente y se les retiró el líquido. Posteriormente, se

lavaron dos veces las pastillas obtenidas agregando 1 ml de etanol al 70% (v/v) y centrifugando cada vez 2 min a 11,000 xg a temperatura ambiente. Después, se les retiró el etanol y se introdujeron los tubos a la vacufuga a 30°C durante 5 min. Finalmente, se re suspendieron las pastillas de los tubos en 60 µl de agua destilada estéril y se incubaron 5 minutos a 55°C. Posteriormente, se centrifugaron los tubos durante 5 min a 10000 xg a temperatura ambiente, y los sobrenadantes se pasaron a tubos nuevos.

Electroforesis

Una vez obtenidos los productos de la extracción, se realizó una electroforesis para identificar la presencia y la integridad del ADN. Para ello, se preparó un gel de agarosa al 1%:

En un matraz, se pesaron 0.2 g de agarosa, que fueron disueltos en 20 ml de *Buffer TAE lx* (Tris-Acetato EDTA), con la ayuda de una plancha de calentamiento. Una vez que la solución se volvió traslúcida, se le agregó 1 µl de *SYBR Green* (colorante que sirve para la visualización del ADN). La solución anterior se vertió en una cama de electroforesis a la cual se le colocó un peine formador de pozos, dejando reposar 30 minutos hasta su polimerización. Una vez conseguida la polimerización, se retiró el peine y se colocó en una cama electroforética horizontal, a la cual se le añadió *buffer* de electroforesis hasta cubrir el gel por 5 mm. Posteriormente, de cada muestra se tomaron 2 µl de ADN, los cuales fueron mezclados con 2 µl de *buffer* de carga e inyectados en los pozos con ayuda de una micropipeta. Dicho procedimiento se realizó también para un marcador de peso molecular de 1 kb, el cual es fundamental para tener una referencia de los tamaños del ADN en las muestras. A continuación, la cámara fue conectada a una fuente de poder, aplicando un voltaje de 80 V, dejándola correr

durante 30 minutos. Una vez transcurrido el tiempo anterior, se retiró el gel y se colocó dentro de un fotodocumentador para la visualización del ADN y la digitalización de imágenes.

Cuantificación del ADN

Por último, para la cuantificación del ADN se utilizó el kit *QuantiFluor® dsDNA System*, siguiendo el protocolo del fabricante. Para ello, se utilizó un tubo de microcentrífuga de 0.5 ml al cual se le agregó 99 µl de buffer TE, 100 µl de colorante y 1 µl de muestra, para cada caso. Lo anterior se mezcló durante unos segundos en *vortex* y se centrifugó por el mismo tiempo. Inmediatamente, la mezcla se incubó durante 5 minutos en un contenedor oscuro, protegiendo la solución de la luz. Finalmente, los tubos fueron introducidos en el *Quantus Fluorometer* para la lectura de la cuantificación.

ANEXO D. ELEMENTOS CONTENIDOS EN EL MICROARREGLO

			C	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	AF	ECC	CIÓI	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	Inmunológica	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
		Artrópodos									
1	Sarcoptes scabiei	Sarna				•					
		BACTERIAS									
2	Acinetobacter baumannii	Bacteremia, infección urinaria, infección de heridas, pneumonía, meningitis, endocarditis		•	•	•			•	•	
3	Acinetobacter calcoaceticus	Bacteremia, pneumonia		•					•		
4	Aeromonas caviae	Gastroenteritis, piel y tejido blando, bacteremia	•			•			•		
5	Aeromonas dhakensis	Gastroenteritis, piel y tejido blando, bacteremia	•			•			•		
6	Aeromonas hydrophila	Gastroenteritis, piel y tejido blando, bacteremia	•			•			•		
7	Aeromonas jandaei	Gastroenteritis, piel y tejido blando, bacteremia	•			•			•		
8	Aeromonas schubertii	Gastroenteritis, piel y tejido blando, bacteremia	•			•			•		
9	Aeromonas veronii	Gastroenteritis, piel y tejido blando, bacteremia	•			•			•		
10	Agromyces rhizospherae	NO PATÓGENA									
11	<i>Alcaligenes</i> sp.	Bacteremia y sepsis							•		
12	<i>Anabaena</i> sp.	Intoxicación por neurotoxinas y hepatotoxinas	•		•						

			C	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	ΙAΓ	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
13	<i>Aphanizomenon</i> sp.	Intoxicación neurotóxica	•		•						
14	Arthrobacter oxydans	Infección de heridas, oculares, bacteremia, biopsia pulmonar		•		•		•	•		
15	Arthrobacter tumbae	NO PATÓGENA									
16	Bacillus anthracis	Antrax	•			•					
17	Bacillus cereus	Gastroenteritis	•								
18	Bordetella parapertusis	Tosferina		•							
19	Bordetella pertussis	Tosferina		•							
20	Borrelia burgdorferi	Enfermedad de Lyme			•	•			•		•
21	Borrelia mazzottii	Fiebre recurrente	•		•		•				
22	Borrelia recurrentis	Fiebre recurrente	•		•		•				
23	Brucella melitensis	Brucelosis, meningitis			•						•
24	Burkholderia cepacia	Bacteremia, infección respiratoria, infección urinaria, artritis, peritonitis		•				•		•	•
25	Burkholderia mallei	Muermo		•		•	•				
26	Burkholderia pseudomallei	Melioidosis		•							
27	Campylobacter coli	Gastroenteritis, bacteremia, aborto	•						•		•
28	Campylobacter fetus	Gastroenteritis, bacteremia, aborto, meningitis, abcesos	•		•				•		
29	Campylobacter jejuni	Gastroenteritis, bacteremia	•						•		

			C	LAS	IFIC	CAC	IÓN	AF	EC	CIÓI	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
30	Campylobacter laridis	Gastroenteritis	•								
31	Cardiobacterium spp.	Endocarditis							•		
32	Cedecea lapagei	Pneumonia, Peritonitis, bacteremia, infección del tracto urinario		•					•	•	
33	Chlamydia psittaci	Pneumonia		•							
34	Chlamydia trachomatis	Psitacosis respiratoria		•							
35	Chlamydophila pneumoniae	Tracoma ocular						•			
36	Clostridium botulinum	Botulismo			•						
37	Clostridium difficile	Gastroenteritis	•								
38	Clostridium perfringens	Gastroenteritis, enterocolitis, mionecrosis	•			•					
39	Clostridium tetani	Tétanos				•					
40	Corynebacterium afermentans	Endocarditis, abscesos en cerebro y riñon			•				•	•	
41	Corynebacterium diphteriae	Difteria		•		•					
42	Coxiella burnetii	Fiebre Q, pneumonía, hepatitis, endocarditis, pericarditis, miocarditis, meningoencefalitis, × ndrome de Guillain-Barré, × ndrome de Miller-Fisher	•	•	•		•		•		
43	Crocebacterium ilecola	NO PATÓGENA									
44	Deinococcus radiodurans	NO PATÓGENA									
45	Ehrlichia canis	Ehrlichiosis					•				

			C	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	ı Af	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
46	<i>Ehrlichia</i> spp.	Ehrlichiosis monocítica humana					•				
47	Elizabethkingia meningoseptica	Meningoencefalitis			•						
48	Enterobacter cloacae	Endocarditis, infecciones del tracto urinario, meningitis e infecciones intraabdominales				•				•	
49	Enterococcus faecalis	Gastroenteritis, colitis hemorrágica, × ndrome urémico hemolítico			•				•	•	
50	Escherichia coli (ECEH, ECET,ECEP,ECEI,ECEA,ECAD)	Gastroenteritis, colitis hemorrágica, × ndrome urémico hemolítico	•							•	
51	Escherichia coli 0157:H7	Osteomielitis, artritis séptica, neumonia, queratoconjuntivitis, bacteremia, peritonitis, sepsis	•							•	
52	Ewingella americana	Meningoencefalitis		•				•	•		•
53	Francisella tularensis	Tularemia	•	•				•			
54	Grimontia hollisae	Gastroenteritis, bacteremia	•						•		
55	Haemophilus influenzae	Pneumonia, meningitis		•	•						
56	Haemophilus parainfluenzae	Pneumonía y endocarditis		•					•		
57	Helicobacter pylori	Gastritis, carcinoma gástrico	•								
58	Klebsiella oxytoca	Gastroenteritis	•								
59	Klebsiella pneumoniae	Pneumonia, infección urinaria, bacteremia, abceso hepático		•					•	•	
60	Klebsiella variicola	Bacteremia, meningitis	•						•		
61	Kocuria rosea	Bacteriemia y colecistitis aguda			•				•		
62	Leclercia adecarboxylata	Artritis, peritonitis, bacteremia							•		•

			C	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	AF	ECC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
63	Legionella pneumophila	Enfermedad del legionario		•							
64	Leptospira alexanderi	Leptospirosis	•	•	•				•	•	
65	Leptospira borgpetersenii	Leptospirosis	•	•	•				•	•	
66	Leptospira interrogans	Leptospirosis	•	•	•				•	•	
67	Leptospira kirschneri	Leptospirosis	•	•	•				•	•	
68	Leptospira noguchii	Leptospirosis	•	•	•				•	•	
69	Leptospira santarosai	Leptospirosis	•	•	•				•	•	
70	Leptospira weilii	Leptospirosis	•	•	•				•	•	
71	Listeria monocytogenes	Listeriosis, aborto espontáneo	•								•
72	Mannheimia haemolytica	Infección en tejidos blandos, embolizaciones sépticas				•			•		
73	Microcystis aeruginosa	Intoxicación por neurotoxinas y hepatotoxinas	•		•						
74	Miscellaneous enterics	Diarrea	•								
75	Moraxella catarrhalis	Otitits, sinusitis, infecciones respiratorias		•							•
76	Moraxella lacunata	Conjuntivitis						•			
77	Mycobacterium avium	Pneumonia		•							
78	Mycobacterium chelonae	Pneumonia, infecciones de piel y tejidos blandos		•		•					
79	Mycobacterium kansasii	Infecciones respiratorias crónicas		•							

			C	LAS	IFIC	CAC	IÓN	AF	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
80	Mycobacterium tuberculosis	Tuberculosis		•							
81	Mycobacterium xenopi	Pneumonia		•							
82	Neisseria meningitidis	Enfermedad meningocóccica invasiva			•						
83	Nocardia asteroides	Nocardiosis respiratoria		•							
84	Ochrobactrum anthropi	Bacteremia							•		
85	Pantoea agglomerans	Bacteremia y sepsis							•		
86	<i>Pasteurella</i> sp.	Septicemia hemorrágica, rinitis atrófica, lesiones en el tracto respiratorio		•			•				
87	<i>Peptococcus</i> sp.	Pneumonía, abcesos cerebrales, hepáticos, ováricos, otitis, sinusitis	•	•	•						•
88	Photobacterium damselae	Fasciitis necrosante, infección de heridas, gastroenteritis, infección urinaria	•			•				•	
89	Plesiomonas shigelloides	Gastroenteritis, bacteremia, enfermedada en SNC, infección en ojos	•		•			•	•		
90	Proteus mirabilis	Pneumonia, infecciones urinarias		•						•	
91	Pseudomonas aeruginosa	Pneumonia, infecciones respiratorias, urinarias y de tejidos blandos, gastroenteritis, bacteremia, afecciones articulares	•	•		•			•	•	
92	Rahnella aquatilis	Bacteremia							•		
93	Raoultella planticola	Gastroenteritis, infecciones respiratorias	•	•							
94	Rhodobacter sphaeroides	NO PATÓGENA									
95	<i>Rickettsia</i> spp.	Rickettsiosis, tifus, fiebre de las montañas rocosas			•	•			•		
96	Salmonella enterica serovar Paratyphi	Fiebre paratifoidea	•								

			С	LAS	IFIC	CAC	IÓN	AF	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
97	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi	Fiebre tifoidea	•								
98	Serratia marcescens	Infecciones del tracto urinario y respiratorias		•						•	
99	Shigella sp	Gastroenteritis	•								
100	<i>Shigella</i> spp.	Gastroenteritis	•								
101	Staphylococcus aureus	Gastroenteritis, abscesos, bacteremia, endocarditis, osteomielitis, pneumonía	•	•					•		•
102	Staphylococcus haemolyticus	Bacteremia							•		
103	Stenotrophomonas maltophilia	Infecciones del tracto urinario y bacteremia							•	•	
104	Streptococcus pneumoniae	Pneumonia y meningitis		•	•						
105	Trichodesmium erythraeum	Síndrome respiratorio		•							
106	<i>Tsukamurella</i> spp.	Pneumonia, infecciones cutáneas, meningitis		•		•					
107	Vibrio alginolyticus	Gastroenteritis, Bacteremia, conjuntivitis, peritonitis, abscesos, otitis externa	•	•				•	•		•
108	Vibrio cholerae	Cólera	•								
109	Vibrio cincinnatiensis	Bacteremia, meningitis			•				•		
110	Vibrio fluvialis	Gastroenteritis, bacteremia, infección de tracto biliar, colangitis, peritonitis, otitis, endoftalmitis, cerebritis	•	•	•			•	•		•
111	Vibrio furnissi	Gastroenteritis	•								
112	Vibrio harveyi	Bacteremia, infección en heridas				•			•		
113	Vibrio mimicus	Gastroenteritis	•								

			C	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	ı A F	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
114	Vibrio parahaemolyticus	Gastroenteritis	•								
115	Vibrio splendidus	Gastroenteritis	•								
116	Vibrio vulnificus	Gastroenteritis, bacteremia, infección de heridas	•			•			•		
117	Yersinia enterocolítica	Gastroenteritis, glomerulonefritis, artritis, micocarditis	•			•			•		
118	Yersinia pseudotuberculosis	Gastroenteritis, glomerulonefritis, artritis, micocarditis	•						•	•	•
		Hongos									
119	Ajellomyces capsulatus	Infecciones pulmonares agudas		•							
120	Ajellomyces dermatitidis	Blastomicosis		•	•	•					•
121	<i>Alternaria</i> spp.	Rinitis alérgica o reacciones de hipersensibilidad, feohifomicosis		•		•	•				
122	Aspergillus flavus	Aspergiliosis		•							
123	Aspergillus niger	Aspergilosis		•							
124	<i>Aspergillus</i> sp.	Aspergiliosis		•							
125	Aureobasidium pullulans	Neumonitis por hipersensibilidad		•			•				
126	Boeremia exigua	Queratitis e infecciones subcutáneas				•		•			
127	Candida glabrata	Candidiasis				•			•		
128	Candida kefyr	Candidiasis				•			•		

			C	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	ı Ar	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
129	Coccidioides immitis	Fiebre del Valle	•	•	•	•		•		•	•
130	Coccidioides posadasii	Fiebre del Valle	•	•		•		•			•
131	Colletotrichum spp.	Queratitis e infecciones subcutáneas				•		•			
132	<i>Encephalitozoon</i> sp.	Diarrea crónica	•								
133	Enterocytozoon bieneusi	Diarrea, Síndrome de desgaste, rinitis, bronquitis, sinusitis, colangiopatía, colangitis acalculosa, colecistitis	•	•							
134	Fusarium graminearum	Queratitis e infecciones cutáneas				•		•			
135	Fusarium oxysporum	Queratitis e infecciones cutáneas				•		•			
136	Lacazia loboi	Lobomicosis				•	•				
137	<i>Nosema</i> spp.	Microsporidiosis	•								
138	Paracoccidioides brasiliensis	Paracoccidioidomicosis	•	•							
139	Penicillium digitatum	Respuestas alérgicas, neumonitis por hipersensibilidad y asma		•			•				
140	Penicillium italicum	Respuestas alérgicas, neumonitis por hipersensibilidad y asma		•			•				
141	Pichia kudriavzevii	Asma		•							
142	<i>Pleistophora</i> sp.	Fungaemia, endoftalmitis, artritis y endocarditis					•	•	•		•
143	Pneumocystis jirovecii	Miositis				•					
144	Saccharomyces cerevisiae	Infecciones del tracto respiratorio		•							
145	Talaromyces variabilis	Candidiasis				•			•		

			С	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	AF	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
146	Trachipleistophora hominis	Diarrea	•								
147	Vittaforma corneum	Microsporidiosis intestinal, infecciones oculares	•					•			
		MICROALGAS									
148	Akashiwo sanguinea	NO PATÓGENA HUMANOS									
149	Alexandrium catenella	Intoxicación paralítica por mariscos (PSP)	•		•						
150	Alexandrium minutum	Intoxicación paralítica por mariscos (PSP)	•		•						
151	<i>Alexandrium</i> sp.	Intoxicación paralítica por mariscos (PSP)	•		•						
152	Amphidinium carterae	Intoxicación paralítica por mariscos (PSP)	•		•						
153	Amphidinium spp.	Intoxicación paralítica por mariscos (PSP)	•		•						
154	Bysmatrum caponii	NO PATÓGENA									
155	Cabra reticulata aremorica	NO PATÓGENA									
156	Chaetoceros spp.	NO PATÓGENA HUMANOS									
157	Coolia monotis	Intoxicación por neurotoxina	•		•						
158	Cylindrotheca closterium	NO PATÓGENA									
159	Dinophysis acuminata	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
160	Dinophysis caudata	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						

			С	LAS	IFIC	CAC	IÓN	AF	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	Inmunológica	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
161	<i>Dinophysis</i> sp.	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
162	Durinskia capensis	NO PATÓGENA									
163	Gambierdiscus caribaeus	Ciguatera	•		•						
164	Gambierdiscus toxicus	Ciguatera	•		•						
165	Gonyaulax polygramma	NO PATÓGENA HUMANOS									
166	Gymnodinium catenatum	Intoxicación paralítica por mariscos (PSP)	•		•						
167	Heterocapsa circularisquama	NO PATÓGENA HUMANOS									
168	Heterosigma akashiwo	NO PATÓGENA HUMANOS									
169	Karenia brevis	Intoxicación neurotóxica por mariscos (NSP)	•		•						
170	Nitzschia longissima	Intoxicación amnésica por mariscos (ASP)	•		•						
171	Nitzschia reversa	Intoxicación amnésica por mariscos (ASP)	•		•						
172	Ostreopsis heptagona	Intoxicación neurotóxica por mariscos (NSP)	•		•						
173	Plagiodinium belizeanum	NO PATÓGENA HUMANOS									
174	Prorocentrum concavum	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
175	Prorocentrum foraminosum	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
176	Prorocentrum hoffmanianum	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
177	Prorocentrum lima	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						

			C	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	AF	EC	CIÓ	N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
178	Prorocentrum mexicanum	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
179	Prorocentrum mínimum	Intoxicación paralítica por mariscos (PSP)	•		•						
180	Prorocentrum rhathymum	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
181	Prorocentrum sculptile	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
182	Prorocentrum sipadanensis	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
183	Prorocentrum spp.	Intoxicación diarréica por mariscos (DSP)	•		•						
184	Pseudonitzschia calliantha	Intoxicación amnésica por mariscos (ASP)	•		•						
185	Pseudonitzschia cuspidata	Intoxicación amnésica por mariscos (ASP)	•		•						
186	Pseudonitzschia pungens	Intoxicación amnésica por mariscos (ASP)	•		•						
187	Pseudonizschia delicatissima	Intoxicación amnésica por mariscos (ASP)	•		•						
188	Pyrodinium bahamense	Intoxicación paralítica por mariscos (PSP)	•		•						
189	Scrippsiella trochoidea	NO PATÓGENA HUMANOS									
190	Sinophysis microcephaus	NO PATÓGENA HUMANOS									
191	<i>Togula</i> sp.	NO PATÓGENA HUMANOS									
		NEMÁTODOS									
192	<i>Ancylostoma</i> spp.	Larva migrans cutáneo				•					

NO AGENTE ETIOLÓGICO AFECCIÓN ISTANUS INDOMENSIA PRODUCADO DO POR PARA PRODUCADO DO POR PARA PRODUCADO DO POR PARA POR				С	LAS	IFIC	CAC	IÓN	AF	EC	CIÓ	N
194 Ascaris lumbricoides 195 Dracunculus medinensis 196 Enterobius vermicularis 197 Eustrongylides sp. 198 Onchocerca volvulus 199 Trichuris trichiura PLATELMINTOS 200 Diphyllobothrium spp. 201 Fasciola gigantica 202 Fasciola hepatica 203 Nanophyetus salminicola 204 Schistosoma spp. 205 Taenia saginata Pracunculiasis Pracunculiasis Platerobiasis PLATELMINTOS PLATELMINTOS Oncocercosis Platerobius Plateropius Plater	No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL RESPIRATORIA SISTEMA NERVIOSO MISCUI AR Y TR	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS		
195 Dracunculus medinensis 196 Enterobius vermicularis 197 Eustrongylides sp. 198 Onchocerca volvulus 199 Trichuris trichiura Oncocercosis Ophyllobothrium spp. 200 Diphyllobothrium spp. 201 Fasciola gigantica Fascioliasis Fascioliasis Oncocercosis Ophyllobothrius spp. 202 Fasciola hepatica Fascioliasis Oncocercosis Ophyllobothrius spp. Difilobotriosis Ophyllobothrius spp. Esquistosomiasis Ophyllobothrius spp. Esquistosomiasis Ophyllobothrius spp. Esquistosomiasis Ophyllobothrius spp. Ophyllobothriu	193	Anisakis simplex	Anisakiasis	•								
196 Enterobius vermicularis 197 Eustrongylides sp. 198 Onchocerca volvulus 199 Trichuris trichiura Oncocercosis PLATELMINTOS 200 Diphyllobothrium spp. Diffilobotriosis Pasciola gigantica Fascioliasis Nanophyetus salminicola Nanofietiasis Schistosoma spp. Esquistosomiasis Tricuriasis Indicate the patter of th	194	Ascaris lumbricoides	Ascariasis	•	•							
197 Eustrongylides sp. Eustrongiloidosis 198 Onchocerca volvulus Oncocercosis 199 Trichuris trichiura Oncocercosis OPLATELMINTOS 200 Diphyllobothrium spp. Difilobotriosis Fascioliasis ORDINATION STRICT S	195	Dracunculus medinensis	Dracunculiasis				•					
198 Onchocerca volvulus Oncocercosis Tricuriasis PLATELMINTOS 200 Diphyllobothrium spp. Difilobotriosis Fascioliasis Fascioliasis Nanophyetus salminicola Nanofietiasis Schistosoma spp. Esquistosomiasis Tricuriasis Indicate the sequence of the	196	Enterobius vermicularis	Enterobiasis	•								
PLATELMINTOS Diphyllobothrium spp. Difilobotriosis Fascioliasis Nanophyetus salminicola Nanophyetus salminicola Schistosoma spp. Esquistosomiasis Tricuriasis PLATELMINTOS Nanophyetus salminicola Fascioliasis Sacioliasis Fascioliasis Cisticercosis, teniasis Cisticercosis, teniasis	197	Eustrongylides sp.	Eustrongiloidosis	•			•					
PLATELMINTOS 200 Diphyllobothrium spp. Difilobotriosis • 201 Fasciola gigantica Fascioliasis • 202 Fasciola hepatica Fascioliasis • 203 Nanophyetus salminicola Nanofietiasis • 204 Schistosoma spp. Esquistosomiasis • 205 Taenia saginata Cisticercosis, teniasis •	198	Onchocerca volvulus	Oncocercosis				•		•			
200 Diphyllobothrium spp. Difilobotriosis • 201 Fasciola gigantica Fascioliasis • 202 Fasciola hepatica Fascioliasis • 203 Nanophyetus salminicola Nanofietiasis • 204 Schistosoma spp. Esquistosomiasis • 205 Taenia saginata Cisticercosis, teniasis •	199	Trichuris trichiura	Tricuriasis	•								
200 Diphyllobothrium spp. Difilobotriosis • 201 Fasciola gigantica Fascioliasis • 202 Fasciola hepatica Fascioliasis • 203 Nanophyetus salminicola Nanofietiasis • 204 Schistosoma spp. Esquistosomiasis • 205 Taenia saginata Cisticercosis, teniasis •					-	-			-	-	-	
201 Fasciola gigantica Fascioliasis •			PLATELMINTOS									
202 Fasciola hepatica Fascioliasis 203 Nanophyetus salminicola Nanofietiasis 204 Schistosoma spp. Esquistosomiasis 205 Taenia saginata Cisticercosis, teniasis • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	200	<i>Diphyllobothrium</i> spp.	Difilobotriosis	•								
203 Nanophyetus salminicola 204 Schistosoma spp. Esquistosomiasis Oliminicola Cisticercosis, teniasis	201	Fasciola gigantica	Fascioliasis	•								
204 Schistosoma spp. Esquistosomiasis 205 Taenia saginata Cisticercosis, teniasis • •	202	Fasciola hepatica	Fascioliasis	•								
205 Taenia saginata Cisticercosis, teniasis • •	203	Nanophyetus salminicola	Nanofietiasis	•								
	204	<i>Schistosoma</i> spp.	Esquistosomiasis				•					
206 Taenia solium Cisticercosis, teniasis • •	205	Taenia saginata	Cisticercosis, teniasis	•		•						
	206	Taenia solium	Cisticercosis, teniasis	•		•						
207 Taenia sp. Cisticercosis, teniasis • •	207	<i>Taenia</i> sp.	Cisticercosis, teniasis	•		•						

			С	LAS	SIFIC	CAC	IÓN	ΙAΓ	• OTRAS Z		
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
		PROTOZOOS									
208	Acanthamoeba spp.	Queratitis, encefalitis			•			•			
209	Balantidium coli	Balantidiosis	•								
210	Cryptosporidium parvum	Gastroenteritis	•								
211	Cyclospora cayetanensis	Ciclosporiasis	•								
212	Cystoisospora belli	Isosporiasis	•								
213	Entamoeba histolytica	Amibiasis	•								
214	Giardia intestinalis	Giardiasis	•								
215	Giardia lamblia	Giardiasis	•								
216	Naegleria fowleri	Meningoencefalitis			•						
217	Toxoplasma gondii	Toxoplasmosis									•
218	Trypanosoma cruzi	Chagas	•		•				•		
		• VIRUS									
219	Alphavirus Chikungunya					•					
219	virus	Fiebre Chikungunya									
220	Alphavirus	Encefalitis			•						
221	Arenavirus Junin virus	Fiebre hemorrágica			•				•	•	

		CLASIFICACIÓN AFECCIÓ									N
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
222	Coronavirus	Pneumonia		•							
223	Ebolavirus	Ébola							•		
224	Enterovirus coxsackievirus	Enfermedad febril, meningitis			•						
225	Enterovirus Human echovirus 30	Meningitis			•						
226	Erythrovirus Human parvovirus	Eritema				•					
227	Filovirus*	Fiebre, dolor articular				•			•		
228	Flavivirus	Fiebre amarilla, Dengue, Zika				•	•				
229	Hantavirus	× ndrome cardiopulmonar		•					•		
230	Hepacivirus Hepatitis C virus	Inflamación del hígado	•								
231	Hepatovirus Hepatitis A virus	Gastroenteritis	•								
232	Hepevirus Hepatitis E virus	Infección vírica del hígado	•								
233	Human herpesvirus 3	Varicela y hérpes genital				•					
234	Human herpesvirus	Herpes genital, Sarcoma de Kaposi				•	•				
235	Human papillomavirus	Lesiones tejido epiteliar				•					
236	Influenzavirus	Influenza tipo A y B		•							
237	Lentivirus Human inmmunodeficiency virus 1	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)					•				
238	Lyssavirus rabies virus	Rabia			•						

			С	LAS	IFIC	CAC	IÓN	OFTALMOLÓGICA OTTALMOLÓGICA OTTALMOLÓGICA			
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS
239	Mamastrovirus Human astrovirus	Gastroenteritis	•								
240	Marbugvirus	Fiebre hemorrágica		•					•		
241	Mastadenovirus Human adenovirus	Gastroenteritis, faringitis, conjuntivitis y uretritis	•	•				•		•	
242	Morbillivirus measles virus	Sarampión				•					
243	Norovirus	Gastroenteritis epidémica	•								
244	Orthohepadnavirus Hepatitis B virus	Infección vírica del hígado	•								
245	Orthopoxvirus Variola major	Viruela				•					
246	Orthoreovirus Mammalian orthoreovirus 3	Gastroenteritis	•								
247	Poliovirus	Poliomelitis			•						
248	Polyomavirus JC polyomavirus	Leucoencefalopatía multifocal progresiva					•				
249	Respirovirus Human Parainfluenza virus ×	Laringitis obstructiva		•							
250	Respirovirus Human Parainfluenza virus 3	Bronquiolitis y neumonía		•							
251	Rhinovirus Human Rhinovirus	Resfirado común		•							
252	Rotavirus Human rotavirus	Gastroenteritis	•								
253	Rubivirus Rubella virus	Rubeola					•				•
254	Rubulavirus Human Parainfluenza virus 2	Liringitis obstructiva		•							
255	Rubulavirus Human Parainfluenza virus 4	Parainfluenza humana		•							

			CLASIFICACIÓN AFEC						CIÓN			
No	AGENTE ETIOLÓGICO	Afección	GASTROINTESTINAL	RESPIRATORIA	SISTEMA NERVIOSO	MUSCULAR Y TB	INMUNOLÓGICA	OFTALMOLÓGICA	CARDIOVASCULAR	URINARIA	OTRAS	
256	Rubulavirus	Paperas			•	•						
257	Sapovirus	Gastroenteritis	•									
258	Togaviridae*	Artritis, encefalítis, rubeola			•	•					•	
GENES DE RESISTENCIA												
259	QnrA		_									
260	QnrB		_									
261	QnrS		_									
262	aac(6'lb)		_									
263	QepA		_									
264	CTX-MF/CTX-MR		_									
265	TLA-1F/TLA-1R		_									
266	NDM		_									
267	KPC		_									
268	GES	,	-									
269	IMP	,	-									
270	VIM											