



ANALISIS MICROBIOLÓGICO Y QUÍMICO DE AGUA DE LLUVIA CAPTADA POR EL SISTEMA TLALOQUE

INFORME TÉCNICO FINAL

Dra. Marisa Mazari Hiriart, Responsable

Dra. Ana Cecilia Espinosa García, Co responsable

Colaboradores:

M en C Rosa Solano Ortiz

M en C Marco Antonio Tapia Palacios

Q. A. Blanca Hernández Bautista

M en C Gustavo Pérez Ortiz

Biol. Teresa Castañón

Pas. Biol. Laura J. Lobaco Salas

Pas. Biol. Karla L. Jiménez Morales

Enero, 2017

Contenido

1. Introducción	1
2. Objetivos	4
3. Métodos	4
4. Resultados	9
<u>5.</u> Conclusiones.....	17
6. Referencias	18

1. Introducción

El abastecimiento de agua a la población no solo se refiere a resolver los requerimientos de infraestructura sino también a todo lo que se relaciona con que la población reciba de manera regular y segura el agua que cubra sus necesidades básicas.

Sin embargo, ante el crecimiento acelerado de la población en zonas urbanas y la sobreexplotación de las fuentes de abastecimiento de agua subterránea y superficial, se requiere la búsqueda de otras fuentes de abastecimiento.

Desde las primeras civilizaciones humanas el agua de lluvia ha constituido una fuente de abastecimiento, permanente o temporal, por lo que no se trata de un nuevo concepto dentro de las alternativas de manejo del recurso con fines de abastecimiento público (García-Villegas, 2013). Ante los escenarios actuales que presenta la problemática del agua a nivel global, se promueve de manera muy importante la captación de agua de lluvia como opción para el abastecimiento de agua en China, Brazil, Australia e India (Aladenola y Adeboye, 2013).

Actualmente un aspecto que ha tomado cada día mayor importancia es la calidad del agua de lluvia que se pretende aprovechar, considerando que potencialmente pueda tener efectos sobre la salud de los consumidores, lo cual repercutiría en términos sociales, económicos y ambientales.

Para la evaluación microbiológica de calidad del agua se han utilizado las bacterias coliformes como microorganismos indicadores de contaminación fecal en agua desde hace más de 100 años (Ashbolt *et al.*, 2001), sin embargo, se ha demostrado que la presencia o ausencia de bacterias coliformes no se relacionan con la presencia o ausencia de agentes virales y protozoarios de gran relevancia desde la perspectiva de la salud pública (WHO, 2011; Lambertini *et al.*, 2011).

Por otro lado, se sabe que el manejo del agua dentro del hogar es un factor determinante de la calidad microbiológica; el agua puede ser abastecida con una calidad aceptable y sufrir diferentes alteraciones antes de su consumo (Clasen y Bastable, 2003; Wright *et al.*, 2004; Eshcol *et al.*, 2009).

La alternativa de cosecha de agua de lluvia del sistema Tlaloque está siendo en muchos casos adoptada exitosamente por familias de la Ciudad de México y en otros lugares del país, que cuentan con un sistema formal de distribución o que a pesar de tenerlo enfrentan tandeos o escasez por periodos considerables de tiempo. Aunque el Tlaloque puede ser una alternativa para el abastecimiento de agua que cubra al menos parte de las necesidades, es importante identificar por un lado la calidad del agua que se obtiene después del proceso de captación, y por otro lado en conjunto con el manejo de los usuarios, identificar los puntos críticos sobre los cuales es recomendable incidir a fin de entrar en una dinámica de mejora que permita un uso seguro del agua de lluvia.

2. Objetivos

Objetivo general

Evaluar la calidad microbiológica, química y fisicoquímica del agua de lluvia procedente del sistema de captación de agua de lluvia Tlaloque.

Objetivos particulares

Cuantificar coliformes fecales y *Salmonella* sp. por técnicas de microbiología.

Cuantificar quistes de *Giardia lamblia* por microscopia de inmunofluorescencia.

Cuantificar unidades formadoras de colonia (UFC) de bacteriófagos por doble capa de agar.

Cuantificar plomo (Pb) por espectrofotometría de absorción atómica.

Cuantificación de los aniones NO_3^- y SO_4^{2-} por gravimetría y turbidimetría.

3. Métodos

3.1 Muestreo

Considerando las casas en las que se han instalado sistemas de captación de agua de lluvia Tlaloque, se hizo una selección de 75 domicilios de las delegaciones de Tlalpan y Xochimilco, tomando como criterios de inclusión la instalación completa y operación vigente.

En cada casa se colectaron muestras en la cisterna (almacenamiento de agua de lluvia), pasando filtros (posterior a la cisterna) y en el punto de uso (agua para uso), Figura 1.

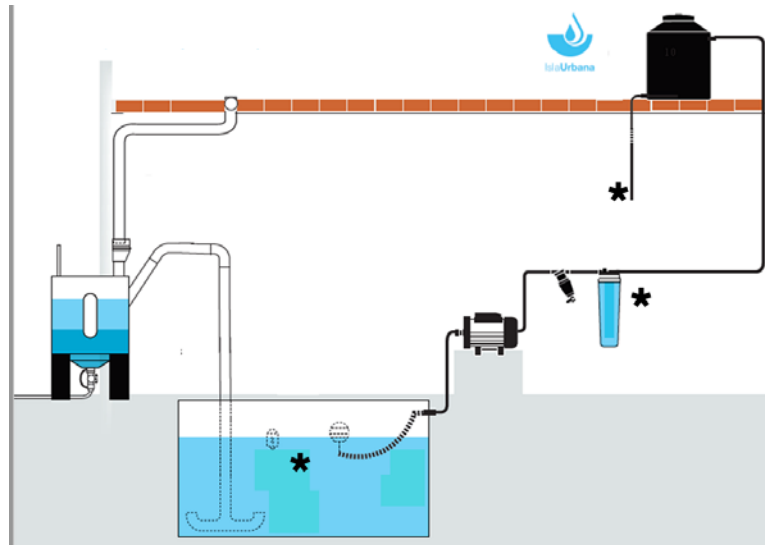


Figura 1. Sistema domiciliario de distribución de agua de lluvia captada por el Tlaloque. Puntos de colecta de muestras de agua *.

Los muestreos se realizaron durante la temporada de lluvias del 2016, colectando 30 L para la detección de bacteriófagos y *Giardia lamblia*, y 1 L por triplicado para la detección de coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*

3.2 Esterilización de material

Con el propósito es eliminar los microorganismos que pudieran estar presentes en el material y que eventualmente pudieran ser detectados, se debe asegurar que el material que tenga contacto con las muestras de agua sea completamente estéril. Las muestras de agua de lluvia captada por el sistema Tlaloque, fueron colectadas en bidones de polipropileno de 10 L y en botes de 1 L, lavados y esterilizados a 120°C por 20 min de acuerdo con los métodos estandarizados (APHA, 2005). El material esterilizado mantuvo ésta condición hasta el momento en el que fueron colectadas las muestras de agua.

3.3 Concentración de muestras

Las muestras de 10 L de agua colectadas fueron sometidas al proceso de concentración por medio de un sistema de ultrafiltración utilizando un filtro de polisulfona F80A (Fresenius Medical Care) con un corte de 15-20 KDa. La concentración se realizó recirculando la muestra a través del ultrafiltro (Fresenius Medical Care) y con el impulso de una bomba peristáltica (ColeParmer) a un flujo de 1700 mL/min (Figura 2). El volumen final del concentrado fue de

aproximadamente 75 mL que se conservó en refrigeración (4°C) hasta el análisis para detección de bacteriófagos y *Giardia lamblia*.

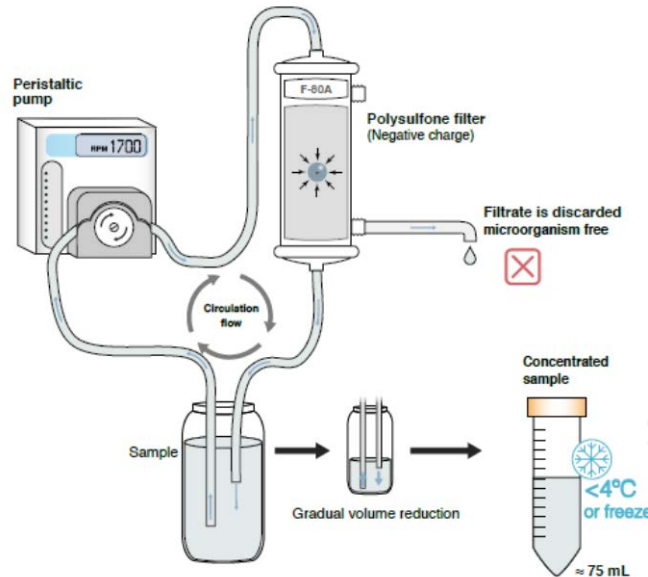


Figura 2. Sistema de ultrafiltración.

3.4 Detección de bacteriófagos

Los bacteriófagos son virus que infectan de forma específica a bacterias; en este estudio se utilizaron bacterias fecales hospederas, esto es *Escherichia coli* HS (pFamp) R (ATCC 700891). Brevemente, para propagar *E. coli* HS (pFamp) se prepararon 50 mL de medio líquido TSB (Fluka), este se incubó durante 3 horas aproximadamente a una temperatura de 37°C con agitación en Baño María (EPA, 2001).

En la Figura 3 se resume el protocolo que se utilizó para la detección de bacteriófagos en las muestras de agua de lluvia.

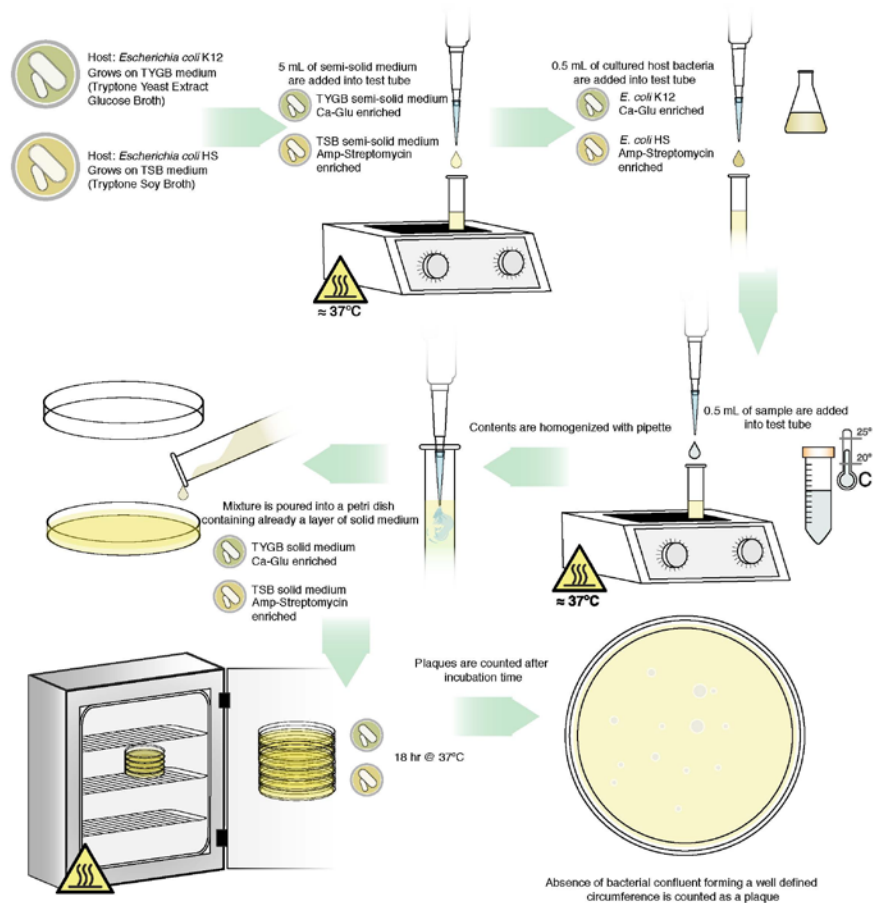


Figura 3. Protocolo utilizado para la detección de bacteriófagos en agua de lluvia.

3.5 Detección de bacterias coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp.

Las bacterias fueron detectadas de las muestras de 1 L. Las muestras fueron procesadas por el método de filtración a través de membrana para posteriormente incubar las membranas en medios selectivos para coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. (Figura 4).

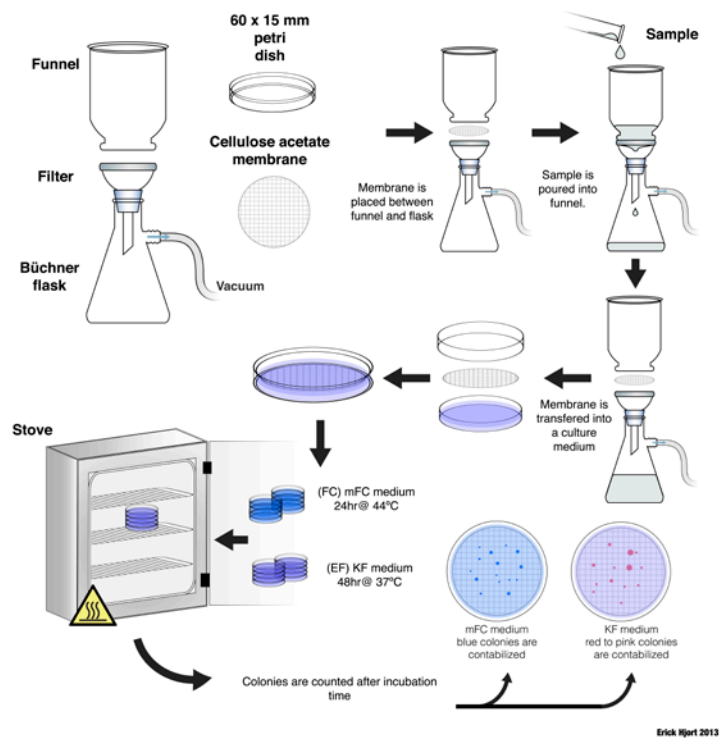


Figura 4. Procedimiento para la detección de bacterias fecales

3.6 Detección de *Giardia lamblia*

La detección de estos protozoarios se llevó a cabo utilizando métodos de microscopía de inmunofluorescencia (Rangel-Martínez, 2010; Tapia-Palacios, en proceso). Los protocolos que se utilizaron fueron adaptados en el Hospital Manuel Gea González (Departamento de Ecología de Agentes Patógenos, bajo la dirección del Dr. Pablo Maravilla) y en el Instituto de Ecología-UNAM (Rangel-Martínez, 2010; Tapia-Palacios, 2016).

Para la cuantificación de los (oo)quistes, posterior a la concentración por ultrafiltración, se realizó una segunda concentración por centrifugación (Figura 5) y posteriormente se incubaron las preparaciones con anticuerpos monoclonales IgG *Giardia* (Santa Cruz-57743) y anticuerpo conjugado con FITC de conejo anti-ratón IgG.

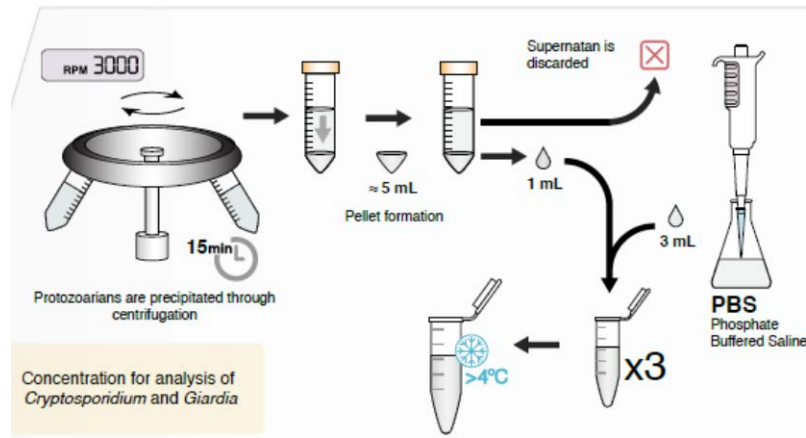


Figura 5. Segunda concentración para detección de *Giardia lamblia*.

4. Resultados

Se colectaron muestras de agua de lluvia de 75 casas, de las cuales seis se utilizaron como control debido a que el Tlaloque tenía una modificación de separación de agua de las primeras lluvias. Además, previo al estudio se aseguró que tuvieran las condiciones óptimas para el funcionamiento; asimismo se garantizaba que los seis sistemas solo estarían captando agua de lluvia sin que hubiera abastecimiento de agua por el sistema formal de distribución.

En la Figura 6 se muestran los conteos bacterianos obtenidos en las seis casas control.

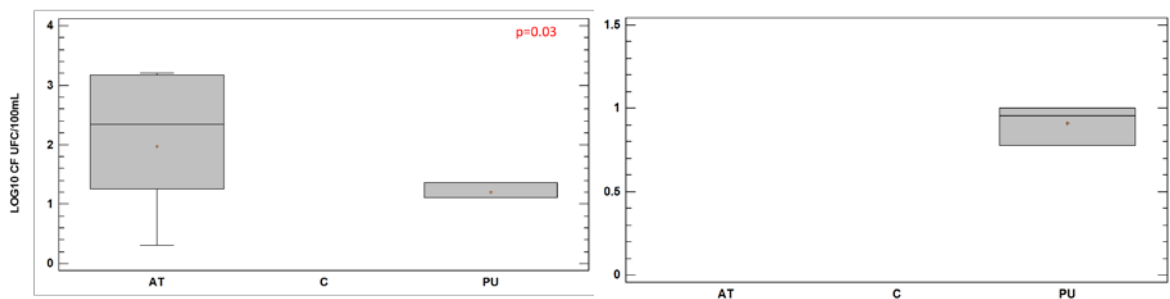


Figura 6. Conteos de bacterias coliformes fecales (izquierda) y *Salmonella* sp.(derecha) en las seis casas control. AT=antes del Tlaloque; C=cisterna; PU=punto de uso.

En la Figura 6 (izquierda) se observa que el agua de lluvia antes de ser sometida al sistema (AT) presenta conteos de bacterias coliformes fecales entre 100 y 1000 UFC/100 mL, mientras que en AT no fue detectada la bacteria patógena *Salmonella* sp.

Por otro lado, ni coliformes fecales ni *Salmonella* sp. fueron detectadas en cisternas. En el PU de las seis casas control nuevamente fueron detectadas coliformes fecales y *Salmonella* sp., sin embargo los conteos promedio fueron menores en comparación con los obtenidos el agua de lluvia en AT. Lo cual sugiere una re-contaminación entre la C y PU. Cabe señalar que los resultados bacterianos en los PU de las seis casas control no son limitante para que el agua sea aprovechada para uso doméstico pero no para bebida.

Los conteos de bacterias coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. de las 69 casas participantes son presentados en la Figura 7.

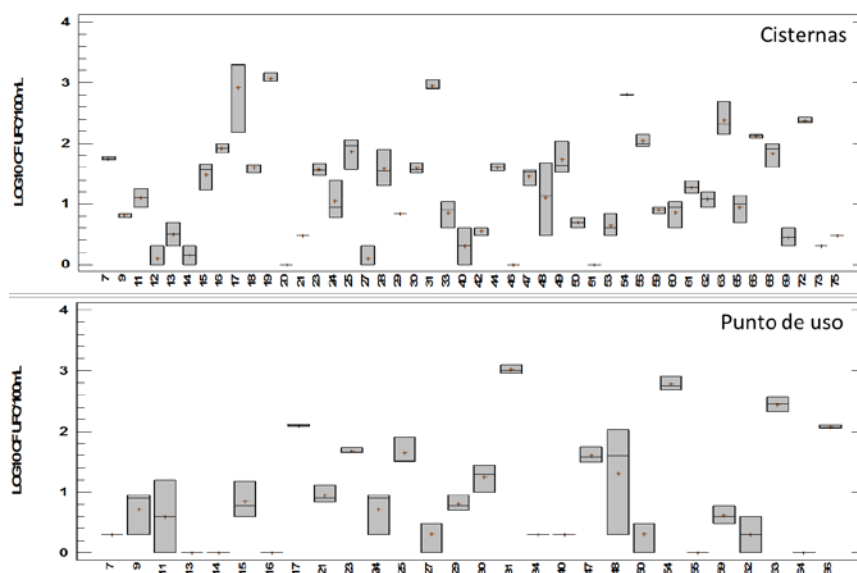


Figura 7. Conteos de coliformes fecales detectados en agua de lluvia en las C (arriba) y PU (abajo) de las 69 casas participantes.

Las muestras de agua de lluvia almacenada en las C de las casas participantes positivas a coliformes fecales en el 65%, con conteos entre 1 y >1000 UFC/100mL, mientras que en PU fueron positivas el 46%, con conteos entre 1 y >1000 UFC/100mL.

Las mismas muestras fueron procesadas para la detección de dos bacterias patógenas *Escherichia coli* (Figura 8) y *Salmonella* sp. (Figura 9) Para ambas patógenas se obtuvieron muestras positivas.

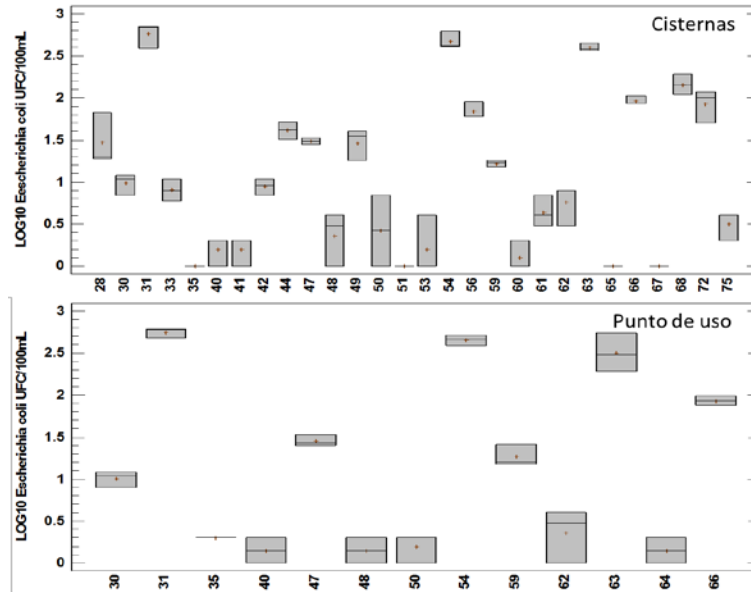


Figura 8. Muestras de agua de lluvia positivas a *Escherichia coli* en C (arriba) y en PU (abajo) de las 69 casas participantes.

Los resultados muestran que *Escherichia coli* fue positiva en el 58% de las C y en el 39% de los PU; los conteos fueron entre 1 y <1000 UFC/100mL.

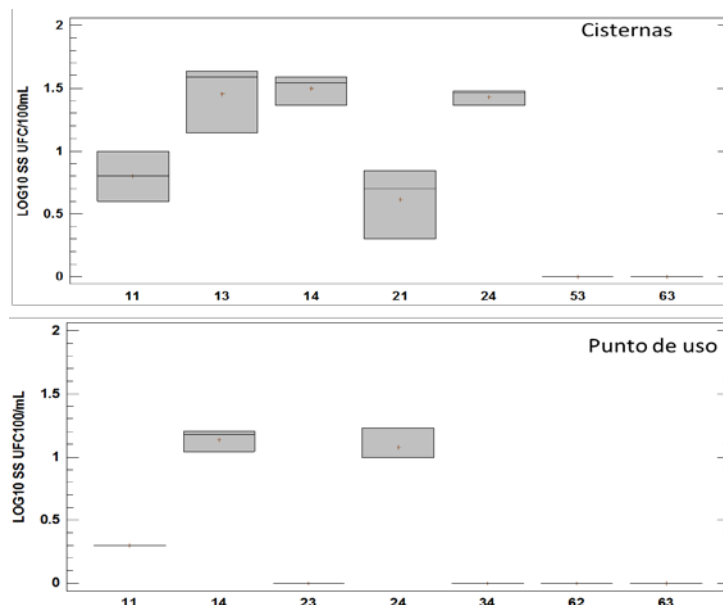


Figura 9. Muestras de agua de lluvia positivas a *Salmonella* sp. en C (arriba) y en PU (abajo) de las 69 casas participantes.

La presencia de *Salmonella* sp. en agua de lluvia fue de 10% en C y del 14% en PU; en el caso de ésta patógena los conteos fueron entre 1 y <100 UFC/100mL, lo cual muestra una diferencia de una unidad logarítmica menos con respecto a *Escherichia coli*.

Es interesante resaltar que no existe diferencia significativa entre los conteos de coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. entre las muestras positivas de C y de PU. Esto permite identificar como un punto crítico el manejo al que se somete el agua entre C y PU, por lo tanto debe considerarse para realizar una intervención en conjunto con los usuarios.

A manera de comparación en la Figura 10 se presenta un resumen de las muestras positivas a bacterias en los diferentes puntos muestreados en las casas consideradas en éste estudio.

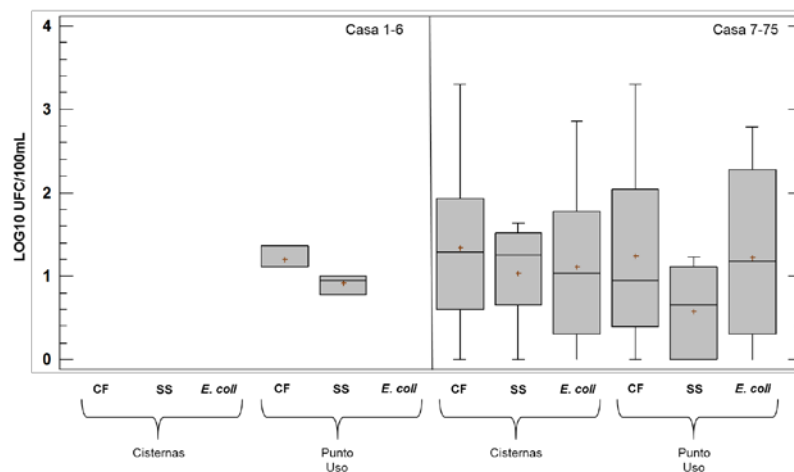


Figura 10. Comparación de la presencia de coliformes fecales (CF), *Salmonella* sp. (SS) y *Escherichia coli* (E. coli) en las seis casas control (izquierda) y las 69 casas participantes (derecha).

Paralelamente a la detección de bacterias, las muestras de agua de lluvia fueron procesadas para la detección de bacteriófagos. Los resultados mostraron solo dos muestras positivas; que al confirmarse dan evidencia de contaminación fecal del agua de lluvia analizada en las casas específicas.

Finalmente la detección del parásito *Giardia lamblia*, otro patógeno de importancia para la salud pública, se detectó en el 9% de la muestras. Este porcentaje corresponde en algunos casos a C y en otros a PU específicamente en cuatro de las 69 casas participantes.

En cuanto a la concentración de cloro residual libre, que se utiliza como desinfectante a partir de la aplicación de cloruro de sodio o cloruro de calcio, se midió en las C y en PU.

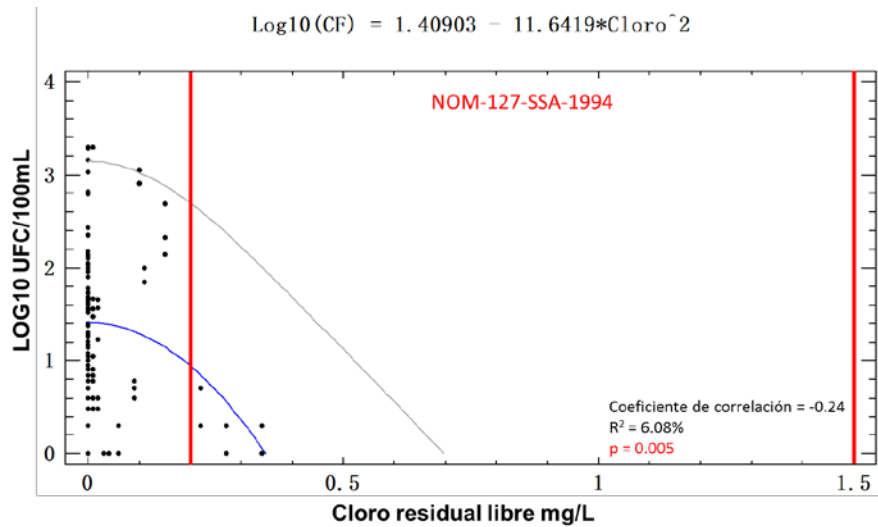


Figura 11. Relación entre los conteos de CF y la concentración de cloro residual libre en el agua de lluvia almacenada en la C.

Para de encontrar la relación entre los conteos de CF detectados y las concentraciones de cloro residual libre, se realizó una prueba de correlación. Los resultados se presentan en la Figura 11, donde se puede observar en rojo los límites permisibles de cloro residual libre que utilizamos como referencia y que corresponden a lo establecido en la NOM-127-SSA-1994 para agua que será destinada para uso y consumo humano. Se encontró una correlación inversa (coeficiente de correlación= -0.24; $p=0.005$). Esto significa que cuando los niveles de cloro son menores a los recomendados se observa un mayor crecimiento de CF; al incrementar la concentración de cloro, los conteos de CF son menores.

Un adecuado nivel de cloro residual libre es fundamentales para controlar la presencia y la propagación bacteriana, en éste sentido es importante resaltar que se encontró una diferencia significativa ($p=0.04$) entre las concentraciones de cloro en la C y PU, esto puede relacionarse con la presencia del filtro de carbón activado entre la C y PU cuya actividad entre otras, es reducir el cloro residual libre, lo que favorece a los usuarios que no aceptan el agua con olor (y sabor) a cloro (Figura 12).

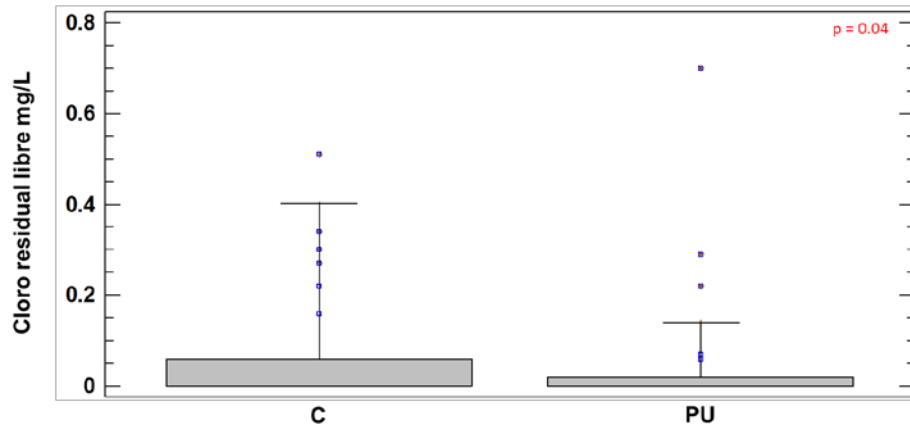


Figura 12. Concentración de cloro libre residual en agua de lluvia en C y en PU.

Otro de los factores que se reportan en la literatura como significativo para la calidad del agua de lluvia, es el tipo de techo donde se capta el agua. Para ello se hizo un análisis para conocer si existe algún tipo de techo que favorezca la presencia de bacterias en el agua de lluvia (Figura 13).

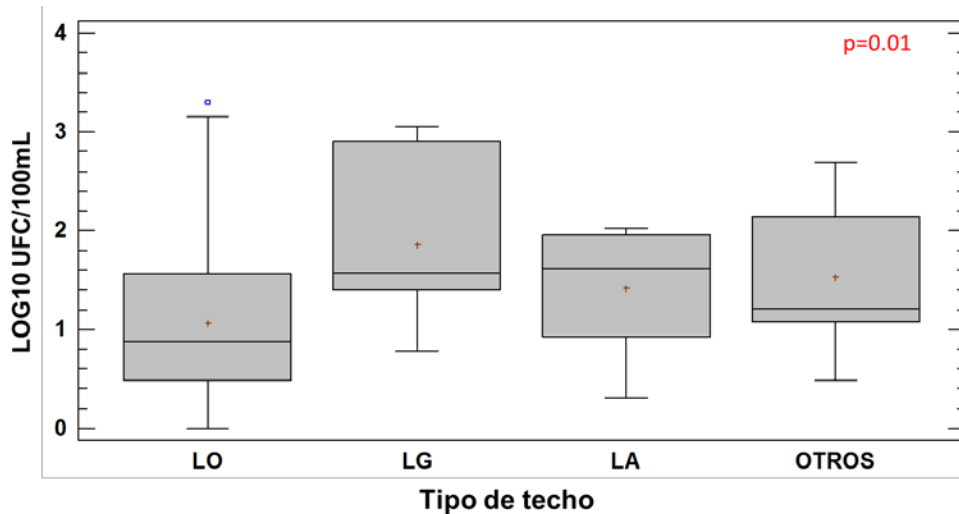


Figura 13. Relación entre los conteos de CF y el tipo de techo de captación: LO loza; LG lámina galvanizada; LA lámina de asbesto y OTROS lámina de cartón, madera y plástico.

La variación entre los conteos en los diferentes tipos de techo de captación tiene una variación que va de 10^0 a 10^3 de CF. Los análisis realizados muestran una diferencia significativa ($p=0.04$) entre los conteos de CF para los diferentes tipos de techo, sin embargo, no se cuenta con un

número suficiente de datos para saber qué tipo de techo contribuye más a los conteos bacterianos; se requeriría un número igual de muestras para cada una de las variables (techo).

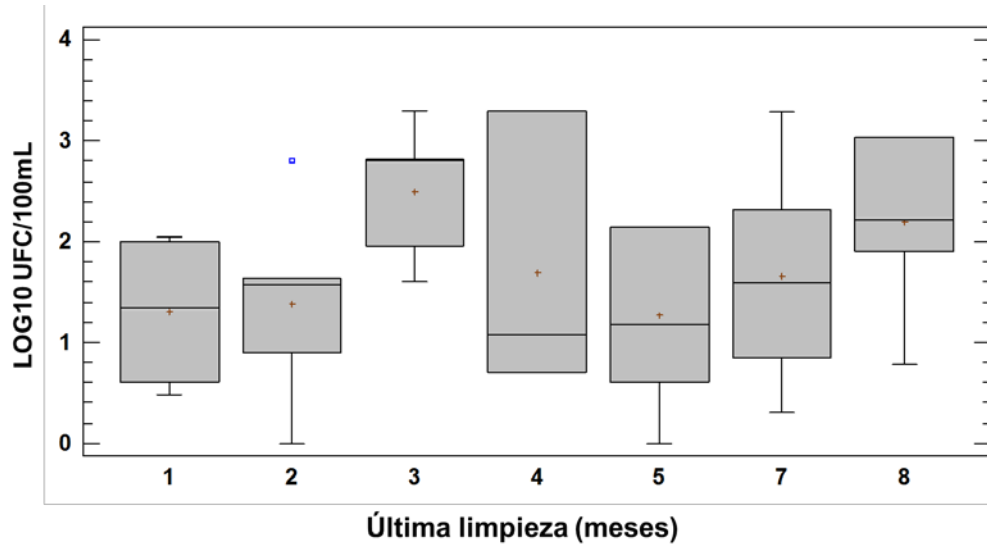


Figura 14. Relación entre conteos de CF y el tiempo transcurrido desde la última limpieza de las C.

Para saber si existe una relación entre los conteos de CF y la limpieza de cisternas, se realizó un análisis de correlación. Los resultados mostraron que no existe una asociación entre las variables (Figura 14). Al respecto es importante señalar que la información sobre la limpieza de la cisterna fue aportada verbalmente por la persona que atendió a los técnicos de campo, no necesariamente fue la persona responsable del sistema. Adicionalmente, existen otras variables que pueden explicar la presencia de CF en las C como son el tiempo transcurrido entre el lavado de la C y las primeras lluvias y la intensidad de las mismas.

Finalmente, otro de los aspectos importantes para considerar el uso del agua de lluvia son sus características químicas. En ese sentido, y tomando como referencia el agua de lluvia colectada de las seis casas control, se analizaron Pb, nitratos y sulfatos. Los resultados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones de Pb, nitratos y sulfatos en muestras de agua de lluvia colectada AT.

Casa	Pb mg/L	Nitratos mg/L	Sulfatos mg/L
1-AT	0.043	0.921	1.4
1-AT	< 0.010	5.9	10.66
1-AT	< 0.010	4.463	5.42
1-PU	0.098	0.315	8.04
1-PU	< 0.010	1.016	3.18
1-PU	< 0.010	2.054	2.62
2-AT	< 0.010	2.912	5.24
2-AT	< 0.010	2.915	3.64
2-AT			
2-PU	< 0.010	4.976	9.16
2-PU	< 0.010	6.942	9.9
2-PU			
3-AT	0.071	7.654	11.96
3-AT	0.047	2.739	7.85
3-AT	< 0.010	2.069	10.28
3-PU	0.06	15.018	21.97
3-PU	0.071	8.336	17.76
3-PU	< 0.010	14.478	8.41
4-AT	< 0.010	4.013	10.84
4-AT	< 0.010	4.987	9.7
4-AT			
4-PU	< 0.010	5.318	12.15
4-PU	< 0.010	3.416	9.54
4-PU			
5-AT	< 0.010	3.232	11.03
5-AT	< 0.010	3.066	12.03
5-AT	0.023	6.785	8.23
5-PU	< 0.010	12.211	18.93
5-PU	< 0.010	8.562	3.74
5-PU	< 0.010	7.692	10.1
6-AT	< 0.010	1.528	2.25
6-AT	< 0.010	6.322	9.53
6-AT	< 0.010	7.07	8.6
6-PU	< 0.010	2.282	1.13
6-PU	< 0.010	1.265	2.43
6-PU	< 0.010	1.195	1.97

Nota: límites máximos para: Pb 0.025 mg/L; nitratos 10 mg/L; sulfatos 400 mg/L

Los resultados de la Tabla 1 muestran que solo en dos casos (celdas en rojo) se considera que el Pb rebasa el límite máximo permisible establecido en la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000). Las celdas en amarillo corresponden a que solo uno de los triplicados rebasa la concentración límite, por lo que es recomendable dar seguimiento. En cuanto a nitratos solo una muestra

(celdas en rojo) rebasó el límite máximo permisible establecido en la NOM-127-SSA1-1994 (DOF,2000).

5. Conclusiones

En muestras de agua de lluvia colectada en las casas control, antes de entrar al sistema Tlaloque, fueron detectadas bacterias coliformes fecales en una cantidad entre 1 y 1000 UFC/100 mL. En estas mismas muestras no fueron detectadas las bacterias patógenas *Salmonella* sp.

Los resultados obtenidos en las casas control mostraron que el manejo del agua de lluvia posterior a su captación por el Tlaloque almacenada en las cisternas, fue suficiente para lograr la ausencia de coliformes fecales y *Salmonella* sp. No obstante, la detección de bacterias en punto de uso refleja que el manejo de filtros podría estar afectando las citadas características microbiológicas. Al respecto cabe señalar que por la magnitud de los conteos bacterianos (<100 UFC/100 mL) es necesario reforzar la información acerca de que el agua de lluvia después del proceso, solo es apta para uso y no como agua de bebida.

Los resultados obtenidos en las casas participantes (no control) mostraron que en cuanto a la calidad microbiológica del agua de lluvia procesada a través del Tlaloque, prácticamente la mitad de las muestras muestran una calidad aceptable mientras que la mitad restante no cuentan con agua libre de contaminación microbiológica. No se encontró diferencia entre los conteos bacterianos en cisternas (depósito) y puntos de uso.

Considerando los datos de las casas participantes (no control), la presencia bacteriana está relacionada inversamente con la concentración de cloro residual libre en el agua de lluvia almacenada en cisternas. Por lo que los conteos mayores de bacterias fecales fueron detectados en las cisternas con menor concentración o ausencia de cloro.

Las concentraciones de cloro residual libre en cisternas y en punto de uso son diferentes, lo cual puede explicarse por la presencia de un filtro de carbón activado entre los dos puntos. Esto también puede aportar una explicación de la presencia de bacterias fecales en los puntos de uso, ya que a ese nivel del sistema las concentraciones de cloro residual libre bajas o inexistentes dejan sin desinfección residual a esa sección del sistema.

Existe una diferencia significativa de los conteos bacterianos entre los diferentes tipos de techo de captación de agua de lluvia, sin embargo, es necesario ampliar y profundizar el muestreo para determinar la contribución de la variable tipo de techo a los conteos bacterianos.

A partir de comunicación personal de usuarios y de observaciones en las casas participantes, se puede concluir que las razones por las cuales se presenta contaminación microbiológica en el agua de lluvia después de haber pasado por el Tlaloque, coincide con el mal manejo del sistema asociado a modificaciones del sistema, falta de lavado de cisternas (depósitos), uso inadecuado de cloro o no uso, falta de cambio de filtros.

El análisis de Pb, nitratos y sulfatos solo se realizó en las muestras de las seis casas control y se trata de muestras puntuales, por lo que es recomendable dar seguimiento con un muestreo más amplio y representativo del agua de lluvia de la zona sur de la Ciudad de México.

Es recomendable fortalecer la comunicación entre los técnicos especializados y los usuarios. Implementar una modalidad de capacitación orientada a garantizar el adecuado manejo del sistema Tlaloque, lo cual se podría lograr con capacitaciones bajo el formato de taller y también las sesiones de intercambio de experiencias con usuarios clave.

Bajo las condiciones específicas en las que se realizó este estudio el sistema de captación de agua de lluvia Tlaloque tiene la capacidad de mejorar la calidad microbiológica del agua de lluvia que será utilizada por las familias beneficiadas.

Agradecimientos

Los autores del presente trabajo queremos agradecer a la Coordinación de Investigación y Desarrollo, UNAM, así como a la empresa Solución Pluvial S.A. de C.V. por el apoyo recibido para la realización de éste trabajo.

6. Referencias

Ashbolt, N. J., W. O. K. Grabow, M. Snozzi. 2001. Indicators of microbial water quality. En: Fewtrell L. and J. Bartram Eds. Water Quality: Guidelines, Standards and Health: Assessment of risk and risk management for water-related infectious disease. World Health Organization Press.

DOF. 2000. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Modificación. Salud ambiental, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la federación 20 octubre 2000.

EPA. 2001. Method 1602: Male-specific (F⁺) and Somatic Coliphage in water by single agar layer (SAL) procedure. (Environmental Protection Agency), Washington D. C.

Eshcol J., P. Mahapatra, S. Keshapagu. 2009. Is fecal contamination of drinking water after collection associated with household water handling and hygiene practices? A study of urban slum households in Hyderabad, India. *J Water Health* 7(1):145-54.

García Villegas, B. 2013. Caracterización del agua lluvia captada en una edificación para su aprovechamiento con fines de sustentabilidad hídrica. Tesis de Maestra en Ingeniería Ambiental. Instituto de Ingeniería, UNAM.

Huang J.A. H.S. Nagesha, D. R. Snodgrass, I. H. Holmes. 1992. Molecular and serological analyses of two bovine rotaviruses (B-11 and B-60) causing calf scours in Australia. *J Clin Microbiol.* 30(1):85-92

ISO, 1995. 10705-1: Water quality—Detection and enumeration of bacteriophages-part 1: Enumeration of F-specific RNA bacteriophages. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization

Lambertini E., S. K. Spencer, B. A. Jr. Kieke, F. J. Loge, M. A. Borchardt. 2011. Virus contamination from operation and maintenance events in small drinking water distribution systems. *J Water Health* 9(4):799-812.

Mazari-Hiriart M. y D. M. MacKay. 1993. Potential for Groundwater Contamination in Mexico City. *Environ Sci Technol* 27 (5): 794-801.

Olanike Olowoia Aladenola, Omotayo B. Adeboye. 2010. Assessing the Potential for Rainwater Harvesting. *Water Resour Manage* 24:2129–2137.

Percival S. L., R. M. Chalmers, M. Embrey, P. R. Hunter, J. Sellwood, P. Wyn-Jones. 2004. *Microbiology of waterborne diseases*. Elsevier Academic Press. San Diego, CA. 480 pp.

Polaczyk L. A., Narayanan J., Cromeans L. T., Hahn D., Roberts M. J., Amburgey E. J. y Hill R. V. 2008. Ultrafiltration-based techniques for rapid and simultaneous concentration of multiple microbe classes from 100-L tap water samples. *J Microbiol Meth*, 73: 92-99.

Rangel-Martínez C. 2010. Identificación de *Blastocytis hominis* en muestras de agua obtenidas de Ciudad Universitaria en la Ciudad de México. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Simón Bolívar.

Tapia-Palacios M. A. 2016. Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en agua del río Cuitzmala, Jalisco. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, UNAM

World Health Organization (WHO). 2011. Guidelines for drinking water quality. Fourth edition. WHO Press. Geneva, Switzerland

Wright J., S. Gundry and R. Conroy. 2004. Household drinking water in developing countries: a systematic review of microbiological contamination between source and point-of-use. Trop Med Inter Health 9 (1): 106–117.