



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* como
indicadores de calidad de agua en Ciudad Universitaria.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

JAQUELINE JENIFFER NOGUEZ LUGO



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARISA MAZARI HIRIART

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Hoja de Datos:

1. Datos del alumno.

Noguez

Lugo

Jaqueline Jeniffer

56228998

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

304070057

2. Datos del asesor.

Mazari

Hiriart

Marisa

3. Datos de sinodal 1.

Dra.

Segal

Kischinevzky

Claudia Andrea

Facultad de Ciencias, UNAM.

4. Datos de sinodal 2.

M. en C.

Sereno

Uribe

Ana Lucía

Facultad de Ciencias, UNAM.

5. Datos de sinodal 3

Dr.

Maravilla

Campillo

José Pablo

Facultad de Medicina, UNAM.

6. Datos sinodal 4.

Dra.

Espinosa

García

Ana Cecilia

Instituto de Ecología, UNAM.

7. Datos de la tesis

Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* como indicadores de calidad del agua en Ciudad Universitaria.

77 p.

2012

ÍNDICE

Resumen	
1. Introducción	1
1.1. Microorganismos indicadores de calidad de agua	3
1.2. Parásitos Protozoarios en agua	6
1.3. Consideraciones fisiológicas y ecológicas	8
1.4. <i>Giardia lamblia</i>	9
1.4.1. Taxonomía y características	9
1.4.2. Ciclo biológico de <i>G. lamblia</i>	12
1.4.3. Patogenia y diagnóstico	14
1.5. <i>Cryptosporidium parvum</i>	15
1.5.1. Taxonomía y características	15
1.5.2. Ciclo biológico de <i>C. parvum</i>	16
1.5.3. Patogenia y diagnóstico	18
2. Antecedentes	20
3. Justificación	24
4. Hipótesis	24
5. Objetivos	25
5.1 Objetivos particulares.	25
6. Métodos	26
6.1. Métodos de campo	26
6.1.1. Muestreo en pozos	28
6.1.2. Muestreo en plantas de tratamiento	28
6.1.3. Muestreo en cisternas	28
6.2. Métodos de laboratorio	30
6.2.1. Parámetros físico-químicos	30
6.2.2. Análisis bacteriológico	30
6.2.3. Concentración de muestras	31
6.2.4. Colifagos	31
6.2.5. Detección por Inmunofluorescencia Indirecta	32

6.3.	Análisis de datos	36
7.	Resultados	37
7.1.	Parámetros físico-químicos	37
7.2.	Indicadores tradicionales de contaminación fecal	40
7.3.	Análisis por Inmunofluorescencia	42
7.4.	Análisis por tipo de agua	46
7.4.1.	Agua residual	46
7.4.2.	Agua residual tratada	48
7.4.3.	Comparación entre las frecuencias de agua residual y residual tratada	51
7.4.4.	Agua residual tratada de reúso	53
7.4.5.	Agua subterránea	56
7.4.6.	Comparación de la relación entre los microorganismos en agua	57
8.	Discusión	59
9.	Conclusiones	70
10.	Referencias	73

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de un indicador (Tomado de Ashbolt, <i>et al.</i> 2001).	5
Tabla 2. Ubicación de los sitios de muestreo y condiciones de colecta de muestras	27
Tabla 3. Número de muestras colectadas por sitio; número de muestras analizadas por el método de microscopia por inmunofluorescencia (IFI).	33
Tabla 4. Promedio de los parámetros físico-químicos tomados <i>in situ</i> en todos los sitios, durante temporada cálida- seca 2010 (marzo-junio).	37
Tabla 5. Promedio de los parámetros físico-químicos tomados <i>in situ</i> en los sitios de muestreo durante la temporada cálida-lluvia 2010 (julio-octubre).	38
Tabla 6. Promedio de los parámetros físico-químicos tomados <i>in situ</i> en los sitios de muestreo durante la temporada fría-seca 2010-2011 (noviembre- febrero).	38
Tabla 7. Medias geométricas de la presencia de CF en UFC/100 mL durante cada temporada para cada tipo de agua.	40
Tabla 8. Medias geométricas de la presencia de EF en UFC/100 mL durante cada temporada para cada tipo de agua.	40
Tabla 9. Promedio de la presencia de colifagos en UFP/100 mL durante cada temporada y para cada tipo de agua.	41
Tabla 10. Porcentaje de muestras positivas por tipo de agua	45
Tabla 11. Coeficiente de correlación lineal de Pearson en agua residual.	48
Tabla 12. Coeficiente de correlación lineal de Pearson en agua residual tratada.	51

Tabla 13. Coeficiente de correlación lineal de Pearson en agua residual tratada de reúso. 56

Tabla 14. Presencia de microorganismos en agua subterránea obtenidos durante las tres temporadas de muestreo. 57

Tabla 15. Coeficiente de correlación lineal de Pearson en los cuatro tipos de agua. 58

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Ciclo de vida de *Giardia lamblia* (elaborado por E. Hjort, 2012). 13
- Figura 2. Ciclo de vida *Cryptosporidium parvum* (Tomado de Smith *et al.*, 2005). 17
- Figura 3. Mapa de Ciudad Universitaria. Sitios de muestreo indicados dentro del mapa. (Elaborado por Alba Zarco, 2012). 29
- Figura 4. **a.** Estructuras de quistes de *G. lamblia* y ooquistes de *C. parvum* detectados por fluorescencia con 100 aumentos en agua de reúso de la UNAM. **b.** quistes de *G. lamblia* a 200 aumentos en agua de reúso. 43
- Figura 5. **a.** quiste ovalado con pared gruesa característica de *G. lamblia*, en agua residual tratada de PTARCP con 200 aumentos. **b.** ooquiste redondo de *C. parvum* en agua residual tratada de PTARCP de la UNAM, en un campo de 400 aumentos. 44
- Figura 6. **a.** quiste de *G. lamblia* en agua residual de la PTARCP, con 1000 aumentos, resaltando por el fluorocromo agregado. **b.** estructura redondeada, con una cicatriz característica en la pared del ooquiste de *C. parvum* observado en agua residual tratada de PTARCP, en un campo de 100 aumentos. 44
- Figura 7. Microorganismos detectados durante las tres temporadas en agua residual. 47
- Figura 8. Microorganismos detectados durante las tres temporadas, en agua residual tratada. 50
- Figura 9. Comparación entre agua residual y residual tratada de los microorganismos durante las tres temporadas. 52
- Figura 10. Microorganismos detectados durante las tres temporadas en agua residual tratada para reúso. 54

RESUMEN

Se ha demostrado que *Giardia lamblia* (*G. lamblia*) y *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) representan un riesgo potencial para las poblaciones expuestas, debido a que sus dosis infecciosas son de entre 10-100 quistes y 9 a 1042 ooquistes, respectivamente, poseen una amplia resistencia a las condiciones ambientales, presentan tolerancia a tratamientos de desinfección del agua y son capaces de infectar a distintas especies.

La presencia de estos microorganismos en el agua los hacen buenos candidatos para ser considerados como indicadores microbiológicos complementarios a los indicadores de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de agua. En el presente estudio se detectó y cuantificó a *G. lamblia* y *C. parvum* en cuatro tipos de agua (subterránea, residual, residual tratada antes y después de cloración), para demostrar la utilidad de *G. lamblia* y *C. parvum* como indicadores de contaminación fecal.

Este estudio se realizó en el año 2010 y 2011 en Ciudad Universitaria durante tres temporadas anuales: cálida-seca, cálida-lluvias y fría-seca. De un total de 290 muestras, se escogieron aleatoriamente 51 para su análisis por microscopía de inmunofluorescencia y anticuerpos monoclonales para detectar la presencia de *G. lamblia* y *C. parvum*. El 55% de las muestras analizadas resultaron positivas para *C. parvum* y el 61% para *G. lamblia*, presentándose la mayor frecuencia en agua residual, seguida por agua residual tratada y disminuyendo considerablemente en agua de reúso. En agua subterránea no se detectaron estos microorganismos. Se observó que en la época cálida-seca las frecuencias fueron mayores con respecto a las de las temporadas cálida-lluvias y fría-seca, lo que sugiere una posible influencia de las condiciones ambientales en la presencia de los microorganismos estudiados en los cuatro tipos de agua analizados.

Para conocer la relación entre los protozoarios y los microorganismos indicadores, se realizaron coeficientes de correlación lineal de Pearson, considerándolos candidatos para ser índices de patógenos. Con base en los resultados se determinó que no existe relación positiva entre los protozoarios y las bacterias coliformes fecales y enterococos fecales, ni con colifagos.

En las Normas Oficiales Mexicanas NOM-127-SSA1-1994 para agua de uso y consumo humano y en las NOM-003-SEMARNAT-1996 para el control de agua residual tratada para reúso, se considera el análisis de bacterias como coliformes fecales y coliformes totales como indicadores de contaminación fecal, sin embargo, *G. lamblia* y *C. parvum* no presentan relación con estas bacterias, ni con algunos parámetros fisicoquímicos analizados como parte de este estudio. Por lo tanto, su detección proporciona información complementaria para una evaluación más completa y confiable de la calidad del agua. A pesar de que la detección de quistes de *G. lamblia* y ooquistes de *C. parvum* requiere de infraestructura en laboratorio y de personal técnico especializado, es recomendable que se incluyan como microorganismos índices en los programas de monitoreo de sistemas de distribución de agua, así como en agua que pretende reusarse. Esta recomendación podría tener efecto en la incidencia de enfermedades como la giardiasis, que en México ocupa un lugar importante en la salud poblacional.

1. Introducción

El agua, además de ser una sustancia imprescindible para la vida, por sus múltiples propiedades físicas (tales como: punto de fusión de 0° C, punto de ebullición de 100°C, calor específico de 1 cal/g) y químicas (solvente universal, catalizador importante, gran fuerza de atracción con otras moléculas), es ampliamente utilizada en actividades diarias, como uso doméstico, la agricultura, la industria, la ganadería, consumo de animales y plantas e irrigación lo que lo hace uno de los recursos más valorados. De ahí la importancia de conservar y mantener la calidad de las fuentes de agua, de manera que se garantice su uso adecuado y aprovechamiento para las generaciones siguientes (ONU, 1992)

El estado de un ecosistema acuático depende no solo de la cantidad de agua, sino también de su calidad, refiriéndose ésta a las características físicas, químicas y biológicas de los sistemas de agua superficial y subterránea; mismas que pueden modificarse por procesos naturales o por acciones del hombre (Lima y Mazari, 2007). Estas características perturban el volumen de agua destinado para sustentar tanto a las comunidades humanas, como la vida de especies vegetales y animales. En este sentido, la sedimentación, la eutrofización y la contaminación por microorganismos de origen fecal y sustancias tóxicas, han persistido durante décadas, generando efectos en la salud, tanto ambiental como pública (WHO, 2009).

Durante el ciclo del agua, esta puede tener contacto con sustancias o microorganismos que se vierten en ella, así como con la atmósfera y corteza terrestre. Es por ello que los monitoreos en el agua son importantes para cuidar su calidad, que ayudan entre otras cosas, al control de enfermedades, debido a que el agua es una fuente de transmisión de diversos microorganismos patógenos que producen distintos padecimientos gastrointestinales (Sardin *et al.*, 2009).

En México se monitorea el agua superficial midiendo parámetros como demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y sólidos disueltos (SD), coliformes fecales (CF), nitrógeno (N), fósforo (P), entre otros. Dentro de los contaminantes encontramos: microorganismos, sustancias orgánicas, sustancias químicas, metales pesados, compuestos orgánicos y contaminantes provenientes del medio. La alteración de las características del agua pueden ser causa del mal uso o deficiencias de los procesos de tratamiento, o por contaminación en los sistemas de distribución (WHO, 2009). Las bacterias, virus, protozoarios, helmintos y cianobacterias están implicados en la transmisión de enfermedades a través del agua, las cuales pueden tener distintos niveles de gravedad (Sardin *et al.*, 2009).

La transmisión ambiental de microorganismos patógenos, es un problema de gran importancia a nivel poblacional. La Organización Mundial de la Salud estima que un 24% de las enfermedades que ocurren en el mundo están asociadas con factores ambientales, entre ellos el agua de calidad incierta y condiciones higiénicas de baja calidad (WHO, 2007).

La transmisión a través del agua es sólo una de las vías, pues los agentes patógenos, también son transmitidos a través de alimentos, de persona a persona debido a malos hábitos de higiene, de animales al hombre entre otras (Arcos Pulido *et al.*, 2005). La vía de contagio más frecuente es la fecal-oral, generada por la ingesta de alimentos o agua contaminada, por contacto directo con el agua (Gerba *et al.*, 2009).

El tratamiento y la calidad del agua deben estar dirigidos a la reducción de riesgos para la salud pública y ambiental. Dependiendo del uso que se quiera dar al agua se deben establecer tratamientos específicos, ya sea agua para consumo humano, agrícola, de recreación, ganadero o industrial (Escalante *et al.* 2003).

En México la calidad del agua para uso y consumo humano se establece de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM) 127-SSA1-1994. “Salud ambiental, agua para uso y consumo humano, límites permisibles de calidad y tratamientos a los que debe someterse el agua para su potabilización” (DOF, 2000). Dentro de las disposiciones de esta norma no se contemplan indicadores para los protozoarios, ni para virus, únicamente se hace mención a bacterias coliformes totales, fecales y E. coli, el cual es de ausencia total en 100 mL de agua. Estos indicadores biológicos representan un de la calidad del agua y potencialmente pueden señalar la presencia de patógenos importantes para la salud de la población. (Lima y Mazari, 2007).

Para evaluar la calidad del agua residual que se pretende reusar, los parámetros de referencia así como los límites máximos permisibles de contaminantes para aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios públicos, se establecen en la NOM-003-ECOL-1997(DOF, 1998). Los microorganismos considerados como indicadores son coliformes fecales que presentan un límite máximo permisible con contacto directo de 240 número más probable NMP/100mL y 1000 NMP/100mL de contacto indirecto; los huevos de helmintos con contacto directo 1 huevo/L y 5 huevos/L en contacto indirecto.

1.1 Microorganismos indicadores de calidad de agua

Determinar el tipo de microorganismos presentes en el agua, así como su concentración, proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad de la misma y brindar elementos para la toma de decisiones en relación con el control de descargas, tratamientos, así como la conservación de diversos ambientes con un efecto en los ecosistemas, evitando el riesgo de salud de la población y contaminación del ambiente (Arcos Pulido *et al.*, 2005).

Existe una gran dificultad para determinar la presencia de todos los microorganismos patógenos en agua, ya que implica costos elevados, tiempo y laboratorios especializados; por tal motivo se ha planteado trabajar con un grupo

determinado de microorganismos indicadores (Harwood, *et al.* 2004). Los microorganismos indicadores son aquellos que tienen un comportamiento, concentración y reacción frente a factores ambientales similar a los patógenos, pero son más fáciles, rápidos y económicos de identificar (Ashbolt *et al.*, 2001).

Un microorganismo indicador de contaminación fecal debe reunir las siguientes características (Arcos Pulido *et al.*, 2005; Ashbolt *et al.*, 2001):

- Ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos.
- Estar presente en forma exclusiva, en las heces de animales homeotermos.
- Estar presentes cuando los microorganismos patógenos intestinales lo están.
- Estar presentes en grandes cantidades, haciendo más fácil su aislamiento y su identificación.
- No deben reproducirse en el medio ambiente, solo en el intestino de animales homeotermos.
- Su tiempo de sobrevivencia debe ser igual o superior al de los patógenos, su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior a los patógenos de origen fecal.
- Fáciles de aislar y cuantificar
- No deben ser patógenos.

Tradicionalmente un microorganismo indicador se ha utilizado para sugerir la presencia de un patógeno; hoy en día, se sabe que es posible que el indicador esté presente y el patógeno no o viceversa, es decir, no existe una relación entre los organismos indicadores y todos los patógenos entéricos existentes (Harwood, *et al.* 2004; Ashbolt *et al.*, 2001).

Analizando el término “micro-organismo indicador” (Tabla1) se reconocen los siguientes grupos:

Tabla 1. Clasificación de un indicador (Tomado de Ashbolt, *et al.* 2001).

Grupo	Definición
Indicador de Procesos	Un grupo de organismos que demuestran la eficacia de un tratamiento.
Indicador fecal	Grupo de organismos que señala la presencia de contaminación fecal
Organismos índices y/o modelos.	Grupo o especie indicativa- de la presencia de patógenos y de sí mismos

En general muchos de los patógenos existentes no forman parte de la microbiota de origen fecal, pero son excretados por individuos infectados, contribuyendo en gran medida a la contaminación fecal con alta presencia de patógenos. La incidencia de varios patógenos específicos depende de la estacionalidad, por lo tanto, no existe un indicador universal, pero si existe un gran número de características que les permiten ser indicadores de otros patógenos (Ashbolt *et al.*, 2001). El uso de bacterias indicadoras de calidad del agua desde el punto de vista sanitario, se origina en 1880 cuando Fritsch describió dos especies de *Klebsiella* como organismos característicos en heces de humanos y esto tomó fuerza en 1885 al ser descrita por Escherich, *Escherichia coli* en heces de niños y al demostrarse por Franklands la evidencia de un riesgo potencial (Gerba *et al.*, 2009).

El concepto “coliforme” se uso por primera vez en 1901, así como la producción de un medio de cultivo específico (Mac Conkey) (Ashbolt *et al.*, 2001). Una de las razones por las que las bacterias coliformes fueran propuestas como indicadores es debido a que existen 128 tipos de coliformes, además *E. coli* está presente donde otras coliformes no, indicando la presencia de otros patógenos (Gerba *et al.*, 2009).

1.2. Parásitos protozoarios en agua.

El humano es responsable de acciones determinadas o eventos naturales que provocan efectos o alteraciones en el medio ambiente (SEMARNAT, 2011). Las enfermedades parasitarias causadas por *Cryptosporidium* y *Giardia*, junto con las enfermedades virales y bacterianas, afectan el progreso, avance social y económico de los países en desarrollo (WHO, 2009).

Los protozoarios patógenos, son capaces de generar daños en humanos o animales; han demostrado su impacto negativo en la salud de miles de habitantes en las naciones industrializadas y en desarrollo por su capacidad de ser infectivos (Cheng, 1980). La mayoría de los protozoarios presentan una forma resistente a las condiciones ambientales que les permite la supervivencia a los tratamientos físico-químicos del agua para consumo humano (Solarte *et. al.*, 2006)

Existen especies de parásitos protozoarios que pueden aprovechar las condiciones de individuos inmunosuprimidos como en individuos inmunocompetentes, generándoles trastornos gastrointestinales como diarrea, en la cual los niños menores de 5 años y los adultos mayores de 70 años, son los más sensibles; y llegan a presentar una mortalidad entre 3% y 5% de los enfermos que requieren hospitalización (Solarte *et. al.*, 2006).

En general los virus entéricos, bacterias entéricas y parásitos protozoarios patógenos que provocan principalmente gastroenteritis, son los agentes causales del 50% de casos reportados originados por el consumo de agua con contaminación fecal, atribuyendo las enfermedades a microorganismos específicos o toxinas generadas por ellos (Solarte *et. al.* 2006).

Estudios previos han mostrado que estas enfermedades están incluidas en la “Iniciativa de Enfermedades Desatendidas de la Organización Mundial de la Salud”; actualmente se han realizado estudios dando a conocer mayor información sobre las causas, técnicas de identificación, condiciones en las que se desarrollan

y soluciones, entre otras cosas. De esta manera, se pueden implementar en todo el mundo las medidas de salud pública que permitan el control y prevención de enfermedades transmitidas a través del agua (WHO, 2009).

Los cuerpos de agua que reciben desechos fecales de animales y humanos contienen microorganismos patógenos capaces de sobrevivir fuera de su hospedero (Karanis *et al.*, 2008). Estos microorganismos son transmitidos indirectamente a la población susceptible a través de la distribución de aguas inadecuadamente tratadas o a través de aguas de uso recreativo que es contaminada con aguas residuales y desechos fecales de animales domésticos (Betancourt y Querales, 2008).

Entre los protozoarios patógenos, los que presentan mayor importancia debido a su incidencia reportada en el agua de diversos usos, son *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium parvum*. Ambos patógenos intestinales excretados con las heces de humanos y animales vertebrados en general, infectados en concentraciones de hasta 1×10^9 (oo)quistes (abreviación para ooquistes y quistes), por gramo de heces. Los (oo)quistes son las formas infectantes y constituyen un estadio del ciclo de vida de estos parásitos que les permite permanecer latentes en ambientes acuáticos y resistir procesos de tratamientos de agua para uso y consumo humano y agua residual (Betancourt y Querales, 2008).

El aumento en este tipo de microorganismos puede estar relacionado con cambios drásticos en el ambiente y en la población, aumentados por los procesos de urbanización, el aumento en la pobreza, la ocupación de regiones no habitadas anteriormente, las migraciones no controladas con gran número de refugiados y desplazados, la facilidad y rapidez en los desplazamientos, el movimiento creciente de animales y de productos de origen animal (WHO, 2003; Almeida *et al.*, 2010). Este tipo de acciones a generado el surgimiento de enfermedades emergentes, aquellas que en los seres humanos han aumentado en las últimas

dos décadas y de enfermedades reemergentes, las que reaparecen después de una disminución significativa en su incidencia (Marshall *et al.*, 1997).

1.3. Consideraciones fisiológicas y ecológicas

Los protozoarios tienen un número importante de funciones ecológicas que llevan a cabo gracias a sus características fisiológicas. Por ejemplo, muchos protozoarios son quimioheterótrofos, ya sea, utilizando su respiración aeróbica o la fermentación. Curiosamente los protozoarios anaeróbicos y microaerófilicos no contienen mitocondrias que se encuentran en otros, sino que se basan en estructuras conocidas como hidrogenosomas, utilizadas para la producción de energía, que están asociadas con las mitocondrias y utilizan protones como terminales aceptores de electrones que forman hidrogeno molecular en lugar de agua (Gerba *et al.*, 2009).

Los protozoarios tienen una función importante en la degradación y en el ciclo de la materia orgánica en el medio ambiente. Estos protozoarios producen y liberan una variedad de enzimas extracelulares para la degradación de polímeros como la celulosa de las plantas y peptidoglicanos de la pared celular de las bacterias (Fredéric *et al.*, 2005). Algunos protozoarios liberan sus enzimas para ayudarse en la alimentación por fagocitosis, posteriormente son degradados por las enzimas digestivas almacenadas en vacuolas fagocíticas (Sardin *et al.*, 2009). La capacidad para degradar grandes moléculas contribuye a la compleja relación de estos organismos con los animales. De hecho, los protozoarios son responsables de la tercera parte de la fibra en los rumiantes y contribuyen con la mitad de la masa microbiana en los ambientes anaeróbicos. Los protozoarios llevan a cabo la fermentación en los rumiantes, produciendo ácidos orgánicos y alcoholes (Gerba *et al.*, 2009).

La parasitosis intestinal se considera un problema de salud pública debido a la incidencia con la que se presenta; así mismo, su trascendencia está ligada sobre todo a enfermedades secundarias. Los agentes que pueden infestar el intestino

humano son diversos, los que se han aislado con mayor frecuencia son los protozoarios y helmintos (Hormann *et al.*, 2004). La mayoría de los estudios transversales de México describen un patrón de incidencia de 40%, sin embargo, en otros estudios se ha demostrado que más del 69% de las personas presentan parasitosis intestinal por agentes patógenos o comensales (SSA, 2003).

La calidad del agua es un factor de gran relevancia, ya que se encuentra en diversos ambientes y tiene la capacidad de ser fuente de transmisión de estos microorganismos, produciendo un efecto negativo en la salud (Gerba *et al.*, 2009). Los brotes de enfermedades se atribuyen a protozoarios en agua de consumo, de riego y aguas en zonas costeras. Al respecto, los tres parásitos más comunes reportados en las evaluaciones de calidad del agua son *Cryptosporidium* (Apicomplexa), *Giardia* (Mastigofora) y *Toxoplasma* (Apicomplexa). Originados por la infección en humanos y animales, los (oo)quistes de estos organismos pueden permanecer en agua a temperatura ambiente y salinidades del medio, sobreviven largos periodos en el ambiente, también resisten tratamientos de agua (Gerba *et al.*, 2009).

1.4 *Giardia lamblia*.

1.4.1 Taxonomía y características.

Este parásito flagelado fue observado por primera vez por Van Leewenhoek en 1681 y descrito detalladamente por Vilein Lamb en 1859. Hasta los años 60 se consideró un organismo comensal para el humano, posteriormente se identificó que es el causante de infecciones intestinales relevantes, tales como diarrea y mal absorción en el hombre, presentándose en brotes epidémicos (Núñez, 2007).

En el criterio morfológico elaborado en 1990 por Erlandsen, se manejan tres grupos: *G. agilis*, *G. muris* y *G. intestinalis (duodenalis o lamblia)* considerando la disposición de las estructuras microtubulares presentes en los cuerpos medios de

los trofozoítos (Alcaraz, 2005); sin embargo, según Kulda (1995) se han descrito 41 especies, dependiendo del criterio de especificidad del hospedador.

La clasificación taxonómica de *Giardia lamblia* es la siguiente (Plutzer *et al.*, 2010):

Dominio. Eukaryota

Reino: Archezoa

Phyllum: Metamonada

Clase: Trepomonadea.

Orden: Diplomonadida.

Familia: Giardiidae.

Género: *Giardia*

Especie: *G. lamblia*

G. lamblia se asocia con enfermedades en el hombre, con diferencias en su patogenicidad, infectividad, antigenicidad y sensibilidad a los fármacos, diferenciándose de las especies que se presentan en los animales (Alcaraz, 2003). *G. lamblia* presenta dos formas morfológicas: el trofozoíto o forma móvil, que se encuentra como parásito en el tubo digestivo del animal y el quiste, que es una forma resistente a condiciones ambientales adversas, el cual es expulsado en la materia fecal y permanece en el medio ambiente (Smith y Paget, 2007).

Estos flagelados se caracterizan por tener un extremo anterior redondeado y un extremo posterior afilado, tienen simetría bilateral, es periforme, su diámetro más grande mide aproximadamente 12 micras (Figura. 1) (Romero, 1993). En la parte anterior presenta una estructura llamada disco suctor, que le permiten adherirse al epitelio intestinal, con una parte central rígida llamada axolema o axostilo, que tiene función de soporte celular (Smith y Paget, 2007). La superficie dorsal del cuerpo es convexa y la ventral es plana o cóncava. Tienen dos núcleos idénticos y ovalados con una enorme masa de cromatina central, dos axóstilos, sobre estos se encuentran unas estructuras llamados cuerpos parabasales (Tay, 1993). No contiene citostoma, absorbiendo los nutrientes por endocitosis, y presenta cuatro

pares de flagelos que nacen de estructuras denominadas blefaroblastos. Los flagelos se designan de acuerdo con su disposición como anterior, posterior, neutral y caudal (Figura. 1) (Romero, 1993).

Se ha conocido la existencia de dos genotipos de *G. lamblia* gracias a los estudios de la secuencia del marcador molecular SSUrDNA (small subunit ribosomal DNA), basándose en la presencia de la secuencia señal GCG o ATC en la posición 22-24 de este gen teniendo genotipo A o *Polish* (GCG) y el genotipo B o *Belgain* (ATC), siendo ambos patógenos para los humanos (Alcaraz, 2005).

Entre un 2 a 3% de las enfermedades del viajero están causadas por *G. lamblia*, la infección que genera es cosmopolita y puede desarrollarse tanto en forma endémica, afectando principalmente a niños o personas inmunosuprimidas o de forma epidémica, afectando a comunidades cerradas y a turistas que visiten dichas zonas (Fredéric *et al.*, 2005).

Su transmisión se realiza mediante los quistes, su fase infecciosa, ya que, la ingestión de 10 quistes viables causa giardiasis sintomática (Helen, 2004). La transmisión es directa si es fecal-oral por consumo de heces de personas o animales infectados e indirecta cuando es por consumo de agua o alimentos contaminados con quistes, siendo la transmisión indirecta, una de las causas principales de brotes epidémicos; también se ha discutido su transmisión sexualmente (Alcaraz, 2005). Estos microorganismos habitan en el intestino de diversos hospederos como: anfibios, mamíferos y otros vertebrados. En el intestino, cada individuo se coloca sobre la mucosa empleando la superficie ventral cóncava del cuerpo como ventosa de succión (Fredéric *et al.*, 2005).

Hasta la fecha se conoce que la reproducción de este organismo es asexual y haploide. Los trofozoítos se dividen en el intestino delgado mediante el proceso de fisión binaria, incluyendo la división nuclear, seguida del aparato neuromotor y del disco ventral, por último la separación del citoplasma; obteniéndose dos

trofozoítos hijos (Alcaraz, 2005). Una de las condiciones favorables para su desarrollo o proliferación, es que exista un pH óptimo, entre 6.4 y 7.2 (Núñez, 2007). Los trofozoítos tienden a habitar el yeyuno sugiriendo que requieren de una alta concentración de nutrientes para su supervivencia y proliferación, especialmente los que el parásito no es capaz de sintetizar como el colesterol, que es un elemento esencial ya que contiene los esteroides celulares requeridos para la biogénesis de sus membranas y en el proceso de enquistamiento de los trofozoítos a lo largo del intestino (Cotton *et al.*, 2010).

Estos protozoarios presentan una forma resistente que les permite vivir en el ambiente, que es el quiste (Figura 1), una estructura ovalada con pared gruesa que puede medir desde 6 hasta 12 micras. En el interior de su citoplasma se observan cuatro núcleos en un quiste maduro y dos núcleos si es inmaduro, puede presentar restos de flagelos y en ocasiones de cuerpos parabasales (Romero, 1993). El pH óptimo para el proceso de enquistación es de 1.3 a 4.0, sin embargo, hay casos en los que sucede con un pH de 7.5, indicando que el medio ácido no es indispensable para llevar a cabo este proceso (Alcaraz, 2005).

1.4.2. Ciclo biológico de *G. lamblia*.

Se muestra el ciclo de vida de *Giardia lamblia* (Figura 1), en el cual, los seres humanos se infectan al consumir alimentos y bebidas contaminadas con quistes, los quistes ingeridos pasan por la parte alta del tubo digestivo y al llegar al estómago se ablanda su pared quística por acción de los jugos gástricos, en el duodeno se rompen, dando origen a los trofozoítos con cuatro núcleos (tetranúcleo) que posteriormente se divide en dos trofozoítos bínucleados (Romero, 1993). Los trofozoítos se multiplican por fisión binaria longitudinal y permanecen en el lumen donde pueden encontrarse libres o unidos a la mucosa intestinal, a través de su disco suctor. La enquistación ocurre conforme el parásito es arrastrado por el intestino hacia el colon (Tay, 1993).

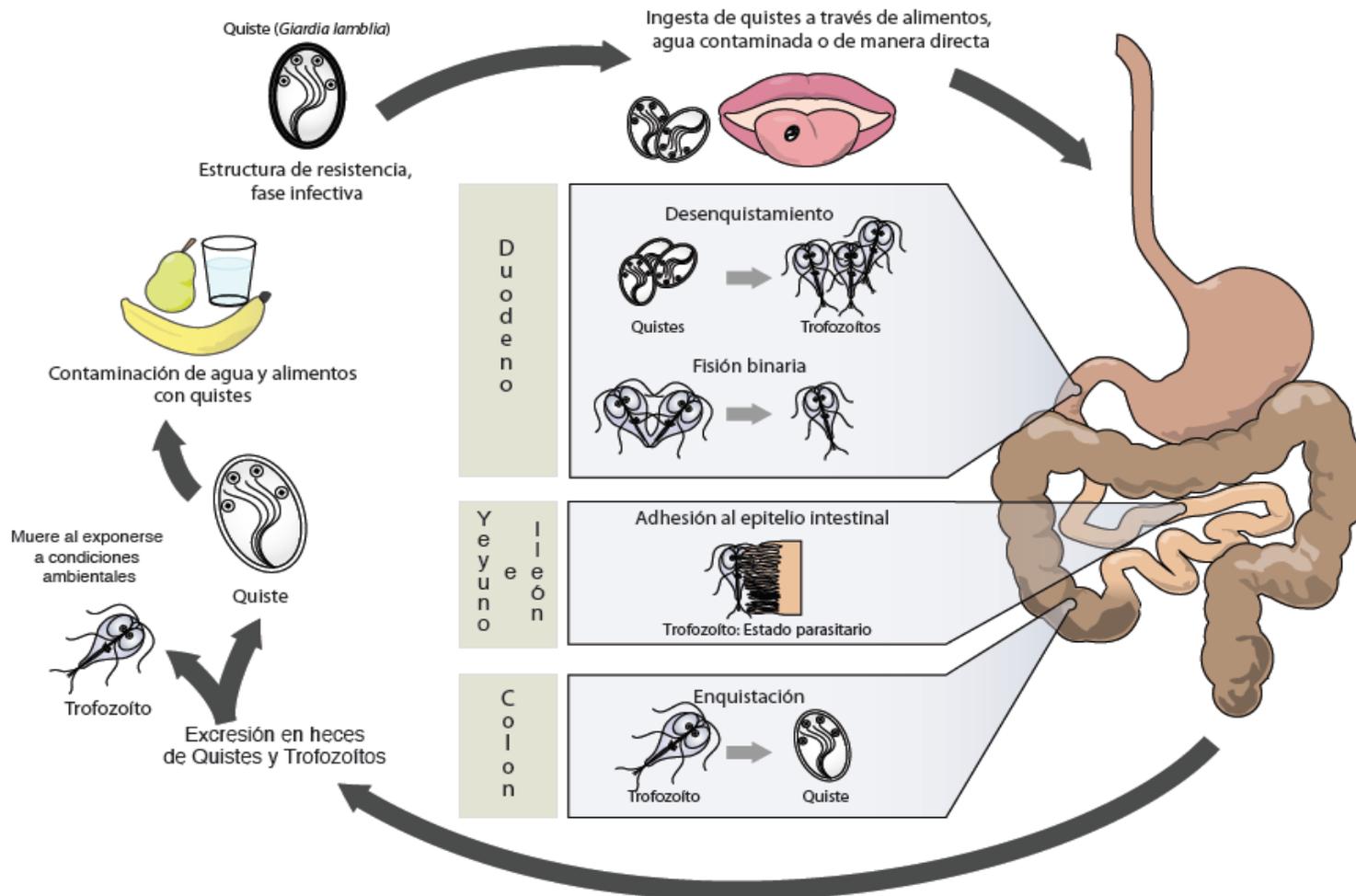


Figura 1. Ciclo de vida de *Giardia lamblia* (elaborado por E. Hjort, 2012).

1.4.3. Patogenia, frecuencia y diagnóstico.

El trofozoíto de *G.lambli*a se adhiere a la pared intestinal, penetrando en la mucosa, produciendo daño intestinal del hospedero, ya que provoca una deficiencia en la absorción de los nutrientes (Hurst, 1996). También induce una secreción de moco como resultado de la irritación que produce la presencia del trofozoíto en la pared epitelial. Ese moco ocasiona mal absorción al permanecer en la superficie del intestino y provoca inflamación (Tay, 1993).

La frecuencia de casos de giardiasis varía de acuerdo con determinantes socioeconómicas y sanitarias y determinantes ambientales como el clima de cada región. De este modo la giardiasis se presenta con mayor frecuencia en zonas tropicales con respecto a zonas frías, así como es mayor en niños que en adultos. La giardiasis está considerada como una de las infecciones parasitarias más comunes que afecta al humano. (Kucik, 2004).

En las heces tanto de humanos como de animales, se pueden encontrar quistes y trofozoítos. El diagnóstico convencional se realiza observando bajo el microscopio la presencia de quistes o trofozoítos en la materia fecal de los individuos que presenten síntomas significativos, como la diarrea. La observación puede realizarse en fresco o con un proceso de concentración previo como (formol-éter-acetato o etílico, sulfato de zinc). En heces conservadas puede utilizarse formol al 10%, Mertiolato-Iodo-Formaldehído o alcohol polivinílico (Kucik, 2004). La mayoría de los casos de giardiasis en adultos es asintomática, a diferencia de los casos en niños (Romero, 1993).

La excreción de quistes no es constante ni permanente, sin embargo, los quistes son capaces de sobrevivir por varios meses en agua fría, en el ambiente pueden sobrevivir por periodos prolongados. Se ha documentado que en agua destilada los quistes de *G. lambli*a sobreviven por más de 77 días a 8°C y 4 días a 37°C. En agua dulce sobreviven 28 días a una profundidad de 4.57 m a una temperatura de

19.2°C y a 9.14 m de profundo a 6.6 °C, los quistes pueden mantenerse viables durante 56 días (Gerba *et al.*, 2009).

A nivel mundial se ha estimado una frecuencia de 200 millones de individuos infectados al año, de los cuales 500 mil presentan síntomas de enfermedad. En 1983 se calculó 20.4 millones de personas portadoras, encontrándose el 15% de infectados en la población de América Latina, con un estrato socioeconómico bajo (Tsuji *et al.*, 2009).

En México la parasitosis es muy variable, presenta frecuencias que oscilan entre el 2 al 39% de la población (CENAVECE, 2009-2010). Estudios realizados en distintos estados de la República Mexicana, se ha identificado una prevalencia del 18.98%, con mayor incidencia en niños (CENAVECE, 2003). En otros estudios se presenta mayor frecuencia en lactantes, dependiendo principalmente del grupo de población en estudio (Tsuji *et al.*, 2009). Se ha calculado que en México hay 9 millones de personas parasitadas por *G. lamblia*, por lo que se considera como la principal causa de parasitosis intestinal (Tay, 1996).

1.5 *Cryptosporidium parvum*.

1.5.1 Taxonomía y características.

En 1912 Tyzzer describió la morfología y propuso un ciclo de vida para *Cryptosporidium* a partir de estructuras muy pequeñas observadas en el intestino de un ratón de laboratorio, (ooquistes), asignó el nombre de *Cryptosporidium parvum*. Existen distintas clasificaciones taxonómicas para este parásito, las más utilizadas son las propuestas por Tyzzer, con base a la importancia clínica (Smith *et al.*, 2005).

La taxonomía de *C. parvum* de acuerdo con Aladro 2006 es:

Dominio. Eukaryota

Reino. Protozoa

Phylum. Apicomplexa

Clase. Coccidea

Orden. Eucoccidiorida

Familia. Cryptosporidiidae

Genero. *Cryptosporidium*.

Especie: *C. parvum*

El nombre del género se determina a partir de los ooquistes que es el estado de transmisión, los cuales contiene cuatro esporozoitos que no presentan esporoquistes desnudos (Smith y Rosely, 2005).

Existen dos genotipos de *C. parvum*, uno se presenta en humanos y el otro se encuentra en el ganado. Los dos se han identificado como causantes de cryptosporidiasis en los humanos (Graczyk et al., 2011). Ambos genotipos pueden diferenciarse con base a sus bandas proteicas, genes que codifican la proteína, antigeneidad, tipificación e isoenzimas (Carey, 2004).

1.5.2. Ciclo biológico de *C. parvum*.

En el ciclo de vida de *Cryptosporidium parvum* (Figura 2), se muestra como es la transmisión de la cryptosporidiasis, así como, la transición del protozoario de quiste a trofozoíto y viceversa. Los estadios por los que pasa este parásito se explican mostrando: la forma de infección, la forma hospedera, localización, tipo de reproducción y función de estructuras (Lujan y Garbossa, 2008).

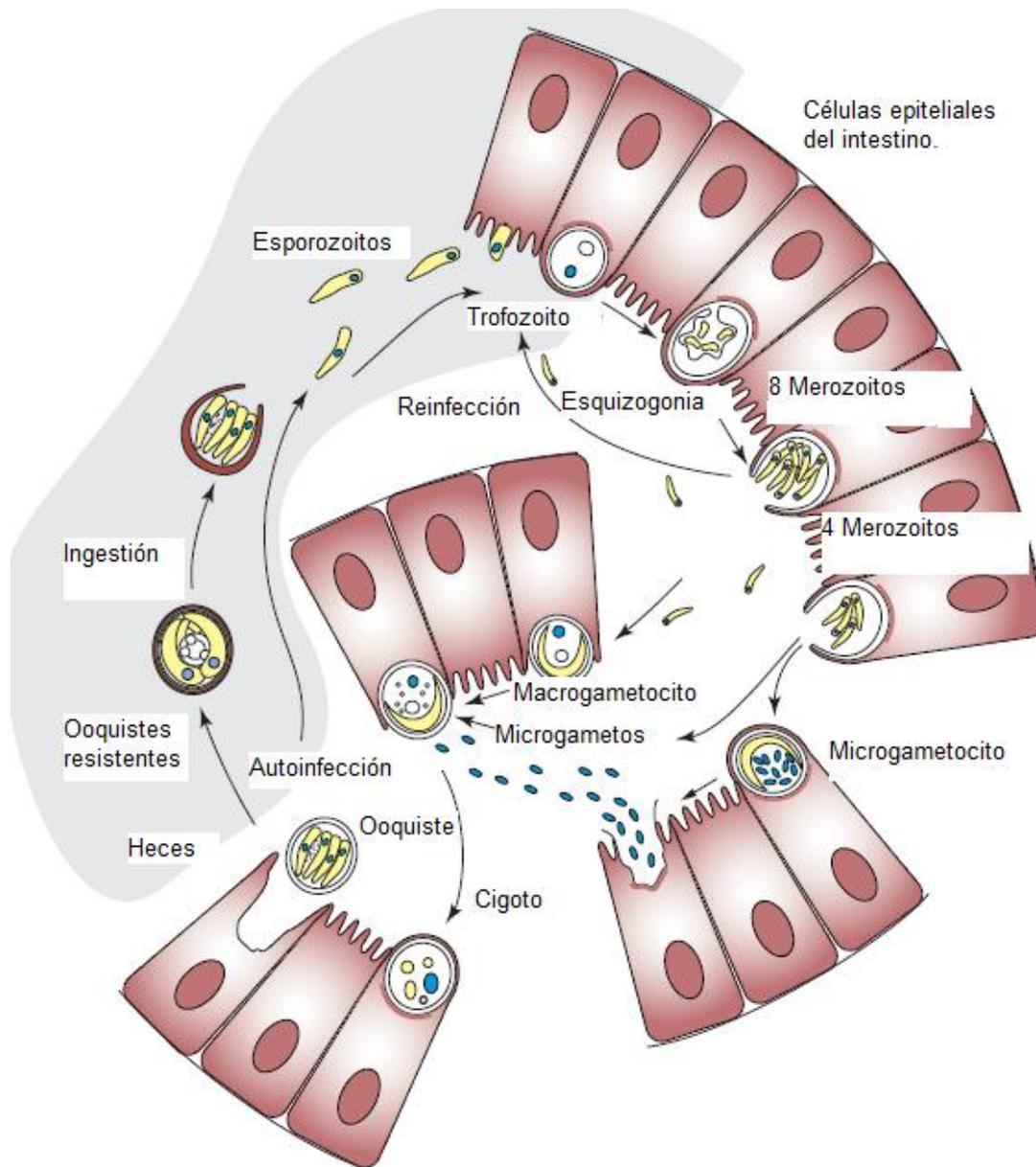


Figura 2. Ciclo de vida *Cryptosporidium parvum* (Tomado de Smith *et al.*, 2005).

Como se observa en la Figura 2 este parásito presenta un ciclo de reproducción sexual (debido a la fecundación del macrogameto por el microgameto) y un ciclo de reproducción asexual por esquizogonia.

Los oocistos esporulados, que contienen cuatro esporozoitos, son excretados por el hospedero infectado a través de heces y se ha sugerido la posibilidad de su presencia en secreciones respiratorias (Morgan y Ryan, 2002). La transmisión

ocurre generalmente de manera indirecta, es decir, por medio del consumo de agua o alimentos contaminados por heces (Morgan y Ryan, 2002). Al ser ingerido el ooquiste y por la exposición a la temperatura del cuerpo y la acción de los jugos gástricos, pancreáticos y de las sales biliares, inicia el proceso de desenquistamiento (Smith y Nichols, 2010). Los esporozoitos son liberados, infectando las células epiteliales del intestino delgado para transformarse en trofozoítos; dentro de las células epiteliales ocurre la reproducción asexual, posteriormente por procedimientos de señalización celular, se lleva a cabo un proceso de diferenciación sexual y se forman los microgametocitos (♂) y macrogametocitos (♀), después de la fertilización se desarrollan los ooquistes que esporulan en el hospedero infectado, siendo de pared gruesa o delgada (Tay, 1993; Lujan y Garbossa, 2008). La forma infecciosa es el ooquiste de pared gruesa (Figura 2), resistente a la mayor parte de los desinfectantes y que sobrevive en el ambiente. Los ooquistes con pared delgada no son excretados en las heces, sin embargo, tienen la capacidad de autoinfección, siendo posibles varias rutas de transmisión (Fayer, 2009).

1.5.3. Patogenia y diagnóstico.

La forma que *Cryptosporidium* se diagnostica en la materia fecal, es mediante la observación de los ooquistes, los cuales son esféricos o levemente ovoides y miden de 4 a 6 micras de diámetro. Se observa una doble pared y una estructura interna formada por cuatro esporozoitos vermiformes y cuerpos residuales que no son claramente visibles. Existen dos tipos de ooquistes: no esporulados y esporulados, (es posible observar los esporozoitos como líneas transversales claras y el cuerpo residual como una mancha oscura) (Tay, 1993).

Tanto las especies hospederas que *Cryptosporidium* infecta, como la morfometría del trofozoíto y del quiste se determinan dependiendo de las especies de *Cryptosporidium*, estas características tienden a variar, por tal motivo, no se utilizan para definir a la especie (Fayer, 2009). Se han identificado doce especies

de este protozoario que se encuentran ampliamente distribuidos, infectando vertebrados como primates, mamíferos, aves, reptiles y peces (Feng, 2010). *Cryptosporidium* es causante de una enfermedad que se presenta asintomática, que se autolimita en personas inmunocompetentes; en cambio, en personas inmunocomprometidas presenta diarrea severa por un periodo de tiempo prolongado. Como se ha mencionado antes este protozoario también puede infectar indirectamente a través del consumo de agua, leche y alimentos contaminados con heces por medio del agua de riego (Lujan y Garbosa, 2008).

2. Antecedentes.

La Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) participó en el IV Foro Mundial del Agua y organizó los Encuentros Universitarios del Agua, a partir de esto, el consejo Universitario consideró importante adoptar medidas concretas que impulsaran el manejo y uso eficiente del agua en toda la UNAM. En diciembre de 2007, por mandato del propio Consejo Universitario, se puso en marcha el Programa de Manejo, Uso y Reúso del Agua en la UNAM (PUMAGUA), con el apoyo de Rectoría, bajo la coordinación del Instituto de Ingeniería y con la colaboración de otras instituciones, como el Instituto de Ecología, Facultad e Instituto de Ingeniería, Instituto de Biología, Facultad de Química, Facultad de Medicina, Facultad de Ciencias Políticas, Dirección General de Servicios Médicos (PUMAGUA, 2009).

El objetivo del programa PUMAGUA es “Implantar un programa integral de manejo, uso y reúso del agua en la UNAM con la participación de toda la comunidad universitaria”. Las metas del programa son las siguientes: 1) Ahorrar el 50% del actual suministro total del agua; 2) Garantizar la calidad del agua potable y que el agua de reúso al ser utilizada en el riego no represente un riesgo para la salud de la población universitaria; y 3) Lograr la participación en el proyecto de PUMAGUA de todas las dependencias de la UNAM y de los universitarios (PUMAGUA, 2009).

El objetivo principal del área de calidad del agua de PUMAGUA es evaluar diversos parámetros del agua para uso y consumo humano, agua residual tratada para que su calidad cumpla con las normas respectivas, considerando que pueda responder a los siguientes usos: agua para abastecimiento, agua residual tratada para riego de áreas verdes, agua residual tratada para recarga del acuífero. Así como poder diagnosticar los sistemas existentes de desinfección de agua de consumo y plantas de tratamiento de agua residual, para poder proponer la aplicación de sistemas novedosos (PUMAGUA, 2010)

En Ciudad Universitaria (CU) se cuenta con tres plantas de tratamiento de aguas residuales, en las que se produce agua para reuso en riego de áreas verdes del campus: la de Cerro del Agua, la de la Facultad de Ciencias Políticas y Sociales, así como, la del Posgrado de Ingeniería. La capacidad instalada del tratamiento de estas tres plantas es de 48 L/s, de los cuales sólo se tratan 21 L/s; lo que representa el 26% del volumen de aguas residuales y pluviales que conducen los colectores de CU (PUMAGUA, 2009). El agua que se produce en la planta de Ciencias Políticas y Cerro del Agua, es almacenada en 12 cisternas para su posterior uso en el riego de áreas verdes y reservas dentro de Ciudad Universitaria (PUMAGUA, 2010)

La calidad del agua es un tema relevante para la sociedad debido a varios factores, como también lo es su estrecha relación con la salud humana, los efectos ambientales, así como los elevados costos que se pagan para tener un agua de calidad adecuada o por carecer de ésta (Jiménez, 2008).

Los brotes de enfermedades transmitidas por agua, causadas por protozoarios parásitos tienen una distribución mundial; siendo causantes de las epidemias y las enfermedades endémicas. Son una de las razones de los 4 billones de casos de diarrea que causan la muerte a 1.6 millones de personas al año en todo el mundo. Las enfermedades más prevalentes son la cryptosporidiasis y la giardiasis, las enfermedades causadas por *G. lamblia* muestran 280 millones de casos al año (Baldursson y Karanis, 2011).

En los últimos años ha ganado gran importancia la contaminación por *C. parvum* y *G. lamblia*, por lo que estos protozoarios se consideran patógenos emergentes. Investigaciones recientes indican que *C. parvum* ocupa el tercer lugar en importancia mundial entre todos los entero patógenos de transmisión hídrica. (WHO y UNICEF, 2005). Baldursson y Karanis, (2011) reportan 199 brotes de parásitos protozoarios transmitidos por agua en Australia, América del Norte y Europa, entre enero del 2004 y diciembre del 2010, de los cuales el 60.3% (120)

de los brotes están relacionados con *Cryptosporidium*, 35.1% (70) asociados con *G. lamblia* y el otro 4.5% con otros protozoarios.

Al analizar el agua de CU en el 2009, se detectó la presencia de bacterias y patógenos no considerados en la normatividad, confirmando que las bacterias coliformes no pueden reflejar la presencia de virus y protozoarios, ni de otras bacterias importantes para la salud pública. Por lo que se consideró la necesidad de que los muestreos microbiológicos se complementaran analizando otros indicadores que proporcionaran la información faltante (PUMAGUA, 2009).

En México no existe un buen tratamiento para el agua residual (Alamargo *et al.*, 2004). Por lo que las enfermedades infecciosas gastrointestinales son los principales problemas de salud, afectando principalmente a niños por ser más vulnerables (Cizek *et al.*, 2008). En el 2006 se reportó que la tasa de enfermedades intestinales por microorganismos en México era de 4, 496 casos por cada cien mil habitantes; representando la tercera causa de mortalidad en el país (INEGI, 2009).

En CU la red de alcantarillado está compuesta por dos colectores localizados en la zona más antigua del campus, otro colector está localizado en la zona sur, cerca de la Facultad de Ciencias, conduciendo entre los tres colectores un total de 80 L/s(PUMAGUA, 2009). Se construyó una red de drenaje que mide canaliza el agua residual proveniente únicamente de las instalaciones del Campus (PUMAGUA, 2009).

Se ha establecido un programa de monitoreo de la calidad del agua en CU, verificando el cumplimiento de la normatividad, dicho monitoreo se lleva a cabo en agua de consumo humano, en agua residual y residual tratada, garantizando la salud de los usuarios. Mejorar la calidad del agua en el Campus, tiene un impacto positivo en la salud de todos los universitarios (PUMAGUA, 2009).

En el 2009 se realizó un análisis para detectar la presencia de microorganismos de importancia para la salud pública como coliformes fecales, coliformes totales, enterobacterias, colifagos, estafilococos, hongos, levaduras, *Salmonella* y *Shigella*, detección realizado por el equipo del Instituto de Ecología y la Facultad de Medicina. Cecilia Rangel (2010) por otra parte, realizó un análisis en el agua de CU para la detección de *Blastocystis hominis*, sin embargo, no se encontró este protozooario en las muestras estudiadas, para complementar su trabajo realizó la detección de *G. lamblia* y *C. parvum*, dichos protozoarios fueron positivos para las muestras. Es importante considerar el estudio de *G. lamblia* y *C. parvum*, ya que han demostrado un impacto en la salud pública, siendo causantes de brotes importantes a nivel mundial (Betancourt y Querales, 2008).

3. Justificación.

La transmisión de microorganismos patógenos a través del ambiente, es un problema de importancia a nivel nacional, con una incidencia entre el 40 y 69% para personas con parasitosis intestinal (CENAVECE, 2003). En México se reporta el número de casos de giardiasis (A07.1) mensualmente y de cryptosporidiasis (A07.2) semanalmente, de acuerdo a las cifras publicadas en el Boletín Epidemiológico (CENAVECE, 2009-2010).

En Ciudad Universitaria no se tienen antecedentes de análisis previos para determinar la presencia en agua de protozoarios de importancia para la salud pública. A pesar de que se ha reportado ausencia de bacterias indicadoras en agua cuando estos protozoarios son positivos, es importante conocer la situación en la que se encuentra el agua de Ciudad Universitaria. Por lo tanto es de interés realizar este estudio para conocer las condiciones en cuanto a la presencia de protozoarios en cuatro tipos de agua y tener mayor información que respalde los tratamientos aplicados. Se plantea la posibilidad de proponer a los (oo)quistes como índices de calidad del agua, ya que presentan características esenciales que les permiten clasificarse como un tipo de indicador (Ashbolt, *et al.*, 2001).

4. Hipótesis.

Debido a las características que poseen *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* se espera que presenten mayor resistencia y mayor incidencia en agua con respecto a las bacterias indicadoras y colifagos (modelos de virus entéricos), demostrándose por medio de análisis microbiológicos que determinen la calidad del agua dentro del Campus de CU; además no se espera encontrar relación entre los protozoarios y los microorganismos indicadores, lo cual apoyaría su utilidad para ser considerados índices que complementen la información sobre la calidad del agua en CU.

5. Objetivos.

Evaluar como indicadores de calidad de agua (índices) a *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* por medio de análisis de agua de diferentes tipos de Ciudad Universitaria (CU) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

5.1. Objetivos particulares:

- Detectar la presencia de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en agua subterránea, residual, residual tratada y de reúso en el campus de CU.
- Analizar la calidad microbiológica del agua por medio de la detección coliformes fecales, enterococos fecales y colifagos presentes en agua subterránea, residual, residual tratada y de reúso.
- Determinar la relación entre bacterias y parásitos con el objeto de plantear la factibilidad de utilizarlos como índices, para complementar la información de calidad de agua acerca de la presencia de patógenos protozoarios.
- Evaluar las condiciones de agua subterránea, residual, residual tratada y de reúso, analizando la incidencia de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia*, dentro de Ciudad Universitaria.

6. Métodos.

Los materiales utilizados en este análisis fueron lavados y esterilizados de acuerdo con métodos estándar; así como el procedimiento para la toma y preservación de muestras (APHA, 2005).

Los muestreos se llevaron a cabo durante tres temporadas: cálida-seca (CS), cálida-lluvias (CL) y fría-seca (FS), determinadas con base en la variación anual de temperatura y precipitación durante los últimos años a partir del 2004. Los datos fueron consultados de las bases de datos de la Red Meteorológica del Gobierno del Distrito Federal y de la Red de Depósito Atmosférico (REDMET y REDDA, 2010).

El análisis de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología Química del Instituto de Ecología de la UNAM. Las muestras fueron procesadas de acuerdo con el tipo de agua.

6.1. Métodos de campo

El muestreo se realizó dentro del campus de Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Autónoma de México localizado en la Delegación Coyoacán, al suroeste de la Ciudad de México, ubicada en las coordenadas 19° 19' 30" N, 99° 11' 8" W. Los puntos de muestreo se ubican en las instalaciones de pozos (3), plantas de tratamiento (2) y cisternas (8). Se presenta un resumen de la información de los sitios de muestreo (Tabla 2); mostrando coordenadas, clave, volumen colectado y tipo de agua.

Tabla 2. Ubicación de los sitios de muestreo y condiciones de colecta de muestras

<i>Sitios</i>	<i>Coordenadas UTM</i>	<i>Clave del Sitio</i>	<i>Volumen por Muestreo</i>	<i>Tipo de Agua</i>
Pozo Multifamiliar	N19 19 23.30 W99 11 27.44	PM	100L	subterránea
Pozo Vivero Alto	N19 18 38.26 W99 11 40.54	PV	100L	subterránea
Pozo Química	N19 19 45.98 W99 10 54.87	PQ	100L	subterránea
Planta de Tratamiento Influyente Ciencias Políticas	N19 19 09.11 W99 10 34.64	PTICP	1L X 3	residual
Planta de Tratamiento Influyente Cerro del Agua	N19 19 53.84 W99 10 40.62	PTICA	1L X 3	residual
Planta de Tratamiento Efluente Ciencias Políticas	N19 19 09.11 W99 10 34.64	PTECP	1L X 3	residual tratada
Planta de Tratamiento Influyente Cerro del Agua	N19 19 53.84 W99 10 40.62	PTECA	1L X 3	residual tratada
Cisterna 1 Química	N19 19 43.77 W99 10 55.07	C1	1L X 3	residual tratada almacenada
Cisterna 2 Campo Central	N19 19 48.99 W99 11 10.16	C2	1L X 3	residual tratada almacenada
Cisterna 3 Servicios Médicos	N19 19 36.43 W99 11 15.18	C3	1L X 3	residual tratada almacenada
Cisterna 6 Campos de Baseball	N19 19 25.16 W99 11 27.51	C6	1L X 3	residual tratada almacenada
Cisterna 7 Pumitas	N19 19 18.61 W99 11 35.52	C7	1L X 3	residual tratada almacenada
Cisterna 10 Tepozán Jardín Botánico	N19 18 35.40 W99 11 42.60	C10	1L X 3	residual tratada almacenada
Cisterna 11 Estanque de los Peces, JB	N19 18 38.25 W99 11 47.53	C11	1L X 3	residual tratada almacenada
cisterna 12 Camellón Veterinaria	N19 19 36.08 W99 10 28.81	C12	1L X 3	residual tratada almacenada

6.1.1. Muestreo en pozos

Se tomaron muestras de un volumen de 100L de agua en bidones de polipropileno de 10 L y 20 L, en los pozos de extracción: pozo Facultad de Química, ubicado a un lado de la Facultad de Química; pozo Vivero Alto, al fondo del Jardín Botánico, pozo Multifamiliar, atrás de los campos de beisboll. Los muestreos de agua se realizaron antes de la etapa de desinfección, que en este caso es por cloración.

6.1.2. Muestreo en plantas de tratamiento de agua residual.

Se muestrearon dos Plantas de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) de las tres existentes dentro de CU: PTAR Cerro del Agua, ubicada en frente de la Facultad de Medicina en la que solo se tomó muestra durante la temporada cálida-seca, debido a que en las siguientes temporadas se encontraba fuera de operación por mantenimiento y PTAR Ciencias Políticas, localizada a un costado de la Facultad de Ciencias Políticas y Sociales. Se tomaron muestras de 1L en frascos de polipropileno por triplicado tanto para influente (entrada del agua), como del efluente (salida de agua antes de desinfección).

6.1.3. Muestreo en cisternas

Se tomaron muestras en botes de polipropileno de 1L en las cisternas (indicadas en la Tabla 3); dentro del campus de CU se localizan 12 cisternas de almacenamiento, de las cuales solo se muestrearon 8 debido a que no a todas se tenía acceso, pues se encontraban en instalaciones cerradas dentro del Estadio Olímpico de CU y en la Zona Cultural. La toma de muestra se hacía a 3/4 de profundidad del agua en todas las tomas de cisternas.

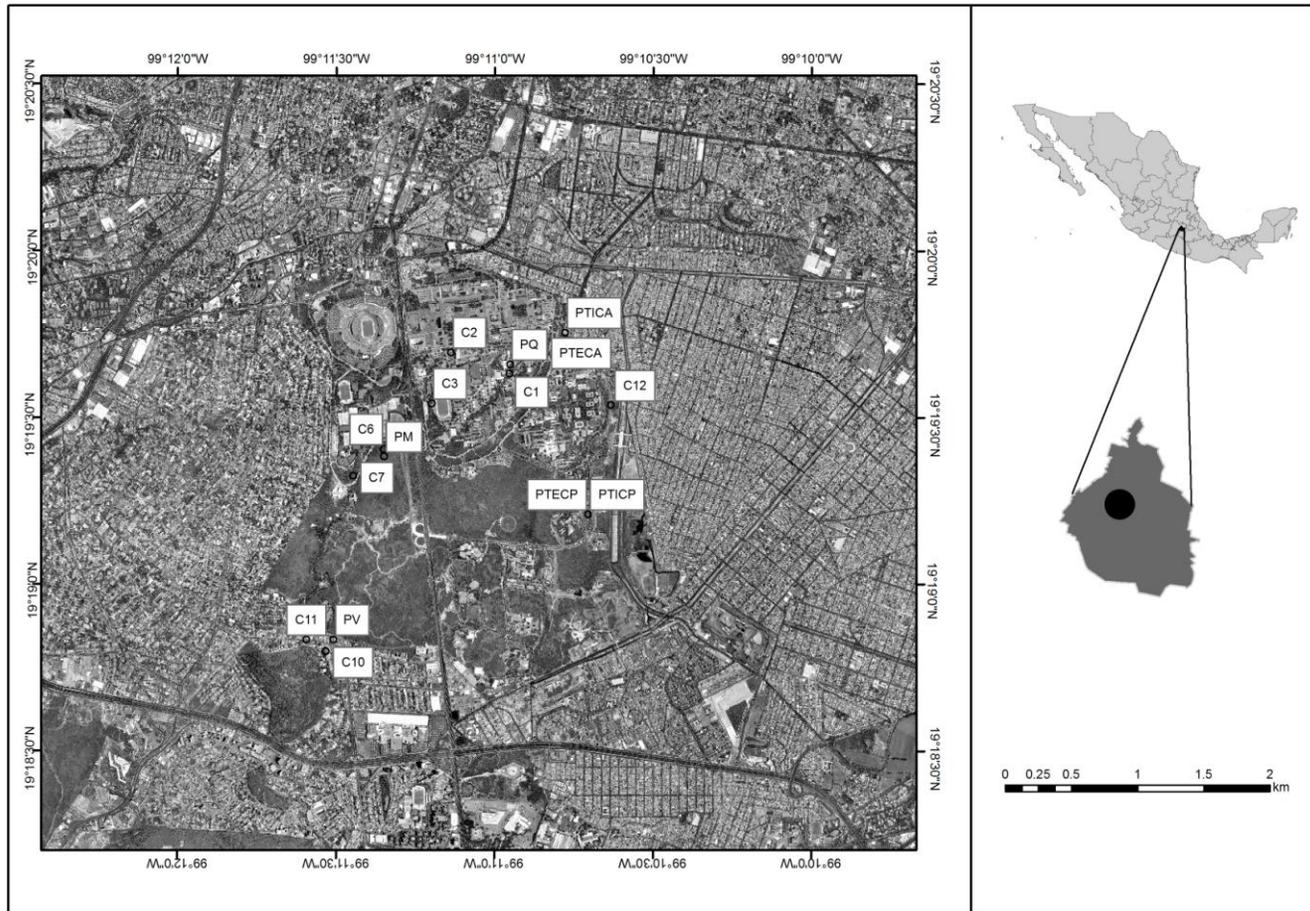


Figura 3. Mapa de Ciudad Universitaria. Sitios de muestreo indicados dentro del mapa. (Elaborado por Alba Zarco, 2012).
 PQ: pozo Química; PM: pozo Multifamiliar; PV: pozo Vivero alto; PTCA: planta de tratamiento Cerro del Agua; PTCP: planta de tratamiento Ciencias Políticas; C1, C2, C3, C6, C7, C10, C11 y C12: cisternas.

6.2. Métodos de laboratorio.

6.2.1. Parámetros fisicoquímicos:

Los parámetros fisicoquímicos medidos *in situ* para todas las muestras fueron pH, temperatura (Temp.), sólidos disueltos totales (SDT), conductividad (Cond), oxígeno disuelto (OD) y salinidad (Sal); refiriéndose a la concentración de sales; fueron medidos con equipo multiparámetros de campo YSI modelo 6600 V2.(E.U.A)

6.2.2. Análisis bacteriológico

Para la detección de coliformes fecales (CF) y enterococos fecales (EF) se procesaron un total de 290 muestras correspondientes a los cuatro tipos de agua.

Del agua subterránea se procesaron muestras de 100 mL por triplicado para cada bacteria. Para agua residual y agua residual tratada se realizaron diluciones seriadas (de 1:1 hasta 1:100 000 para EF; y de 1:1 hasta 1:1000 para CF) y en agua de reúso solo se hicieron dos diluciones (1:10 y 1:100 para ambas bacterias). Se utilizó el método de filtración a través de membrana, que consiste en hacer pasar la muestra por una membrana de celulosa Millipore de 0.45µm, colocadas en vasos de filtrado (Millipore) previamente esterilizados y colocados en un tren de filtrado conectado al vacío. La membrana se transfiere en cajas de petri con medio KF agar para cultivo de EF (BD Difco) o m FC agar para el cultivo de CF (BD Difco). El medio fue previamente procesado siguiendo las indicaciones establecidas por el fabricante. Posteriormente las cajas de CF se incubaron a 44°C durante 24 horas y las cajas de EF se incubaron a 37°C durante 48 horas; después del tiempo transcurrido, se cuantifican las unidades formadoras de colonia (UFC) que se expresan en 100 mL con base en la siguiente fórmula (APHA, 2005):

$$\text{UFC/ 100 mL} = \frac{\text{colonias contadas}}{\text{mL de muestra filtrados}} \times 100$$

6.2.3. Concentración de muestras.

Las muestras de pozos (100L) y cisternas (1L) se concentraron por el método de ultrafiltración (Polaczyk *et al.*, 2008). Este método consiste en circular muestras de agua a través de cartuchos de hemodiálisis Hemoflow F80A de fibra capilar con membrana sintética de polisulfona (Fresenius Medical Care North America Waltham, MA) con ayuda de una bomba peristáltica Masterflex L/S 7524-40 (Cole-Parmer Instrument Co.). Los cartuchos son previamente desinfectados por medio de una solución de cloro al 1%, la cual se deja circulando a través del cartucho durante 30 min, posteriormente se pasa una solución al 0.1% de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) para inactivar el excedente de cloro, lo cual se confirma midiendo el cloro residual con DPD y el espectrofotómetro (HACH). Una vez desinfectados, los cartuchos son bloqueados con una solución al 0.1% de polifosfato de sodio (NaPP) que se recircula por un periodo de tiempo de 30 min., el NaPP tiene la función de desagregante y provoca una carga electronegativa en la superficie de las fibras del filtro, lo que favorece a que los microorganismos presentes en la muestra no se adhieran a éste. Una vez terminado el bloqueo en el cartucho se concentran las muestras. Para cada muestra se utilizó un filtro, las muestras fueron concentradas a un volumen de 140 mL aproximadamente, los cuales fueron alicuotados en tubos (Falcón) de polipropileno de 50 ml depositando un volumen de 45 mL. Uno de los tubos (45 mL) con muestra concentrada fue utilizado para el análisis de parásitos protozoarios por el método de microscopia por inmunofluorescencia, los otros dos se guardaron a -4°C .

6.2.4. Colifagos.

La detección de colifagos en los diferentes tipos de agua se realizó tomando como base el protocolo certificado Internacional Standard “Water quality- Detection and enumeration of Bacteriophages” 10705-1(ISO: 1995), y utilizando *E. coli* K12 (ATCC) como bacteria hospedera (Fonseca, 2010).

El cultivo de la bacteria hospedera *E. coli* K12- Hfr (ATCC 23631), se realizó en 50 mL de medio líquido TGYB (BIOXON) adicionado con una solución calcio-glucosa en una proporción 1:100 que funciona como nutriente para el crecimiento de la bacteria, la solución fue inoculada con 0.5 mL de *E. coli* K12 de un stock de control.

El ensayo en placa se realiza una vez que la bacteria se propagó, este método consiste en una doble capa de agar, la primer capa está constituida por medio semisólido TGYB (BIOXON) adicionada con Ca-glucosa en una proporción 1:100, distribuyéndose en tubos de ensayo, colocando 5 mL del medio por cada tubo, manteniéndolos en un bloque (Fisher Scientific) a 47° C, a cada tubo se le agregó 0.5 mL de bacteria y 0.5 mL de muestra de agua (diluciones de 1:1,1:10 y 1:100), posteriormente se homogenizó y se colocó en cajas Petri Dish (100 x 15mm) conteniendo la segunda capa constituida de medio sólido TGYB adicionada con Ca-glucosa en una proporción 1:100, previamente preparado (5 ml/caja).

Una vez que el medio semisólido solidificó sobre el sólido, se incubaron las cajas a 37°C por 18 horas; al transcurrir el tiempo se realizó la cuantificación. Se reporta con base a la siguiente fórmula (ISO, 1995):

$$\text{UFP/ mL} = \frac{\text{número de placas}}{\text{dilución} * \text{volumen de muestra (mL)}} \times 100$$

Donde:

UFP= Unidad Formadora de Placa.

6.2.5. Detección por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI):

Para la detección de *G. lamblia* y *C. parvum* se procesaron 51 muestras aleatoriamente del total de muestras obtenidas (n=311). En el caso de agua residual y residual tratada se decidió no tomar en cuenta las muestras provenientes de la PTAR Cerro del Agua para esta selección, dejando una n= 290,

debido a que la PTAR suspendió su servicio y sólo se realizó el primer muestreo del ciclo anual. Para el agua de reúso se realizó una selección previa de cisternas basado en los datos obtenidos de los organismos indicadores (coliformes fecales, enterococos fecales y colifagos) y considerando las cisternas que se utilizan para almacenar el agua de riego para las áreas verdes del campus con mayor afluencia de personas. El número de muestras analizadas dependió de la cantidad de muestras que se obtuvieron para cada tipo de agua en las tres temporadas, obteniéndose un total de 51 muestras procesadas por este método para la detección de parásitos (tabla 3).

Tabla 3. Número de muestras colectadas por sitio; número de muestras analizadas por el método de microscopia por inmunofluorescencia (IFI).

Sitio	Tipo de agua	Número total de muestras por sitio	Número de muestras analizadas por IFI
Pozo Multifamiliar	subterránea	13	2
Pozo Vivero Alto	subterránea	12	4
pozo química	subterránea	13	3
PTAR influente Ciencias Políticas	residual	39	12
PTAR influente Cerro del Agua	residual	9	0
PTAR efluente Ciencias Políticas	residual tratada	39	12
PTAR influente Cerro del Agua	residual tratada	6	0
Cisterna 1 Química	de reúso	24	0
Cisterna 2 Campo Central	de reúso	24	6
Cisterna 3 Servicios Médicos	de reúso	21	0
Cisterna 6 Campos de baseball	de reúso	24	2
Cisterna 7 Pumitas	de reúso	18	4
Cisterna 10 Tepozán Jardín Botánico	de reúso	24	0
Cisterna 11 Estanque de los peces, JB	de reúso	24	0
Cisterna 12 Camellón Veterinaria	de reúso	21	6

Las muestras de agua residual tratada, agua de reúso en riego y subterránea, anteriormente concentradas a 45 mL en tubos tipo Falcón, fueron nuevamente se concentradas por centrifugación, a 5000 rpm durante 15 min, se retiró el sobrenadante y la pastilla se resuspendió en la misma muestra de agua en tres tubos tipo eppendorf de 1 mL, de esta manera se quitó el excedente de líquido, obteniendo un concentrado con los (oo)quistes.

Se realizó la identificación y cuantificación en agua de quistes *G. lamblia* y ooquistes de *C. parvum* por medio del método estandarizado de inmunofluorescencia indirecta (IFI), y siguiendo el protocolo operacional estandarizado en el método 1622/1623 de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 2006), utilizado en Australia y Reino Unido (Rose *et al.*, 1989). Existen variaciones de los métodos 1622/1623 que incluyen procedimientos alternos de filtración, separación de partículas, diferentes anticuerpos monoclonales y métodos de detección (Betancourt y Querales, 2008). Para este trabajo se llevaron a cabo adaptaciones en el proceso indicado en un estudio especializado de técnicas de detección de protozoarios (Betancourt y Querales, 2008) y se usó el método 1622/1623 modificado por Rangel (2010) y Tapia (2011). Para lo que se utilizó el Kit de Merifluor *Cryptosporidium/Giardia* (Merifluor C/G), de acuerdo con lo que se señala a continuación:

1. Se descongela la muestra concentrada a temperatura ambiente.
2. Se centrifuga por 2 min. a 5,000 rpm, se decanta y se elimina el sobrenadante.
3. Se bloquea el concentrado con 500 µL de BSA (Bovine Serum Albumen. Amresco) al 1% en PBS, se homogeniza y se incuba por 1.5 a 2 h a temperatura ambiente.
4. Se repite el paso 2. Se centrifuga por 2 min. a 3,000-5,000 rpm y se elimina el sobrenadante.

5. Se agregan 500 μ L del primer anticuerpo monoclonal de ratón IgG para *Cryptosporidium parvum* (SC-58 112), y para *Giardia lamblia* el anticuerpo monoclonal de ratón IgG3 (SC-57743), en una concentración de 1:100 en PBS 1%, se homogeniza y se incuba a 4°C durante la noche.
6. Se repite el paso 2. Se centrifuga por 2 min a 5,000 rpm y se elimina el sobrenadante.
7. Se agregan 500 μ L de buffer de lavado (5 mL de solución de lavado del Kit-95mL de H₂O ó 0.5g de Tweed 80 en 1L de PBS), se homogeniza, y se repite el paso 2.
8. Se agregan 500 μ L del segundo anticuerpo de conejo conjugado con FITC en una concentración de 1:200 en PBS 1%, se homogeniza y se incuba a 37°C por el transcurso de 1.5 horas en obscuridad a fin de que reaccione con los anticuerpos antiratón IgG previamente adicionados.
9. Se repite el paso 2 en obscuridad.
10. Se lava como en el paso 7 en obscuridad.
11. Se agregan 500 μ L de Ioduro de Propidio (SC-3541) en una concentración de 1:100 en PBS 1%, 500 μ L de DAPI (BioGenex), en una concentración de 1:100 en PBS 1%, se homogeniza e incuba a 37°C en obscuridad por 30 min.
12. Se repite el paso 2 en oscuridad.
13. Se repite el paso 7 dos veces en oscuridad.
14. Se resuspende la pastilla con un poco de PBS 1%.
15. En un portaobjetos se ponen 15 μ L de la muestra, 15 μ L del control positivo y 15 μ L del control negativo. Se dejan secar a temperatura ambiente, se agrega medio de montaje y se sella el cubreobjetos con barniz transparente.

Los controles utilizados, tanto positivo como negativo son proporcionados por el Kit.

Para el conteo de (oo)quistes se hizo un barrido completo de cada placa, se utilizó un microscopio de fluorescencia E600 Eclipse, Nikon. Presenta oculares con un aumento de 10/18, además cuenta con objetivos 10x/0.25 Ph2, 20x/0.45 Ph2, 40x/0.65 Ph2 y 100x/1.25Ph2 que proporcionan mayor aumento. El número de (oo)quistes por litro fue calculado siguiendo lo que a continuación se explica: [No. de (oo)quistes * No. de tubos de centrifuga] / [vol. original de la muestra].

6.3. Análisis de datos.

Se integró una base de datos y se realizó un análisis descriptivo de los mismos, se calculó el promedio, media geométrica, desviación estándar y error estándar, utilizando el programa *Microsoft Office Excel 2007*, con el cual se obtuvieron gráficas y tablas. También fue usado este programa para realizar una tabla de ausencia-presencia de los parásitos e indicadores evaluados en los cuatro tipos de agua.

Se utilizó el coeficiente de correlación lineal de Pearson para las siguientes variables: *C. parvum* y *G. lamblia* vs parámetros biológicos (CF, EF, BF) y parámetros físico-químicos (pH, COND, SDT), mediante el paquete estadístico STATGRAFICS Centurion XV.II. Debido a la gran variabilidad de los datos de bacterias, colifagos y protozoarios, se decidió hacer una transformación logarítmica en base 10 de los resultados. Previamente al análisis los datos fueron sometidos a una prueba de normalidad.

7. Resultados.

7.1. Parámetros físico-químicos.

Las mediciones fueron registradas inmediatamente después de la toma de muestra, sobre las condiciones de calidad de los diferentes tipos de agua estudiados.

Tabla 4. Promedio de los parámetros físico-químicos tomados *in situ* en todos los sitios, durante temporada cálida- seca 2010 (marzo-junio).

Temporada cálida-seca	Agua subterránea	Agua residual	Agua tratada	Agua tratada para reúso
pH	6.70	7.36	7.32	7.62
OPR (mV)	27.66	-13.73	-14.16	-30.60
SDT (mg/L)	204.92	724.83	623.60	458.50
COND (μ S/cm)	366.42	1208	1057.40	828.08
OD (mg/L)	5.63	1.12	2.15	3.21
TEMP (°C)	16.50	23.10	22.80	21.70

OPR: POTENCIAL DE OXIDO REDUCCIÓN; SDT: SOLIDOS DISUELTOS TOTALES; COND: CONDUCTIVIDAD; OD: OXÍGENO DISUELTO; TEMP.: TEMPERATURA.

Tabla 5. Promedio de los parámetros físico-químicos tomados *in situ* en los sitios de muestreo durante la temporada cálida-lluvia 2010 (julio-octubre).

Temporada cálida-lluvias	Agua subterránea	Agua residual	Agua tratada	Agua tratada para reúso
pH	7.48	8.34	7.88	8.10
OPR (mV)	42.28	-120.73	-102.25	41.07
SDT (mg/L)	216.15	693.60	393.89	383.65
COND (μ S/cm)	309.74	723.80	602.12	570.39
OD (mg/L)	7.81	5.64	6.98	10.19
TEMP (°C)	19.20	18.90	19.25	19.77

OPR: POTENCIAL DE OXIDO REDUCCIÓN; SDT: SOLIDOS DISUELTOS TOTALES; COND: CONDUCTIVIDAD; OD: OXÍGENO DISUELTO; TEMP.: TEMPERATURA.

Tabla 6. Promedio de los parámetros físico-químicos tomados *in situ* en los sitios de muestreo durante la temporada fría-seca 2010-2011 (noviembre- febrero).

Temporada fría-seca	Agua subterránea	Agua residual	Agua tratada	Agua tratada para reúso
pH	5.99	7.48	6.49	6.72
OPR (mV)	75.06	110.68	230.78	-86.60
SDT (mg/L)	213.58	607.60	539.20	293.75
COND (μ S/cm)	279.66	796.60	709.20	383.08
OD (mg/L)	7.99	5.58	5.12	8.10
TEMP(°C)	15.28	17.48	17.38	18.53

OPR: POTENCIAL DE OXIDO REDUCCIÓN; SDT: SOLIDOS DISUELTOS TOTALES; COND: CONDUCTIVIDAD; OD: OXÍGENO DISUELTO; TEMP.: TEMPERATURA.

Los sólidos disueltos totales en agua residual disminuyeron consistentemente, en la temporada CS en agua residual presentaron un valor de 724.83 mg/L (Tabla 4) y en la temporada FS el valor disminuyó a 607.6 mg/L (Tabla 6), en agua residual tratada en CS fue de 623.6 mg/L mayor a las temporadas CL que fue de 393.89 mg/L, el valor más bajo en este tipo de agua (Tabla 5) y FS siendo el valor de 539.2 mg/L (Tabla 6), en el agua de reúso la temporada con mayor SDT fue CS con 458.5 mg/L en comparación con CL con 383.65 mg/L y FS 293.75 mg/L, en agua subterránea los datos de SDT se mantuvieron similares en las tres temporadas, (Tabla 5).

Los sólidos disueltos totales miden la materia suspendida o disuelta en el medio, asociándolo con la presencia de microorganismos presentes en el agua, ya que favorecen la presencia de estos, permitiéndoles tener mayor resistencia a las condiciones o capacidad de permanecer en el medio. La conductividad es otro físico-químico que se ha encontrado relacionado con la presencia de microorganismos en un medio, puesto que este depende de la cantidad de iones que se encuentran en agua y se refiere a la capacidad de una solución para transmitir corriente eléctrica.

La conductividad también mostró una disminución en la temporada CL, en agua residual fue 723.8 $\mu\text{S}/\text{cm}$, en agua residual tratada fue 602.12 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y en agua de reúso fue 570.39 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabla 5), en comparación con las otras dos temporadas en las que el valor más alto fue en agua residual durante CS fue de 1208 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabla 4) y el más bajo en CS fue de 828.08 $\mu\text{S}/\text{cm}$, en la temporada FS solo fue menor al de CS la conductividad en agua de reúso que fue de 383.08 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabla 6), en agua subterránea la conductividad se mantiene similar en las tres temporadas.

El oxígeno disuelto fue mayor en la temporada CL (Tabla 5), posiblemente asociado a la mayor cantidad de volumen de agua que entra por las lluvias, por tanto mayor oxigenación.

Según el análisis descriptivo, la variación que presentaron los parámetros físico-químicos de una temporada a otra fue no mayor a 1 unidad logarítmica, por lo que se determina que estas condiciones no afectan la presencia de los protozoarios, más adelante se observará la incidencia que estos presentaron y al notar que no existió variación, las condiciones tienden a ser similares en las tres temporadas. Únicamente se observó una reducción en todos los tipos de agua, entre cada temporada en el potencial de óxido-reducción, el cual es indicativo de la presencia de materia orgánica en el agua (García y Camacho, 2001).

7.2. Indicadores tradicionales de contaminación fecal.

Los indicadores detectados se reportan en las siguientes tablas, mostrando un promedio de la presencia de cada uno conforme al tipo de agua y a la temporada en la que se colectaron las muestras. También se muestra el promedio de la cuantificación de cada indicador para cada tipo de agua, en las tres temporadas analizadas.

En la tabla7 se presentan los conteos de CF en muestras de agua de distintas temporadas y origen.

Tabla 7. Medias geométricas de la presencia de CF en UFC/100 mL durante cada temporada para cada tipo de agua.

Coliformes fecales (UFC/100 mL)	Temporada		
	Cálida-seca	Cálida-lluvias	Fría-seca
Agua subterránea	<2	<2	<2
Agua residual	2.73×10^3	1.01×10^2	3.99×10^1
Agua tratada	3.3×10^0	1.88×10^0	1.26×10^1
Agua tratada para reúso	<2	<2	<2

UFC: Unidad formadora de colonia

En la tabla 8 se presentan los resultados obtenidos para EF en muestras de agua de distintas temporadas y origen.

Tabla 8. Medias geométricas de la presencia de EF en UFC/100 mL durante cada temporada para cada tipo de agua.

Enterococos fecales (UFC/100 mL)	Temporada		
	Cálida-seca	Cálida-lluvias	Fría-seca
Agua subterránea	1.2×10^0	1.3×10^0	9.8×10^{-1}
Agua residual	3.85×10^5	4.99×10^4	6.02×10^6
Agua tratada	4.86×10^4	6.07×10^4	2.92×10^5
Agua tratada para reúso	3.92×10^2	8.63×10^0	1.37×10^0

UFC: Unidad formadora de colonia.

En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos para colifagos en muestras de agua de distintas temporadas y origen.

Tabla 9. Promedio de la presencia de colifagos en UFP/100 mL durante cada temporada y para cada tipo de agua.

Colifagos (UFP/ mL)	Temporada		
	Cálida-seca	Cálida-lluvias	Fría-seca
Agua subterránea	5.3×10^0	2.21×10^0	1.73×10^0
Agua residual	10.77×10^2	1.57×10^3	2.28×10^2
Agua tratada	2.58×10^2	1.47×10^2	1.37×10^2
Agua tratada para reúso	8.53×10^1	6.38×10^0	2.90×10^1

UFP: Unidad formadora de placa

De acuerdo con estos resultados es posible observar que los microorganismos indicadores no aparecen con la misma frecuencia en los diferentes tipos de agua, las bacterias CF (bacterias indicadoras incluidas en las Normas Oficiales Mexicanas), son las que presentan menor presencia; sin embargo, los colifagos y EF están presentes en los cuatro tipos de agua, por lo que es posible considerar que pueden ser mejores referentes de la calidad del agua de los tres organismos indicadores estudiados.

7.3. Análisis por Inmunofluorescencia.

Se procesaron aleatoriamente 51 muestras de un total de 311, utilizando un criterio específico únicamente para las cisternas basado en la presencia de bacterias indicadoras y en la afluencia de personas en áreas verdes regadas con agua de reúso para saber qué cisternas eran más adecuadas para dicho análisis. En el caso de pozos y plantas de tratamiento (influyente y efluente), las muestras procesadas no presentan una tendencia específica, no se tiene previa selección como en el caso de las cisternas.

Se identificaron los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* y los quistes de *Giardia lamblia*. La observación de las muestras de agua revelan las estructuras ooquisticas emitiendo fluorescencia en color verde manzana y color amarillo para los quistes, colores ocasionados por el fluorocromo utilizado en el segundo anticuerpo. El Ioduro de Propidio tiñe la materia orgánica de color rojo, diferenciándola de las estructuras observadas debido a que este colorante se mezcla con el material genético del detritus orgánico (Figura 4 a 6).

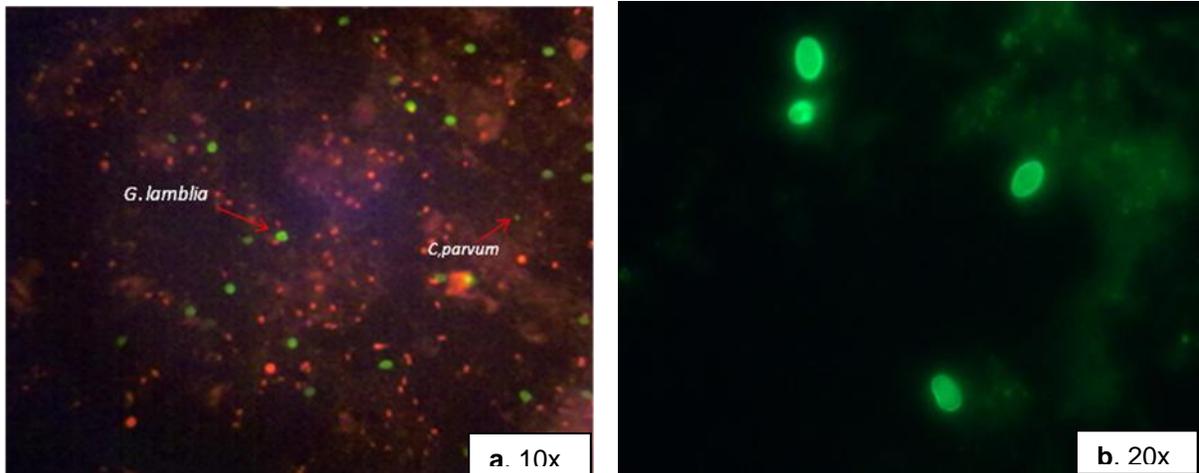


Figura 4. **a.** Estructuras de quistes de *G. lamblia* y ooquistes de *C. parvum* detectados por fluorescencia con 100 aumentos en agua de reúso de la UNAM. **b.** quistes de *G. lamblia* a 200 aumentos en agua de reúso.

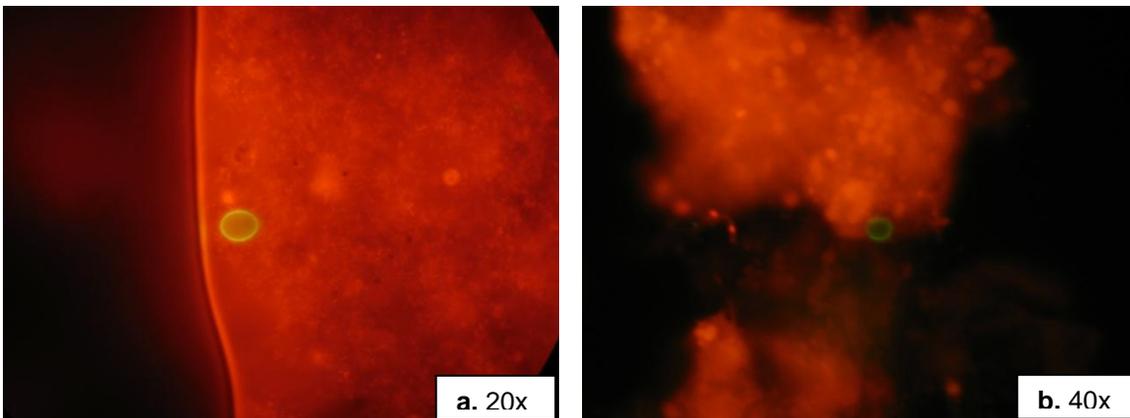


Figura 5. **a.** quiste ovalado con pared gruesa característica de *G. lamblia*, en agua residual tratada de PTARCP con 200 aumentos. **b.** ooquiste redondo de *C. parvum* en agua residual tratada de PTARCP de la UNAM, en un campo de 400 aumentos.

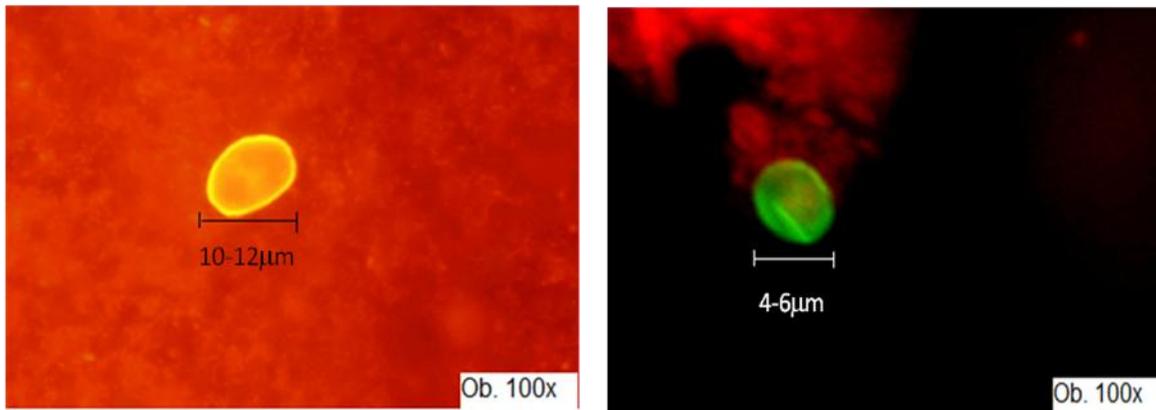


Figura 6. **a.** quiste de *G. lamblia* en agua residual de la PTARCP, con 1000 aumentos, resaltando por el fluorocromo agregado. **b.** estructura redondeada, con una cicatriz característica en la pared del ooquiste de *C. parvum* observado en agua residual tratada de PTARCP, en un campo de 100 aumentos.

Como se observa, las estructuras quísticas de *G. lamblia* son de un tamaño de entre 10 y 12 micras, lo cual ayuda a que su observación al microscopio sea más fácil, al contrario de *C. parvum*, que presenta un tamaño entre 4-6 micras que en un campo de 10x hace complicada su identificación, ya que al teñirse con fluorescencia pueden ser confundidos con fragmentos pequeños de material orgánico. Al observarlo en un campo mayor se hace notar que son falsos ooquistes, sin embargo, una vez que se encuentran los ooquistes de estos parásitos, se observa una estructura con una forma esférica y una cicatriz en la pared gruesa, que es una característica propia de este parásito lo que confirma su detección.

El porcentaje de muestras positivas para cada microorganismo analizado por tipo de agua se muestra en la tabla 10. Se observó que el mayor número de muestras positivas para todos los microorganismos fue en agua residual de la PTARCP, seguida del agua residual tratada procedente de la misma planta. El agua fue sometida a un proceso de tratamiento y desinfección, las muestras fueron tomadas antes de concluir con este para conocer las condiciones del agua al salir directamente del proceso de tratamiento. En condiciones de desinfección con cloro se presentan anomalías en la aplicación al agua tratada, ya que no siempre se aplica. En el agua tratada para reúso se observó menor número de muestras

positivas de *C. parvum* y EF, únicamente colifagos y *G. lamblia*, muestran mayor presencia, no se obtuvieron muestras positivas para coliformes fecales en este tipo de agua.

Tabla 10. Porcentaje de muestras positivas por tipo de agua

Tipo de agua	<i>C. parvum</i>	<i>G. lamblia</i>	CF	EF	BF
Subterránea	0	0	0	13	38
Residual	100	100	100	100	100
Residual tratada	100	100	33	100	100
Reúso	33	78	0	44	89
Total	51.72	62.07	27.59	58.62	79.31

CF, coliformes fecales; EF, enterococos fecales; BF, colifagos.

En agua subterránea no se obtuvieron muestras positivas para *C. parvum*, *G. lamblia*, y CF, se detectaron únicamente EF y colifagos, para los cuales se obtuvieron conteos inferiores a 2 unidades logarítmicas.

Los colifagos fueron los que mayor porcentaje de muestras positivas presentaron, seguidos de *G. lamblia* la cual presenta un porcentaje de muestras positivas con cantidades que pasan por encima de las DI_{50} que es de 25 a 100 quistes (Smith *et al.*, 1995) y de EF presentando un porcentaje de muestras positivas con cantidades por encima del límite máximo permisible que establece la EPA de 100 UFC/100mL (US EPA, 1986) muestras positivas, *C. parvum* está presente en poco más de la mitad de las muestras analizadas, igualmente con cantidades en muestras positivas sobrepasando la DI_{50} (Smith *et al.*, 1995) con la presencia en estas muestras. No obstante las bacterias indicadoras señaladas por las Normas Oficiales Mexicanas NOM-127-SSA1-1994(DOF, 2000) y NOM-003-SEMARNAT-1997(DOF, 1998) para calidad de agua, son positivas en pocas muestras y en pocas cantidades cumpliendo en agua subterránea y tratada con los límites máximos permisibles establecidos.

7.4. Análisis por tipo de agua.

Los conteos de quistes y ooquistes encontrados en las muestras analizadas por medio del método IFI, se ajustan a 1L para su análisis con base al volumen de colecta y al nivel de concentración. Los conteos de bacterias y colifagos también fueron ajustados a Unidades Formadoras de Colonias por cada 100 mL (UFC/100 mL) y Unidades Formadoras de Placa sobre un mL (UFP/ mL), respectivamente, la comparación que se realiza entre los protozoarios, bacterias CF, EF y BF se hace de los datos obtenidos de las muestras procesadas para la detección de protozoarios, señaladas anteriormente (Tabla 3).

7.4.1. Agua residual

El promedio de ooquistes de *C. parvum* en agua residual fue entre 4 y 5 unidades logarítmicas, 1.12×10^5 / L en la temporada cálida-seca (CS) y 8×10^4 / L en la temporada fría-seca (FS) y cálida-lluvias (CL). Para *G. lamblia* el promedio de quistes reportado fue entre 4 y 5 unidades logarítmicas. *G. lamblia* presentando un promedio de 2.25×10^5 / L para la temporada CS; 7.5×10^4 / L para CL y 3.52×10^4 / L en FS (Figura 7).

En cuanto a las bacterias se obtuvieron medias geométricas de 511 UFC/100 mL en la temporada CS; 101 UFC/100mL en CL y 6.3×10^4 UFC/100 mL en FS para CF. Se obtuvieron medias geométricas de 7.4×10^5 UFC/100mL en CS, 4.9×10^4 UFC/100mL en CL y 6.02×10^6 UFC/100mL en FS para EF. Los promedios de 1.537×10^3 UFP/ mL en CS, 2.62×10^2 UFP/ mL en CL y 18.81×10^2 UFP/ mL en FS para BF (Figura 7).

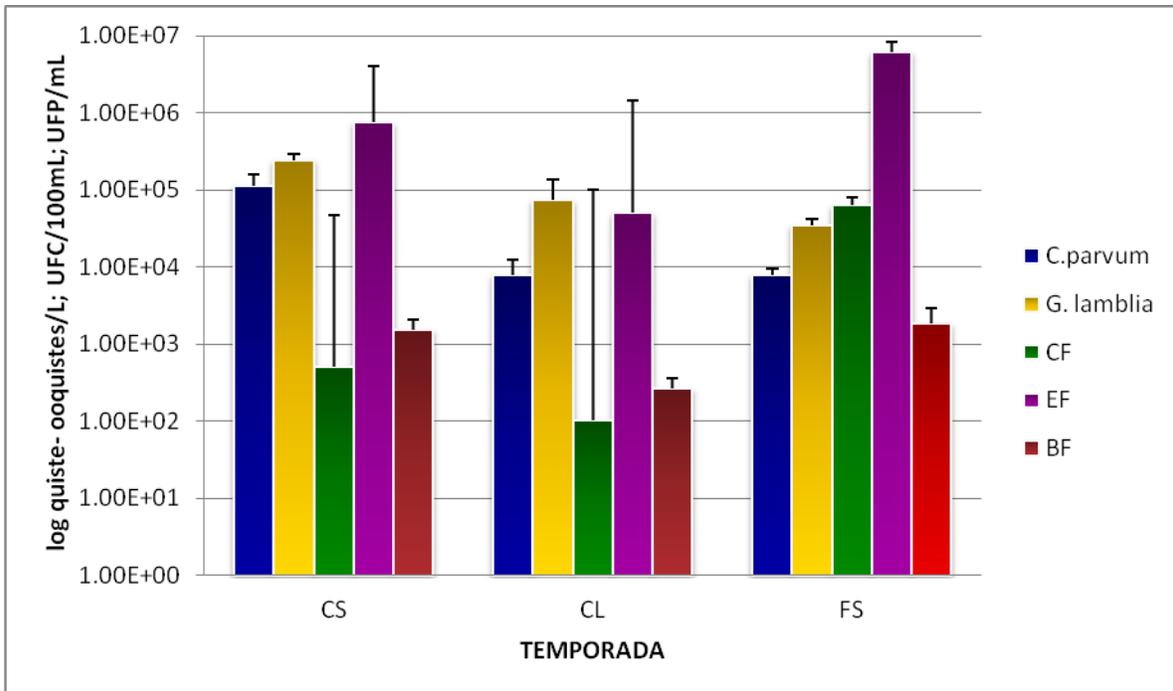


Figura 7. Microorganismos detectados durante las tres temporadas en agua residual.

Los conteos de los (oo)quistes de protozoarios en agua residual sobrepasaron la DI_{50} en todas las temporadas, pese a los cambios en las condiciones que se presentan entre la temporada CS con respecto de la temporada CL como es el aumento en el volumen de agua, la resistencia generada por la estructura quística que les sirve como protección permitiéndoles sobrevivir condiciones que otros microorganismos no resisten. En la grafica se observa disminución de los microorganismos entre las temporadas, aunque sin ser significativo, se atribuye al aumento en la cantidad de agua que se genera en la temporada CL y posteriormente al cambio de la temperatura, además del periodo en el que se realiza el muestreo, ya que en la temporada CL se presenta un periodo vacacional, por lo que disminuye la descarga de agua residual.

Con el objeto de conocer la relación que presentan los parásitos protozoarios con los microorganismos indicadores y con parámetros físico-químicos que muestran la presencia de materia en agua como pH, conductividad y total sólidos disueltos,

se obtuvieron los coeficientes de correlación lineal de Pearson por medio del programa STATGRAPHICS Centurion XV.II (Tabla 11).

Tabla 11. Coeficiente de correlación lineal de Pearson en agua residual.

Parásito	Indicadores			Parámetros físico-químicos		
	CF	EF	BF	pH	COND.	SDT
<i>C. parvum</i>	(n= 7)	(n= 7)	(n= 7)	(n= 7)	(n= 7)	(n= 7)
	R=0.1404	R=0.4737	R=0.1363	R=-0.6578	R=0.7800	R=0.6911
	P=0.7640	P=0.2829	P=0.7708	P=0.1083	P=0.0386	P=0.0855
<i>G. lamblia</i>	(n= 7)	(n= 7)	(n= 7)	(n= 7)	(n= 7)	(n= 7)
	R=-0.1862	R=0.0447	R=0.0981	R=-0.2845	R=0.4970	R=0.4074
	P=0.6894	P=0.9242	P=0.8343	P=5364	P=0.2564	P=0.3643

n, núm. de muestras; R, coeficiente de correlación; P, probabilidad.

El coeficiente de correlación que se realizó entre la concentración de los parásitos protozoarios y algunos parámetros biológicos y físico-químicos que indican la calidad, (pH, conductividad y SDT) en agua residual, mostró una correlación negativa entre *C. parvum* con los indicadores analizados (CF, EF y BF), al igual que *G. lamblia* con estos mismos organismos y parámetros, obteniendo valores de $R > 1$ en los tres casos, lo que indica que no existe relación significativa; los valores de P fueron diferentes a cero lo que significa que la probabilidad de que la relación exista es nula. También se observó una correlación positiva entre *C. parvum* y los parámetros físico-químicos con valores de R cercanos a 1 y una $P < 0.05$, principalmente con la conductividad (n=7, R= 0.7800, P=0.0386). La correlación entre *G. lamblia* y los parámetros físico-químicos fue negativa para este tipo de agua.

7.4.2. Agua residual tratada

Este tipo de agua se obtiene de la salida de la PTARCP, antes de desinfección por cloro, en remoción de partículas, presentando una disminución significativa en la cantidad de bacterias, colifagos y protozoarios, demostrando la utilidad del proceso aplicado.

Sin embargo, la cantidad en que se observan estos organismos en el efluente fue de 2 a 4 unidades logarítmicas para los protozoarios, hasta 6 unidades logarítmicas las bacterias EF y por encima de 2 unidades logarítmicas para BF; los conteos de bacterias CF fueron reducidos en 2 unidades logarítmicas, lo cual fue la mayor reducción con respecto a EF y BF, para las temporadas cálidas, producto del tratamiento ocurre en la PTAR. Para la temporada fría la reducción de bacterias coliformes no es significativa. Se muestra la presencia para agua residual tratada, observando la disminución en cada organismo (Figura 8).

Cada organismo se encuentra presente de manera diferenciada conforme a la temporada en la que se tomó la muestra, para *C. parvum* en la temporada CS se obtuvo un promedio de 4.44×10^1 ooquistes/ L, en CL fue de 1.05×10^3 ooquistes/ L y en FS fue de 3.22×10^2 ooquistes/ L (Figura 8).

En el caso de *G. lamblia* se observó en las temporadas CS, un promedio de 2.33×10^2 quistes / L; en CL, 1.416×10^3 quistes/ L y en la temporada FS, 4.322×10^3 quistes/ L. Las CF fueron de 5 UFC/100mL en sus medias geométricas en la temporada FS, no se detectaron muestras positivas para las temporadas CS y CL, en la temporada FS se registraron 4×10^4 UFC/100mL. Los colifagos presentaron en CS 4.10×10^2 UFP/mL; en CL 1.597×10^2 UFP/ mL y 3.312×10^2 UFP/ mL en la temporada FS (Figura 8), las cantidades obtenidas en agua residual, son mostradas a continuación.

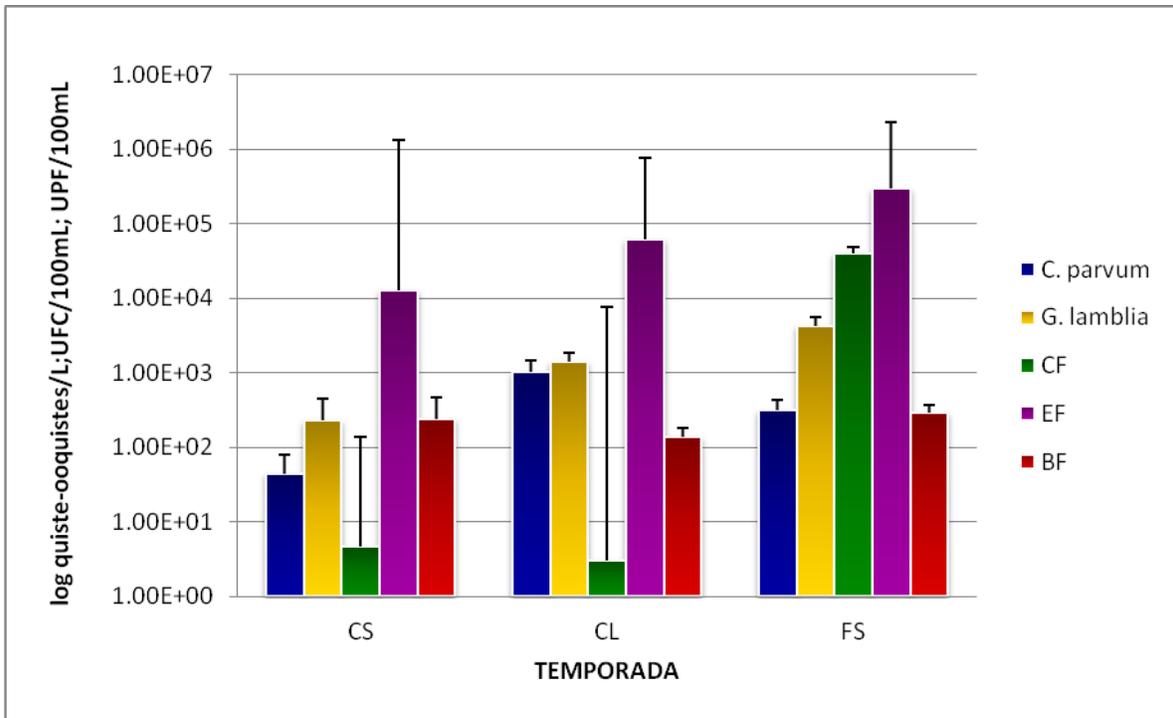


Figura 8. Microorganismos detectados durante las tres temporadas, en agua residual tratada.

Se observa una comparación entre *C. parvum* – *G. lamblia* y CF, EF, colifagos, pH, conductividad (cond) y SDT, (Tabla 12). En este análisis se obtuvo una estrecha relación positiva entre ambos protozoarios ($n=18$, $R= 0.976$, y $P= 0$) y también se muestra una relación positiva tanto para los ooquistes de *C. parvum* y los quistes *G. lamblia* con los colifagos ($n=18$, $R= 0.737$, y $P=0.0005$; $n=18$, $R=0.738$, y $P= 0.0005$, respectivamente). En cuanto a las CF y EF la relación fue negativa, así como con los parámetros físico-químicos; obteniendo valores de R sin acercarse a 1 y valores de P lejanos a cero (Tabla 12).

Tabla 12. Coeficiente de correlación lineal de Pearson en agua residual tratada

Parásito	Indicadores			Parámetros físico químicos		
	CF	EF	BF	pH	COND	SDT
<i>C. parvum</i>	(n= 18)	(n= 18)	(n= 18)	(n= 18)	(n= 18)	(n= 18)
	R=0.3196	R=0.1162	R=0.7368	R=0.0135	R=-0.2216	R=-0.2020
	P=0.1960	P=0.6462	P=0.0005	P=0.9575	P=0.3768	P=0.4216
<i>G. lamblia</i>	(n= 18)	(n= 18)	(n= 18)	(n= 18)	(n= 18)	(n= 18)
	R=-0.3847	R=0.1168	R=0.7385	R=-0.1628	R=-0.1110	R=0.0874
	P=0.1149	P=0.6444	P=0.0005	P=0.5785	P=0.6610	P=0.7302

n, núm. de muestras; R, coeficiente de correlación; P, probabilidad.

7.4.3. Comparación entre las frecuencias de agua residual y residual tratada

Se observó variación de cada microorganismo entre el influente de la PTARCP y el afluente una vez concluido el tratamiento (Figura 9).

Los resultados se muestran por temporada, pudiendo ver los cambios entre estas, haciendo notar que en la temporada CS, el agua residual del afluente presentó de 4 a 6 unidades logarítmicas para la carga de protozoarios y EF, siendo de 3 unidades logarítmicas para colifagos y coliformes, siendo mayor que las unidades logarítmicas que se obtienen en las temporadas CL y FS, asociándolo a que en la temporada CS se presenta una concentración de organismos debido a los volúmenes de agua. Es notable la disminución de cada parámetro biológico que presenta el agua residual al pasar por tratamiento, dando cuenta de que es eficiente para la remoción de microorganismos (Figura 9), pero no lo suficiente para eliminarlos por completo o dejar cantidades que no afecten a la salud pública al momento de reusarse.

Se detectó que en agua residual tratada de la temporada CL la cantidad microorganismos disminuyó significativamente con respecto a las temporadas CS y FS sugiriendo que se debe al gran volumen de agua que se tiene en la temporada como resultado de las lluvias, por lo que se consideró que existe una dilución del material biológico y de otras partículas. En la temporada FS la disminución de los

microorganismos sólo llega a ser de una unidad logarítmica después de pasar por el tratamiento. Aunque la disminución de todos los organismos es significativa de agua residual, es de notarse que en el efluente de la planta de tratamiento no se obtiene pérdida eficiente con respecto a las dosis infecciosas de los agentes microbiológicos estudiados.

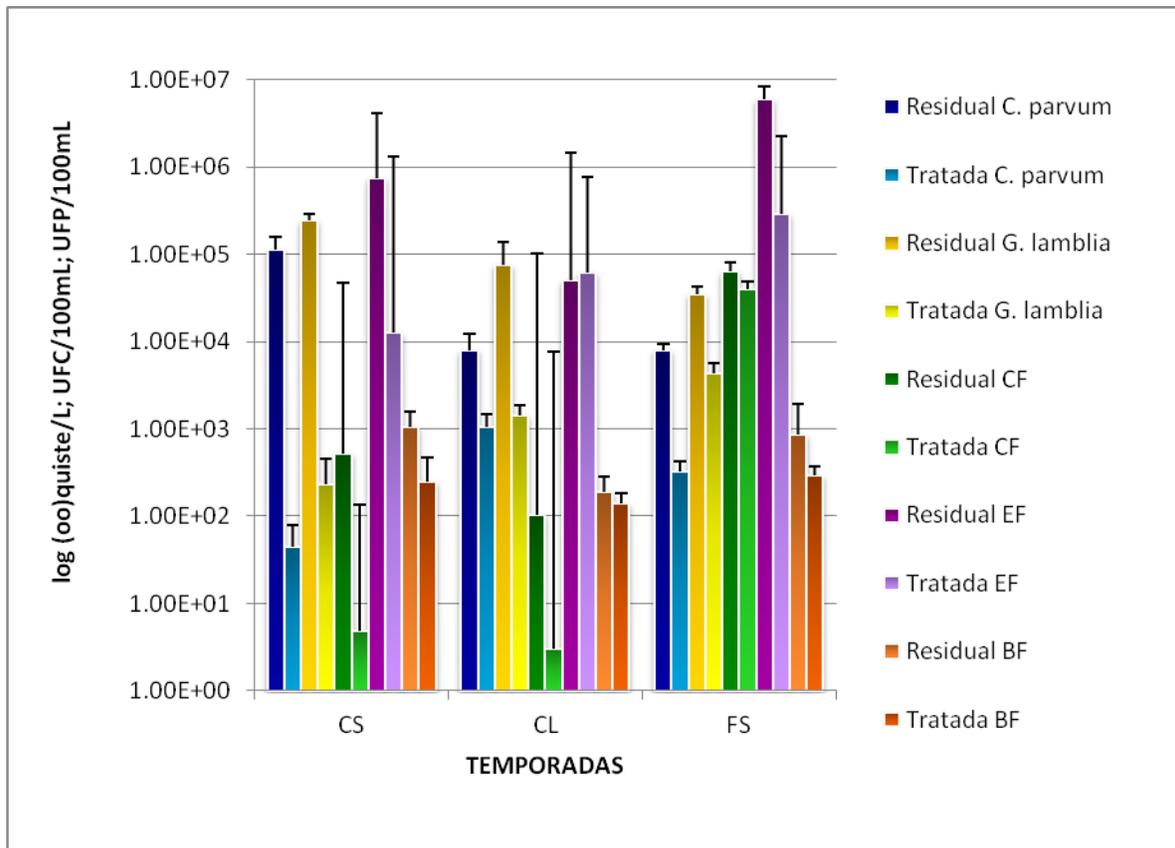


Figura 9. Comparación entre agua residual y residual tratada de los microorganismos durante las tres temporadas.

Durante la temporada FS la persistencia de los microorganismos a los cambios de temperatura no se manifestó debido a que la variación no fue significativa, presentando aún grandes cantidades, lo que representa un riesgo para la salud. La variación entre el agua residual y residual tratada es mínima, ya que la reducción de cada microorganismo por medio del tratamiento es menor a dos unidades logarítmicas.

7.4.4. Agua residual tratada de reúso.

El agua residual tratada pasa por el último proceso del tratamiento, el de desinfección el cual se realiza por medio de la cloración. El agua al salir de la PTAR pasa por un sistema de distribución que la conduce a cisternas donde es almacenada hasta su uso. Tanto el sistema de distribución como las cisternas pueden considerarse como un factor de re-contaminación o de crecimiento, en el caso de las bacterias, considerándose este dato en los resultados obtenidos para este tipo de agua, ya que están presentes los microorganismos en cantidades importantes. También es considerado que la PTAR de Cerro del Agua se encontraba cerrada por mantenimiento durante el tiempo de toma de muestreo.

En la cuantificación de *C. parvum* en agua para reúso mostro que él promedio 99 ooquistes/1L durante la temporada CS, para las siguientes temporadas no se detectó este parásito. Los quistes de *G. lamblia* fueron detectados en promedio 1.022×10^3 quistes /1L en temporada CS; bajó hasta un promedio de 3×10^0 quistes/1L en temporada CL, y para la temporada FS se detectaron 1×10^0 quiste/1L en promedio (Figura 10)

En cuanto a las bacterias, CF no fueron detectadas en este tipo de agua, sin embargo, de EF se presento con una media geométrica en CS de 4.37×10^2 UFC/100 mL; en CL la media disminuye a 8×10^0 UFC/100mL y para la temporada FS la media geométrica es de 1×10^0 UFC/100 mL. Los colifagos se encuentran en mayor cantidad que las bacterias en la temporada CS siendo de 6.64×10^2 UFP/100 mL la media obtenida; 0.21×10^2 UFP/100 mL en temporada CLy en la temporada FS de 4×10^0 UFP/100 mL (Figura 10).

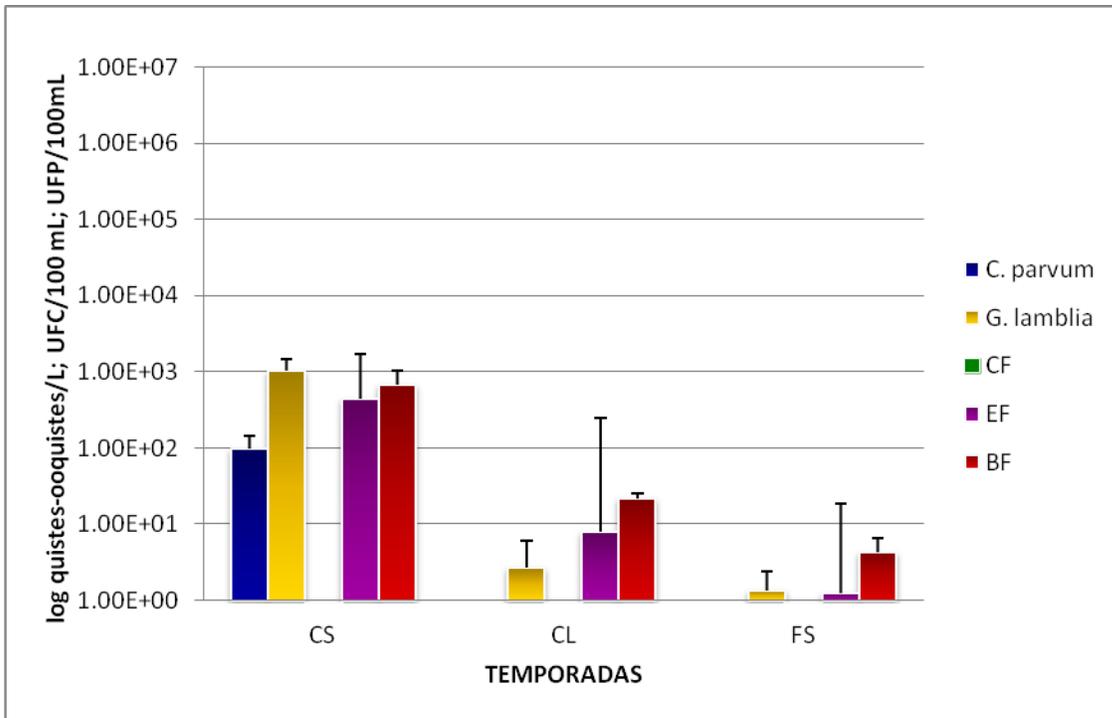


Figura 10. Microorganismos detectados durante las tres temporadas en agua residual tratada para reúso.

Se observaron las variaciones de los microorganismos estudiados en el agua reutilizada para riego, notando que ninguno de los indicadores fue > 3 unidades logarítmicas. Debe señalarse que las características de las estructuras quísticas, de los enterococos fecales y de colifagos, les permite resistir el proceso de tratamiento del agua, a cambios en el ambiente y condiciones de almacenamiento (Figura 10).

Se observó que en la temporada CL disminuyen todos los organismos, cabe resaltar que durante esta temporada se suspende temporalmente el riego con agua residual tratada para reúso que se almacena en las cisternas. En la temporada CL se realizan las acciones de mantenimiento de las cisternas. Durante la temporada FS se presentó reducción en las densidades sin llegar a una unidad logarítmica, siendo notable la presencia de colifagos y de *G. lamblia*.

Los resultados obtenidos en relación con ambos protozoarios son reveladores ya que se sabe que tanto *C. parvum* como *G. lamblia*, presentan características

similares a las de muchos otros parásitos protozoarios patógenos, por lo que podría apoyar la propuesta de utilizarlos como índices, herramientas para evaluar la calidad del agua. Otra ventaja es su tolerancia a la cloración como parte de los procesos de tratamiento de agua residual y sobre todo a procesos de tratamiento como la cloración ante el cual las bacterias indicadoras presentan una menor resistencia, proporcionando así, evidencia contundente que fundamenta su eficacia como indicadores de calidad del agua.

Para ver si existe relación entre los protozoarios y con CF, EF y colifagos, se hizo un análisis de correlación de Pearson, utilizando los datos obtenidos para todos los tipos de agua, los resultados se presentan en la Tabla 13. *C. parvum* presenta relación positiva con EF obteniendo un valor de $R= 0.728$, al igual que con colifagos siendo $R= 0.835$; R cercanos a 1 indicando una fuerte relación según el criterio del coeficiente. Con los parámetros físico-químicos, conductividad y sólidos disueltos totales, pese a que la relación se muestra positiva con valores de P cercanos a cero (Tabla 13), el valor de R en ambos casos indica que la correlación es débil ($R= 0.527$ y $R=0.362$, respectivamente).

G. lamblia mostró una relación positiva fuerte con enterococos fecales ($R=0.676$), colifagos ($R=0.764$) y con la conductividad, siendo muy débil esta relación (con un valor de $R= 0.442$) (Tabla 13). Entre ambos protozoarios se obtuvo una relación positiva casi perfecta ya que está muy cerca de 1 ($n=26$, $R=0.906$ y $P=0$), no encontrando diferencias en este tipo de agua.

Tabla 13. Coeficiente de Correlación Lineal de Pearson en agua residual tratada de reúso

Parásito	Indicadores		Parámetros físico químicos		
	EF	BF	pH	COND	TDS
<i>C. parvum</i>	(n= 26)	(n= 26)	(n= 26)	(n= 26)	(n= 26)
	R=0.7286	R=0.8355	R=0.386	R=0.5273	R=0.3625
	P=0	P=0	P=0.8517	P=0.0056	P=0.0688
<i>G. lamblia</i>	(n= 26)	(n= 26)	(n= 26)	(n= 26)	(n= 26)
	R=0.6763	R=0.7649	R=0.0004	R=0.4429	R=0.3540
	P=0	P=0	P=0.9985	P=0.0234	P=0.0760

n, núm. de muestras; R, coeficiente de correlación; P, probabilidad.

7.4.5. AGUA SUBTERRÁNEA

Las muestras obtenidas para este tipo de agua fueron colectadas antes del proceso de cloración, los resultados mostraron ausencia de microorganismos. Sin embargo, en ocasiones se presentaron muestras positivas para EF con conteos que presentan una media geométrica de 0.53×10^1 UFC/100 mL, así como para colifagos con conteos de 1 hasta 12×10^0 UFP/ mL. Estos resultados sugieren que una posible contaminación fecal que habría que monitorear e identificar a fin de controlarla. (Tabla 15).

Tabla 14. Presencia de microorganismos en agua subterránea obtenidos durante las tres temporadas de muestreo.

Agua subterránea	Temporada		
	CS	CL	FS
Pozo Química	CF: --	CF: --	CF:--
	EF :--	EF:--	EF:--
	BF: +	BF:--	BF:--
	3 UFP/ mL	CP:--	CP:--
	CP:--	GL:--	GL:--
Pozo Multifamiliar	CF: --	CF: --	CF> ND
	EF:--	EF:--	EF : +
	BF:--	BF:--	5.3 UFC/100 mL
	CP:--	CP:--	BF:--
	GL:--	GL:--	CP:--
Pozo Vivero Alto	CF: --	CF: --	CF: --
	EF:--	EF:--	EF:--
	BF:+	BF:+ 1 UFP/ mL	BF:--
	12 UFP/ mL	CP:--	CP:--
	CP:--	GL:--	GL:--
	GL:--		

CP: *C. parvum*; GL: *G. lamblia*; Presencia:-- Negativo: + Positivo; UFC, Unidades formadoras de colonias; UFP, Unidades formadoras de placa

7.4.6. Comparación de la relación entre los microorganismos en todos los tipos de agua.

Se realizó un análisis de correlación lineal de Pearson para todos los resultados obtenidos en los cuatro tipos de agua para conocer la relación que tienen los organismos indicadores entre sí, y conocer las interacciones entre ellos (Tabla 15). En cada tipo de agua las relaciones entre protozoarios y las bacterias CF y EF, así como con los colifagos, en general han sido negativas, ahora se busca analizar la

correlación existente con las densidades de todos los tipos de agua, para descartar la influencia que él pueda generar tipo de agua con respecto a la relación que se podría observar entre los protozoarios y los demás parámetros (Tabla 15).

Tabla 15. Coeficiente de correlación lineal de Pearson en los cuatro tipos de agua.

Parásito	Indicadores			Parámetros físico químicos		
	CF	EF	BF	PH	COND	TDS
<i>C. parvum</i>	(n= 11)	(n= 11)	(n= 11)	(n=11)	(n= 11)	(n= 11)
	R=0.1792	R=0.6848	R=0.3981	R=-0.2839	R=0.2730	R=0.1876
	P=0.5980	P=0.0201	P=0.2253	P=0.3975	P=0.4167	P=0.5807
<i>G. lamblia</i>	(n= 11)	(n= 11)	(n=11)	(n= 11)	(n= 11)	(n= 11)
	R=0.0478	R=0.5120	R=0.3918	R=0.2234	R=0.2678	R=-0.0161
	P=0.8891	P=0.1074	P=0.2334	P=0.5090	P=0.4260	P=0.9626

n: núm. de muestras; R: coeficiente de correlación; P: probabilidad.

C. parvum presentó una correlación positiva con EF con un valor de $R=0.684$ y un valor de $P=0.02$; según los valores de P no presenta relación con CF, BF, ni con ningún parámetro físico-químico, el coeficiente de correlación indica que la relación es positiva, muy débil según el criterio de interpretación del método de correlación de Pearson, ya que estuvo cercano a cero. En el caso de *G. lamblia* no hubo relación con ninguno de los parámetros, ni biológico, ni físico-químico, siendo su coeficiente positivo muy débil (Tabla 15). Los resultados entre *C. parvum* y *G. lamblia* revelan una relación positiva muy fuerte entre ambos parásitos, lo que refuerza su uso en la evaluación ambiental ($n=11$; $R=0.946$; $P=0$).

8. Discusión.

La presencia de diversas sustancias ya sean de origen natural o inducido, puede alterar la composición del cuerpo de agua, repercutiendo en su calidad. El agua se denomina contaminada al sufrir cambios que afecten su uso, por tal motivo, en este estudio se considera de gran importancia los límites máximos permisibles de parámetros biológicos y físico-químicos que se encuentran en el agua, establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas, destacando así, la falta de otros organismos que indiquen la calidad y proporcionen mayor información con base al tipo y al uso que el agua tenga.

Ciudad Universitaria es un sitio de estudio accesible por su ubicación, por presentar sistemas controlados y por lo general los usuarios de las instalaciones son los principales emisores de estos microorganismos, no se descarta la complejidad que esto representa, ya que es un número elevado de usuarios y existe una gran variedad de características, por lo que la problemática es similar debido a la variación en la población a lo que se vive en las ciudades, donde puede haber riesgo de exposición directa o indirectamente a contaminantes.

En la mayoría de las epidemias documentadas de gastroenteritis causadas por parásitos protozoarios se ha sabido que el principal vehículo de transmisión es el agua (Marshall *et al.*, 1997; Betancourt y Querales, 2008). Por otro lado se han reportado grandes cantidades de quistes de *G. lamblia* y ooquistes de *C. parvum* en distintas fuentes de suministro de agua y en diferentes tipos de agua (Solarte *et al.*, 2006). Hasta donde cuento con información el presente estudio es el primero que aporta información sobre la detección y cuantificación de quistes de *G. lamblia* y ooquistes de *C. parvum* en los diferentes tipos de agua que se encuentran dentro del *campus* de Ciudad Universitaria.

En todo el mundo la prevalencia de ambos parásitos ha aumentado gradualmente a través del tiempo, hasta llegar a una amplia transmisión en los últimos años y

con diferencias entre cada país debido a las condiciones ambientales o de salud que presentan, lo que significa un problema desde la perspectiva de la salud pública. Aún en los países desarrollados, se han reportado grandes epidemias gastrointestinales provocadas por estos patógenos, indicando la deficiencia de los métodos de tratamiento de agua para la remoción de las estructuras infectivas de estos protozoarios (Solarte *et al.*, 2006).

Pese a que se tiene información para conocer el riesgo potencial de enfermedad asociado con *G. lamblia* y *C. parvum* en agua (Hormanm *et al.*, 2004), no se han implementado medidas preventivas tendientes a la disminución de la prevalencia de estos parásitos en México (CENAVECE, 2003). En este estudio, se hace una propuesta de análisis donde se considere la detección de ambos protozoarios como un paso fundamental en los procesos de tratamiento para la evaluación la calidad de agua, tanto para uso y consumo humano como para el agua residual tratada que pretende reutilizarse.

La detección de bacterias indicadoras, colifagos, propuestos como indicadores para CU por Fonseca (2010) y ahora de *G. lamblia* y *C. parvum* propuestos como índices, resultan ser una forma eficaz para determinar las condiciones de calidad del agua dentro de CU. Entre los tipos de agua y entre cada temporada se encontraron variaciones entre los microorganismos estudiados. La identificación de los (oo)quistes de *Giardia* y *Cryptosporidium* ha resultado eficiente para complementar la información y así identificar la problemática de la probable contaminación fecal en los tipos de agua utilizados dentro de CU.

Durante este estudio, una variedad de parámetros fisicoquímicos que incluyen pH, conductividad, SDT, principalmente y microbiológicos que incluyen bacterias indicadoras, colifagos y protozoarios, fueron examinados para determinar si existe relación entre ellos en cuatro tipos de agua de distinto origen y durante tres temporadas entre las cuales las condiciones ambientales eran distintas.

Los resultados obtenidos en ocho sitios analizados, muestran que en la mayoría de las muestras se encontraban presentes los protozoarios en cantidades significativas tomando como referencia las DI_{50} que es la dosis infectiva mínima necesarias para infectar al 50 % de la población expuesta en humanos, siendo de 25-100 quistes en el caso de *G. lamblia* y entre 9 y 1,042 ooquistes para *C. parvum* (Smith *et al.*, 1995) y comparando también con la dosis infectivas mínimas de acuerdo a Hurst y colaboradores (1996), siendo de 10 quistes en el caso de *G. lamblia*, así como, entre 10 y 30 ooquistes para *C. parvum*, dosis infectivas muy bajas que afectan a personas inmunocomprometidas, estas dosis se consideraron para establecer el número mínimo de (oo)quistes que se requieren para señalar un posible riesgo en la salud pública.

La detección de los cinco microorganismos estudiados fue positiva en agua residual y agua residual tratada, observando una disminución significativa en la presencia encontrada en el agua residual al ser tratada (agua residual tratada), cumpliendo parte de los objetivos de la PTAR. Sin embargo, las cantidades que se presentan aún en el agua residual tratada son relevantes debido que exceden las DI_{50} en el caso de protozoarios y los límites máximos permisibles, establecidos en la normatividad para las bacterias. Hay que notar que estos resultados se obtienen teniendo anomalías en la aplicación de la desinfección por cloración, probablemente aplicándola constantemente haya mayor disminución de los microorganismos.

Los resultados obtenidos en el agua de reúso muestran que las CF fueron eliminadas después de haberse sometido el agua al tratamiento de desinfección por cloración, a diferencia de los EF, los colifagos y ambos protozoarios que fueron detectados después de todo el proceso de la PTAR, sugiriendo que el tratamiento aplicado no remueve la cantidad suficiente de estos microorganismos, demostrando que las estructuras quísticas, se mantienen ante este tipo de condiciones.

El agua residual tratada presenta altas concentraciones de nutrientes que no son eliminados a través de los tratamientos, por lo que puede ser un medio favorable para la propagación de microorganismos (Briancesco y Bonadonna, 2005). Gerba y colaboradores (2009) y Solarte y colaboradores (2006) mencionan que conforme pasa el tiempo va disminuyendo la calidad obtenida por el tratamiento de desinfección, permitiendo nuevamente la propagación de microorganismos, por tal motivo, no se descarta que la presencia de muestras positivas de agua residual tratada de reúso, pueda estar relacionada con una recontaminación por (oo)quistes así como también por el posible recrecimiento de bacterias y colifagos.

En agua subterránea se obtuvieron muestras positivas de EF y de colifagos en diferentes ocasiones pero en cantidades bajas de cada microorganismo, lo cual se podría asociar con una infiltración en las fuentes de abastecimiento de este tipo de agua. Destacando que las cantidades obtenidas, menores a una unidad logarítmica, siendo entre 1 y 70 UFC/ 100mL para ambos microorganismos, estas cantidades quedan eliminadas con el proceso desinfección por cloración (WHO, 2010).

En agua, residual, se observa una disminución en las densidades de los microorganismos estudiados de la temporada CS a la CL, relacionándolo con el aumento en el volumen del agua a causa de la precipitación, generando un fenómeno de dilución y el periodo vacacional, ocasionando menor descarga sanitaria, sin embargo, en agua residual tratada aumentó la presencia de microorganismos en la temporada CL con respecto de la CS, asociándolo a la falta de tratamiento a causa del aumento de volumen de agua, ya que, en esta temporada únicamente se deja pasar el agua, por lo que no existe remoción de materia, por lo que las cargas de los microorganismos no disminuyen (PUMAGUA, 2010).

Existen factores como la temperatura, el pH, la exposición a radiación con UV conocido efecto bactericida, la depredación, la hidratación que afectan la

estabilidad y viabilidad de los microorganismos de origen fecal o viral (Fayer y Nerad, 1996; Li *et al.*, 2005) que afecta o eliminan la incidencia de los microorganismos en los cuerpos de agua. En la temporada FS se observa mayor presencia de microorganismos en agua residual y residual tratada, sugiriendo que al ser sistemas controlados y subterráneo en el que no influyen los factores antes mencionados que alteren la presencia de los microorganismos, igualmente, la PTAR se encontraba en rehabilitación y es posible que el tratamiento no se haya realizado de manera adecuada o no se llevara a cabo una limpieza adecuada de cisternas en las que se almacena el agua tratada, por lo que se encuentra mayor carga de los microorganismos.

Según algunos estudios (Alonso *et al.*, 2004), las bacterias tienden a disminuir ante temperaturas bajas, ya que se limita su crecimiento y reproducción. Los virus tienen mayor tolerancia a temperaturas bajas a causa de su cápside y este factor permite la conservación de ésta y del material genético, relacionando esto con la resistencia de los colifagos en la temporada FS (Espinosa *et al.*, 2008); además es sabido que los (oo)quistes al salir al ambiente con las heces depende su supervivencia de la temperatura, en donde mientras menor sea la temperatura mayor es su sobrevivencia (Savioli *et al.*, 2006), pese a que la temperatura no presenta cambios extremos, ni significativos entre cada temporada, si se observa una disminución que aunque mínima, se asocio como factor que favorece la persistencia de los (oo)quistes.

En los sitios estudiados la presencia de los protozoarios no se correlacionó significativamente con los indicadores fecales convencionales (CF), ni con EF y BF o con los parámetros físico-químicos. En estudios como los de Keeley y Faulkner (2008) se encontró una relación entre la concentración de (oo)quistes con la turbidez y otros parámetros como SDT, sin embargo los datos de este trabajo no coinciden con este estudio. Sin embargo, de acuerdo con LeChevallier y Norton, (1992), no existe correlación entre los indicadores fecales y los patógenos, lo cual

concuenda con lo obtenido en este trabajo. En agua subterránea no se realizó éste análisis debido a la ausencia de microorganismos, siendo negativas las muestras.

En todos los casos se encuentran estrechamente relacionados ambos protozoarios presentando valores de R muy cercanos a 1, siendo positiva la relación y con valores de P=0. La relación encontrada entre *G. lamblia* y *C. parvum* coincide con lo reportado anteriormente en otros estudios (Keeley y Faulkner, 2008; Briancesco y Bonadonna, 2005; LeChevallier y Norton, 1992), además, se sabe que son los parásitos protozoarios que presentan mayor frecuencia en brotes transmitidos por agua y que sus características son similares, permitiéndoles resistir a condiciones ambientales o tratamientos de agua (Baldursson y Karanis, 2011).

En agua residual, los datos muestran una correlación positiva entre la conductividad y el pH y la conductividad y SDT, esto se debe a la carga de partículas disueltas en agua y a la cantidad de iones liberados por las fuentes de contaminación (Gerba *et al.*, 2009). En los datos obtenidos en agua residual tratada y agua de reúso la correlación entre los parámetros antes mencionados, es prácticamente negativa o en su defecto positiva muy débil. Solarte y colaboradores (2006) mencionan que la cantidad de partículas puede asociarse con el tratamiento que se aplique, ya que la filtración forma parte importante en la remoción de sólidos y por consiguiente de la reducción de partículas suspendidas, observándose en la disminución entre un tipo de agua y otra. Es importante notar, que pese a que existe un tratamiento de filtración en la PTAR, la remoción obtenida no fue suficiente, ya que siguen presentes partículas y no son eliminados los protozoarios.

La correlación fue negativa entre las bacterias CF y ambos protozoarios en todos los tipos de agua. Keeley y Faulkner (2008); Briancesco y Bonadonna (2005); LeChevallier y Norton (1992); reportan esta falta de relación entre estos indicadores y ambos protozoarios. Debido a que los CF son los indicadores que se

encuentran establecidos dentro de las Normas Oficiales Mexicanas, es importante hacer notar su limitación como indicadores de patógenos entéricos de origen fecal. Los EF muestran una relación positiva con los parásitos protozoarios en las muestras de agua de reúso, tal vez asociada a las características que estos organismos poseen y que les permiten resistir a tratamientos (Arcos Pulido *et al.*, 2005; Gerba *et al.*, 2009). Otra alternativa es que debido al uso inapropiado de las instalaciones de almacenamiento, exista una re-contaminación por fuentes externas.

Los EF son considerados ser más específicos del intestino del humano, se ha tomado en cuenta que tienen ventajas para ser indicador de contaminación fecal en agua sobre las CF y totales, debido a que rara vez se multiplican en el agua, son más resistentes al estrés ambiental y a la cloración, además persisten más tiempo en el ambiente, por lo que han sido sugeridos como indicadores del riesgo de gastroenteritis, así como para determinar la presencia de virus entéricos (Gerba *et al.*, 2009).

Existe relación entre colifagos y los protozoarios en las muestras de agua de reúso; relación que no fue encontrada en ninguno de los otros tipos de agua, la relación puede consistir en que algunos colifagos son resistentes a los procesos de desinfección (Arcos Pulido *et al.*, 2005) como los (oo)quistes de los protozoarios, que tienden a ser más resistentes a los químicos utilizados en los procesos de desinfección que las bacterias entéricas y los virus (Solarte *et al.*, 2006).

La incidencia de microorganismos en el agua residual tratada, analizada en este trabajo muestra la importancia de realizar monitoreos de calidad del agua que permitan evaluar la capacidad de remoción y teniendo como meta los límites establecidos en la normatividad vigente.

Ambos parásitos han demostrado su eficiencia como indicadores complementarios de calidad de agua, ya que las CF consideradas bacterias indicadoras en las Normas Oficiales Mexicanas, presentan limitaciones al no proporcionar información suficiente para tener mejor calidad del agua. Esto se observa claramente en la presencia de los quistes y ooquistes en agua previamente sometida a un proceso de tratamiento, como es el caso del agua residual tratada tomada de la salida de la PTAR de Ciencias Políticas y el agua de reúso obtenida de las cisternas.

C. parvum y *G. lamblia* están presentes en tres tipos de agua de los cuatro estudiados, salvo la subterránea, están presentes cuando otros patógenos entéricos lo están (Hurst *et al.*, 1996), se ha reportado que persisten en el ambiente por varios meses (Keeley *et al.*, 2007; Gerga *et al.*, 2009) pero no se multiplican, son fáciles de identificar; sin embargo, el método es costoso y no es tan rápido como el de bacterias, su densidad está directamente relacionada con la contaminación fecal y debido a su distribución a nivel mundial, se encuentra en la flora intestinal de un gran porcentaje de organismos, sin embargo, al ser patógenos los hace buenos candidatos para ser índices de sí mismos o de otros patógenos según las definiciones de Ashbolt *et al.* (2001).

Con base en la evidencia epidemiológica los niveles de quistes de *Giardia* que persisten en el agua después de los procesos de filtración no son capaces de causar infecciones (Solarte *et al.*, 2006), por lo que se deja abierta la posibilidad de realizar análisis de viabilidad, que permitan conocer esta condición en los tipos de agua de CU. Por otro lado, el estado de quiste de estos organismos es relativamente resistente a la inactivación por medio de los sistemas convencionales de tratamiento de agua residual (Arcos Pulido *et al.*, 2005), conjuntado estos análisis podría evaluarse la posibilidad de manejarlos no solo como índices, si no llevarlos más allá, permitiendo evaluar mejor la calidad del agua por medio de estos protozoarios

Harwood y colaboradores (2005), realizaron un análisis para la validación de organismos indicadores, donde se hace un trabajo analítico para conocer las limitaciones de los indicadores; utilizando las siguientes categorías: verdadero-positivo (indicador y patógeno presentes), falso-positivo (indicador presente, patógeno no), verdadero-negativo (ninguno presente) y falso-negativo (patógeno presente pero indicador no).

En los resultados de este estudio se detectaron casos de falsos-negativos en las muestras analizadas de agua residual tratada y agua residual tratada de reúso lo cual podría representar un riesgo para las personas expuestas de acuerdo con lo que plantea Cizek y colaboradores (2008). También se presentaron tres casos de falsos-positivos en muestras de agua subterránea con la presencia de EF y BF, pero no de patógenos,

En el trabajo de Harwood y colaboradores (2005), plantea la poca utilidad de medir un solo organismo indicador para evaluar la calidad del agua, ya que la salud pública no estaría adecuadamente protegida por los sistemas de monitoreo o control, sobre todo con los límites de detección empleados actualmente. El monitoreo de distintos organismos indicadores en los efluentes permitiría ampliar la probabilidad de identificar la presencia de patógenos, sugiriendo que son necesarios estos análisis para proteger la salud pública (Harwood, *et al.* 2005).

Se sabe que los ooquistes tienen mayor capacidad de sobrevivir por varios meses en agua en comparación con los indicadores fecales como CF, EF y BF los cuales mueren o se inactivan más rápido que los protozoarios (Horman *et al.*, 2004). Ningún indicador presenta una alta predicción para la presencia y ausencia de los patógenos (Harwood *et al.*, 2005). Ante la problemática, la USEPA (1998) ha declarado lo siguiente: “Entramos en una nueva era del tratamiento del agua donde a pesar de cumplir o exceder las normas de calidad existentes, aún nos confrontamos por eventos de esta naturaleza. Hasta ahora nos damos cuenta de los desafíos que debe afrontar la industria del agua para efectuar una industria

efectiva que evite el riesgo”. Por tanto, es importante considerar a otros organismos que permitan contribuir con la información que eviten el riesgo que actualmente se está presentando, el objetivo de este trabajo es que un grupo de los microorganismos a considerar para conseguir esta efectividad en el tratamiento del agua, puedan ser *G. lamblia* y *C. parvum*.

El hallazgo de estos protozoarios en las redes de almacenamiento para agua de reúso representan un alto riesgo para la salud, debido a que los ooquistes de *Cryptosporidium* no les afectan los niveles de cloro utilizados en el proceso de tratamiento de desinfección de agua, además de ser mucho más resistentes que las bacterias entéricas y los virus a los productos químicos usados para desinfectar (Solarte *et al.*, 2006; Briancesco y Bonadonna, 2005), en el caso de las muestras de agua subterránea, donde también se utiliza el cloro como método de desinfección, las muestras fueron negativas a la presencia de los protozoarios.

La detección y eliminación de *C. parvum* y *G. lamblia* pueden ayudar a prevenir y a erradicar otras epidemias así como, brotes transmitidos a través del agua ya que ambos protozoarios presentan características similares a las de otros protozoarios patógenos como *Entamoeba histolytica*, *Acanthamoeba* spp., *Blastocystis hominis*, *Microsporidia*, *Isospora*, *Sarcocystis* spp., *Naegleria* spp., entre otros, la detección y eliminación (Karanis *et al.*, 2007), esta similitud los hace candidato ideales para ser índices según las definiciones de Ashbolt *et al.* (2001).

Por las estas razones expuestas, es evidente que las necesidades para mantener la salud pública en lo referente a la calidad del agua, sobrepasan los supuestos sobre los cuales se basan los tratamientos de agua para lograr un uso seguro de la misma, por lo que en este estudio se enfatiza la necesidad de buscar alternativas que den solución a la problemática. Proponiendo así a *C. parvum* y *G. lamblia* como herramientas cuyo monitoreo en agua puede contribuir a reducir la inseguridad asociada con la calidad del agua, pretendiendo ampliar la visión actual.

Dentro del campus de Ciudad Universitaria es utilizada la cloración como método de desinfección del agua, la cual no se lleva a cabo en forma adecuada, además de que no es suficiente para la eliminación de los protozoarios en las concentraciones comúnmente utilizadas como lo comprueba Alonso *et al.*, 2004; Solarte *et al.*, 2006; Briancesco y Bonadonna, 2005. Por lo que se hacen las siguientes recomendaciones, que el tratamiento de cloración debe ejercerse de manera adecuada y constante para evitar la re-contaminación o re-crecimiento de bacterias. Por otro lado, para el tratamiento de remoción de partículas se recomienda la filtración lenta en arena que tiene una gran capacidad de retirar los (oo)quistes (Alonso *et al.*, 2004; Solarte *et al.*, 2006).

9. Conclusiones.

- ◆ Tanto el agua residual y residual tratada, analizadas durante este estudio, no cumplieron con los parámetros establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas, por lo que la calidad del agua residual tratada no es adecuada para su reúso.
- ◆ No se detectó la presencia de parásitos en agua subterránea. Aunque eventualmente fueron detectados enterococos fecales y colifagos antes de la desinfección (cloración), sugiriendo realizar estudios para identificar y controlar la fuente de origen de dicha contaminación.
- ◆ El tratamiento de agua residual mostró una remoción de los microorganismos estudiados insuficiente para cumplir con la normatividad vigente sobre agua residual tratada para reúso. La remoción de microorganismos no considerados en la NOM-003-SEMARNAT-1997, también fue insuficiente al detectarse cantidades mayores a las dosis infecciosas.
- ◆ La mayor frecuencia de microorganismos analizados en agua residual, residual tratada y residual tratada de reúso se manifestó en la temporada CS, sugiriendo que esto pueda estar relacionado con el fenómeno de dilución que se manifiesta durante la temporada CL a causa del volumen de agua que entra por el sistema de alcantarillado. Es importante mencionar que la determinación de los parámetros físico-químicos permitió observar que al estar elevados los valores de SDT y conductividad coincidían con la presencia de las bacterias CF, EF y colifagos.
- ◆ No se encontró relación entre las CF con ninguno de los protozoarios estudiados, así como tampoco se relacionaron significativamente con algún parámetro físico-químico, señalando que al ser eliminados estos indicadores no significa que se elimine el patógeno que no estén presentes cuando los indicadores tradicionales no lo estén. Motivo por el

cual son propuestos como buenos índices, complementando la información que las bacterias indicadoras no proporcionan.

- ◆ *G. lamblia* fue más frecuente que *C. parvum* en los diferentes tipos de agua y temporadas. Según los datos obtenidos en el coeficiente de correlación lineal de Pearson estos parásitos se encuentran estrechamente relacionados en todos los tipos de agua. Las cargas parasitarias encontradas después del tratamiento de agua residual continuaron siendo altas tomando como referencia las DI_{50} de cada protozoario.
- ◆ Las frecuencias de los (oo)quistes son elevadas en agua residual, residual tratada y residual tratada para reúso, lo que podría representar un riesgo para la salud pública. Es posible que los (oo)quistes dejen de ser infecciosos después de haber pasado por tratamiento, sin embargo para saber esto, se requieren de análisis de viabilidad.
- ◆ Los parásitos protozoarios son indicadores adecuados para evaluar la calidad de agua, brindando información complementaria a la de los indicadores que contemplan las normas mexicanas. Cumplen con algunos de los criterios para considerarlos indicadores, sin embargo son patógenos, por lo que se considera más adecuado apoyar la propuesta de utilizarlos como índices de calidad del agua para determinar la presencia de otros patógenos o de sí mismos.
- ◆ En comparación con las bacterias indicadoras tradicionales, *G. lamblia* y *C. parvum* si estuvieron presentes en las muestras de agua residual tratada y residual tratada de reúso, por lo que se manifiesta mayor resistencia de los protozoarios a los tratamientos a los que es sometida el agua residual por medio de las PTAR.

- ◆ El aporte de este trabajo se enfoca en la utilidad de los quistes de *G. lamblia* y ooquistes de *C. parvum* para complementar la información sobre la presencia de los protozoarios patógenos presentes en diferentes tipos de agua, ya que presentan características similares. Además su detección contribuiría a la evaluación de la eficacia de los tratamientos de agua, así como también para ampliar la información de calidad del agua para uso y consumo humano. Por otro lado integrarlos como parámetro de calidad del agua constituye una herramienta para la prevención y manejo de riesgos para la salud pública.

Referencias.

- Almeida, A. J., F. C. R. Oliviera, V. M. Q. Flores y C. W. G. Lopes. 2010. Risk factors associated with the occurrence of *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *Arq. Brasil Medical Veterinary Zootecniche* 62(6): 1325-1330.
- Arcos, M. P., S.L. Ávila de Navia, S. M. Estupiñán A.C. Gómez. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *NOVA- Publicación científica*. 3(4): 69-78
- Alonso, E., Santos, A. y P. Riesco 2004. Micro-organism Re-growth in Wastewater Disinfected by UV radiaton and Ozone: a micro-biological study. *Environmental Technology* 25: 433-441.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association and Water Environment Federation. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st Centennial Ed. pp. 10-63.
- Ashbolt, N. J., Grabow, O. K., y M. Snozzi. 2001. Indicators of microbial water quality. *Water Quality: Guidelines, Standards and Health*. IWA Publishing. Londres. pp. 259-315.
- Alcaraz, S. M. J. 2005. *Giardia y Giardiasis*. Control de Calidad, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Doctor Peset Aleixandre. Valencia, España. pp.1-9.
- Baldursson, S., Karanis, P. 2011. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks An update 2004-2010. *Water Research* 45: 6603-6614.

- Betancourt, W. Q.; Querales, L. J. 2008. Parásitos protozoarios entéricos en ambientes acuáticos: métodos de concentración y detección. *Interciencia*. 33(6): 418-423.
- Briancesco R. y L. Bonadonna. 2005. An Italian Study on *Cryptosporidium* and *Giardia* in Wastewater, Freshwater and Treated Water. *Environmental Monitoring and Assessment*. 104: 445–457.
- Carey, C.M., H. Lee, J. T. Trevors. 2004. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research* 38(4): 818-862.
- Cizek, A. R., G. W. Characklis, L. A. Krometis, J. A. Hayes, O. D. Simmons III, S. D. Lonardo, K. A. Alderisio, M. D. Sobsey. 2008. Comparing the partitioning behavior of *Giardia* and *Cryptosporidium* with that of indicator organisms in stormwater runoff. *Water Research* 42: 4421-4438.
- Cheng, T. 1980. *Parasitología General*. Editorial A.C. Madrid, España. 2ª ed. pp.
- Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE). Boletín Epidemiología. Semana 20 2003. 20:20.
http:// www.dgepi.salud.gob.mx/boletin/2003/sem20/index.htm
- Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE). Boletín Epidemiología. Semana 2009-2010
http:// www.dgepi.salud.gob.mx/boletin/2010/sem65/index.htm

- Cotton, J. A. J. K. Beatty, A. G. Buret. 2011. Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. *International Journal for Parasitology*. 41: 925-933.
- Diario Oficial de la Federación. 2000. Modificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua para Uso y Consumo Humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. México, D.F., Publicado el 20 de octubre de 2000.
- Diario Oficial de la Federación. 1998. Modificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997. Límites permisibles de contaminación para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios públicos. México, D.F., Publicado el 21 de septiembre de 1998.
- Dirección General de Planeación-UNAM. Portal Estadístico Universitario (PEU). (2011). <http://www.estadistica.unam.mx>
- Erlandsen, S. L. y W. J. Bemrich y C.L. Wells. 1990. Axenic cultura and characterization of *Giardia ardea* from the great blue heron. *Journal of Parasitology* 76: 717-724.
- Escalante, V., L. Cardoso, E. Ramírez, G. Mantilla, J. Montecillos, C. Servín, F. Villavicencio. 2003. El reúso del agua residual tratada en México. Seminario Internacional sobre métodos naturales para el tratamiento de aguas residuales. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Espinosa, A. C. y M. Mazari. 2008. Solar Radiation and Enteric Virus Presence in Irrigation Water. 13th ICID (International Society for Infectious Diseases) -Kuala Lumpur, Malaysia- June 19-22. Sesión: Public Health and Prevention.

- Estación Meteorológica CCH-Sur. PEMBU-CCA-UNAM. 2011. http://pembu.atmosfcu.unam.mx/cchs/datos/actual_plantel.php.
- Fayer, R. 2009. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology* 124 (1): 90-97.
- Feng, Y. 2010. *Cryptosporidium* in wild placental mammals. *Experimental Parasitology* 124(1): 128-137.
- Frédéric, T.; Francois, R.; Jean-Francois, G. 2005. *Parasitism and Ecosystems*. Oxford University Press. Nueva York.
- Gerba, C.P. 2009. Indicator Microorganisms En: *Environmental Microbiology*, Maier, R. M., I.L. Pepper y C. P. Gerba. Ed. Elsevier Academic Press. China: 485-496.
- Gerba, C.P., I. Pepper y R. Maier. 2009. *Environmental Microbiology*, segunda Edición. Ed. Elsevier Academic Press. China. Capítulo 25. Drinking water treatment: 531-538.
- Gerba, C.P., I. Pepper y R. Maier. 2009. *Environmental Microbiology*, segunda Edición. Ed. Elsevier Academic Press. China. Capitulo 26. Desinfection: 540-551.
- Graczyk, T. 2000. Environmental and Geographical Factors Contributing to Watershed Contamination with *Cryptosporidium parvum* oocyst. *Environmental Research* 82(3): 263-271

- Graczyk, Z., L. Chomicz, M. Kozłowska, Z. Kazimierczuk y T. K. Graczyk 2011. Novel and promising compounds to treat *Cryptosporidium parvum* infections. *Parasitology Research* 109(3): 591-594
- HACH. 2002. Water Analysis Handbook. 4a. Ed. HACH COMPANY. Loveland, Colorado: 1260.
- Harwood V., Levine A., T. Scott., V. Chivukula, J. Lukasik, S R. Farrah y J. B. Rose 2005. Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(6): 3163-3170.
- Hormanm, A., Korpela, H., J. Sutinen, H. Wedel, M. L. Hanninen. 2004. Meta-analysis in assessment of the prevalence and annual incidence of *Giardia* spp. And *Cryptosporidium* spp. Infections in humans in the Nordic Countries. *International Journal for Parasitology* 34: 1337-1346.
- Hurst C. J., Clark R. M., S.E. Regli. 1996. Part 2 Preventing disease transmission by water and food. Estimating the risk of acquiring infections disease from ingestion water. Cambridge: Cambridge University Press: 408-422.
- Jenkins, M. C., C. O'Brien, Miska, K., Schwarz R. S., Karns, J., Santin M., Fayer R. 2011. Gene expression during excystation of *Cryptosporidium parvum* oocyst. *Parasitology Research* 109(2):509-513.
- Jiménez C.B.E. 2001. La contaminación Ambiental en México, causas, efectos y tecnologías apropiadas. Colegio de Ingenieros Ambientales de México; Instituto de Ingeniería UNAM, ed. LIMUSA, México. 34:108-110.

- Kar, S., A. Dauschies, A. Cakmak, N. Yilmazer, K. Dittmar y B. Bangoura. 2011. *Cryptosporidium parvum* oocyst viability and behavior of the residual body during the excystation process. *Parasitology Research* 109(6): 1719-1723.
- Karanis, P., Kourenti, C., H. Smith. 2007. Waterborne Transmission of protozoan parasites: a worldwilde review of outbreaks and lessons learnt. *Journal of Water and Health* 5, 1-38.
- Keeley Ann; R Faulkner, Barton. 2007. "Influence of land use and watershed characteristics on protozoa contamination in a potential drinking water resources reservoir."ScienceDirect. *Water Research* 42:2803-2813
- King, B.J., A. R. Keegan, P. T. Monis y C. P. Saint. 2005. Environmental Temperature Controls *Cryptosporidium* oocyst Metabolic Rate and Associated Retention of Infectivity. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(7): 3848-3857.
- Kulda J., E. Nohynkova. 1996. *Giardia* in humans and animals. Ed. Kreier JP. *Parasitic Protozoa*. Segunda Edición. San Diego. 10: 225-242.
- Kucik C. J., G. L. Martin, B. V. Sortor 2004. Common intestinal parasites. *American Family Physician*, Florida, E. U. A; 69(5): 1161-1168
- Lima, A. J.; Mazari, M. 2006. Evaluación bacteriológica de la calidad del agua en el Río Lerma. Instituto de Ecología. UNAM
- LeChevallier, M., Norton, C., R. Lou. 1991. Ocurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. In surface water supplies. *Applied and Environmental Microbiology*. 57: 2610-2616.

- Lujan, N. Z., G. Garbossa. 2008. *Cryptosporidium: after a hundred years*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana 42(2): 195-201
- Marshall, M. M.; Naumovitz, D.; Ortega, Y.; Charles, R. S. 1997 Waterborne Protozoan Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 10, N°1. 67-85.
- Muñoz V., Reyes H., Astorga B., Rugiero., E. del Rio S. Toche P. 1993. Amibas de vida libre en habitats de aguas dulces de Chile. *Parasitological Day*; 17: 147-152.
- Nuñez F. F. 2007. *Giardia lamblia*. Microbiología y Parasitología Médica. PP.31-38.
- Polaczyk, A. L., J. Narayanan, T. L. Cromeans, D. Hahn, J. M. Roberts, J. M. Roberts, J. E. Amburgey, V. R. Hill. 2008. Ultrafiltration-based techniques for rapid and simultaneous concentration of multiple microbe classes from 100-L tap water samples. *Journal of Microbiological Methods*, 73: 92-99
- Pumagua: Programa de manejo, uso y reúso del agua en la UNAM. Pumagua avances 2009. Instituto de Ingeniería, UNAM. <http://www.pumagua.unam.mx/> , diciembre 2010.
- 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. México D.F.
- Rider, S. D. y G. Zhu. 2010. *Cryptosporidium*: Genomic and Biochemical features. *Experimental Parasitology* 124(1): 2-9.

- Romero C. 1993. *Giardia lamblia*. *Parasitología Médica*. Pp.28-36.
- Savioli L., H. Smith y A. Thomson, 2006. *Giardia* and *Cryptosporidium* Join the “Neglected Diseases Initiative”. *Trends in Parasitology* (22) 203-208.
- Sardin, T.R., S.E. Dowd. 2009. *Environmental Microbiology*. Segunda edición. Ed. Elsevier. China. Capítulo 6 Aquatic Environments: 103-119.
- Secretaria de Salud, Dirección General de Epidemiología. 2003. <http://www.dgepi.salud.gob.mx/boletin/boletin.htm>
- Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México. REDMET- Red Meteorológica y REDDA. (2004-2010). México. <http://www.sma.df.gob.mx/simat2/informaciontecnica/index.php?opcion=1&opcionsimat=7>
- Smith, H. V. and R. A. B. Nichols. 2010. *Cryptosporidium*: Detection in water and food. *Experimental Parasitology* 124(1): 61-79.
- Smith, H. V., R. A.B. Nichols. 2005. *Cryptosporidium* excystation and invasion: getting the guts of the matter. *Trends in Parasitology* 21(3): 133-142.
- Smith, H. V. y T. Paget. 2007. *Foodborne Diseases*. Ed. Humana Press. Totowa, NJ. Capítulo 11. *Giardia*: 303-336.
- Solarte, Y.; Peña, M.; Madera, C. 2006 Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colombia Médica*. Vol.37 N°1. 74-82

- Tapia-Palacios, C. 2011. Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en agua del río Cuitzmala, Jalisco. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Tay. 1993. *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium parvum*. Microbiología y Parasitología Médica. Pp 32-48.
- World Health Organization. 2003. Emerging Issues in Water and Infectious Disease. WHO press. Francia.
- World Health Organization 2003. Guidelines from Drinking- Water quality. (2001).
http://www.who.int/water_sanitation_health/qdwq3rev/en/index.html