



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DETECCIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* Y  
*SALMONELLA* SP. EN AGUA DE LLUVIA CAPTADA  
EN LA ZONA SUR DE LA CIUDAD DE MÉXICO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G A**

**P R E S E N T A:**

**LAURA JAZMÍN LOBACO SALAS**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. ANA CECILIA ESPINOSA GARCÍA**

**Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

1. Datos del alumno.  
Lobaco  
Salas  
Laura Jazmín  
5545316695  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
309195603
2. Datos del tutor.  
Dra.  
Ana Cecilia  
Espinosa  
García
3. Datos del sinodal 1  
Dr.  
Rodolfo Omar  
Arellano  
Aguilar
4. Datos del sinodal 2  
M. en C.  
Rosa  
Solano  
Ortíz
5. Datos del sinodal 3  
M. en I.  
Jesús Hiram  
García  
Velázquez
6. Datos del sinodal 4  
M. en C.  
María del Jazmín  
Aguilar  
Medina
7. Datos del trabajo escrito.  
“Detección de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en agua de lluvia captada en la zona sur de la Ciudad de México”  
86 p.  
2019

## AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A mi tutora, la Dra. Ana Cecilia Espinosa García del Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad del Instituto de Ecología, UNAM por haberme guiado y apoyado incondicionalmente en la realización de este trabajo.

Al jurado calificador, por revisar este manuscrito y enriquecerlo con sus valiosos comentarios.

Al M. en C. Marco Antonio Tapia Palacios y a la M. en C. Rosa Solano Ortiz, por su apoyo en el trabajo de campo, en el procesamiento de las muestras y por sus valiosos comentarios y consejos para la realización de este trabajo.

A la M. en C. Nallely Vázquez Salvador, por sus enseñanzas sobre técnicas moleculares y por su apoyo en la elaboración del gráfico estadístico y del mapa presentados en este escrito.

Al Biól. Miguel Atl Silva Magaña, por sus enseñanzas sobre los métodos de extracción de DNA y por proporcionarme valiosa información para el procesamiento de las muestras.

A la Técnica Académica Blanca Estela Hernández Bautista, por su apoyo en el trabajo de laboratorio.

A Isla Urbana, por el apoyo y las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

A la Dra. Marisa Mazari Hiriart, por las facilidades otorgadas para trabajar en el Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad del Instituto de Ecología, UNAM.

A la M. en C. Leticia Martínez Romero del Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM por proporcionarme las cepas utilizadas como controles positivos.

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Gracias mamá porque con tu ejemplo me has enseñado que la dedicación y la constancia me permitirán lograr todo lo que me proponga, un ejemplo es este trabajo. Gracias por todos tus consejos, por haberme levantado todas las veces que me caí, por tu paciencia y sobre todo por confiar incondicionalmente en mí.

Gracias hermana por haber estado ahí cuando más te necesite, por brindarme un hombro donde desahogarme cuando creía que no lo lograría, por escucharme cuando necesitaba decir algo, por tus consejos, por tu paciencia, por tus regaños y pero sobre todo por hacerme saber que sí podía.

Gracias sobrinitos, por su paciencia, por su amor incondicional, por escucharme cuando necesitaba quejarme de algo, porque a su corta edad me dieron consejos que cualquier adulto podría dar, pero con la sencillez de las palabras que sólo los niños conocen.

Gracias esposo mío, por haber estado a mi lado incondicionalmente en este proceso, por darme ánimos siempre que lo necesite, por tus desvelos a mi lado, por impulsarme a terminar cuando sentía que no podía más, por convencerme de que soy capaz, gracias por hacerme reír cuando el estrés me consumía, gracias por ser mi refugio.

Gracias hermano, por creer en mí, por escucharme, por tus consejos, por todo tu apoyo y por haber estado siempre que te necesité.

Gracias a mis compañeros de laboratorio Karla, Toño y Rosa por su apoyo incondicional, por su compañía, pero sobre todo por lo que con su ejemplo enseñan sin querer.

Gracias a mí, por el esfuerzo realizado durante todo el tiempo que me tomó terminar esta etapa de mi vida.

## DEDICATORIA

A ti mamá,  
Porque todo esto te lo debo a ti,  
Gracias.

## ÍNDICE GENERAL

Índice de tablas .....	iii
Índice de figuras .....	iv
Glosario .....	v
Resumen .....	vi
1. Marco teórico .....	1
1.1. Estrés hídrico en las megaciudades .....	1
1.2. Captación de agua de lluvia .....	5
1.3. Calidad microbiológica del agua de lluvia .....	9
1.3.1. <i>Salmonella</i> sp. ....	13
1.3.2. <i>Escherichia coli</i> .....	14
1.3.2.1. <i>E. coli</i> enterotoxigénica .....	15
1.3.2.2. <i>E. coli</i> enteropatógena .....	16
1.3.2.3. <i>E. coli</i> enterohemorrágica .....	17
1.3.2.4. <i>E. coli</i> enteroagregativa .....	18
2. Antecedentes .....	19
2.1. El agua en la Ciudad de México .....	19
2.2. Captación de agua de lluvia en la Ciudad de México .....	22
3. Objetivos .....	27
3.1. Objetivo general .....	27
3.2. Objetivos particulares .....	27
4. Métodos .....	27
4.1. Trabajo de campo .....	27
4.2. Trabajo experimental .....	31
4.2.1. Cultivo .....	31
4.2.2. Extracción de DNA .....	31
4.2.3. PCR .....	33
4.2.3.1. Identificación de <i>Salmonella</i> sp. ....	33
4.2.3.1.1. Controles internos .....	34
4.2.3.1.2. Descripción de colonias .....	35
4.2.3.2. Confirmación de <i>E. coli</i> .....	35

4.2.3.3. Identificación de patotipos de <i>E. coli</i> .....	36
4.3. Análisis estadístico.....	38
5. Resultados .....	38
5.1. Presencia y abundancia de microorganismos en agua de lluvia.....	38
5.2. Identificación de microorganismos de interés mediante PCR .....	43
5.2.1. Detección de <i>Salmonella</i> sp.....	44
5.2.2. Detección de patotipos de <i>Escherichia coli</i> .....	46
5.2.2.1. Confirmación de <i>E. coli</i> .....	46
5.2.2.2. PCR múltiple para detección de patotipos.....	47
5.3. Hábitos de manejo de los sistemas de captación de agua de lluvia .....	51
6. Discusión.....	59
7. Conclusiones.....	70
8. Perspectivas.....	72
9. Referencias .....	74
10. Anexos .....	80
10.1. Cuestionario aplicado en campo.....	80
10.2. Métodos de extracción de DNA .....	82
10.3. Controles internos para la detección de <i>Salmonella</i> sp. ....	83
10.4. Caracterización de colonias de <i>Salmonella</i> sp.....	84
10.5. Confirmación de <i>Escherichia coli</i> mediante PCR.....	85
10.6. Puntaje de riesgo de inspección sanitaria.....	86

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Megaciudades más representativas del mundo. ....	2
Tabla 2 Microorganismos que han sido detectados en agua de lluvia. ....	12
Tabla 3 Principales características de los patotipos diarreagénicos de <i>E. coli</i> . ....	16
Tabla 4 Elementos que integran el sistema de captación de agua de lluvia y su función. ....	30
Tabla 5 Especificaciones para el cultivo y detección de microorganismos en agua de lluvia. ....	31
Tabla 6 Especificaciones para la detección de <i>Salmonella</i> sp. y <i>E. coli</i> mediante PCR. ....	33
Tabla 7 Especificaciones para la detección de patotipos diarreagénicos de <i>E. coli</i> mediante PCR múltiple. ....	37
Tabla 8 Cebadores utilizados en la identificación de los microorganismos de interés. ....	37
Tabla 9 Presencia de microorganismos de interés en agua de lluvia. ....	40
Tabla 10 Resultados del análisis microbiológico de muestras de agua de lluvia. .	41
Tabla 11 Coeficientes de correlación de Spearman en cisterna y punto de uso. ...	43
Tabla 12 Elementos del sistema de captación de agua de lluvia que fueron modificados .....	53
Tabla 13 Duración del agua captada una vez que termina la temporada de lluvias. ....	53
Tabla 14 Hábitos de higiene de los usuarios respecto a los elementos del sistema. ....	56
Tabla 15 Características de los usuarios y sus hábitos de higiene sobre el sistema. ....	57
Tabla 16 Usos del agua de lluvia captada. ....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mapa de la escasez de agua a nivel mundial.....	3
Figura 2 Sistema de captación de agua de lluvia para uso doméstico.....	6
Figura 3 Principales factores de virulencia de los patotipos diarreagénicos de <i>E. coli</i> . ....	19
Figura 4 Población de la Ciudad de México sin acceso a agua entubada.. ..	20
Figura 5 Mortalidad a causa de enfermedades diarreagénicas en niños <5 años a nivel mundial.. ..	25
Figura 6 Mapa de sitios de muestreo en las alcaldías Tlalpan y Xochimilco.....	28
Figura 7 Sistema residencial para la captación de agua de lluvia.....	29
Figura 8 Coliformes fecales detectados en agua de lluvia de la Ciudad de México.....	39
Figura 9 <i>Escherichia coli</i> detectada en muestras de agua de lluvia de la Ciudad de México. ....	39
Figura 10 Presuntas <i>Salmonella</i> sp. detectadas en muestras de agua de lluvia de la Ciudad de México. ....	40
Figura 11 Abundancia de CF, <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> sp. en la cisterna y el punto de uso....	42
Figura 12 Resultados del procesamiento mediante PCR de presuntas <i>Salmonella</i> sp .....	45
Figura 13 Prueba de especificidad de cebadores para las cepas control de los patotipos de <i>E. coli</i> .....	47
Figura 14 PCR múltiple para las cepas control de los patotipos de <i>E. coli</i> . ....	48
Figura 15 Resultados del procesamiento de muestras mediante PCR múltiple.....	50
Figura 16 Resultados de la segunda etapa del procesamiento de muestras mediante PCR múltiple para la diferenciación entre EPEC y EHEC.. ..	51
Figura 17 Sistema de captación de agua de lluvia observado en campo.. ..	52
Figura 18 Tipo de material del área de captación (techo). ....	54
Figura 19 Métodos de limpieza del techo antes de la temporada de lluvia. ....	55

## GLOSARIO

AAF	Factores de Adherencia Agregativa
CF	Coliformes fecales
CRL	Cloro Residual Libre
DEC	<i>E. coli</i> diarreagénica
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigénica
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogénica
EHEC	<i>E. coli</i> enterohemorrágica
EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
LEE	Locus de Esfacelamiento de Enterocitos
LT	Enterotoxina inestable al calor
pAA	Plásmido de Adherencia Agregativa
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
ST	Enterotoxina estable al calor
Stx	Toxina Shiga
UFC	Unidades Formadoras de Colonias

## RESUMEN

La captación de agua de lluvia es una técnica antigua que actualmente está siendo implementada por muchas megaciudades como una alternativa para satisfacer su creciente demanda de agua y reducir su situación de estrés hídrico. En la megaciudad de la Ciudad de México, donde no todas las personas tienen acceso igualitario ni eficiente del agua, la captación de agua de lluvia se está impulsando como una medida para disminuir el problema de escasez, sin embargo, es necesario conocer la calidad microbiológica del agua obtenida para disminuir los riesgos asociados a la salud por el uso de ésta. En este trabajo se tomaron muestras del agua de 52 casas localizadas en la zona sur de la Ciudad de México en las delegaciones Tlalpan y Xochimilco donde se tiene instalado un sistema de captación de agua de lluvia del tipo Tlaloque. Las muestras se analizaron mediante el método de filtración por membrana para detectar la presencia de coliformes fecales (CF), *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Salmonella* sp. en dos puntos de muestreo: la cisterna y el punto de uso. Dado que el uso de indicadores microbiológicos puede subestimar el grado de contaminación, así como el riesgo asociado al uso del agua, es necesario considerar la detección de patógenos como patotipos de *E. coli* y *Salmonella* sp., las cuales se encuentran dentro del grupo de las principales bacterias causantes de enfermedades gastrointestinales en México, por ello, en este trabajo se realizaron pruebas para detectar la presencia de los mismos mediante PCR. El análisis de las muestras por el método de filtración por membrana indicó la presencia de CF, *E. coli* y *Salmonella* sp. en ambos puntos de muestreo, siendo mayor el número de casos positivos en la cisterna, además se observó una disminución en la concentración de microorganismos de la cisterna al punto de uso. Una prueba de correlación de Spearman indicó que en ambos puntos de muestreo existe una fuerte correlación entre la presencia del indicador CF y *E. coli*. Por otro lado, del análisis por PCR se obtuvo que para *Salmonella* sp. ninguna muestra fue positiva, una muestra fue positiva para *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) y cuatro fueron positivas para *E. coli* enteropatógena (EPEC). Los resultados indican que en el agua de lluvia pueden estar presentes tanto CF como *Escherichia coli*, ambos indicadores de contaminación fecal, así como los patotipos ETEC y EPEC en algunas de las casas, sin embargo, el agua de lluvia captada por el sistema no pretende ser utilizada para consumo humano. Los datos presentados en este trabajo ofrecen elementos que permitirán mejorar las condiciones del sistema de captación, así como su manejo a fin de reducir el riesgo de exposición a los microorganismos detectados.

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. ESTRÉS HÍDRICO EN LAS MEGACIUDADES

Actualmente más del 50 % de la población mundial vive en áreas urbanas (Petit *et al.*, 2018) y se espera que para el 2050 este porcentaje aumente al 68 % (WWAP, 2016) debido principalmente a la migración desde zonas rurales hacia los grandes centros urbanos (Aureli *et al.*, 2016).

Cuando las grandes ciudades alcanzan una población mayor a los 10 millones de habitantes se les conoce como megaciudades. En la Tabla 1, se puede observar una lista de las megaciudades más representativas en el mundo, seis de ellas se encuentran en la región de América Latina y el Caribe: la Ciudad de México, Buenos Aires, Sao Paulo, Río de Janeiro, Lima y Bogotá (Tortajada, 2008; Aureli *et al.*, 2016).

El proceso de urbanización, generalmente desorganizado, con asentamientos legales e ilegales y sin consideración del ambiente (Tortajada, 2008; Aguilar, 2016) conlleva un cambio en el estilo de vida que se expresa en una mayor producción y consumo de bienes y servicios para satisfacer las crecientes demandas de su población. Lo anterior ocasiona que todas las megaciudades compartan retos como: suministro de transporte, vivienda, alimento, así como energía y servicios de salud (Tortajada, 2008; WWAP, 2016). Otros retos a los que se enfrentan las megaciudades son la pobreza y exclusión social, delincuencia, contaminación del ambiente y vulnerabilidad a desastres naturales como es el caso de las inundaciones (Tortajada, 2008; Aguilar, 2016). De este modo, los grandes retos que enfrentan las megaciudades tocan el ámbito económico, social y ambiental y en todos ellos se encuentra involucrada el agua (Aguilar, 2016; WWAP, 2016) pues sin agua no puede haber desarrollo en las ciudades (Aladenola y Adeboye, 2010; Campisano *et al.*, 2017).

El cambio en el estilo de vida no sólo afecta los recursos hídricos de la ciudad sino también de las zonas vecinas como consecuencia del aumento de la industria

agrícola, ganadera, manufacturera y energética que responden al crecimiento urbano y al incremento de su demandas, por lo que las zonas aledañas también pueden tener una fuerte presión sobre sus recursos hídricos (Tortajada, 2008; Aladenola y Adeboye, 2010; Sánchez *et al.*, 2015; Bigas, 2012; WWAP, 2016; Bashar *et al.*, 2018; Fuentes *et al.*, 2018).

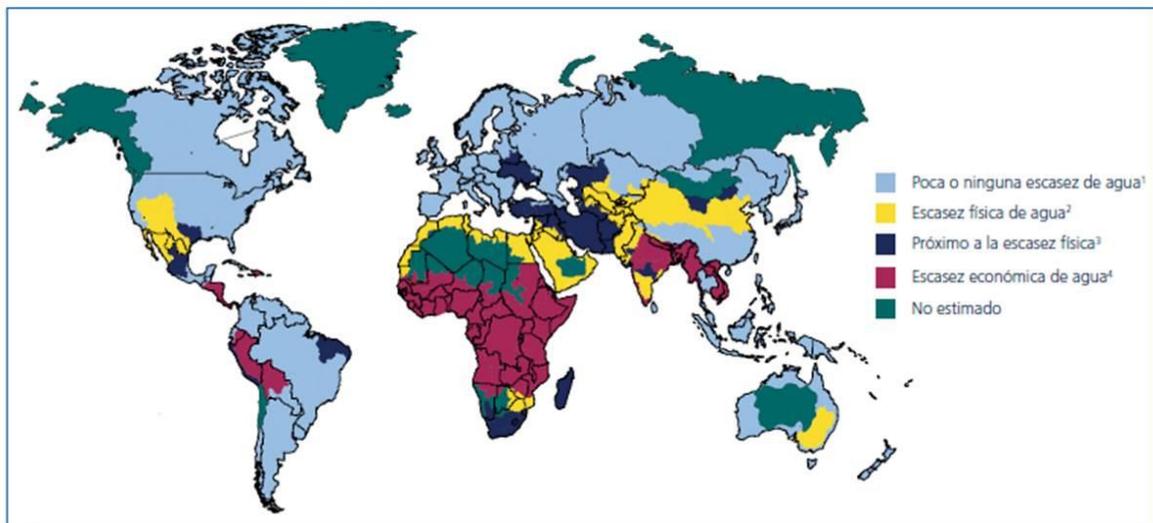
**Tabla 1 Megaciudades más representativas del mundo.**

<b>Megaciudad</b>	<b>País</b>	<b>Población (millones)</b>	<b>Escasez hídrica</b>
México	México	23.5	<sup>1</sup> Física
Buenos Aires	Argentina	14.2	<sup>1</sup> Física
Sao Paulo	Brasil	20.2	<sup>2</sup> Física
Río de Janeiro	Brasil	13	<sup>2</sup> Física
Lima	Perú	10	Económica
Bogotá	Colombia	10	<sup>2</sup> Física
Tokio	Japón	42.7	<sup>2</sup> Física
Seúl	Corea del Sur	20	Económica
Beijing	China	21.5	Física
Chicago	EUA	9.9	<sup>2</sup> Física
Nueva York	EUA	23.7	<sup>2</sup> Física
Los Ángeles	EUA	18.6	<sup>2</sup> Física
Mumbai	India	21.9	Física
Lagos	Nigeria	22.8	Económica
París	Francia	12.4	<sup>2</sup> Física
Londres	Inglaterra	13.6	<sup>2</sup> Física
Ho Chi Minh	Vietnam	19	Económica
Estambul	Turquía	14.3	<sup>1</sup> Física
Manila	Filipinas	12.7	<sup>2</sup> Física
Daca	Bangladesh	12	Económica
Yakarta	Indonesia	12	<sup>2</sup> Física
Johannesburgo	Sudáfrica	10	Física

<sup>1</sup> Próximo a la escasez física. <sup>2</sup> Poca escasez física. Tortajada, 2008; Aureli *et al.*, 2016.

La sobreexplotación de las fuentes de agua superficiales y de los mantos acuíferos (Furumai, 2008; Tortajada, 2008), la contaminación del agua fluvial con aguas residuales domésticas e industriales y la disminución del área permeable

que permita la recarga de los mantos freáticos (Aureli *et al.*, 2016) ha generado una mayor presión sobre los recursos hídricos de las megaciudades (Helmreich y Horn, 2009; Aladenola y Adeboye, 2010; Aureli *et al.*, 2016; WWAP, 2016) provocando que cubrir la demanda de agua potable de toda la población de manera equitativa se haya vuelto un desafío (Helmreich y Horn, 2009; Rojas *et al.*, 2012; Aureli *et al.*, 2016) y ocasionando que muchas de las megaciudades se encuentren en zonas con estrés hídrico o próximas a estarlo (WWAP, 2016).



Notas:

- 1 Poca o ninguna escasez de agua. Recursos hídricos abundantes en relación al uso, con menos del 25% de agua de río extraída para fines humanos.
- 2 Escasez física de agua (el desarrollo de recursos hídricos se encuentra próximo o ha excedido los límites sostenibles). Más del 75% de los caudales de ríos son extraídos para la agricultura, industria y fines domésticos (incluyendo el reciclaje y caudales de retorno). Esta definición – que relaciona la disponibilidad de agua con la demanda de agua – implica que las zonas áridas no necesariamente cuentan con escasez de agua.
- 3 Próximo a la escasez física. Más del 60% de los caudales de río son extraídos. Estas cuencas sufrirán escasez física de agua en un futuro próximo.
- 4 Escasez económica de agua (El capital humano, institucional y financiero limita el acceso al agua aun cuando el agua en la naturaleza está disponible a nivel local para satisfacer las necesidades humanas). Los recursos hídricos son abundantes en relación al uso del agua, con menos del 25% de agua extraída de ríos para fines humanos, sin embargo, aún existe desnutrición.

**Figura 1 Mapa de la escasez de agua a nivel mundial. WWAP, 2016.**

El estrés hídrico se refiere a la escasez de agua en una determinada zona, su indicador más conocido es el agua renovable per cápita al año, donde  $<1,700 \text{ m}^3$  de agua per cápita al año implican estrés hídrico regular,  $<1,000 \text{ m}^3$  indican estrés hídrico crónico y  $<500 \text{ m}^3$  escasez absoluta (WWAP, 2016). Sin embargo, el estrés hídrico no depende únicamente de la escasez física del agua, consecuencia de la sobreexplotación de las fuentes disponibles, sino también de otros factores como la escasez económica, que se refiere a la falta de infraestructura por limitaciones

financieras o técnicas y la escasez institucional, debida al incumplimiento de las instituciones de suministrar agua a toda la población.

Por ejemplo, en la megaciudad de Beijing, China la escasez de agua se ha convertido en el primer y principal obstáculo del desarrollo socio-económico pues su recurso hídrico per cápita al año es  $<200 \text{ m}^3$  lo que la posiciona como una ciudad con escasez física absoluta (Figura 1 y Tabla 1). Por otro lado, de acuerdo con la Figura 1, la megaciudad de la Ciudad de México se localiza en una zona próxima a la escasez física. Ciudades como Chicago, Los Ángeles y Nueva York (EUA), Manila (Filipinas), París (Francia), Londres (Reino Unido) y Tokio (Japón) tienen poca escasez física de agua actualmente (Figura 1) y aunque sus fuentes de abastecimiento son cada vez más limitadas, la inversión que realizan en la implementación de programas de conservación del agua así como en el mantenimiento de la infraestructura y la implementación del uso de fuentes alternas les ha permitido abastecer de agua a su población (Aureli *et al.*, 2016).

Generalmente se piensa que los habitantes de las ciudades reciben mejores servicios de agua que los que habitan las zonas rurales, sin embargo, el acceso depende de muchos factores como: la ubicación de la vivienda, la situación económica de los miembros de la familia, la segregación y/o integración social dentro de la comunidad, así como de si es factible o no realizar la conexión de una vivienda a la red de suministro y del alcance de la cobertura de abastecimiento que brinda la ciudad (Aureli *et al.*, 2016). Así, por ejemplo, en la megaciudad de Buenos Aires, Argentina, aunque la tasa de cobertura se eleva a un 100 % en la zona central, ésta es deficiente en la periferia debido a la alta tasa de pérdida de agua a causa de fugas en las redes. La falta de agua en las zonas más remotas de las megaciudades ocasiona el surgimiento de conexiones ilegales que junto con las fugas generan la pérdida del 30-40 % del agua (Tortajada, 2008).

La desigualdad en el acceso al agua dentro de una megaciudad junto con el aumento en la demanda, ha llevado a pensar en fuentes alternas para su obtención como: el uso de aguas residuales tratadas, principal fuente alternativa

en la megaciudad de Beijing, el uso de pozos de bajo rendimiento y la captación de agua de lluvia (WWAP, 2016) la cual generalmente entra en las redes y se combina con las aguas residuales domésticas, convirtiéndose en un recurso que se pierde y que requiere de un tratamiento posterior para poder ser utilizada (Aureli *et al.*, 2016).

La captación de agua de lluvia se ha propuesto como una alternativa para mitigar el problema de abasto de agua que sufren las grandes ciudades (Rojas *et al.*, 2012; Serrano, 2014) con la finalidad de que su creciente población pueda contar con una fuente de abastecimiento de este recurso para el presente y el futuro (Che-Ani *et al.*, 2009; Helmreich y Horn, 2009; Aladenola y Adeboye, 2010; Lee *et al.*, 2010).

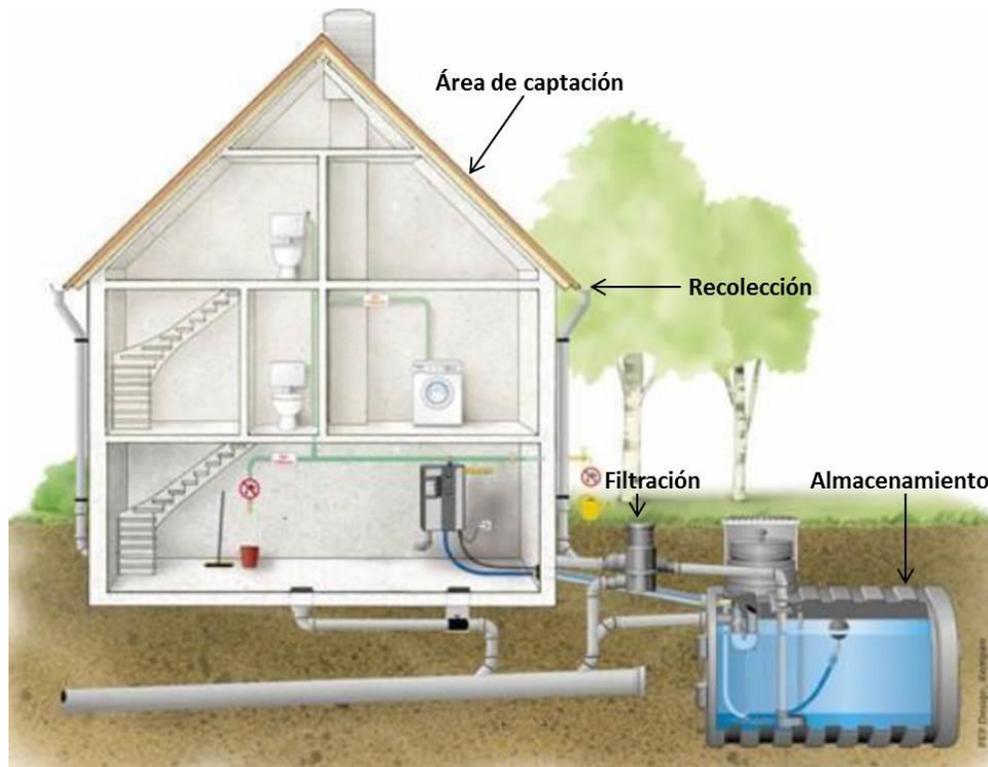
#### 1.2. CAPTACIÓN DE AGUA DE LLUVIA

La captación de agua de lluvia consiste en la recolección de agua durante la temporada de lluvia a través de una estructura de captación para su posterior almacenamiento con fines de uso doméstico, agrícola o industrial (Che-Ani *et al.*, 2009; Helmreich y Horn, 2009; De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017; Fonseca *et al.*, 2017; Fuentes *et al.*, 2018).

Esta práctica se ha utilizado desde hace miles de años y recientemente se ha propuesto como una alternativa para satisfacer la creciente demanda de agua en las megaciudades con estrés hídrico donde el incremento acelerado de su población ha ocasionado la distribución desigual del agua, ya sea por la escasez física o debido a un inadecuado sistema de abastecimiento (Che-Ani *et al.*, 2009; Helmreich y Horn, 2009; Aladenola y Adeboyane, 2010; Strucks, 2011; Ahmed *et al.*, 2012; Gwenzi *et al.*, 2015; Sánchez *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017; Palla *et al.*, 2017; Bashar *et al.*, 2018).

La recolección de agua de lluvia para uso doméstico se logra a través de un sistema que consta de varios elementos, entre los cuales se encuentra: un área de captación, por lo general el techo de la vivienda, un sistema de recolección con

tubos y canaletas, un tanque de almacenamiento que puede ser de diversos materiales como plástico, metal o concreto y un sistema de distribución, además de elementos para mejorar la calidad del agua, por ejemplo filtros (Figura 2) (Che-Ani *et al.*, 2009; Gwenzi *et al.*, 2015; UNESCO, 2015; Campisano *et al.*, 2017).



**Figura 2 Sistema de captación de agua de lluvia para uso doméstico.**  
**[www.solucionespracticadas.org.pe](http://www.solucionespracticadas.org.pe), 2018.**

La captación de agua de lluvia tiene beneficios sociales, ambientales y gubernamentales (Che-Ani *et al.*, 2009). En lo social permiten que la población que por diversas razones no tiene acceso al servicio de agua potable o que el acceso que tiene es limitado cuente con una fuente de agua independiente, temporal y relativamente limpia (Che-Ani *et al.*, 2009; Gwenzi *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017; Fuentes *et al.*, 2018). Otra ventaja es que los sistemas de captación de agua de lluvia son de fácil manejo y manutención (Che-Ani *et al.*, 2009; Fuentes *et al.*, 2018) además de tener un bajo costo (Gwenzi *et al.*, 2015; Bashar *et al.*, 2018; Fuentes *et al.*, 2018), sobre todo si se considera que la

presión sobre el recurso hídrico aumentará en un futuro y por lo tanto también su precio (Bashar *et al.*, 2018). La captación de agua de lluvia también puede actuar como un buffer frente a situaciones de emergencia (Che-Ani *et al.*, 2009), por ejemplo, después del terremoto de marzo de 2011 en Japón, las casas con sistemas de captación de agua de lluvia fueron las únicas que tuvieron acceso a este líquido, razón por la cual a partir de ese año se implementó la instalación de más sistemas (Campisano *et al.*, 2017).

Los beneficios ambientales incluyen la disminución de la presión sobre los sistemas de abastecimiento públicos como ríos, pozos y acuíferos (Che-Ani *et al.*, 2009; Aladenola y Adeboyane, 2010; Campisano *et al.*, 2017; Fuentes *et al.*, 2018; Petit *et al.*, 2018), lo cual a su vez ayuda a disminuir el hundimiento de las ciudades (Che-Ani *et al.*, 2009; Valdez *et al.*, 2016), reduce la escorrentía pluvial evitando inundaciones (Che-Ani *et al.*, 2009; Aladenola y Adeboyane, 2010; Coutts *et al.*, 2013; Valdez *et al.*, 2016; Fonseca *et al.*, 2017; Petit *et al.*, 2018) y disminuye el consumo de energía pues el agua no requiere ser transportada desde largas distancias (Rojas *et al.*, 2012; Valdez *et al.*, 2016; Campisano *et al.*, 2017; Petit *et al.*, 2018).

Los beneficios gubernamentales son principalmente económicos ya que la captación de agua de lluvia reduce la urgencia de instalar nueva infraestructura para brindar el servicio y de dar mantenimiento a la infraestructura antigua (Che-Ani *et al.*, 2009).

La captación del agua de lluvia con fines domésticos es una práctica que ha sido promovida y está siendo utilizada en muchos países con grandes centros urbanos, por ejemplo: Corea del Sur (Lee *et al.*, 2010; Campisano *et al.*, 2017), Tailandia y China (Campisano *et al.*, 2017). En Malasia, donde el crecimiento urbano ha ido de la mano con el rápido crecimiento económico, se ha promovido el uso de agua de lluvia a través de la publicación de guías para su instalación y uso y así contribuir a una solución sostenible al problema de escasez de agua que enfrenta (Che-Ani *et al.*, 2009). En la isla de Taiwán (China) el gobierno ha implementado

una nueva política que establece que las construcciones con más de 10, 000 m<sup>2</sup> deben instalar sistemas de captación de agua de lluvia que abastezcan al menos el 5 % del consumo total de la construcción (Campisano *et al.*, 2017; Bashar *et al.*, 2018) mientras que en la megaciudad de Daca, Bangladesh, el gobierno también modificó las leyes de construcción para que las nuevas edificaciones con más de 300 m<sup>2</sup> incluyan de manera obligatoria sistemas de captación de agua de lluvia (Bashar *et al.*, 2018; Fuentes *et al.*, 2018).

Otros países donde también se emplea la captación de agua de lluvia son Brasil (Aladenola y Adeboye, 2010; Campisano *et al.*, 2017; Bashar *et al.*, 2018; Fuentes *et al.*, 2018), India (Che-Ani *et al.*, 2009; Aladenola y Adeboye, 2010; Fuentes *et al.*, 2018), Nigeria (Aladenola y Adeboye, 2010; Bashar *et al.*, 2018), Portugal (Silva *et al.*, 2015; Bashar *et al.*, 2018) y España (Petit *et al.*, 2018).

En la megaciudad de Tokio, se ha implementado la instalación de sistemas de captación de agua de lluvia en edificios públicos y privados gracias al financiamiento del gobierno a través de diferentes programas, de manera que actualmente muchas escuelas, oficinas públicas y casas cuentan con estos sistemas (Furumai, 2008; Che-Ani *et al.*, 2009; Campisano *et al.*, 2017). En Brisbane, Australia el gobierno está implementando la captación de agua de lluvia para usos doméstico (Ahmed *et al.*, 2009) y ha tenido como resultado que el 34 % de los hogares ya cuenta con dichos sistemas siendo el país con los más altos niveles de implementación de la captación de agua de lluvia en el mundo (Che-Ani *et al.*, 2009; Aladenola y Adeboye, 2010; Ahmed *et al.*, 2012; Campisano *et al.*, 2017; Palla *et al.*, 2017; Bashar *et al.*, 2018; Fuentes *et al.*, 2018). En Estados Unidos de América, en el estado de Illinois donde se ubica la gran ciudad de Chicago, se ha incorporado la captación de agua de lluvia dentro de su sistema legal (UNESCO, 2015), mientras que en Texas y Ohio se permite abiertamente la captación de agua de lluvia con fines domésticos (*Ibidem*); en el sureste de este país, el gobierno ofrece incentivos económicos para la instalación de sistemas de captación de agua de lluvia y en algunos lugares ha permitido cubrir el 100 % de la demanda en albergues caninos y el 61 % del riego en invernaderos (Campisano *et*

*al.*, 2017). En la megaciudad de París también se ha implementado la captación de agua de lluvia como solución al aumento en la demanda (Palla y La Barbera, 2017) y en los Países Bajos, la misma población ha promovido la captación de agua de lluvia (Schets *et al.* 2010).

El agua de lluvia después de ser potabilizada puede ser utilizada para beber, cocinar, lavarse los dientes, bañarse o el lavado de trastes (Che-Ani *et al.*, 2009) pero cuando no es potabilizada sólo puede utilizarse en actividades diferentes a las anteriores como el lavado del automóvil, lavado de patios, para el WC (Che-Ani *et al.*, 2009; Helmreich y Horn, 2009; Aladenola y Adeboye, 2010; Campisano *et al.*, 2017), lavado de ropa (Campisano *et al.*, 2017) o para el riego de áreas verdes (Sánchez *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017). Es necesario insistir en conocer la calidad microbiológica y química del agua de lluvia para que pueda ser utilizada de manera segura (Che-Ani *et al.*, 2009; Helmreich y Horn, 2009; Aladenola y Adeboye, 2010) y disminuir los riesgos a la salud que pudiera tener el uso de ésta, ya que cifras de la Organización Mundial de la Salud indican que el agua puede transmitir enfermedades como el cólera, la disentería, la fiebre tifoidea, la poliomielitis y la diarrea, siendo esta última la principal causa de muertes al año por el consumo y uso de agua contaminada (OMS, 2018) además de que en varios países ya ha sido detectada la presencia de microorganismos patógenos causantes de diarrea en el agua de lluvia (Ahmed *et al.*, 2012; De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015).

### 1.3. CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE LLUVIA

La calidad microbiológica del agua de lluvia es un factor importante que determina en gran parte el uso que se le dará (Campisano *et al.*, 2017). Su principal fuente de contaminación es la materia fecal animal y humana que puede ser depositada o transportada desde otros lugares hacia los elementos del sistema de captación como por ejemplo el techo (Helmreich y Horn, 2009; Schets *et al.*, 2010; Struck, 2011; Gwenzi *et al.*, 2015). Las aves actúan como la mayor fuente de patógenos (Struck, 2011; Campisano *et al.*, 2017); los mamíferos, reptiles e insectos que tienen acceso al sistema pueden contaminar con heces, mientras que la presencia

de hojas, flores, semillas, líquenes y musgos que al descomponerse incrementan la concentración de materia orgánica, favorecen el desarrollo de bacterias en el agua captada (Helmreich y Horn, 2009; Schets *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2012; Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Dobrowsky *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2015; UNESCO, 2015; Campisano *et al.*, 2017).

Existen otros factores que afectan la calidad microbiológica del agua de lluvia, por ejemplo, se ha visto que mientras más largo es el periodo de sequía antes de la temporada de lluvias o entre un evento de lluvia y otro, hay una mayor concentración de microorganismos (Struck, 2011; De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017; Gikas y Tsihrintzis, 2017). Por otro lado, la ubicación geográfica de los hogares donde se tienen instalados los sistemas de captación influye en la temperatura del agua y esto a su vez afecta la concentración de microorganismos presentes pues las temperaturas altas promueven la replicación de bacterias (Che-Ani *et al.*, 2009; Struck, 2011; Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Campisano *et al.*, 2017).

Además, también se ha observado que una mayor velocidad del viento está relacionada con una mayor concentración de microorganismos, los cuales son transportados desde fuentes superficiales hasta el área de captación, de esta manera, mientras más rápido se mueve el viento mayor es la cantidad de microorganismos depositados por unidad de tiempo; el tipo de microorganismos depositados dependerá de la fuente de contaminación, la cual cambia con la dirección del viento (Evans *et al.*, 2007; Schets *et al.*, 2010; Struck, 2011; Gwenzi *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017) y con el tipo de actividades económicas que se realizan en la zona (Che-Ani *et al.*, 2009; Gwenzi *et al.*, 2015). También se ha identificado una correlación fuerte entre los eventos de lluvia intensos y una mayor concentración de microorganismos (Schets *et al.*, 2010; Gwenzi *et al.*, 2015).

Dentro del sistema de captación de agua de lluvia hay factores relacionados con la calidad microbiológica del agua, uno de ellos es el material del cual está elaborado el techo (área de captación). En un estudio realizado por Mendez y colaboradores

(2011) se observó que el agua de lluvia colectada con un techo de metal (Galvalume®, aleación de aluminio y zinc con cubierta de acero) presenta una menor concentración de coliformes totales y fecales comparada con el agua captada con techos de otros materiales como tejas asfálticas de fibra de vidrio y tejas de concreto. Por otro lado, los techos verdes (de vegetación) producen agua con una calidad similar a la de los techos de metal, indicando que también son adecuados para la captación de agua de lluvia (Mendez *et al.*, 2011). En otro estudio también se observó que los techos de acero galvanizado son más adecuados para la captación de agua de lluvia en comparación con los de tejas de madera, tejas de concreto y tejas de arcilla pues el agua de lluvia captada con el techo de acero no presentó *E. coli*, probablemente porque los rayos ultravioleta del sol son reflejados en estos materiales produciendo altas temperaturas teniendo un efecto esterilizador (Lee *et al.*, 2012).

La edad del techo también influye en la concentración de microorganismos presentes en el agua de lluvia pues con el paso del tiempo el techo puede empezar a liberar compuestos químicos que propician el crecimiento de estos (Struck, 2011; Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015).

El material del tanque de almacenamiento influye en la calidad microbiológica del agua de lluvia, pues cuando el tanque es de polietileno negro se genera un ambiente más cálido que favorece el crecimiento de bacterias, mientras que cuando es de concreto existe una mayor concentración de sólidos que pueden proveer de nutrientes y permitir que el número de microorganismos aumente (Struck, 2011). Además, se ha visto que *E. coli* sobrevive por más tiempo en cisternas de PVC (polyvinylchloride) que en cisternas de acero galvanizado (Schets *et al.*, 2010).

Se ha observado que la presencia de un elemento dentro del sistema de captación que permita desechar las primeras lluvias puede ayudar a disminuir la concentración de microorganismos presentes y mejorar así la calidad del agua (Helmreich y Horn, 2009; Mendez *et al.*, 2011; Struck, 2011; De Kwaadsteniet *et*

*al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015; UNESCO, 2015; Campisano *et al.*, 2017). Esta calidad también puede ser mejorada mediante el uso de elementos como filtros (Mendez *et al.*, 2011; Rojas *et al.*, 2012; Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015; UNESCO, 2015) y mediante técnicas de desinfección como es la cloración (Nescerecka *et al.*, 2014).

**Tabla 2 Microorganismos que han sido detectados en agua de lluvia.**

Bacterias	Protozoarios	Virus
Patotipos de <i>E. coli</i> <sup>2,4,5,7</sup>		
<i>Campylobacter</i> sp. <sup>2,4,5,6,7</sup>		
<i>Salmonella</i> sp. <sup>2,4,5,6,7</sup>		
<i>Legionella</i> sp. <sup>2,5,6,7</sup>		
<i>Legionella pneumophila</i> <sup>4,5</sup>	<i>Cryptosporidium</i> sp. <sup>2,4,5,6,7</sup>	
<i>Aeromonas</i> sp. <sup>2,4,5,6,7</sup>	<i>Cryptosporidium parvum</i> <sup>2,7</sup>	
<i>Enterococcus</i> sp. <sup>2,4,6</sup>	<i>Giardia</i> sp. <sup>2,4,5,6,7</sup>	Adenovirus <sup>3</sup>
<i>Vibrio</i> sp. <sup>4</sup>	<i>Giardia lamblia</i> <sup>2,4</sup>	Norovirus <sup>1</sup>
<i>Shigella</i> sp. <sup>2,6</sup>	<i>Yersinia</i> sp. <sup>4</sup>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>5,6</sup>		
<i>Pseudomonas</i> sp. <sup>2</sup>		
<i>Klebsiela</i> sp. <sup>4</sup>		
<i>Enterobacter</i> sp. <sup>4</sup>		

<sup>1</sup> Abbott y Caughley, 2012; <sup>2</sup> De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; <sup>3</sup> Dobrowsky *et al.*, 2015;

<sup>4</sup> Gwenzi *et al.*, 2015; <sup>5</sup> Sánchez *et al.*, 2015; <sup>6</sup> Schets *et al.*, 2010; <sup>7</sup> Struck, 2011.

Convencionalmente, la calidad microbiológica del agua de lluvia es monitoreada mediante la presencia de indicadores de contaminación fecal que de manera natural se encuentran en el tracto digestivo de aves y mamíferos como los coliformes totales y fecales (Ram *et al.*, 2008; Struck, 2011; Ahmed *et al.*, 2012; De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Sadhu *et al.*, 2013; Dobrowsky *et al.*, 2014; Gomi *et al.*, 2015). Sin embargo, se ha visto que en el agua de lluvia no existe una relación entre la presencia de indicadores y de microorganismos patógenos (Ram *et al.*, 2008; Ahmed *et al.*, 2009; Abbott y Caughley, 2012; Dobrowsky *et al.*, 2014; Gwenzi *et al.*, 2015; Sánchez *et al.*, 2015) por lo que recientemente se ha propuesto la detección de estos últimos. En la Tabla 2 se pueden observar los protozoarios, bacterias y virus que ya han sido detectados en agua de lluvia.

La diarrea es la principal enfermedad asociadas a la ingestión de agua contaminada y suele ser ocasionada por bacterias, principalmente por *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Shigella* (Hernández *et al.*, 2011). De ahí la importancia de conocer la calidad microbiológica del agua de lluvia a través de la detección de estas bacterias.

#### 1.3.1. *SALMONELLA SP.*

*Salmonella* sp. es una bacteria Gram negativa que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, tiene por hábitat el tracto digestivo de humanos y otros animales como aves, peces, ganado vacuno y porcino (Cabral, 2010; Puerta y Mateos, 2010) y reptiles (Struck, 2011). La transmisión de esta bacteria es vía fecal-oral (Sánchez *et al.*, 2015; Jawad y Al-Charrakh 2016) aunque este género puede permanecer varias semanas fuera de su hospedero (Cabral, 2010) facilitando su transmisión a través de agua o comida contaminada con heces y su consumo puede ocasionar la enfermedad gastrointestinal conocida como salmonelosis (Modarressi y Thong, 2010; Jawad y Al-Charrakh, 2016).

La salmonelosis es una de las enfermedades gastrointestinales más frecuentes en el mundo con una ocurrencia de 3.8 millones de personas infectadas al año, de las cuales 155 000 terminan en muerte (Kumar *et al.*, 2017). Esta enfermedad se puede observar bajo cinco diferentes síndromes clínicos: 1. Portador asintomático. 2. Gastroenteritis aguda caracterizada por la inflamación de la mucosa del estómago y del intestino con síntomas como fiebre, diarrea aguda líquida o con sangre, moco y pus. 3. Bacteriemia, consiste en la presencia de bacterias en la sangre ocasionando temblores y fiebre. 4. Infecciones focales como meningitis, osteomielitis o abscesos. 5. Fiebre tifoidea que se caracteriza por la aparición de una fiebre progresiva asociada con estreñimiento o diarrea profusa. Puede tener complicaciones como hemorragia digestiva, perforación intestinal y aneurismas micóticos (dilatación de la pared de una vena o arteria) (Cardona *et al.*, 2009; Ngan *et al.*, 2010; Puerta y Mateos, 2010; Jawad *et al.*, 2016).

La patogenicidad de *Salmonella* sp. es multifactorial y es controlada por un grupo de genes entre los cuales se encuentra el gen *ompC*, específico de este género (Modarressi y Thong 2010; Ngan *et al.*, 2010; Jawad y Al-Charrakh, 2016; Kumar *et al.*, 2017) cuya función es la síntesis de la proteína C de membrana externa necesaria para la invasión a células epiteliales intestinales (Jawad y Al-Charrakh, 2016).

*Salmonella* sp. es uno de los patógenos más reportados en agua de lluvia captada con fines domésticos (Campisano *et al.*, 2017) y ha sido detectada en diferentes países como Nueva Zelanda, donde su presencia se asoció a contaminación con heces de aves, ranas, roedores y zarigüeyas y a la presencia de animales muertos como insectos (Abbott y Caughley, 2012). También ha sido detectada en Queensland, Australia (Ahmed *et al.*, 2009) y en Victoria, Australia donde el consumo del agua de lluvia sin tratamiento previo ocasionó un brote de gastroenteritis en una escuela (Franklin *et al.*, 2009). En Tasmania, Australia un brote de gastroenteritis por *Salmonella* sp. fue ocasionado por el consumo de agua proveniente de un sistema de captación de agua de lluvia (De Kwaadsteniet *et al.*, 2013). En Kleinmond, Sudáfrica esta bacteria también fue detectada en los tanques de almacenamiento de agua de lluvia (Dobrowsky *et al.*, 2014) y en Missouri, EUA un brote de salmonelosis fue atribuido a la presencia de heces de aves en los tanques de almacenamiento del agua de lluvia, la cual no fue desinfectada con cloro antes de ser consumida (Struck, 2011).

### 1.3.2. *ESCHERICHIA COLI*

*Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, forma parte de la microbiota intestinal de aves y mamíferos y aunque suele ser comensal (Masters *et al.*, 2011; Tobias y Vutukuru, 2012; Sadhu *et al.*, 2013; Gomi *et al.*, 2015) algunas cepas han adquirido genes de virulencia que les permite ocasionar enfermedades gastrointestinales con síntomas como la diarrea (Struck, 2011; Ahmed *et al.*, 2012; Croxen *et al.*, 2013; Sadhu *et al.*, 2013; Dobrowsky *et al.*, 2014).

A las *E. coli* capaces de ocasionar enfermedades gastrointestinales con síntomas como la diarrea se les conoce como DEC (Diarrheagenic *E. coli*, por sus siglas en inglés). De acuerdo con Tobias y Vutukuru (2012) el grupo incluye cuatro principales patotipos clasificados con base en sus características epidemiológicas y clínicas (Tabla 3), estos patotipos son: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) y *E. coli* enteroagregativa (EAEC). Además de los patotipos anteriores, Tobias y Vutukuru (2012) consideran uno adicional conocido como *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), el cual está estrechamente relacionado con *Shigella* sp. Por otro lado, Croxen *et al.*, 2013 considera un sexto patotipo, *E. coli* de adherencia difusa (DAEC), sin embargo, debido a la baja prevalencia de EIEC y a la falta de estudios epidemiológicos para clasificar e identificar a DAEC, en este trabajo no serán considerados.

#### 1.3.2.1. *E. COLI* ENTEROTOXIGÉNICA

ETEC es el patotipo de *E. coli* que más ocasiona diarrea en países en desarrollo a causa de una inadecuada higiene en la preparación de comida y a una mala calidad del agua (Cabral, 2010; Croxen *et al.*, 2013). Afecta principalmente a niños menores de cinco años y es la principal causa de la “diarrea del viajero” que se desarrolla en personas que visitan países tropicales o subtropicales con condiciones de higiene deficientes (Tabla 3) (Ram *et al.*, 2008; Cabral, 2010; Ahmed *et al.*, 2013; Croxen *et al.*, 2013; Sadhu *et al.*, 2013; Tobias *et al.*, 2016).

En el patotipo ETEC casi todos los factores de virulencia están codificados exclusivamente en plásmidos, tal es el caso de las toxinas ST y LT (Figura 3) (Ahmed *et al.*, 2012; Croxen *et al.*, 2013; Sadhu *et al.*, 2013; Tobias *et al.*, 2016). La presencia de estas enterotoxinas es una característica que define a una cepa de ETEC, ya sea que posea una de ellas o ambas (Tobias y Vutukuru, 2012; Ahmed *et al.*, 2013; Croxen *et al.*, 2013). LT es una enterotoxina inestable al calor cuya estructura es similar a la del cólera (Croxen *et al.*, 2013) mientras que ST comprende a las enterotoxinas estables al calor como STp y STh expresadas en cepas que causan enfermedad en humanos (Ahmed *et al.*, 2013).

**Tabla 3 Principales características de los patotipos diarreagénicos de *E. coli*.**

Patotipo	Población en riesgo	Sitio de colonización <sup>1</sup>	Vectores	Vía de transmisión <sup>7</sup>	Síntomas <sup>1,7</sup>
ETEC	Niños de 0-5 años y visitantes de países tropicales y subtropicales <sup>1,5</sup>	Intestino delgado	Humanos <sup>1</sup> Cerdos <sup>5</sup> cabras, vacas, gatos y perros <sup>6</sup>	Fecal-oral	Diarrea acuosa, sin sangre, con fiebre y vómito en la minoría de los casos.
EPEC	Niños de 0-5 años de países en desarrollo <sup>1,6</sup>	Intestino delgado	Humanos y conejos <sup>1</sup> , cerdos <sup>5</sup> , perros <sup>1,3</sup> , gatos, cabras y aves <sup>3</sup>	Fecal-oral	Diarrea acuosa abundante con vómito y poca fiebre
EHEC	Niños y adultos de todo el mundo <sup>7</sup>	Íleon y colon	Humanos, rumiantes y aves <sup>1,3,5</sup> . El serotipo O157:H7 en humanos, insectos, cerdos, ovejas, ciervos, jabalíes, conejos, aves, perros y roedores <sup>2</sup>	Fecal-oral	Diarrea acuosa con sangre, con o sin fiebre. Disentería, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico
EAEC	Niños y adultos de todo el mundo <sup>1</sup>	Intestino delgado, y/o colon	Humanos, aves, tlacuaches, caballos, vacas, ovejas y cerdos <sup>1,4</sup>	Fecal-oral	Diarrea acuosa, con mucosidad, con o sin sangre. Fiebre y con o sin vómito

<sup>1</sup>Croxen *et al.*, 2013 <sup>2</sup>Ferens y Hovde, 2011 <sup>3</sup>Gomi *et al.*, 2015 <sup>4</sup>Jensen *et al.*, 2014 <sup>5</sup>Masters *et al.*, 2011 <sup>6</sup>Ram *et al.*, 2008 <sup>7</sup>Tobias y Vutukuru, 2012.

#### 1.3.2.2. *E. COLI* ENTEROPATOGÉNICA

EPEC es un patotipo que afecta principalmente a niños menores de cinco años en países en vías de desarrollo (Tobias y Vutukuru, 2012) y muy raramente en los adultos (Croxen *et al.*, 2013). Los brotes registrados y causados por este patotipo

se relacionan con el consumo de alimentos y agua contaminados con heces de animales incluyendo humanos (Tabla 3) (*Ibidem*).

EPEC pertenece al grupo de bacterias conocidas como A/E (en inglés Attaching and Effacing) pues posee un locus de eliminación de enterocitos (células epiteliales del intestino) LEE por sus siglas en inglés (Locus of Enterocyte Effacement) (Figura 3). En este locus se localiza el gen *eae* que es responsable de la síntesis de una intimina necesaria para la colonización del intestino delgado (Tobias y Vutukuru, 2012; Croxen *et al.*, 2013; Sadhu *et al.*, 2013). Este patotipo produce una lesión típica en la mucosa intestinal con la formación de colonias y la pérdida de las microvellosidades (Puerta y Mateos, 2010; Croxen *et al.*, 2013).

#### 1.3.2.3. *E. COLI* ENTEROHEMORRÁGICA

EHEC se encuentra predominantemente en países en vías de desarrollo; un ejemplo es Argentina, país donde mundialmente se tienen los niveles más altos de incidencia del síndrome urémico hemolítico en niños menores de cinco años (Rivero *et al.*, 2010) ocasionando falla renal y anemia como consecuencia de la destrucción de los glóbulos rojos. Además del síndrome urémico hemolítico, este patotipo es médicamente reconocido por ocasionar colitis hemorrágica cuyo principal síntoma es la diarrea con abundante sangre (Croxen *et al.*, 2013).

Los brotes por EHEC son ocasionados principalmente por el serotipo O157:H7, que es el más común dentro de este patotipo (Puerta y Mateos, 2010; Ferens y Hovde, 2011), se transmite a las personas mediante la ingesta de comida procesada inadecuadamente y por consumir agua contaminada con materia fecal de: humanos, insectos, cerdos, vacas, ovejas, ciervos, jabalíes, conejos, aves, anfibios, peces, perros y roedores (Tabla 3) (Ferens y Hovde, 2011; Croxen *et al.*, 2013).

Las principales características de EHEC son: 1) posee el locus de eliminación de enterocitos LEE que incluye al gen *eae* y 2) es capaz de producir alguna o ambas toxinas shiga del tipo 1 y 2 (*stx*<sub>1</sub> y *stx*<sub>2</sub>), por esta razón, pertenece al grupo STEC

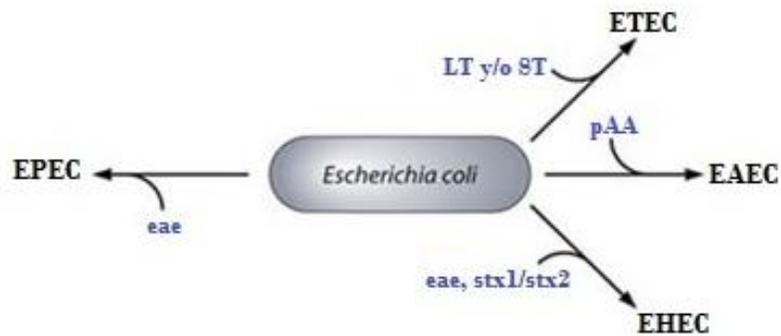
(Shiga Toxin-producing *E. coli*) (Figura 3) (Ahmed *et al.*, 2012; Tobias y Vutukuru, 2012; Croxen *et al.*, 2013; Sadhu *et al.*, 2013). Los genes para la producción de estas toxinas son adquiridos en un principio a través de bacteriófagos para posteriormente integrarse al cromosoma (Tobias y Vutukuru, 2012; Croxen *et al.*, 2013). La presencia de stx<sub>1</sub> y stx<sub>2</sub> indica que la cepa es capaz de ocasionar el síndrome urémico hemolítico (Ferens y Hovde, 2011).

#### 1.3.2.4. *E. COLI* ENTEROAGREGATIVA

EAEC ocasiona diarrea persistente en niños y adultos tanto de países en vías de desarrollo como de países desarrollados (Sadhu *et al.*, 2013; Jensen *et al.*, 2014) y al igual que ETEC, es causante de la diarrea del viajero, aunque en menor medida (Cabral, 2010; Hernández *et al.*, 2011). La vía de transmisión es fecal-oral y se ha detectado que la infección ocurre por el consumo de agua y alimentos contaminados (Tabla 3) (Croxen *et al.*, 2013; Jensen *et al.*, 2014).

Este patotipo se caracteriza por la producción de factores de adherencia agregativa AAFs (Aggregative Adherence Factors) los cuales facilitan la adhesión al epitelio del intestino y permiten la formación de biofilms con la posterior producción de toxinas que inducen daño en el mismo y la producción de mucosidad (Jensen *et al.*, 2014); los biofilms, al ser observados al microscopio se reconocen como agregados (Tobias y Vutukuru, 2012; Jensen *et al.*, 2014).

Muchos de los genes para la producción de estos factores de adherencia, así como de toxinas y otras proteínas de virulencia se localizan en el plásmido pAA (Aggregative Adherence Plasmid) (Croxen *et al.*, 2013; Jensen *et al.*, 2014) (Figura 3) por lo que la prueba CVD432 para la detección de éste plásmido se ha utilizado ampliamente gracias a su alta especificidad (Tobias y Vutukuru, 2012; Jensen *et al.*, 2014).



**Figura 3 Principales factores de virulencia de los patotipos diarreagénicos de *E. coli*. Croxen, *et al.*, 2013.**

Algunos países donde los patotipos de *E. coli* ya han sido detectados son: la ciudad de Daca en Bangladesh donde el patotipo ETEC estuvo presente en el tanque de almacenamiento del sistema de captación (Ahmed *et al.*, 2013), en Kleinmond, Sudáfrica se encontraron los cuatro patotipos (ETEC, EPEC, EHEC y EAEC) en muestras de agua de lluvia (Dobrowsky *et al.*, 2014) y en el sureste de Queensland, Australia se detectó la presencia de ETEC, EPEC y EAEC en los tanques de almacenamiento del agua de lluvia (Ahmed *et al.*, 2012).

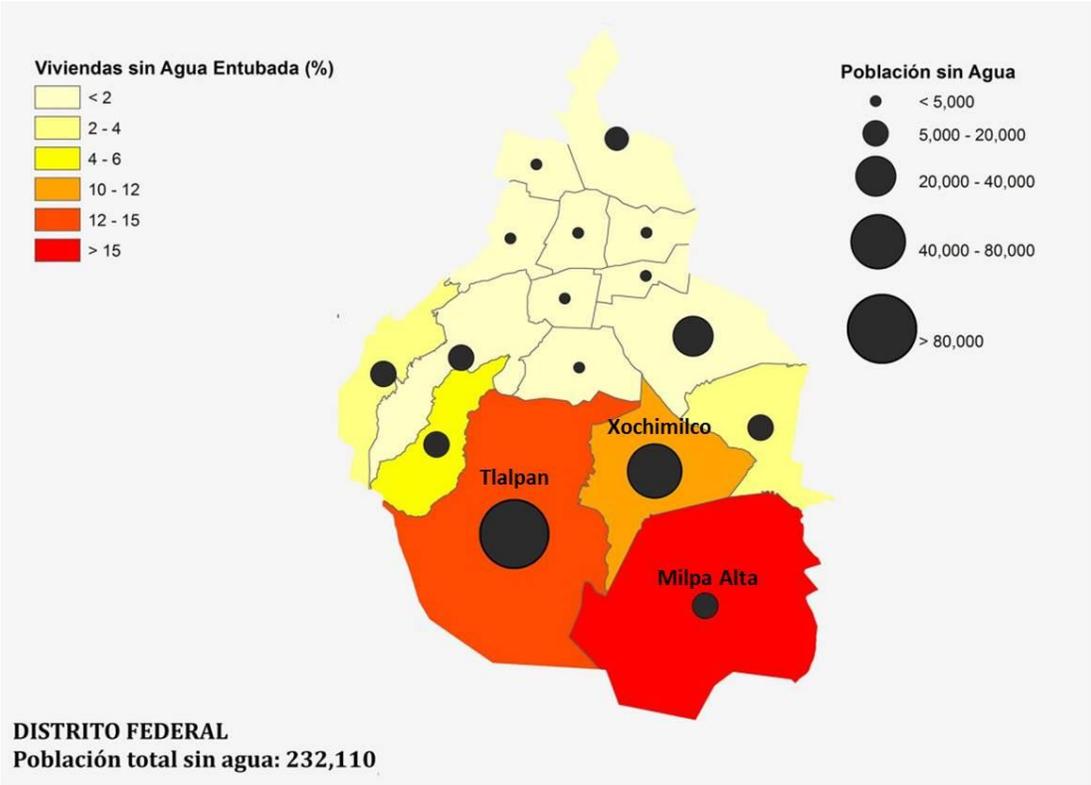
## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. EL AGUA EN LA CIUDAD DE MÉXICO

Actualmente 232,110 habitantes no cuentan con agua entubada dentro de su vivienda. La mayor parte de esta población se localiza en la zona sur de la ciudad de México en las alcaldías de Tlalpan, Milpa Alta y Xochimilco, donde el 12, 16 y 10 % de las viviendas respectivamente, no cuentan con este servicio. De las alcaldías anteriores, Tlalpan y Xochimilco concentran el mayor número de personas sin acceso a agua (Figura 4) (Isla Urbana, 2018).

En la Figura 4 se puede observar que las alcaldías del norte de la ciudad cuentan con una mejor cobertura de agua potable mostrando la desigualdad en la distribución de agua entre las diferentes alcaldías; así mientras en las zonas más

pobres el consumo de agua promedio por habitante al día es de sólo 28 litros, en los sectores de máximos ingresos el consumo mínimo es de 800 a 1,000 litros por habitante al día (Guerrero *et al.*, 2009). El servicio de agua entubada se precariza desde el centro de la ciudad hacia la periferia y, aunque las estadísticas indican que la cobertura de agua potable en la Ciudad de México es en promedio de más del 98 % (CONAGUA, 2018), esto no se traduce en una dotación igualitaria ni eficiente del servicio, ni tampoco garantiza la calidad del mismo (Aguilar, 2016).



**Figura 4 Población de la Ciudad de México sin acceso a agua entubada. Isla Urbana, 2018.**

La escasez de agua en la Ciudad de México es el resultado de diversas causas, entre las cuales se encuentran:

**El incremento de su población.** El aumento de la población de la ciudad se debe principalmente a la migración desde zonas rurales. Actualmente la población urbana es del 94.7 % mientras que la población rural es de sólo el 5.3 %. La migración de la población rural a la zona urbana ha traído consigo la presencia de

asentamientos irregulares en la periferia de la ciudad, principalmente en el sur donde se localizan zonas de conservación. El surgimiento de nuevas colonias a una gran velocidad, ocasiona que a las autoridades les resulte difícil instalar la infraestructura necesaria para poder brindar el servicio de agua potable a toda la población (aunque también puede ser el resultado del incumplimiento de las mismas), esto a su vez, ocasiona la presencia de tomas clandestinas (Tortajada, 2008; Aguilar, 2016). Actualmente la población de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México es de 23.5 millones de habitantes y se espera que para el año 2030 aumente a 24 millones (CONAGUA, 2018), esto ocasionará el aumento de la zona impermeable, así como la deforestación, lo que sin duda agudizará los problemas de abastecimiento de agua potable actuales (Aguilar, 2016).

**La escasez física.** Actualmente la Ciudad de México se enfrenta a su más baja disponibilidad de agua per cápita con 73 m<sup>3</sup>/hab/año; otros estados como el de Nuevo León, aun ubicándose en el norte del país, tiene una disponibilidad de agua per cápita de 851 m<sup>3</sup>/hab/año (Aguilar, 2016; CONAGUA, 2018). Por otro lado, es una realidad que el incremento de la población ha ocasionado que las fuentes de abastecimiento de la ciudad se hayan vuelto insuficientes (Aladenola y Adeboye, 2010; Aguilar, 2016; WWAP, 2016) generando un grado de presión muy alto sobre sus recursos hídricos (CONAGUA, 2018). La sobreexplotación de estos recursos ha provocado a su vez el hundimiento de la ciudad (Aureli *et al.*, 2016; Valdez *et al.*, 2016). Dichas fuentes incluyen pozos de la Ciudad de México, el Sistema Chiconautla, el Sistema Lerma, el Sistema Cutzamala, manantiales de la zona Sur de la Ciudad de México (Sierra del Ajusco, alcaldía de Tlalpan) y perforaciones profundas (Aguilar, 2016; WWAP, 2016)

La infraestructura y sus limitaciones técnicas y financieras como: la falta de mantenimiento de la infraestructura necesaria para la extracción del agua, la cual ocasiona que la mayor parte de los pozos opere por debajo de su capacidad; la presencia de tuberías viejas propensas a tener fugas; la insuficiencia de la red para llegar a los lugares más alejados de la ciudad y; la combinación de aguas domésticas y pluviales (que junto con el mal alcantarillado ocasionan

inundaciones) también influyen en la escasez del agua en la Ciudad de México (Tortajada, 2008; Aguilar, 2016; Aureli *et al.*, 2016; Valdez *et al.*, 2016; WWAP, 2016). Este último punto resulta de vital importancia debido a que la combinación del agua de lluvia con el drenaje causa desaprovechamiento de un recurso que podría ayudar a disminuir el problema de escasez de agua (Coutts *et al.*, 2013; Aureli *et al.*, 2016).

## 2.2. CAPTACIÓN DE AGUA DE LLUVIA EN LA CIUDAD DE MÉXICO

Actualmente la captación de agua de lluvia para uso doméstico se ha promovido principalmente en áreas rurales donde no se tiene acceso al servicio de agua entubada (Sámano *et al.*, 2016; Fuentes *et al.*, 2018, Isla Urbana, 2018). Algunos estados donde se ha implementado son: México, Guanajuato, Querétaro, Michoacán, Morelos, Zacatecas, San Luis Potosí (UNESCO, 2015; Fuentes *et al.*, 2018), Chihuahua, Durango, Nayarit, Jalisco, Nuevo León, Guerrero, Morelos, Hidalgo (Isla Urbana, 2018), Campeche, Yucatán, Quintana Roo (UNESCO, 2015), Chiapas, Oaxaca, Puebla y Veracruz (Sámano *et al.*, 2016). En todos ellos, la captación de agua de lluvia les ha brindado múltiples beneficios, pero principalmente les ha permitido tener acceso a agua cuando antes no contaban con ella (Sámano *et al.*, 2016; Fuentes *et al.*, 2018).

A pesar de que la captación de agua de lluvia ha sido implementada principalmente en zonas rurales, también es una alternativa para satisfacer la creciente demanda de agua en áreas urbanas (Gwenzi *et al.*, 2015; UNESCO, 2015; Sámano *et al.*, 2016; Fonseca *et al.*, 2017).

Frente al reto que enfrenta la megaciudad de la Ciudad de México de abastecer de agua a toda la población que actualmente no cuenta con este servicio o que cuenta con un servicio deficiente (García, 2012), la iniciativa Isla Urbana ha implementado la captación de agua de lluvia en los hogares más vulnerables ubicados principalmente al sur de la ciudad (Campisano *et al.*, 2017) lo cual no es algo nuevo, pues la captación y almacenamiento del agua de lluvia en la Ciudad de México ha estado presente desde la época prehispánica con fines agrícolas y

domésticos, época en la que la captación de agua de lluvia se realizaba mediante el uso de recipientes o a través de canales y zanjas para su posterior almacenamiento y uso durante la temporada de sequía (Gutiérrez, 2014).

La precipitación media anual en la Ciudad de México es de 600 a 1500 mm (García, 2012) siendo la zona sur y sur poniente de la ciudad las regiones donde el volumen de precipitación es mayor, de hasta 1600 mm en Tlalpan (especialmente en el Ajusco donde llueve el doble del promedio del país) y 1100 mm en Xochimilco (CONAGUA, 2018). Estos niveles de precipitación permiten que cada metro cuadrado de techo en la Ciudad de México pueda captar alrededor de 65 litros de agua al año (Isla Urbana, 2018); desafortunadamente el 90 % del agua de lluvia termina en las alcantarillas, mezclada con agua residual doméstica pues el pavimento de las calles y el sistema de drenaje la transportan tan rápido que no puede evaporarse, no tiene tiempo de infiltrarse y la humedad no puede ser retenida por los árboles debido a que hay muy pocos (CONAGUA, 2018). Si toda esta agua de lluvia fuera captada, además de ayudar a disminuir el problema de escasez de agua en la Ciudad de México, también podría ayudar a mitigar el riesgo de sufrir inundaciones (ocasionadas por insuficiencia del drenaje, impermeabilización del suelo y por azolve de las tuberías consecuencia de la deforestación, construcción de obras y basura) (Aureli *et al.*, 2016), el hundimiento de la ciudad (>50 cm anuales) y reducir la presión sobre los acuíferos (Serrano, 2014; Aureli *et al.*, 2016; Valdez *et al.*, 2016; Gikas y Tsihrintzis, 2017; Isla Urbana, 2018).

Las características geográficas de la cuenca donde se localiza la Ciudad de México favorece la formación y acumulación de contaminantes atmosféricos. Los contaminantes considerados por la legislación mexicana son: monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), bióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), ozono (O<sub>3</sub>), partículas suspendidas menores o iguales a 10 µm (PM<sub>10</sub>) o menores o iguales a 2.5 µm (PM<sub>2.5</sub>) y compuestos orgánicos volátiles (COV). La distribución espacial del promedio anual de los contaminantes en la Ciudad de México indica una mayor concentración en el norte de la ciudad que va disminuyendo hacia el sur,

siendo Tlalpan y Xochimilco dos de las alcaldías que presentan la menor concentración de contaminantes atmosféricos (Aureli *et al.*, 2016; REDMA, 2018). A pesar de que la presencia de contaminantes atmosféricos afecta directamente la calidad química del agua de lluvia, se ha visto que ésta no representa un riesgo debido a que los niveles de dichos contaminantes se encuentran por debajo de los límites permitidos por la normatividad mexicana (García, 2012).

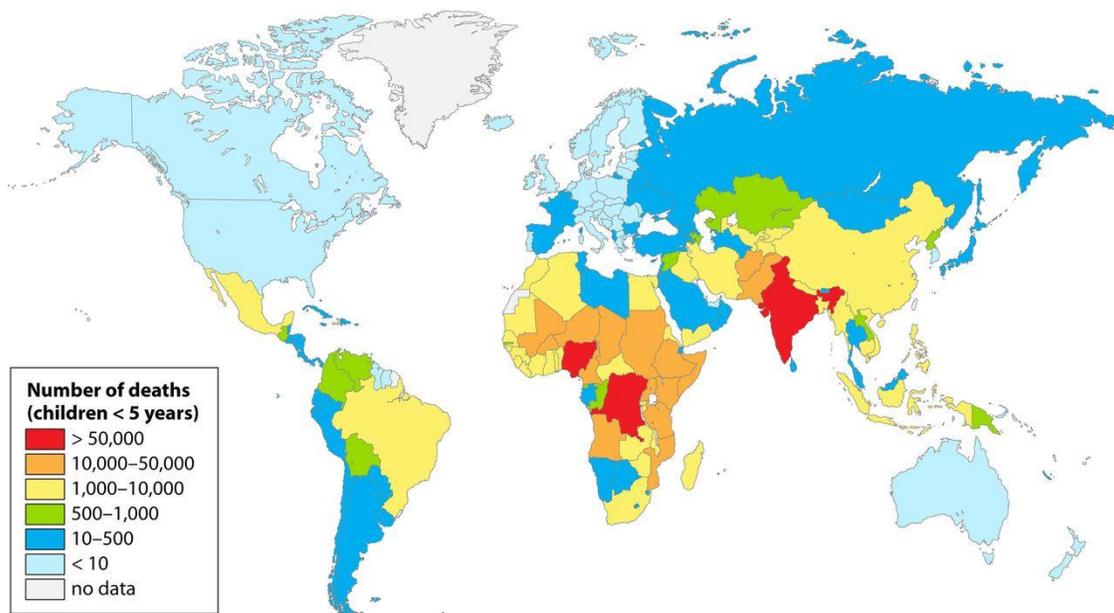
Por otro lado, la calidad microbiológica del agua de lluvia captada en la Ciudad de México es un tema del cual se conoce muy poco, debido a que por lo general los estudios de captación sólo se enfocan en el ahorro del agua sin considerar su calidad (Rojas *et al.*, 2012) y cuando se considera, es evaluada principalmente a través del uso de indicadores de contaminación fecal. En México, la legislación que regula la calidad de Agua para Uso y Consumo Humano es la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000) la cual establece como límites de cloro residual libre 0.2-1.5 mg/L así como la ausencia de coliformes totales y coliformes fecales/*E. coli*.

Algunos de los estudios que se han realizado hasta ahora en cuanto a la evaluación de la calidad microbiológica del agua de lluvia en la Ciudad de México son: en una casa de la alcaldía Álvaro Obregón se encontró la presencia de coliformes totales y mesófilos aerobios (García, 2012) mientras que en otro estudio realizado por el Programa de Manejo, Uso y Reúso del Agua en la UNAM (PUMAGUA) e Isla Urbana en seis casas de la alcaldía Tlalpan se encontró que durante el periodo de muestreo todas las casas presentaron al menos una vez coliformes totales y fecales (Isla Urbana, 2018). En otro estudio realizado en la zona sur de la Ciudad de México para conocer la calidad de la precipitación se encontró la presencia de las bacterias *Bacillus subtilis*, *Bacillus brevis*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc lactis* y *Aeromonas Viridans* las cuales comúnmente se encuentran en el aire, el agua y el suelo, por otro lado, también se encontró la presencia de bacterias que pueden afectar la salud humana: *Escherichia coli* la cual ha sido reportada en enfermedades infecciosas que involucran los tejidos humanos y cuyo contagio ocurre por el consumo de

agua y alimentos contaminados así como *Enterobacter aerogenes* la cual afecta heridas cutáneas y puede causar septicemia y meningitis (Rojas *et al.*, 2012).

Diferentes estudios han mostrado que en agua de lluvia no hay una relación entre la presencia de microorganismos indicadores y microorganismos patógenos (Ram *et al.*, 2008; Ahmed *et al.*, 2009; Abbott y Caughley, 2012; Dobrowsky *et al.*, 2014; Gwenzi *et al.*, 2015; Sánchez *et al.*, 2015) por lo que se vuelve cuestionable si la detección de organismos indicadores es suficiente para determinar su calidad microbiológica (Ahmed *et al.*, 2009; Méndez *et al.*, 2011; Abbott y Caughley, 2012; Dobrowsky *et al.*, 2014).

Se ha estimado que a nivel mundial más de tres millones de niños menores de 5 años mueren al año a causa del consumo y uso de agua contaminada (Figura 5) (Croxen *et al.*, 2013) principalmente con patógenos entéricos Gram negativos (Jawad y Al-Charrakh, 2016) los cuales incluyen patotipos de *E. coli* y *Salmonella* sp. que son bacterias causantes de enfermedades gastrointestinales infecciosas (Hernández *et al.*, 2011).



**Figura 5 Mortalidad a causa de enfermedades diarreagénicas en niños <5 años a nivel mundial. Croxen *et al.*, 2013.**

En México, las enfermedades gastrointestinales no han dejado de ser un problema de salud (Croxen *et al.*, 2013) pues siguen siendo una de las principales causas de consulta médica y de muerte en niños menores de 5 años y de personas mayores de 60 años a causa del consumo de alimentos y agua de mala calidad (Tortajada, 2008; Godínez, 2017). La tasa de mortalidad por enfermedades diarreicas en menores de 5 años es de 7.3 por cada 10 000 habitantes (CONAGUA, 2018) y las enfermedades gastrointestinales ocasionadas por bacterias son la segunda causa de morbilidad en México (Soto *et al.*, 2016).

En la megaciudad de la Ciudad de México, las enfermedades gastrointestinales también son la segunda causa de morbilidad. Los grupos de edad más afectados (de mayor a menor) son las personas entre 25-44 años, los adultos >60 años y los niños <5 años (INAI, 2018).

Debido a lo anterior, resulta de vital importancia detectar la presencia de *E. coli* y *Salmonella* sp. en el agua de lluvia que está siendo captada en la Ciudad de México, pues su presencia representa el riesgo de contraer enfermedades gastrointestinales si llegara a ser utilizada como agua potable (Sadhu *et al.*, 2013). Estos microorganismos ya han sido detectados en agua de lluvia en otros países por lo que diferentes autores como Ram *et al.*, 2008, Helmreich y Horn, 2009, Masters *et al.*, 2011, Gomi *et al.*, 2015 y Gwenzi *et al.*, 2015 sugieren evaluar su presencia, así como la de otros patógenos con la finalidad de conocer la calidad microbiológica del agua de lluvia, lo que permitiría salvaguardar la salud pública de la población que la utiliza.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia de patógenos bacterianos en agua de lluvia captada en la zona sur de la Ciudad de México con el propósito de su aprovechamiento para uso doméstico.

#### 3.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Identificar presencia y abundancia de coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en agua de lluvia.
- ❖ Identificar mediante PCR la presencia del género *Salmonella* sp.
- ❖ Identificar mediante PCR múltiple los patotipos enterotoxigénico (ETEC), enteropatogénico (EPEC), enterohemorrágico (EHEC) y enteroagregativo (EAEC) de *Escherichia coli*.
- ❖ Conocer la relación entre la calidad microbiológica del agua y los hábitos de manejo intradomiciliarios de los sistemas de captación de agua de lluvia.

### 4. MÉTODOS

#### 4.1. TRABAJO DE CAMPO

Considerando las casas en las que se tiene instalado un sistema de captación de agua de lluvia del tipo Tlaloque, se seleccionaron 52 casas localizadas en la zona sur de la Ciudad de México en las delegaciones Tlalpan y Xochimilco (Figura 6) tomando como criterio que tuvieran agua de lluvia al momento del muestreo. Las casas seleccionadas no disponen de agua potable o la reciben por suministro intermitente, con baja presión o por tandeo (Aguilar, 2016; Isla Urbana, 2018). El muestreo se realizó durante la temporada de lluvia en los meses de septiembre y octubre de 2016.

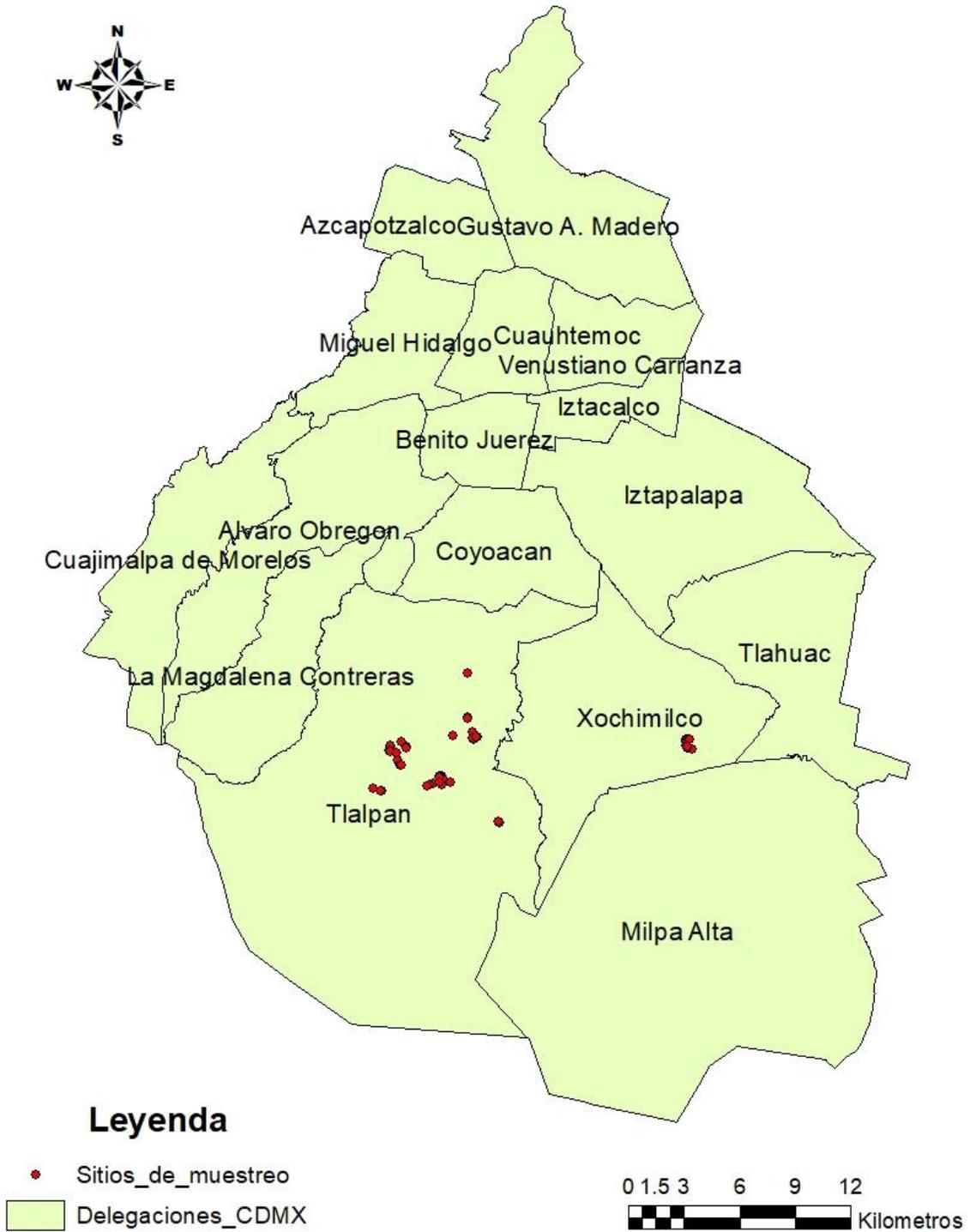
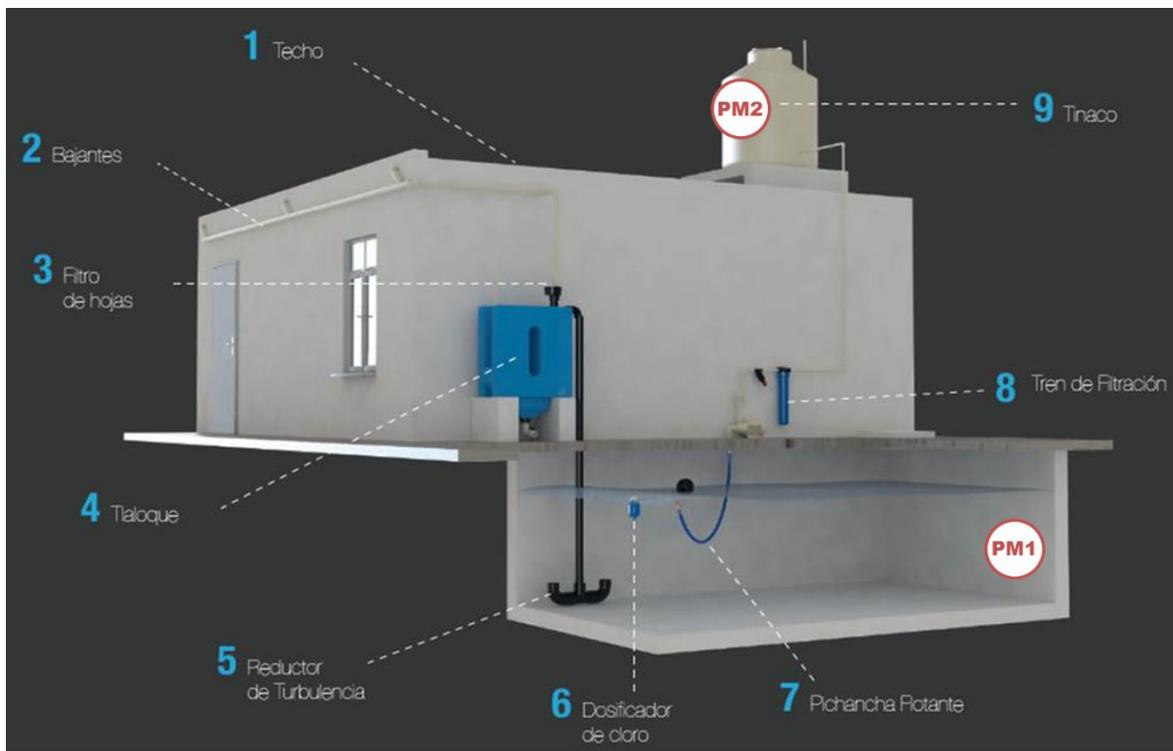


Figura 6 Mapa de sitios de muestreo en las alcaldías Tlalpan y Xochimilco.

El sistema de captación de agua de lluvia fue desarrollado por la organización Isla Urbana y cuenta con nueve elementos, tres de ellos (reductor de turbulencia, dosificador de cloro y pichancha flotantes) se encuentran dentro de la cisterna (Figura 7). La función de cada elemento se especifica en la Tabla 4.

Para propósitos de este estudio, se establecieron dos puntos de muestreo en el sistema, el primero fue la cisterna o lugar donde se almacena el agua de lluvia y el segundo fue el punto de uso o tinaco desde donde se obtiene el agua que se emplea en cada casa, después de pasar por el sistema de filtración (Figura 7). *In situ* se midió el cloro residual libre mediante el método de oxidación de dietil-p-fenilendiamina (DPD) haciendo las lecturas en un espectrofotómetro Hach DR/2400.



**Figura 7 Sistema residencial para la captación de agua de lluvia. PM1 Punto de muestreo 1 (cisterna), PM2 Punto de muestreo 2 (punto de uso). Isla Urbana, 2018.**

Para la cuantificación e identificación de microorganismos se tomó un volumen de 500 mL por triplicado en cada uno de los puntos a muestrear empleando botes de

polipropileno esterilizados a 120 °C durante 20 minutos (APHA, 2005). Las muestras se preservaron a 4 °C hasta su procesamiento dentro de las siguientes 24 horas.

Para conocer los hábitos de manejo e higiene intradomiciliarios del sistema de captación de agua de lluvia se diseñó un cuestionario que fue aplicado durante el muestreo (Anexo 10.1). El cuestionario se aplicó a un integrante de la familia  $\geq 18$  años con la finalidad de identificar las prácticas o hábitos hogareños que pudieran incidir en la calidad microbiológica del agua.

**Tabla 4 Elementos que integran el sistema de captación de agua de lluvia y su función.**

<b>Elemento del sistema</b>	<b>Función</b>
Techo	Captación de agua de lluvia.
Canaletas/bajantes	Conducción del agua de lluvia desde el techo hacia la cisterna.
Filtro de hojas	Impedir el paso de sólidos mayores a 1 mm.
Tlaloque	Evita que el agua de las primeras lluvias entre a la cisterna desechando la parte más sucia y reduciendo la carga de contaminación del agua que se almacena.
Reductor de turbulencia	Permite que el agua ingrese de forma calmada a la cisterna evitando que se resuspendan los sedimentos acumulados en el fondo.
Dosificador de cloro	Libera cloro de manera gradual necesario para la eliminación de bacterias en el agua.
Pichancha flotante	Evitar que la bomba succione el agua del fondo de la cisterna donde se acumulan los sedimentos.
Tren de filtración	El filtro de sedimentos elimina sedimentos menores a 50 micras; el filtro de carbón activado elimina contaminantes más finos así como olores y sabores.
Tinaco	Almacenar agua.

Isla Urbana, 2018.

## 4.2. TRABAJO EXPERIMENTAL

### 4.2.1. CULTIVO

Para el conteo e identificación de coliformes fecales, *Salmonella* sp. y *E. coli* se empleó el método de filtración por membrana (APHA, 2005) utilizando un volumen de muestra de 100 mL y una dilución 1:10 en los casos necesarios. Se emplearon membranas de nitrocelulosa de 48 mm de diámetro y poro de 0.45  $\mu$ m. Tras la filtración, las membranas fueron sembradas e incubadas durante 24 horas, después de lo cual se contó el número de colonias siguiendo las especificaciones de cada uno de los medios (Tabla 5).

**Tabla 5** Especificaciones para el cultivo y detección de microorganismos en agua de lluvia.

Organismos	Medio	Incubación (°C)	Descripción
coliformes fecales	Difco m-FC Agar (Becton Dickinson)	44.5	Colonias azules
<i>Escherichia coli</i>	CHROMagar <i>E. coli</i> (CHROMagar™ & Kambach™)	37	Colonias azules
<i>Salmonella</i> sp.	Agar XLD (MCD LAB)	37	Colonias transparentes con el centro negro

Posteriormente, usando palillos de madera estériles se aislaron las colonias de *E. coli* y *Salmonella* sp. de aquellas cajas donde hubo crecimiento. Las colonias aisladas fueron sembradas en 400  $\mu$ L de medio Luria e incubadas durante 24 horas a 37 °C. Los cultivos se conservaron con glicerol al 80 % (modificado de Dobrowsky *et al.*, 2014) y se mantuvieron a -20 °C para su posterior identificación molecular mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

### 4.2.2. EXTRACCIÓN DE DNA

Previamente para determinar el método de extracción de DNA que se utilizaría en el procesamiento de las muestras se realizaron pruebas con tres diferentes

protocolos: extracción de DNA mediante el método de trizol-cloroformo, mediante el Kit QIAamp DNA minikit (QIAGEN) y mediante hervidos, siendo elegido este último ya que los productos de PCR observados en geles de agarosa fueron visiblemente equivalentes a los obtenidos mediante una extracción con kit. Una vez elegido el método de extracción de DNA se probaron dos condiciones: extraer el DNA a partir de la muestra con enriquecimiento previo o extraer el DNA a partir de la muestra conservada con glicerol. De estas condiciones se eligió la última (Anexo 10.2).

La extracción de DNA mediante hervidos para la detección de *Salmonella* sp. se llevó a cabo de la siguiente manera: se centrifugaron 300 µL de las muestras (conservadas con glicerol) a 14 000 rpm durante 10 minutos. El concentrado de células fue resuspendido en 300 µL de agua grado molecular utilizando vórtex y centrifugado a 14 000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente se resuspendió nuevamente en 200 µL de agua grado molecular con vórtex. Las muestras fueron colocadas en agua hirviendo durante 15 minutos y pasadas a hielo inmediatamente. Posteriormente se centrifugaron a 13 500 rpm a 4 °C durante 5 minutos y el sobrenadante fue transferido a un tubo eppendorf nuevo para ser colocado nuevamente en agua hirviendo durante 10 minutos y después en hielo. Una alícuota de 10 µL del sobrenadante fue usado como DNA templado para la PCR (modificado de De Medici *et al.*, 2003).

La extracción de DNA mediante hervidos para la identificación de *E. coli* y sus patotipos consistió en centrifugar 300 µL de las muestras (conservadas con glicerol) a 14 000 rpm durante 10 minutos. El concentrado de células fue resuspendido en 300 µL de agua grado molecular utilizando vórtex, colocado en agua hirviendo durante 10 minutos y puesto en hielo inmediatamente. Posteriormente la muestra fue centrifugada a 13 500 rpm a 4 °C durante 5 minutos. Por último, el sobrenadante fue transferido a un tubo eppendorf nuevo. Una alícuota de 10 µL del sobrenadante fue empleado como DNA templado para la PCR (modificado de Tobias y Vutukuru, 2012).

### 4.2.3. PCR

La identificación molecular de las colonias aisladas de *Salmonella* sp. y de *E. coli* se llevó a cabo mediante pruebas de PCR. Todos los productos de PCR se observaron en gel de agarosa al 1.5 % cargando 7  $\mu$ L del producto obtenido con 1  $\mu$ L de buffer de carga. Se utilizaron 2  $\mu$ L del marcador de peso molecular. La corrida duró 70 minutos a 100 V y 70 mA. Posteriormente el gel fue teñido durante 10 minutos con bromuro de etidio y visualizado bajo luz UV en un transiluminador BIO RAD.

#### 4.2.3.1. IDENTIFICACIÓN DE *SALMONELLA* SP.

148 muestras fueron procesadas para la identificación de *Salmonella* sp. mediante la amplificación de un fragmento del gen *ompC* de 204 pb (Tabla 8) utilizando la técnica de PCR simple (sólo se utiliza un par de cebadores) (Tobias y Vutukuru, 2012). Se realizó una mezcla maestra con los reactivos 1-6 mostrados en la Tabla 6 (los volúmenes mostrados corresponden a una sola reacción). En cada tubo para PCR se colocaron 15  $\mu$ L de la mezcla maestra más 10  $\mu$ L de DNA de la muestra, obteniendo un volumen final de reacción de 25  $\mu$ L. Las cantidades corresponden a lo recomendado en el kit Taq DNA Polymerase (1 U/ $\mu$ L) (Roche).

**Tabla 6 Especificaciones para la detección de *Salmonella* sp. y *E. coli* mediante PCR.**

No.	Reactivo	Volumen	Concentración inicial	Concentración final
1	Agua	6.75 $\mu$ L	-	-
2	Buffer con MgCl <sub>2</sub>	2.5 $\mu$ L	Buffer 10X MgCl <sub>2</sub> 15 mM	Buffer 1X MgCl <sub>2</sub> 1.5 mM
3	DNTPs	0.5 $\mu$ L	10 mM	200 $\mu$ M
4	Cebador F	2.5 $\mu$ L	1 $\mu$ M	0.1 $\mu$ M
5	Cebador R	2.5 $\mu$ L	1 $\mu$ M	0.1 $\mu$ M
6	Taq pol	0.25 $\mu$ L	1 U	0.01 U
7	DNA	10 $\mu$ L		
Volumen final		25 $\mu$ L		

El programa empleado en el termociclador consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C por 2 minutos; 30 ciclos a 95 °C durante 1 minuto (desnaturalización), 57 °C durante 1 minuto (alineación) y 72 °C durante 2 minutos

(extensión); y una extensión final a 72 °C durante 5 minutos (Jawad y Al-Charrakh, 2016). El control negativo utilizado fue DNA de *Escherichia coli* K12 mientras que el control positivo consistió en DNA de *Salmonella* ATCC 700730. Los cebadores utilizados para detectar *Salmonella* sp. se presentan en la Tabla 8.

#### 4.2.3.1.1. CONTROLES INTERNOS

Para descartar falsos negativos se emplearon controles internos en el método de extracción de DNA y en la PCR en el 10 % de las muestras (15 muestras). Las muestras fueron elegidas al azar mediante el programa Microsoft Excel 2010 de la siguiente manera: se creó una lista del número 1 al 148 (número total de muestras) en la celda A; en la celda B se insertó la función “ALEATORIO” para cada uno de los valores de la celda A; se seleccionó la columna B y A y se ordenaron los valores del menor al mayor; por último, se seleccionaron los primeros 15 números de la columna A correspondientes a las muestras seleccionadas al azar que fueron procesadas.

**Controles internos para el método de extracción de DNA.** En tubos eppendorf nuevos y estériles de 1.5 mL se colocaron 150 µL de la muestra seleccionada al azar (recrecida) más 150 µL del cultivo del control positivo. El control negativo consistió en 300 µL de cultivo de *Escherichia coli* K12. Para el control positivo se emplearon 300 µL de cultivo de *Salmonella* ATCC 700730. La extracción de DNA y la PCR se realizaron con los métodos descritos anteriormente (Anexo 10.3).

**Controles internos para la PCR.** En cada tubo para PCR se colocaron 15 µL de la mezcla maestra, 5 µL de DNA de la muestra seleccionada al azar más 5 µL de DNA del control positivo. Posteriormente se ejecutó el programa para la PCR anteriormente descrito. Para el control negativo se emplearon 15 µL de la mezcla maestra más 10 µL de DNA de *Escherichia coli* K12. El control positivo consistió en 15 µL de la mezcla maestra -más 10 µL de DNA de *Salmonella* ATCC 700730 (Anexo 10.3).

#### 4.2.3.1.2. DESCRIPCIÓN DE COLONIAS

Se resembró el 10 % de las muestras seleccionadas al azar (las mismas utilizadas en los controles internos) tomando con un asa bacteriológica un poco de la muestra, estriando en medio Agar XLD (MCD LAB) e incubando a 37 °C durante 24 horas (Anexo 10.4). Posteriormente los cultivos fueron fotografiados empleando una cámara Canon Inc. de 16 mega pixeles.

#### 4.2.3.2. CONFIRMACIÓN DE *E. COLI*

De un total de 784 colonias aisladas del medio CHROMagar *E. coli* (CHROMagar™ & Kambach™) se seleccionó el 10 % (78 colonias) de las muestras para ser procesadas. Las muestras fueron elegidas al azar mediante el programa Microsoft Excel 2010 (estrategia descrita en el apartado “Controles internos”).

Como paso previo a la identificación de los patotipos de *E. coli* se realizó una prueba de PCR simple (Anexo 10.5) para corroborar que las colonias aisladas efectivamente fueran *E. coli* mediante la amplificación de un fragmento de 167 pb correspondiente al gen *uidA* (Tabla 8). Para la PCR se realizó una mezcla maestra con los reactivos 1-6 mostrados en la Tabla 6 (los volúmenes corresponden a una sola reacción). En cada tubo para PCR se colocaron 15 µL de la mezcla maestra más 10 µL de DNA de la muestra de interés, obteniendo un volumen final de reacción de 25 µL. Las cantidades corresponden a lo recomendado por el kit Taq DNA Polymerase (1 U/µL) (Roche).

El programa utilizado fue el siguiente: una desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 minutos; 30 ciclos de: 95 °C durante 30 segundos (desnaturalización), 60 °C durante 30 segundos (alineación) y 72 °C durante 30 segundos (extensión); y una extensión final a 72 °C durante 5 minutos (Maheux *et al.*, 2009). El control negativo consistió en DNA de la cepa *Salmonella* ATCC 700730 mientras que el control positivo consistió en DNA de *Escherichia coli* K12.

#### 4.2.3.3. IDENTIFICACIÓN DE PATOTIPOS DE *E. COLI*

Una vez confirmado que las colonias aisladas correspondían a *E. coli* se realizó la detección de los patotipos ETEC, EPEC, EHEC y EAEC mediante una PCR múltiple. Esta técnica ha sido ampliamente utilizada en la detección de DEC y consiste en el uso de dos o más pares de cebadores en la misma reacción (Tobias y Vutukuru, 2012).

Como paso previo se probó mediante una PCR simple que cada par de cebadores funcionara correctamente en la identificación de las cepas control para cada patotipo, es decir, se probó que los cebadores LT y STp permitieran identificar a la cepa control ETEC, que Eae permitiera identificar a la cepa control EPEC y EHEC, que el cebador pCVD432 identificara a EAEC y el cebador VTcom a EHEC (Tabla 8). Las condiciones de la PCR incluyeron mezclas maestras con los reactivos 1-6 mostrados en la Tabla 6. En cada tubo para PCR se colocaron 15  $\mu$ L de la mezcla maestra más 10  $\mu$ L de DNA de las cepas control, obteniendo un volumen final de reacción de 25  $\mu$ L. Las cantidades corresponden a lo recomendado por el kit Taq DNA Polymerase (1 U/ $\mu$ L) (Roche).

El programa utilizado fue obtenido mediante ensayo y error teniendo como guía el empleado en la identificación de *E. coli*. Consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 minutos; 30 ciclos a 95 °C durante 30 segundos (desnaturalización), 53 °C durante 30 segundos (alineación) y 72 °C durante 30 segundos (extensión); y una extensión final a 72 °C durante 5 minutos.

Posteriormente, se realizaron pruebas para poder incluir todos los cebadores en una sola reacción (PCR múltiple). Para estas pruebas se utilizó la mezcla maestra con los reactivos mostrados en la Tabla 7 empleando cebadores con una concentración inicial 10  $\mu$ M. En este caso se colocaron en la misma reacción 0.625  $\mu$ L de cada uno de los cebadores Forward (cuatro) y 0.625  $\mu$ L de cada uno de los cebadores Reverse (cuatro).

**Tabla 7 Especificaciones para la detección de patotipos diarreagénicos de *E. coli* mediante PCR múltiple**

No.	Reactivo	Volumen	Concentración inicial	Concentración final
1	Agua	5.25 µL	-	-
2	Buffer	2.5 µL	10X	1X
3	MgCl <sub>2</sub>	1.5 µL	15 mM	1.5 mM
3	DNTPs	0.5 µL	10 mM	200 µM
4	Cebador F (cada patotipo)	0.625 µL	10 µM	1 µM
5	Cebador R (cada patotipo)	0.625 µL	10 µM	1 µM
6	Taq pol	0.25 µL	1 U	0.01 U
7	DNA	10 µL		
Volumen final		25 µL		

**Tabla 8 Cebadores utilizados en la identificación de los microorganismos de interés.**

Organismo	Gen blanco	Cebador	Secuencia (5'-3')	Tamaño (pb)	T de alineación (°C)	Referencia
<i>Salmonella</i> sp.	ompC	OMPCF	ATCGCTGACTTATGCAATCG	204	57 °C	Guimarães de Freitas <i>et al.</i> , 2010
		OMPCR	CGGGTTGCGTTATAGGTCTG			
<i>Escherichia coli</i>	uidA	UAL1939b UAL2105b	ATGGAATTTGCGCGATTTTGC ATTGTTTGCCTCCCTGCTGC	167	60 °C	Maheux <i>et al.</i> , 2009
ETEC	elt	LT FW LT RV	ACGGCGTACTATCCTCTC TGGTCTCGGTCAGATATGTG	273	52 °C	Tobias y Vutukuru, 2012
	estA1	STp FW STp RV	TCTTTCCCTCTTTTAGTCAG ACAGGCAGGATTACAACAAAG	166		
EAEC	CVD432	pCVD432 FW pCVD432 RV	CTGGCGAAAGACTGTATCAT AAATGTATAGAAATCCGCTGTT	630		
EPEC	eae	Eae FW Eae RV	TCAATGCAGTTCCGTTATCAGTT GTAAAGTCCGTTACCCAACCTG	482		
EHEC	Stx <sub>1</sub> +Stx <sub>2</sub>	VTcom FW VTcom RV	GAGCGAAATAATTTATATGTG TGATGATGGCAATTCAGTAT	518		

Debido a que no se logró incluir al cebador VTcom en la misma reacción, se decidió procesar las muestras en dos etapas: en la primera se utilizó la PCR múltiple que permitiera identificar a ETEC, EAEC y EPEC-EHEC colocando juntos los cebadores LT FW, LT RV, STp FW, STp RV, pCVD432 FW, pCVD432 RV, Eae FW y Eae RV (8 en total) (especificaciones de la Tabla 7). En la segunda etapa se

procesaron las muestras positivas para EPEC-EHEC mediante PCR simple dirigido a VTcom (especificaciones de la Tabla 6) lo cual permitió diferenciar entre ambos patotipos.

Una vez montada la técnica de PCR múltiple se procedió a procesar las 78 muestras confirmadas para *E. coli* mediante una PCR múltiple con las condiciones mencionadas en la Tabla 7 y el programa mencionado anteriormente en este apartado.

#### 4.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis del número de bacterias encontradas mediante el método de filtración por membrana se utilizó la media geométrica.

Un diagrama de caja y bigote fue empleado para representar las concentraciones de coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. presentes en las muestras de agua de lluvia colectadas en la cisterna y el punto de uso el cual fue elaborado mediante el software RStudio-1.1.423.exe.

Para determinar la posible relación entre la presencia del indicador CF y los patógenos *E. coli* y *Salmonella* sp. así como de éstos con la concentración de cloro se llevó a cabo una prueba no paramétrica debido a que los datos no muestran una distribución normal. El análisis de correlación efectuado fue el de Spearman utilizando el software InfoStat 2017.1.2.

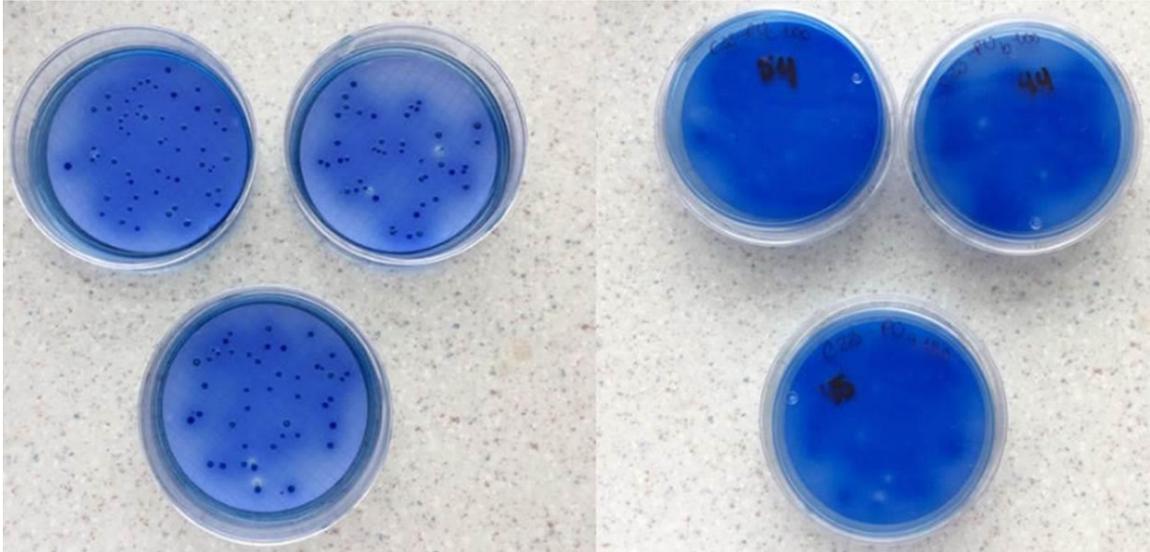
### 5. RESULTADOS

#### 5.1. PRESENCIA Y ABUNDANCIA DE MICROORGANISMOS EN AGUA DE LLUVIA

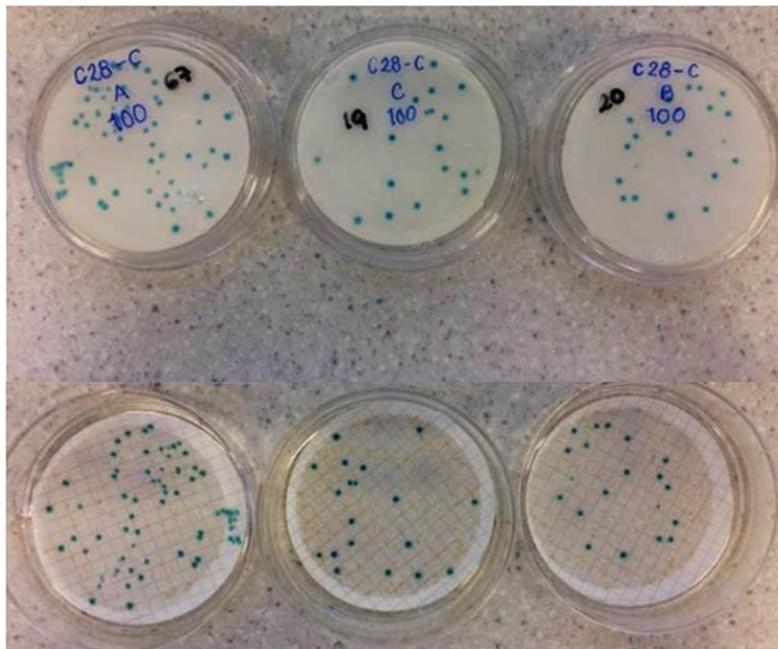
Los microorganismos de interés para este estudio fueron coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. de los cuales se identificó su presencia y abundancia.

Para el conteo de CF se consideraron como positivas las colonias azules en medio Difco m-FC Agar (Becton Dickinson) (Figura 8), para *E. coli* se consideraron como

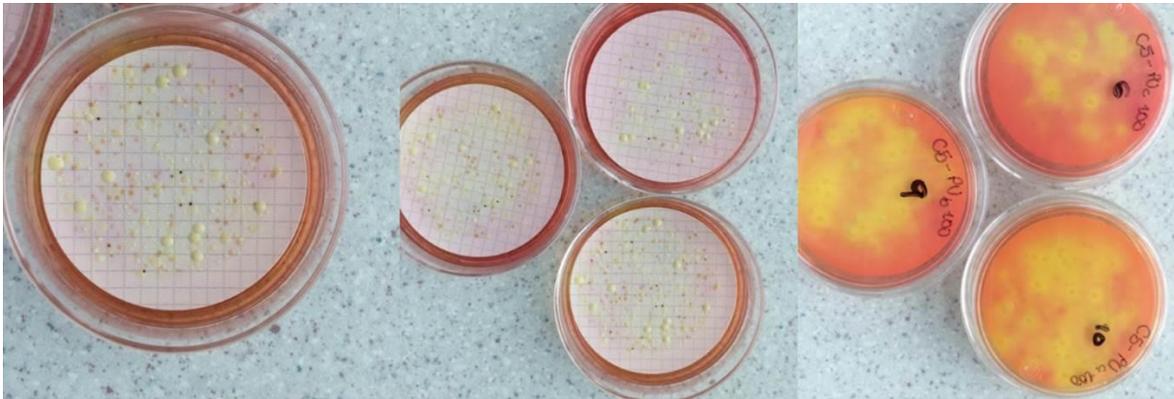
positivas las colonias de color azul en medio CHROMagar *E. coli* (CHROMagar™ & Kambach™) (Figura 9) y para *Salmonella* sp. se consideraron como positivas las colonias transparentes con el centro negro en medio Agar XLD (MCD LAB) (Figura 10).



**Figura 8** Coliformes fecales detectados en agua de lluvia de la Ciudad de México.



**Figura 9** *Escherichia coli* detectada en muestras de agua de lluvia de la Ciudad de México.



**Figura 10 Presuntas *Salmonella* sp. detectadas en muestras de agua de lluvia de la Ciudad de México.**

En los tres medios se presentó el crecimiento de otras bacterias con características morfológicas diferentes a las antes descritas, al no ser parte de los objetivos de este estudio no fueron identificadas.

El cultivo de las muestras indicó la presencia del indicador coliformes fecales en el 59.6 % de las cisternas mientras que en el punto de uso sólo el 40.5 % de las muestras resultaron ser positivas. La disminución en el número de casos positivos de la cisterna al punto de uso también se observó para el patógeno *E. coli* mientras que para *Salmonella* sp. ocurrió lo contrario (Tabla 9). En la Tabla 9 se puede notar que es más común encontrar CF y *E. coli* que *Salmonella* sp. tanto en la cisterna como en el punto de uso.

**Tabla 9 Presencia de microorganismos de interés en agua de lluvia.**

Microorganismo	Presencia (%)	
	Cisterna	Punto de uso
coliformes fecales	59.6	40.5
<i>Escherichia coli</i>	54.1	36.4
<i>Salmonella</i> sp.	7.7	13.5

En promedio, la concentración del indicador CF en la cisterna es de 5.8 UFC/100 mL y en el punto de uso es de 3.7 UFC/100 mL. La concentración promedio de *E.*

*coli* es de 3.9 y 2.5 UFC/100 mL en cisterna y punto de uso respectivamente, mientras que *Salmonella* sp. estuvo presente en una concentración promedio de 1 UFC/100 mL en ambos puntos de muestreo (Tabla 10).

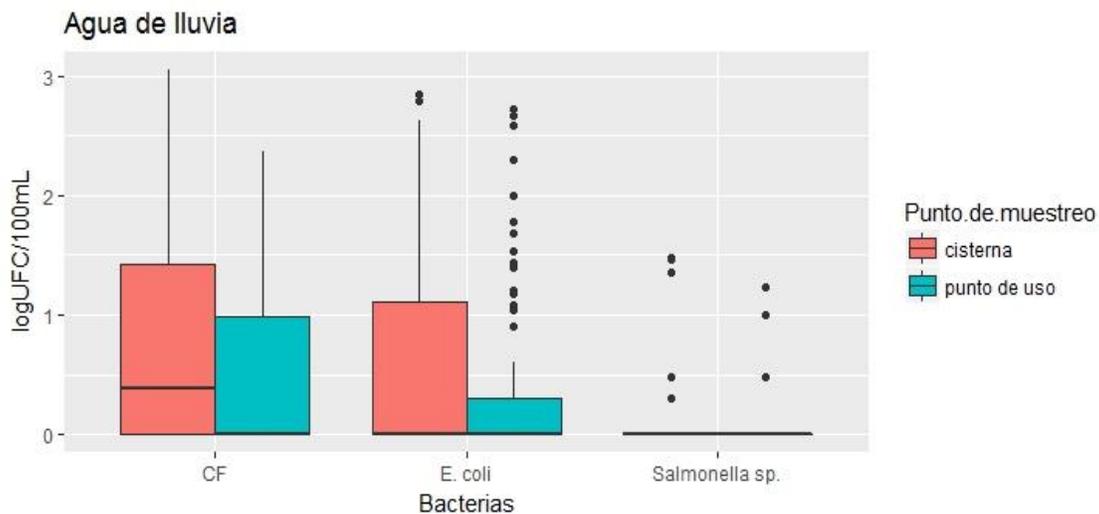
**Tabla 10 Resultados del análisis microbiológico de muestras de agua de lluvia.**

Parámetro	Cisterna			Punto de uso		
	Media	Rango	n	Media	Rango	n
coliformes fecales (UFC/100 mL)	5.8	0-1,130	52	3.7	0-820	37
<i>E. coli</i> (UFC/100 mL)	3.9	0-710	48	2.5	0-520	33
<i>Salmonella</i> (UFC/100 mL)	1	0-30	52	1	0-17	37
CRL (mg/L)	0.9	0.02-8.7	16	0.4	0.02-0.07	8
Temperatura (°C)	16.1	3.7-21.9	52	15.9	10.7-21.9	37
pH	7.6	6.0-10.1	52	7.7	6.1-10.6	37

En la Tabla 10, se puede observar que la concentración promedio de CRL en la cisterna fue de 0.9 mg/L mientras que en el punto de uso se redujo a 0.4 mg/L, sin embargo, los datos de cada casa indican que ninguna se encuentra dentro de los límites de CRL establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000) estando la mayoría por debajo del límite mínimo de 0.2 mg/L mientras que dos casas tuvieron valores muy por encima del límite máximo que es de 1.5 mg/L. Tanto para las casas donde los niveles de cloro fueron muy bajos o muy altos, hubo casos donde no se detectó crecimiento de CF, *E. coli* y *Salmonella* sp.

En la Figura 11 se puede observar que hay una disminución en la concentración de CF y *E. coli* de la cisterna al punto de uso. En esta imagen las concentraciones de microorganismos fueron convertidos a log para poder visualizar lo anterior. Si se emplean las concentraciones en UFC se puede notar que la mayoría de las

muestras para CF en la cisterna tuvieron una concentración entre 1 y 25 UFC/100 mL siendo el valor más alto de 1130 UFC/100 mL (Tabla 10) mientras que en el punto de uso esta concentración se redujo a un intervalo entre 1 y 10 UFC/100 mL con un valor máximo de 820 UFC/100 mL. En el caso de *E. coli*, también se observa una reducción de las concentraciones de la cisterna al punto de uso cuyas concentraciones en su mayoría oscilan entre 1-13 UFC/100 mL y 1-3 UFC/100 mL respectivamente. Para estos dos microorganismos,  $\geq 50\%$  de las muestras tienen una concentración  $>1$  UFC/100 mL en ambos puntos de muestreo por lo que todas ellas sobrepasan los límites permitidos por la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000) de Agua para Uso y Consumo Humano. Por otro lado, se observa que la mayoría de las muestras tienen una concentración  $<1$  UFC/100 mL para *Salmonella sp.*, aunque existen algunos valores de hasta 30 y 17 UFC/100 mL en cisterna y punto de uso respectivamente (Tabla 10).



**Figura 11 Abundancia de CF, *E. coli* y *Salmonella sp.* en la cisterna y el punto de uso.**

Para determinar la posible correlación entre la presencia de los microorganismos considerados en este trabajo (CF, *E. coli* y *Salmonella sp.*) y de éstos con el Cloro Residual Libre (CRL) se realizó una prueba de correlación de Spearman. Esta es una prueba no paramétrica cuyos valores oscilan entre -1 y 1, indicando que la correlación puede ser positiva o negativa; un valor cercano a 1 indica una mayor

correlación entre las variables mientras que un valor cercano a cero indica que no hay correlación entre ellas. El nivel de significancia considerado es del 5 % o  $\alpha=0.05$ .

En la Tabla 11 se observa el coeficiente de correlación en la diagonal inferior, mientras que la significancia se encuentra en la diagonal superior. Los resultados indican que tanto en cisterna como en punto de uso existe una correlación fuerte entre CF y *E. coli* y una correlación débil pero estadísticamente significativa entre *E. coli* y *Salmonella* sp. Por otro lado, en la cisterna no existe una relación entre CF y *Salmonella* sp. pero en el punto de uso sí, aunque es débil. En todos los casos anteriores las correlaciones son positivas lo que indica que en la medida que uno de los microorganismos aumenta el otro también lo hace. En el caso del CRL no se encontró ninguna correlación estadísticamente significativa con los microorganismos de interés en ninguno de los puntos de muestreo.

**Tabla 11 Coeficientes de correlación de Spearman en cisterna y punto de uso ( $\alpha= 0.05$ ).**

	CF	<i>E. coli</i>	<i>Sal sp.</i>	CRL
Cisterna				
CF	1.000	0.000	0.080	0.110
<i>E. coli</i>	0.920	1.000	0.010	0.370
<i>Sal sp.</i>	0.150	0.220	1.000	0.570
CRL	-0.130	-0.080	-0.050	1.000
Punto de uso				
CF	1.000	0.000	0.003	0.175
<i>E. coli</i>	0.861	1.000	0.002	0.179
<i>Sal sp.</i>	0.296	0.303	1.000	0.241
CRL	-0.137	-0.136	-0.119	1.000

## 5.2. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE INTERÉS MEDIANTE PCR

El método de extracción de DNA utilizado en el procesamiento de las muestras fue el de hervidos. Al utilizar éste método, los productos de PCR observados en geles

de agarosa son visiblemente equivalentes a los obtenidos mediante una extracción con kit. El método de hervidos permite extraer el DNA directamente de los cultivos conservados con glicerol sin que esto afecte la PCR (Anexo 10.2), lo cual disminuye el tiempo necesario para procesar las muestras ya que no se requiere del recrecimiento de las mismas.

Los autores que han utilizado este método de extracción de DNA coinciden en que es una técnica simple, rápida, efectiva y reproducible que no requiere de equipo sofisticado para llevarse a cabo por lo que también es económico (Mogamedi *et al.*, 2007; Queipo *et al.*, 2008; Ahmed *et al.*, 2014) y tiene la misma eficiencia que los kits comerciales (Li y Mustapha, 2005). De Medici y colaboradores (2003) seleccionaron este método de extracción como el mejor para la detección de *Salmonella enterica* en muestras de carne y Tobias y Vutukuru, 2012 empleó este método de extracción en la identificación de los principales patotipos de *E. coli* diarreagénica en muestras de heces humanas.

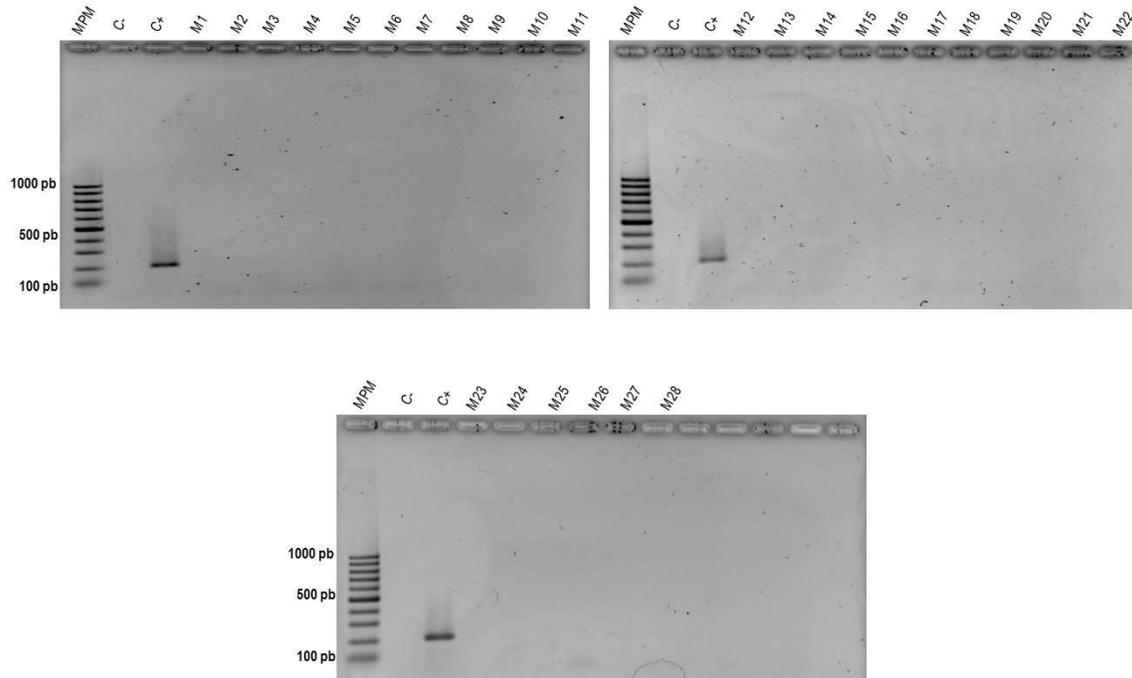
#### 5.2.1. DETECCIÓN DE *SALMONELLA SP.*

Los cebadores utilizados en la detección de *Salmonella sp.* estuvieron dirigidos al gen *ompC* responsable de la síntesis de la proteína C involucrada en la invasión a células epiteliales (Jawad y Al-Charrakh, 2016). El peso molecular de la región amplificada fue de 204 pb.

Los resultados del procesamiento mediante PCR indican que ninguna de las muestras corresponde al género *Salmonella sp.* a pesar de que en medio Agar XLD (MCD LAB) las colonias cumplieron con las características morfológicas especificadas para este género (Figura 12).

Para descartar falsos negativos se emplearon controles internos con los cuales se pudo confirmar que las muestras procesadas mediante PCR no corresponden al género *Salmonella sp.* (Anexo 10.3). Los controles internos empleados para la PCR permitieron descartar la inhibición de la reacción por afectar a la Taq polimerasa, agua, DNTPs o buffer, mientras que los controles internos para el

método de extracción de DNA permitieron descartar la presencia de contaminación ambiental mediante compuestos orgánicos e inorgánicos como metales pesados o iones en la muestra con el potencial de inhibir la PCR (Ahmed *et al.*, 2008; Sandoval *et al.*, 2013) o bien que durante la extracción algún procedimiento en el método estuviera afectando la PCR.



**Figura 12 Resultados del procesamiento mediante PCR de presuntas *Salmonella* sp. en muestras de agua de lluvia. MPM Marcador de Pesos Moleculares de 100 pb, C- Control negativo (DNA de *E. coli* K12), C+ Control positivo (DNA de *Salmonella* sp. ATCC 700730).**

Los resultados de los cultivos indican que al crecer muestras en medio Agar XLD (MCD LAB) éstas pueden tener las características morfológicas de *Salmonella* sp. y sin embargo no serlo. Para corroborar lo anterior, se realizó la descripción de las colonias del 10 % de las muestras procesadas mediante PCR (14 muestras) y se compararon con las colonias del control positivo (*Salmonella* ATCC 700730). Las especificaciones del medio Agar XLD (MCD LAB) indican que los cultivos pueden ser incubados de 24 a 48 horas, por lo que se tomaron estos dos tiempos. Después de 24 horas de incubación, las colonias del control positivo fueron transparentes con el centro negro como lo reportado por Grimont *et al.*, 2000 y

Maddocks *et al.*, 2002., algunas muestras, al igual que el control, tuvieron esta morfología mientras otras presentaron colonias blancas. A las 48 horas de incubación, las colonias que en un principio eran blancas también tuvieron el centro negro (Anexo 10.4) por lo que después de este tiempo también pueden ser confundidas con *Salmonella* sp.

La especificidad de los cebadores utilizados en la detección del género *Salmonella* sp. mediante PCR fue confirmada a través de un BLAST, para ello se comparó la secuencia amplificada por los cebadores con las secuencias encontradas en la base de datos de NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). La región amplificada de 204 pb correspondiente al gen *ompC* y tiene una identidad del 100 % con *Salmonella enterica* subsp. *enterica* y sus diferentes serotipos (CP019415.1; CP019407.1; CP019406.1, etc.) y del 90 % con *Salmonella bongori* (FR877557.1; CP006608.1; CP006692.1) lo que indica que los cebadores permiten identificar a todo el género pues es específico para las dos especies que lo conforman (*Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*) (Cabral, 2010).

## 5.2.2. DETECCIÓN DE PATOTIPOS DE *ESCHERICHIA COLI*

### 5.2.2.1. CONFIRMACIÓN DE *E. COLI*

Como paso preliminar al procesamiento para la detección de patotipos, se confirmó que el 10 % de las muestras seleccionadas al azar correspondieran a *E. coli* empleando la prueba de PCR para detectar la presencia del gen *uidA* (Anexo 10.5) específico de este microorganismo y que codifica para la enzima  $\beta$ -D-glucoronidasa, encargada de la degradación de carbohidratos (Maheux *et al.*, 2009). Los cebadores utilizados en este trabajo amplifican un segmento de 167 pb y han sido empleados satisfactoriamente en la detección de *E. coli* en muestras de agua (Ahmed *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014; Ferdous *et al.*, 2016; Kibbee y Örmeci, 2017). Además, Maheux y colaboradores (2009) seleccionaron este par de cebadores como los de mayor especificidad y ubicuidad para *E. coli*.

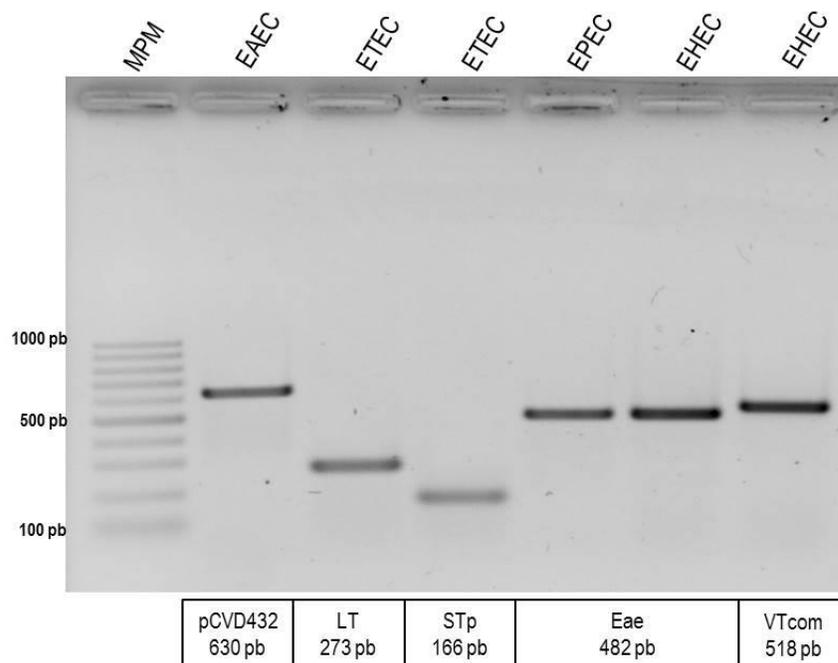
Para corroborar lo anterior se realizó un BLAST dirigido a todos los organismos dentro de la base de datos de NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) obteniéndose un 100

% de identidad con diferentes cepas de *E. coli* como 95NR1 (CP021339.1), CH611 (CP017980.1), S10 (CP010229.1), O177:H21 (CP016546.1), SQ2203 (CP011416.1) entre muchas otras.

Mediante la detección del gen *uidA* también se confirmó que las cepas empleadas como controles positivos para la detección de los patotipos de *E. coli* diarreagénica pertenecieran a esta especie (Anexo 10.5). Una vez confirmados los controles y las muestras, se procedió a la detección de los patotipos mediante PCR múltiple.

#### 5.2.2.2. PCR MÚLTIPLE PARA DETECCIÓN DE PATOTIPOS

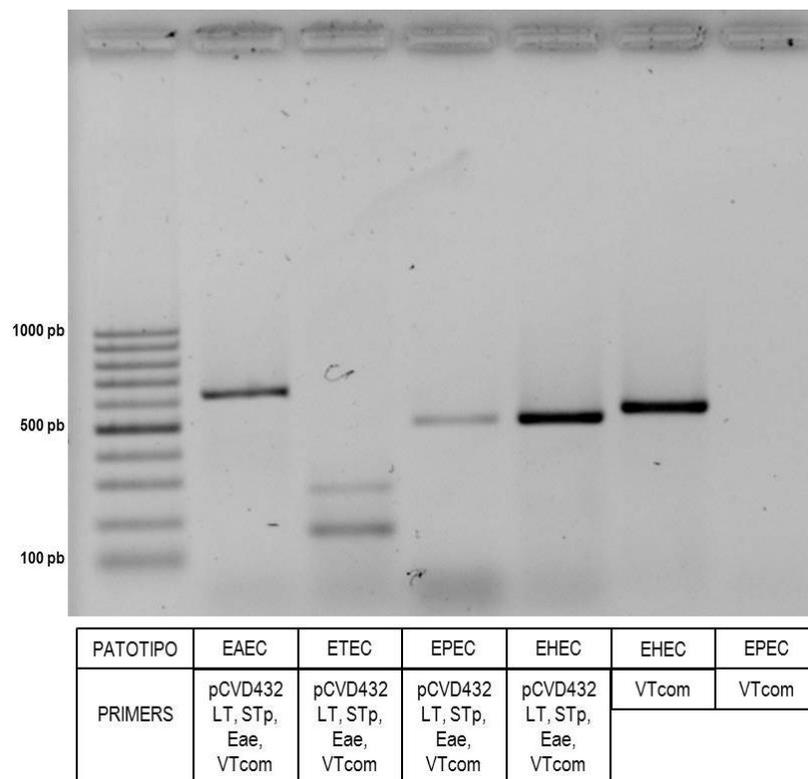
Como paso preliminar al procesamiento de las muestras se probó que cada par de cebadores (mencionados en el método) amplificara la región blanco y por tanto identificara correctamente la cepa a la cual están dirigidos. Esta prueba se realizó con el DNA de las cepas control mediante una PCR simple.



**Figura 13 Prueba de especificidad de cebadores para las cepas control de los patotipos de *E. coli*. MPM Marcador de Pesos Moleculares de 100 pb, Líneas 2-7 resultados de la PCR para cada juego de cebadores, el peso molecular de la banda esperada y el patotipo utilizado (EAEC, ETEC, EPEC y EHEC).**

Como se puede observar en la Figura 13, los productos de PCR corresponden a los tamaños esperados: 630 pb del cebador pCVD432 para el patotipo EAEC, 273 pb del cebador LT y 166 pb del cebador STp para el patotipo ETEC, 482 pb del cebador Eae para los patotipos EPEC y EHEC y 518 pb del cebador VTcom para el patotipo EHEC.

Una vez confirmada la especificidad de los cebadores se continuó con el montaje de la técnica de PCR múltiple con los controles positivos para lo cual se incluyeron los cebadores pCVD432, LT, STp, Eae y VTcom en la misma reacción, esto para cada una de las cepas control.



**Figura 14 PCR múltiple para las cepas control de los patotipos de *E. coli*. Línea 1 Marcador de Pesos Moleculares de 100 pb, Línea 2 amplificación de pCVD432, Línea 3 amplificación de LT y STp, Línea 4 y 5 amplificación de Eae, Línea 6-7 PCR simple con amplificación de VTcom en EHEC.**

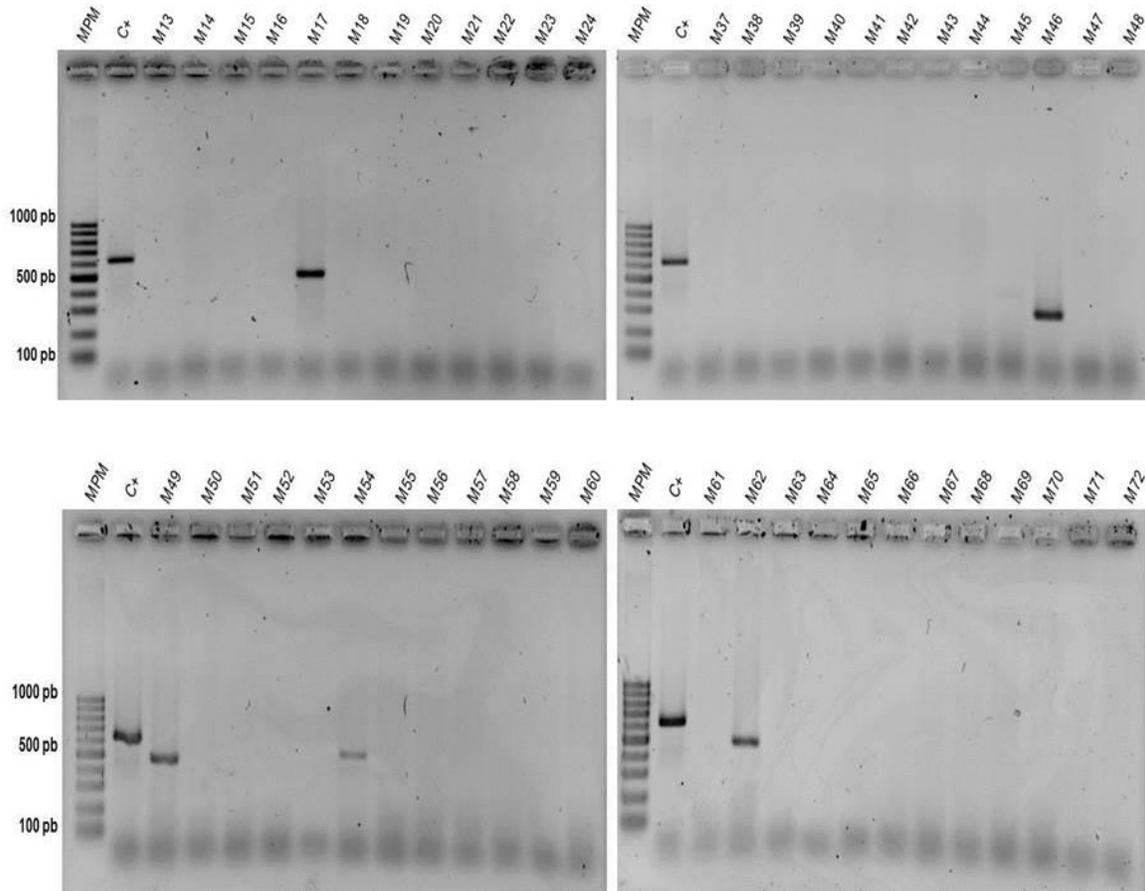
En la Figura 14 se observa que al utilizar los cinco pares de cebadores se puede identificar a los patotipos: EAEC del cual se amplifica un segmento de 630 pb

como producto del cebador pCVD432, a ETEC del que se amplifica un segmento de 273 y 166 pb correspondientes a LT y STp respectivamente y a EPEC, del cual se observa una banda de 482 pb correspondiente a Eae. Para EHEC se amplificó un segmento de 482 pb correspondiente al cebador Eae, pero no el de 518 pb del cebador VTcom.

En la penúltima línea de la Figura 14 se observa que únicamente cuando el cebador VTcom es utilizado solo en la PCR amplifica correctamente, razón por la cual se decidió procesar las muestras mediante PCR en dos etapas. La primera etapa consistió en una PCR múltiple con los cebadores pCVD432, LT, STp y Eae y una segunda etapa que consistió en una PCR simple que se llevó a cabo en los casos donde resultó amplificado el fragmento de 482 pb correspondiente a Eae, el cual indica la presencia de EPEC o EHEC. En estos casos la segunda etapa de la PCR incluyó sólo al cebador VTcom para así poder saber si se trata del patotipo EHEC, ya que la región amplificada por este cebador (toxinas stx1 + stx2) no se encuentra en EPEC (última línea de la Figura 14).

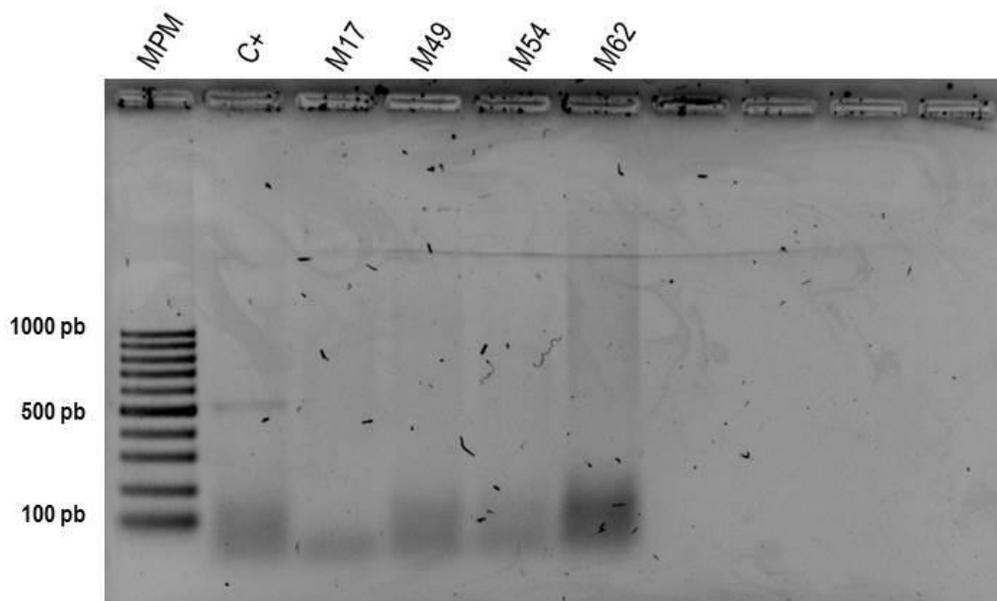
Una vez montada la técnica de PCR múltiple se continuó con el análisis de las 78 muestras confirmadas como *E. coli*. De este procesamiento se obtuvo que la M46 resultó positiva para LT (273 pb) lo que significa que esta muestra corresponde al patotipo ETEC. Por otro lado, en las muestras M17, M49, M54 y M62 se observa una banda de 482 pb que corresponde al fragmento del cebador Eae (Figura 15) indicando que podrían tratarse del patotipo EPEC o de EHEC.

En la segunda etapa del procesamiento se tomó el DNA de las muestras M17, M49, M54 y M62 que resultaron positivas para Eae y se realizó una PCR simple con el cebador VTcom. Como se muestra en la Figura 16, todas las muestras resultaron negativas, lo que indica que las muestras no pertenecen al patotipo EHEC sino al patotipo EPEC.



**Figura 15 Resultados del procesamiento de muestras mediante PCR múltiple. MPM Marcador de Pesos Moleculares de 100 pb, C+ Control positivo (DNA de EAEC), M17, M49, M54 y M62 muestras positivas para Eae (482 pb). M46 muestra positiva para LT (273 pb).**

Las muestras que resultaron positivas para patotipos diarregénicos de *E. coli* corresponden a tres casas diferentes. En la primera casa la muestra de cisterna resultó positiva para LT lo que indica la presencia del patotipo ETEC mientras que la muestra del punto de uso resultó positiva para Eae indicando la presencia del patotipo EPEC. En la segunda casa EPEC estuvo presente tanto en la cisterna como en el punto de uso. En la tercera casa EPEC estuvo presente únicamente en la cisterna.



**Figura 16 Resultados de la segunda etapa del procesamiento de muestras mediante PCR múltiple para la diferenciación entre EPEC y EHEC. MPM Marcador de Pesos Moleculares de 100 pb, C+ Control positivo (EHEC), Línea 3-6 muestras negativas para VTcom (518 pb).**

### 5.3. HÁBITOS DE MANEJO DE LOS SISTEMAS DE CAPTACIÓN DE AGUA DE LLUVIA

El muestreo se realizó en 52 casas localizadas en las alcaldías de Tlalpan y Xochimilco de la Ciudad de México. En estas casas se encuentra instalado el sistema Tlaloque para la captación de agua de lluvia desarrollado por Isla Urbana.

En la Figura 17 se muestran los elementos del sistema de captación de agua de lluvia observados en campo: el sistema de canaletas, el filtro de hojas, el Tlaloque, la cisterna donde se localiza el reductor de turbulencia, el dosificador de cloro y la pichancha flotante, además de una bomba necesaria para extraer el agua de la cisterna y hacerla pasar a través de un tren de filtración. Después del tren de filtración se encuentra el punto de uso que en algunas casas correspondía a una cisterna de concreto, a un tinaco o a tambos de metal o plástico, mientras que en otras casas era sólo una manguera de la cual se tomaba el agua para ser utilizada.



**Figura 17 Sistema de captación de agua de lluvia observado en campo. A sistema de canaletas, B Filtro de hojas, Tlaloque, filtro de sedimentos, filtro de carbón activado y punto de uso, C cisterna.**

Aunque los elementos anteriores integran el sistema de captación de agua de lluvia completo, en campo se observó que el 80.8 % de los usuarios hizo alguna modificación al sistema (Tabla 12). El elemento que con más frecuencia se encuentra modificado es el Tlaloque pues el 63.8 % de las casas ha cambiado su llave de salida de agua, mientras que el 28.8 % utiliza el agua directo de la cisterna sin pasar a través del tren de filtración debido a diferentes razones como: no contar con una bomba o energía eléctrica para que funcione, por ruptura de los filtros o porque a su parecer el agua pasa muy lentamente a través de ellos. Por otro lado, las casas donde no usan dosificador de cloro suelen utilizar cloro líquido.

**Tabla 12 Elementos del sistema de captación de agua de lluvia que fueron modificados**

<b>Modificación al sistema</b>	<b>% de casas</b>
Llave del Tlaloque	63.8
No usa filtros	28.8
No usa dosificador de cloro	21.2
Quitó pichancha flotante	6.3

De acuerdo con los cuestionarios aplicados en campo (Anexo 10.1), durante la temporada de lluvia el 34.1 % de los usuarios recibe agua de otra fuente (red de suministro con cortes o pipas) mientras que el resto, que es la mayoría (65.9 %) depende únicamente del agua de lluvia que capta. Una vez que finaliza la temporada de lluvia, el agua puede durar desde medio mes hasta un año (Tabla 13) siendo mayor el número de viviendas donde el agua les dura mes y medio (24.2 %) seguido de las viviendas donde el agua dura dos meses (17.2 %).

**Tabla 13 Duración del agua captada una vez que termina la temporada de lluvias.**

<b>Duración del agua de lluvia (meses)</b>	<b>No. de viviendas (%)</b>	<b>No. de habitantes</b>
0.5	13.8	5 y 10(5)
1	13.8	3, 5 y 8(3)
1.5	24.2	2, 4, 5 y 8(4)
2	17.2	2, 6 y 9(6)
2.5	3.4	5
3	10.4	3, 4 y 8
5	3.4	8
6	7	2 y 3
10	3.4	4
12	3.4	5

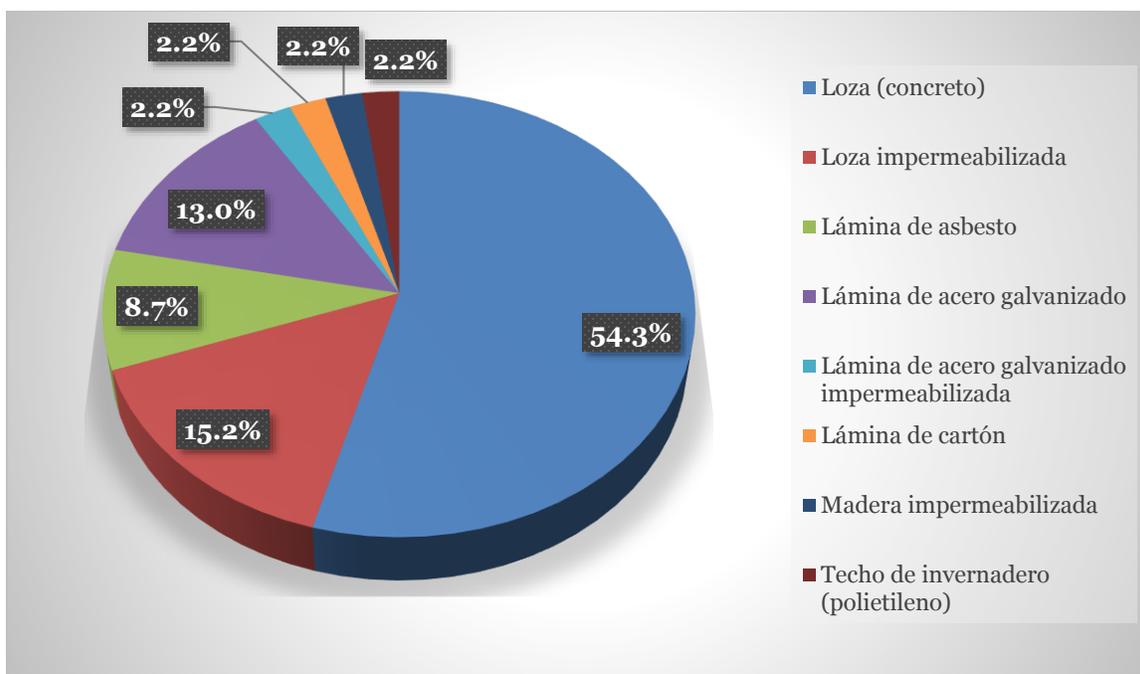
\* Entre paréntesis el número de habitantes más frecuente.

En la Tabla 13 se observa que a más de la mitad (69 %) de las viviendas el agua les dura entre medio mes y dos meses. El número de habitantes por vivienda que dependen del agua de lluvia captada es muy variable, por ejemplo, en las casas donde el agua dura de diez a doce meses el número de habitantes es de cuatro y

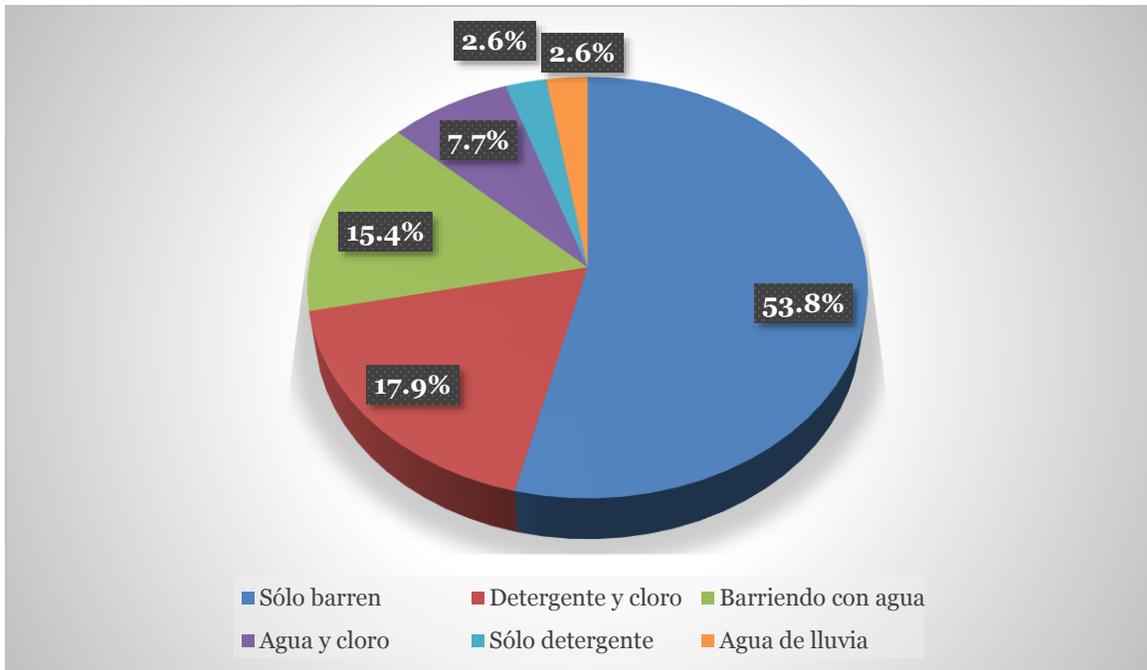
cinco respectivamente que es el mismo número de habitantes en las casas donde el agua dura medio mes, mes y medio y dos meses y medio.

Las casas donde se colectaron muestras presentan ocho diferentes materiales con los cuales está elaborado el techo o área de captación: loza de concreto, loza de concreto impermeabilizada, lámina de asbesto, lámina de acero galvanizado, lámina de acero galvanizado impermeabilizada, lámina de cartón, madera impermeabilizada y el techo de un invernadero de polietileno. En la Figura 18, se puede observar el porcentaje de viviendas que poseen cada uno de estos materiales, siendo más frecuente encontrar techos con loza de concreto sin impermeabilizar (54.3 %) y loza de concreto impermeabilizada (15.2%).

Por otro lado, las cisternas están elaboradas de concreto en el 50 % de las casas, mientras que en el otro 50 % es de polietileno, material con el cual está elaborado el tanque cisterna marca Rotoplas (1,100 L) que es usado como tanque de almacenamiento.



**Figura 18 Tipo de material del área de captación (techo).**



**Figura 19 Métodos de limpieza del techo antes de la temporada de lluvia.**

Para conocer el manejo que las personas tienen sobre el sistema de captación de agua de lluvia, se realizaron preguntas referentes a los hábitos de higiene y mantenimiento del sistema. Respecto a la forma en que los usuarios limpian el techo antes de la temporada de lluvia se obtuvo que algunos sólo barren, otros barren con agua, usan detergente, detergente y cloro, agua y cloro o bien dejan que el techo se lave con el agua de lluvia (Figura 19).

Además de la forma en que limpiaban el techo también se preguntó acerca de la limpieza de los demás elementos del sistema de captación (Tabla 14). Respecto al Tlaloque se preguntó si se había dejado abierto antes de la temporada de lluvia y con respecto al filtro de carbón activado se preguntó si se había cambiado al inicio de la temporada de lluvia. Por otro lado, también se cuestionó si se aplica cloro a la cisterna a lo que el 96.2 % de los usuarios respondió que sí.

En la Tabla 14, se puede observar que en general un buen porcentaje de viviendas realiza la limpieza de los diferentes elementos del sistema a excepción de los filtros pues sólo el 40 % de las personas lavó el filtro de sedimentos y sólo

el 20 % cambió el filtro de carbón activado antes de la temporada de lluvias, también se puede observar que tanto el techo como el Tlaloque son los elementos más atendidos dentro del sistema. Sin embargo, el sistema de captación está integrado por seis elementos en total y para que pueda funcionar adecuadamente y el agua obtenida tenga la mejor calidad posible todos los elementos requieren de atención.

**Tabla 14 Hábitos de higiene de los usuarios respecto a los elementos del sistema.**

<b>Elemento del sistema</b>	<b>Se lavó/abrió/cambió (%)</b>
Techo	88.6
Tlaloque	100
Cisterna	58.1
Filtro de sedimentos	40
Filtro de carbono activado	20
Punto de uso	55.6

Con la finalidad de saber cuántos elementos del sistema son limpiados simultáneamente antes de iniciar la captación de lluvia, para conocer la cantidad de personas involucradas en la limpieza del sistema y para observar alguna posible relación entre la edad de los usuarios y el tipo de elemento que se limpia, se elaboró la Tabla 15; en ella se puede observar que el 6.8 % de las viviendas se hace cargo de la limpieza de un sólo elemento del sistema ya sea del techo o del Tlaloque y que dichas viviendas están integradas por tres y cuatro personas que en su mayoría son adultos maduros. El 20.5 % de las viviendas se hace cargo de dos elementos del sistema y la limpieza siempre incluye al Tlaloque, en estos casos las familias también están integradas en su mayoría por tres y cuatro habitantes siendo la mayoría adultos maduros.

**Tabla 15 Características de los usuarios y sus hábitos de higiene sobre el sistema.**

No. de elementos	Elementos del sistema	Viviendas que realizan la limpieza (%)	No. de habitantes por vivienda	Edad de los habitantes (%)
1	Sólo Techo	2.3	3	20 % E 20 % A
1	Sólo <u>Tlaloque</u>	4.5	3 y 4	60 % AD
2	Techo/ <u>Tlaloque</u>	18.2	2-6(4)	2.8 % PE 11.1 % E 11.1 % A
2	<u>Tlaloque</u> /Punto de uso	2.3	3	22.2 % AJ 27.8 % AD 25 % AY
3	Techo/ <u>Tlaloque</u> /Cisterna	36.4	2-9(2)	1.6 % N
3	Techo/ <u>Tlaloque</u> /Filtro de sedimentos	2.3	5	2.4 % L 9.6 % PE
3	Techo/ <u>Tlaloque</u> /Punto de uso	13.6	2-8(8)	12.8 % E 10.4 % A
3	<u>Tlaloque</u> /Cisterna/Punto de uso	4.5	4 y 5	25.6 % AJ 26.4 % AD 11.2 % AY
4	Techo/ <u>Tlaloque</u> /Cisterna/Punto de uso	6.8	5 y 10	5 % PE 5 % E 20 % A 10 % AJ 45 % AD 15 % AY
5	Techo/ <u>Tlaloque</u> /Cisterna/Filtro de sedimentos/Punto de uso	4.5	3 y 4	5.3 % L 5.3 % E
5	Techo/ <u>Tlaloque</u> /Cisterna/Filtro de carbón/Punto de uso	2.3	8	10.5 % A 21 % AJ
5	Techo/ <u>Tlaloque</u> /Cisterna/Filtro de sedimentos/Filtro de carbón	2.3	4	52.6 % AD 5.3 % AY

L lactante (1 mes a 2 años) PE preescolar (2 a 5 años) E Escolar (6 a 11 años) A adolescente (12 a 18 años) AJ adulto joven (>18 a 35 años) AD adulto maduro (36 a 59 años); AY adulto mayor (≥60 años). Entre paréntesis se encuentra el número de habitantes más frecuente.

La mayor parte de las viviendas, el 56.8 %, se hace cargo de hasta tres elementos del sistema, nuevamente siempre se incluye al Tlaloque seguido del techo, y están

integradas más frecuentemente por cinco y ocho habitantes, la mayoría adultos maduros. Cuando se trata de cuatro elementos del sistema, el número de viviendas que se hace cargo de este número se reduce a 6.8 % y lo mismo sucede cuando se trata de cinco elementos del sistema 9.1%, en este caso, el número de habitantes por casa es más variable pues en algunas viviendas es de tres y cuatro personas mientras que en otras es de hasta ocho; la población es en su mayoría adulto maduro.

En todas las combinaciones, los elementos menos mencionados son los filtros tanto de sedimentos como de carbono activado. Sin importar el número de elementos que se limpien, en todos los casos la mayor parte de la población es de adultos maduros (36 a 59 años) seguido de adultos jóvenes (18 a 35 años).

Una vez captada el agua de lluvia, ésta es utilizada en diferentes actividades (Tabla 16). Los usos más frecuentes son el lavado de trastes y ropa (95.4 % cada uno), para bañarse (91 %) aunque también se utiliza para lavarse los dientes, cocinar, beber, para el WC y para dar de beber a los animales. Los usos no son excluyentes, es decir, que en una sola casa se puede emplear el agua para varias de las actividades mencionadas pero no implica que en todas las casas el agua sea empleada para todas ellas.

**Tabla 16 Usos del agua de lluvia captada.**

<b>Actividad</b>	<b>Uso del agua de lluvia (%)</b>
Lavar los trastes	95.4
Lavar la ropa	95.4
Bañarse	91
Lavarse los dientes	41
Beber	6.8
Cocinar	6.8
WC	2.3
Animales	2.3

## 6. DISCUSIÓN

La información obtenida de los cuestionarios aplicados en campo muestra que una vez que termina la temporada de lluvia, el tiempo que dura el agua en las casas es muy variable, desde medio mes hasta un año, y esto no está relacionado con el número de habitantes por casa, pues mientras en algunas viviendas donde hay cinco habitantes el agua les dura medio mes, en otras les dura dos meses y medio y hasta un año. De acuerdo con Rojas *et al.*, 2012, el tiempo que dura el agua puede depender de los hábitos de cada familia, en México, la cantidad de agua que cada persona ocupa al día es muy variable, aunque también debemos recordar que el tamaño de la cisterna y el número de éstas con las que cuenta cada familia son factores que influyen en la duración del agua captada. Por ejemplo, en el caso específico de la vivienda cuya agua dura un año, se debe a que cuenta con dos cisternas y tres tinacos. Otros factores que también influyen en la cantidad de agua recolectada y por tanto en la duración de la misma es el tamaño del área de captación y el volumen de la precipitación (diferente entre cada alcaldía) (García, 2012).

De acuerdo con las pruebas de laboratorio realizadas, se pudo observar una reducción en la concentración de microorganismos desde la cisterna al punto de uso tanto para CF como para *E. coli*. Lo anterior puede atribuirse a la acción de diferentes elementos como:

Los filtros, tanto de sedimentos como de carbón activado, los cuales se ha visto que mejoran la calidad microbiológica del agua de lluvia (Mendez *et al.*, 2011; Rojas *et al.*, 2012; Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015; UNESCO, 2015).

La cisterna, al ser un punto donde la calidad del agua de lluvia puede mejorarse a través de varios procesos como la sedimentación (Sánchez *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017), integrada en el sistema a través de un reductor de turbulencia que evita que se revuelvan los sedimentos en el momento en que el agua ingresa, así como a través de la pichancha flotante, que evita la succión del

agua del fondo (Isla Urbana, 2018). Lo anterior es importante debido a que al pasar de la cisterna al punto de uso, la concentración de materia orgánica presente en el agua disminuye y por tanto, no se promueve el crecimiento de bacterias lo que sí ocurre cuando la concentración de materia orgánica es alta (Helmreich y Horn, 2009; Schets *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2012; Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Dobrowsky *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2015; UNESCO, 2015; Campisano *et al.*, 2017).

En la cisterna también se puede aplicar un método de desinfección, en este caso mediante la aplicación de cloro con un dosificador el cual permite la liberación prolongada (un mes) de cloro y éste a su vez provoca la inactivación de la mayoría de los patógenos transmitidos por agua, además de ser un método de desinfección de bajo costo y de fácil aplicación (Che-Ani *et al.*, 2009; Helmreich y Horn, 2009; De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017). Sin embargo, en este trabajo la reducción de microorganismos no puede atribuirse al uso de cloro debido a que en la mayoría de las casas no fue aplicado correctamente en cantidad ni forma. Isla Urbana recomienda diez pastillas de 6 gramos para una cisterna de 10,000 L las cuales deben aplicarse cada mes, mientras que los usuarios aplicaban una cantidad a su consideración (pastillas de diferentes tamaños), en algunos casos empleaban cloro líquido (hipoclorito de sodio, NaClO) en lugar de pastillas [hipoclorito de calcio al 65% Ca (HClO<sub>2</sub>)] y la frecuencia de aplicación no estaba bien definida.

A pesar de la reducción de CF y *E. coli* de la cisterna al punto de uso, algunas casas no están cumpliendo con la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000) de Agua para Uso y Consumo Humano que establece la ausencia o no detección de estos indicadores, los cuales estuvieron presentes en ambos puntos de muestreo. Esto indica que la calidad del agua de lluvia no sólo depende de la presencia de elementos como el Tlaloque, la cisterna y los filtros sino también de otros factores como:

La presencia de fauna (Helmreich y Horn, 2009; Schets *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2012; Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Dobrowsky *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2015; UNESCO, 2015; Campisano *et al.*, 2017). Los animales que estuvieron presentes en algunas de las casas fueron: mascotas, principalmente perros, que se encontraban en los patios donde se ubicaban las cisternas. La mayoría de las cisternas contaban con tapas improvisadas y estaban a nivel del piso, condiciones que facilitan la contaminación del agua con microorganismos. Otros animales como ardillas, cacomixtles y aves tenían acceso a los techos donde depositaban heces que podían ser arrastradas por el agua de lluvia, esto constituye una fuente de contaminación fecal importante por lo que controlar la presencia de fauna y la limpieza del techo son fundamentales (Mendez *et al.*, 2011; Struck, 2011; Lee *et al.*, 2012; Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015).

El material del techo o área de captación. Aunque en este estudio no se consideró, la edad del techo también es importante ya que con el tiempo puede empezar a liberar compuestos orgánicos que favorecen el crecimiento de microorganismos (*Ibidem*). De acuerdo con diferentes estudios, uno de los mejores materiales para captar agua de lluvia es el de acero galvanizado pues el agua colectada con este material presenta una menor concentración de coliformes fecales (Mendez *et al.*, 2011) debido a que los rayos ultravioleta del sol se reflejan mejor produciendo altas temperaturas que tienen un efecto esterilizador (Lee *et al.*, 2012). En este estudio las casas donde los conteos de CF en cisterna fueron más altos tienen techos de loza, loza impermeabilizada, lámina de cartón, lámina de asbesto y lámina de acero galvanizado impermeabilizado, siendo ésta última la que presentó la mayor concentración de CF, a pesar de que los usuarios de esta casa limpiaron el techo (barriendo), drenaron el Tlaloque, lavaron la cisterna y el filtro de sedimentos antes de la temporada de lluvia y agregaron cloro a la cisterna. En esta casa, la presencia de CF puede deberse a que el techo estaba impermeabilizado reduciendo el efecto esterilizador que los autores sugieren (Lee *et al.*, 2012).

El material de la cisterna. De acuerdo con Struck (2011), cuando la cisterna es de polietileno negro se favorece el crecimiento de bacterias debido a que permite el aumento de la temperatura del agua. En este trabajo la mitad de las casas poseen una cisterna con estas características. Sin embargo, los tanques son blancos por dentro y poseen una cubierta con un espacio aislante entre las capas lo que impide el aumento de la temperatura que en promedio fue de 16.1 °C en cisterna y 15.9 °C en el punto de uso por lo que la presencia de CF y *E. coli* no puede ser atribuido al material de la cisterna.

Prácticas de manejo adecuadas. En las casas visitadas se pudo observar que, aunque la mayoría de los usuarios limpiaron el techo, sólo algunos limpiaron la cisterna antes de la temporada de lluvia, algunos limpiaron el filtro de sedimentos y también sólo algunos cambiaron el filtro de carbón activado, lo cual puede estar afectando la eficacia de los mismos. Por otro lado, el Tlaloque es un elemento del sistema que es purgado en todas las viviendas antes de la temporada de lluvia, esto puede deberse a dos cosas, por un lado fue instalado en el mismo año del muestreo (sólo unos meses antes) en la mayoría de las casas, lo que implica que es algo relativamente nuevo para los usuarios por lo que le prestan mayor atención, o bien, porque fue pensado para ser de fácil manejo (Isla Urbana, 2018) y en esencia sí lo es.

Por otro lado, se pudo observar que el número de elementos que es atendido con mayor frecuencia en sus diferentes combinaciones es de tres, mientras que cuando este número aumenta a cinco por la integración de los filtros, la cantidad de casas que los atiende disminuye drásticamente; de manera que los filtros, tanto de sedimentos como de carbón activado, son los elementos menos atendidos dentro del sistema, lo cual puede deberse a que se trata de una tecnología con la que las personas no están familiarizadas. De acuerdo con las entrevistas, la mayoría de los usuarios fueron adultos maduros y no se observó una relación entre la edad de los usuarios y la limpieza de algún elemento del sistema en especial. Las buenas prácticas de higiene en el sistema que incluyen la limpieza del área de captación o techo, las canaletas y la cisterna así como el

mantenimiento de los filtros pueden ayudar a mantener una buena calidad del agua de lluvia (Schets *et al.*, 2010; Struck, 2011; Ahmed *et al.*, 2012; De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017; Isla Urbana, 2018). Dentro de estas prácticas adecuadas también se encuentra el no mezclar el agua de la lluvia con el agua de la red y/o de pipas ya que estas últimas poseen características microbiológicas diferentes.

Implementación del sistema completo. Utilizar todos los elementos del sistema de captación propuesto por Isla Urbana tienen como objetivo mejorar la calidad del agua de lluvia, sin embargo, la mayoría de las casas han hecho alguna modificación al sistema, lo cual puede estar afectando su buen funcionamiento y por tanto afectando la cantidad de microorganismos presentes en el agua. Esto sugiere que la implementación de un sistema de captación de agua de lluvia requiere del entendimiento, aceptación y participación de las personas involucradas para que de este modo el sistema funcione adecuadamente y el agua de lluvia pueda ser utilizada de manera segura (Campisano *et al.*, 2017; Bashar *et al.*, 2018).

Concentración de cloro. Además de mantener una buena limpieza del sistema, también es importante mantener una buena concentración de cloro. La NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000) establece como valor mínimo 0.2 mg/L y como valor máximo 1.5 mg/L de cloro residual libre y aunque de acuerdo con la entrevista casi todos los usuarios respondió que sí aplican cloro, la medición en campo mostró que el CRL de las casas (a excepción de dos) está por debajo de los límites permisibles tanto en cisterna como en punto de uso y esto se debe a que no se está aplicando la cantidad de cloro correcta ni con la frecuencia adecuada y no por la acción de otros factores como el pH el cual se encuentra en un valor adecuado para la acción del cloro. La ausencia de cloro residual libre en el agua en el punto de uso puede deberse a la filtración a través de carbón activado que reduce el cloro dejando un mejor sabor en el agua (Isla Urbana, 2018).

El análisis de la calidad microbiológica del agua de lluvia mostró que la presencia de CF y *E. coli* limita los usos de acuerdo con la normatividad mexicana (DOF, 2000). Las actividades para las que el agua de lluvia procesada por las familias que instalaron el sistema del tipo Tlaloque no es apta son: beber, cocinar, bañarse, lavarse los dientes o lavar los trastes (actividades para las cuales se emplea el agua en las casas estudiadas). Las actividades para las que sí es apta son: lavado del automóvil, lavado de patios, para el WC, lavado de ropa o para el riego de áreas verdes. Lo anterior coincide con lo reportado en diversos trabajos en los que se analizó la calidad microbiológica del agua de lluvia captada para uso doméstico (Che-Ani *et al.*, 2009; Helmreich y Horn, 2009; Aladenola y Adeboye, 2010; Sánchez *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017).

La importancia de darle un uso adecuado al agua de lluvia acorde con su calidad microbiológica permite reducir la posibilidad de que se presenten enfermedades gastrointestinales transmitidas por esta vía (Ram *et al.*, 2008; Ahmed *et al.*, 2012; Levantesi *et al.*, 2012; Hernández *et al.*, 2011; Dobrowsky *et al.*, 2014; Gomi *et al.*, 2015) y salvaguardar la salud de los usuarios (Gwenzi *et al.*, 2015), especialmente en aquellas casas donde está presente *E. coli* pues, aunque suele ser comensal, algunas cepas pueden ocasionar enfermedades diarreicas (Struck, 2011; Ahmed *et al.*, 2012; Croxen *et al.*, 2013; Sadhu *et al.*, 2013; Dobrowsky *et al.*, 2014). Además, se debe tener presente que el agua de lluvia no puede ser utilizada para beber sin ser tratada para este fin previamente (De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Dobrowsky *et al.*, 2014; Valdez *et al.*, 2016).

De acuerdo con Gwenzi y colaboradores, 2015 una manera de salvaguardar la salud pública de las personas que emplean el agua de lluvia es contar con una herramienta que permita priorizar las acciones en caso de presentar contaminación microbiológica, una de esas herramientas es el puntaje de riesgo de inspección sanitaria (Anexo 10.6) en el que se establecen las categorías de bajo riesgo, riesgo intermedio, alto riesgo y muy alto riesgo de acuerdo con la concentración de *E. coli*. En promedio, la concentración de *E. coli* en el punto de uso fue de 2.5 UFC/100 mL lo que implica un riesgo intermedio que tiene baja

prioridad de acción, sin embargo, el rango de concentración va de 0-520 UFC/100 mL lo que indica que hay casas en donde el riesgo es alto (11-100 UFC/100mL) o muy alto (>100 UFC/100) y tienen una alta o urgente prioridad de acción respectivamente.

La prueba de correlación de Spearman mostró que tanto en la cisterna como en el punto de uso existe una correlación fuerte entre la presencia de CF y *E. coli*, esto se debe a que el grupo de los coliformes fecales están representados en su mayoría por el subgrupo *E. coli* aunque también se pueden encontrar de forma menos frecuente otras especies como *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* pero el origen de estas últimas normalmente es ambiental (fuentes de agua, vegetación y suelos) y muy ocasionalmente llegan a formar parte de la microbiota intestinal, a diferencia de *E. coli* que forma parte de la microbiota intestinal normal de aves y mamíferos, incluido el humano, y su presencia en un ambiente externo se debe al constante arribo de microorganismos desde fuentes animales y humanas (Larrea *et al.*, 2013).

Se ha demostrado ampliamente que la cloración es un método de desinfección efectivo del agua gracias a la inactivación de microorganismos a través de la oxidación de la membrana y de los ácidos nucleicos (Nescerecka *et al.*, 2014). En este trabajo, la prueba de correlación de Spearman mostró una correlación negativa entre el cloro residual libre y la presencia de CF y *E. coli* validando lo anterior, sin embargo, los resultados no fueron estadísticamente significativos. Lo anterior puede atribuirse a la dispersión de los datos de CRL, los cuales no fueron homogéneos sino que la mayoría de los valores se encontraron entre 0.02-0.1 mg/L en la cisterna y 0.02-0.07 mg/L en el punto de uso; al no haber una mayor variedad en estos valores no pudo observarse el efecto de las diferentes concentraciones de CRL en la concentración de microorganismos.

Además de CF y *E. coli*, la detección de *Salmonella* sp. fue positiva mediante la prueba de cultivo en medio Agar XLD (MCD LAB). De acuerdo con este método, el 7.7 % de las cisternas y el 13.5 % de los puntos de uso resultaron positivos, sin

embargo, al comparar estos resultados con los obtenidos con un método molecular como la PCR, método rápido, efectivo y altamente específico (Ngan *et al.*, 2010; Jawad y Al-Charrakh, 2016), se obtuvo que las muestras no pertenecen a este género, a pesar de que en el medio selectivo las características morfológicas sí correspondían. En medio Agar XLD (MCD LAB) *Salmonella* sp. es capaz de producir H<sub>2</sub>S, característica que permite su identificación (Jawad y Al-Charrakh, 2016) pero también se ha visto que el género *Proteus* (Puerta y Mateos, 2010) posee esta habilidad por lo que las colonias procesadas pudieran tratarse de este microorganismo, aunque se requiere de pruebas específicas para poder corroborarlo.

Los cebadores utilizados en este trabajo para la identificación del género *Salmonella* sp. han sido empleados por diferentes autores, concluyendo que el gen *ompC* es un blanco confiable en la detección de este género y que los cebadores tienen una alta especificidad (Freitas *et al.*, 2010; Modarressi y Thong, 2010; Ngan *et al.*, 2010; Ahmed y Shimamoto, 2012; Jawad y Al-Charrakh, 2016; Kumar *et al.*, 2017) por lo que los resultados negativos de este trabajo son confiables.

Debido a que la identificación de microorganismos mediante su cultivo y caracterización bioquímica es costoso, laborioso y tardado, el método de PCR múltiple ha sido utilizado en la identificación de los patotipos de *E. coli* gracias a su especificidad, sensibilidad y rapidez en la detección (Ahmed *et al.*, 2009; Fujioka *et al.*, 2009).

En este trabajo se detectó la presencia de patotipos de *E. coli* diarreagénica en tres casas. En una de las casas (ubicada en la alcaldía de Xochimilco) se detectó la enterotoxina LT en la cisterna, lo cual indica la presencia de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), mientras que en el punto de uso estuvo presente *eae* lo que indica la presencia de *E. coli* enteropatogénica (EPEC). La presencia de estos patotipos puede deberse principalmente a los hábitos de limpieza de los usuarios, pues de acuerdo con el cuestionario no limpiaron el techo de la casa (de lámina de

cartón cubierta con plástico) antes de la temporada de lluvia y en el último año no habían lavado la cisterna (tanque Rotoplas) lo cual es especialmente importante en esta casa ya que durante la temporada de secas se emplea la cisterna para almacenar agua residual tratada que también se hace pasar a través del tren de filtración; el filtro de sedimentos sí fue lavado, mientras que el de carbón activado no se cambió antes de empezar a captar agua de lluvia. El agua residual tratada posee condiciones microbiológicas muy diferentes a las del agua para uso y consumo humano (en la NOM-003-ECOL-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas se indica que la concentración de CF, grupo al que pertenece *E. coli*, puede ser de 240 a 1 000 UFC/100 mL dependiendo de si el agua es para contacto directo o indirecto), esto implica que al no ser lavada la cisterna antes de la temporada de lluvia, muchas bacterias que estaban presentes pudieron haber permanecido ahí combinándose con el agua de lluvia y, aunque se utiliza cloro en la cisterna, este puede no estar siendo suficiente. Además, los filtros se están empleando para un tipo de agua para la cual no fueron diseñados. Debido a la presencia de ETEC y EPEC, el agua de lluvia no debería ser utilizada pues existe un riesgo para la salud (Dobrowsky *et al.*, 2014) aunque de hecho el usuario reportó que el agua es utilizada para bañarse, lavar los trastes y lavarse los dientes.

En la segunda casa (localizada en el Ajusco, alcaldía Tlalpan) se detectó la presencia de EPEC en la cisterna, aquí el techo es de lámina galvanizada impermeabilizada que como ya se mencionó anteriormente es un material que no favorece la presencia de CF por lo que no debería de haberse detectado este patotipo. El techo fue limpiado antes de la temporada de lluvia sólo barriéndolo, se purgó el Tlaloque antes de la temporada de lluvia y la cisterna (de concreto) y el filtro de sedimentos también se lavaron. Además, el sistema no tenía ninguna modificación. En esta casa la presencia del patotipo en la cisterna puede ser atribuida al hecho de que la casa se encuentra en una vía principal y el techo está ubicado al nivel de la misma (la vivienda se encuentra en un nivel más bajo que la vía principal) por lo que el constante paso de vehículos así como el paso de animales como caballos puede estar generando la acumulación de contaminantes

en el techo, pues se ha visto que el viento puede acarrear contaminantes fecales hacia los elementos de captación (Evans *et al.*, 2007; Schets *et al.*, 2010; Struck, 2011; Gwenzi *et al.*, 2015; Campisano *et al.*, 2017) y que animales de granja como caballos, cerdos, borregos, cabras y vacas son fuentes de contaminación fecal (Masters *et al.*, 2011; Sadhu *et al.*, 2013). El hecho de que EPEC ya no estuviera presente en el punto de uso puede deberse al adecuado manejo del sistema y al buen funcionamiento de los filtros.

En la tercera casa (ubicada en el Ajusco, alcaldía Tlalpan) se detectó la presencia de EPEC tanto en la cisterna como en el punto de uso. Esta casa posee un techo de loza impermeabilizada el cual fue limpiado antes de la temporada de lluvias sólo barriéndolo, el Tlaloque fue purgado antes de la temporada de lluvias, pero la cisterna (de concreto) no fue lavada antes de empezar a captar el agua; la cisterna es empleada para almacenar agua de pipas que son adquiridas en la temporada de secas. El filtro de sedimentos también fue lavado mientras que el filtro de carbón activado estaba nuevo. El sistema no presentaba ninguna modificación. La presencia del patotipo EPEC en la cisterna de esta casa puede atribuirse principalmente a dos cosas, por un lado, la limpieza, debido a que la cisterna no fue lavada y por otro lado a la presencia de fauna ya que el techo suele ser visitado por ardillas y cacomixtles. En un estudio realizado en Australia se demostró que los patotipos EPEC, ETEC y EHEC encontrados en el agua de lluvia captada provenían de las heces de aves y zarigüeyas (De Kwaadsteniet *et al.*, 2013). La presencia de EPEC en el punto de uso puede deberse nuevamente a los hábitos de higiene ya que el tinaco había sido lavado seis meses antes de ser tomada la muestra. En esta casa el agua es utilizada para cocinar, beber, bañarse, lavar los trastes y lavar la ropa. Aquí es importante recordar nuevamente que la presencia de patotipos de *E. coli* contribuyen al riesgo de contraer alguna enfermedad diarreagénica, aunque esto dependerá de la concentración de microorganismos presentes (Sadhu *et al.*, 2013; Gomi *et al.*, 2015).

El patotipo EPEC está presente comúnmente en cepas patógenas para humanos y otros animales (Ram *et al.*, 2008). En México, uno de cada cinco niños que

enferma de diarrea puede estar infectado por EPEC y se ha visto que se presenta de manera endémica hasta en 6 % de la población. Un estudio realizado en nuestro país mostró que el 21 % de las cepas aisladas de niños menores de cinco años internados por diarrea aguda en hospitales de la Ciudad de México y Villa Hermosa pertenecen a EPEC (Hernández *et al.*, 2011).

En dos de las casas mencionadas anteriormente estuvo presente EPEC en el punto de uso, en estas casas los habitantes corresponden a un niño en edad escolar (6 a 11 años), tres adultos maduros (36 a 59 años) y un adulto mayor ( $\geq 60$  años) de ellos, la población en riesgo la representan tanto los niños como los adultos mayores ya que son poblaciones más propensas a contraer enfermedades diarreicas (Ram *et al.*, 2008; Croxen *et al.*, 2013; INAI, 2018).

Por otro lado, en México ETEC es el patotipo que con más frecuencia ocasiona enfermedades diarreicas (48 % de ellas) principalmente en niños menores de dos años y particularmente durante los primeros seis meses de vida (Hernández *et al.*, 2011). En la casa donde fue detectado este patotipo los habitantes corresponden a un niño en edad preescolar (2 a 5 años), un niño en edad escolar, dos adultos maduros y un adulto mayor quienes se encontrarían en riesgo sólo en el caso de que el agua se utilizara directo de la cisterna sin tratarla con los filtros.

En ausencia de un estudio *in vivo*, no es posible determinar si los patotipos detectados en el agua de lluvia (que en efecto poseen los genes de virulencia LT y Eae) son capaces de expresar o no su patogenicidad por lo que sólo se pueden considerar como patógenos potenciales (Ahmed *et al.*, 2012; Sadhu *et al.*, 2013). Además, incluso si estuvieran expresando sus genes de virulencia, el adquirir la enfermedad también depende de la dosis de infección que por lo general es alta tanto para ETEC como para EPEC (Ahmed *et al.*, 2013; Croxen *et al.*, 2013) las cuales no fueron medidas en este trabajo.

En los tres medios utilizados (XLD, m-FC y CHROMagar) se presentó el crecimiento de una gran variedad de bacterias con características diferentes a las CF, *Salmonella* sp. y *E. coli* las cuales no fueron identificadas en este estudio

porque no se encontraban dentro de los objetivos pero que es importante mencionar debido a que al estar presentes en el agua de lluvia podrían representar un riesgo potencial a la salud de los usuarios (Ahmed *et al.*, 2012; De Kwaadsteniet *et al.*, 2013; Gwenzi *et al.*, 2015) aunque se requiere de estudios que permitan conocer su naturaleza la cual podría ser ambiental.

## 7. CONCLUSIONES

En el 65.9 % de las casas estudiadas en Tlalpan y Xochimilco, el agua de lluvia es su única fuente de abastecimiento de agua durante la temporada de lluvia, por lo que la captación de ésta es una práctica que les permite tener acceso a este recurso de manera temporal, de medio mes hasta dos meses, en la mayoría de los casos y excepcionalmente durante todo el año.

El análisis microbiológico permitió observar una reducción de CF y *E. coli* de la cisterna al punto de uso, sin embargo, en la mayoría de las casas la concentración de estos microorganismos sobrepasa los límites permitidos por la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000) en ambos puntos de muestreo por lo que el agua captada sólo es apta para el lavado de automóviles, patios, ropa, para el WC y para el riego de áreas verdes. Además de CF y *E. coli*, en el agua de lluvia también pueden estar presentes patógenos de *E. coli* como ETEC y EPEC, en estos casos es importante no utilizar el agua en actividades que pongan en riesgo la salud, principalmente de niños y adultos mayores.

Los factores considerados en este trabajo que afectan la calidad microbiológica del agua de lluvia que está siendo captada en las delegaciones Tlalpan y Xochimilco son: la concentración de CRL, la presencia de fauna (silvestre y doméstica) y las prácticas de manejo del sistema de captación. De estos factores, la presencia de fauna silvestre es la única que los usuarios no pueden controlar pero sí pueden atender mediante la limpieza del techo.

Todos los estudios que se han realizado hasta el momento para evaluar la calidad microbiológica del agua de lluvia (incluido este trabajo) han detectado la presencia de microorganismos, por lo que podría decirse que es un hecho ligado a la

práctica. Debido a lo anterior, algunas de las recomendaciones que pueden ayudar a obtener agua de buena calidad microbiológica y evitar riesgos a la salud son:

- Limpiar adecuadamente cada uno de los elementos del sistema: techo, canaletas, Tlaloque, cisterna y filtros, todo de acuerdo con las especificaciones del fabricante, en este caso Isla Urbana.
- No modificar el sistema de captación, y en caso de hacerlo, evitar que dichas modificaciones alteren la función del elemento modificado. Por ejemplo, mantener tapada la cisterna permitirá evitar que la presencia de mascotas afecte la calidad del agua almacenada.
- No mezclar el agua de lluvia con agua de la red, agua de pipa o agua residual tratada ya que éstas poseen una calidad microbiológica diferente. En los casos en los que la cisterna es utilizada para almacenar este tipo de agua durante la época de secas es importante lavar la cisterna con agua y cloro antes de empezar a captar agua de lluvia.
- Clorar adecuadamente el agua captada implica aplicar la cantidad correcta de cloro en la presentación indicada por el fabricante y en el periodo de tiempo que éste establezca. Esto permitirá disminuir la presencia de microorganismos pues está documentado que la cloración es un método de desinfección altamente efectivo.

Existen factores que afectan la calidad microbiológica del agua de lluvia que los usuarios no pueden modificar como por ejemplo el viento (el cual también puede transportar heces), el materiales del techo y la cisterna o la falta de energía eléctrica para hacer pasar el agua a través del tren de filtración, sin embargo atender las indicaciones anteriores pueden ayudar a mejorar la calidad del agua.

El correcto uso del sistema se logrará si y solo si los usuarios entienden cuál es la función de cada elemento y adoptan el sistema. Un ejemplo muy claro son los

filtros, los cuales son los elementos menos atendidos. Generar información que sea de fácil entendimiento para los usuarios podría ayudar a que más usuarios tengan buenas prácticas de manejo.

Este trabajo ofrece tres elementos importantes para la evaluación de la calidad microbiológica del agua de lluvia. Por un lado, el método de extracción de DNA con hervidos utilizado permite disminuir el tiempo necesario para el procesamiento de las muestras ya que no requieren de un cultivo previo, es fácil, barato, no se requiere de equipo sofisticado y es efectivo. Por otro lado, la técnica de PCR múltiple montada permite la detección de patotipos de *E. coli* en muestras de agua de lluvia de manera rápida y efectiva. Por último, ofrece pruebas de que es importante confirmar la presencia de microorganismos mediante técnicas más sensibles (PCR) que los métodos tradicionales (cultivo en medio XLD) para así evitar falsos positivos que puedan alarmar sobre la seguridad del agua que se utiliza, pero sobre todo evitar falsos negativos que pudieran pasar por alto su presencia.

## **8. PERSPECTIVAS**

Algunas de las investigaciones que complementarían este trabajo deberían estar dirigidas a:

- ❖ Evaluar el efecto de cada uno de los elementos del sistema de captación de agua de lluvia en la concentración de microorganismos presentes. Esto permitiría saber cómo va cambiando la calidad microbiológica del agua de lluvia a través del todo el sistema e identificar los elementos prioritarios.
- ❖ Conocer la concentración de los patotipos de *E. coli* diarreagénicos detectados, esto permitiría calcular la dosis infecciosa y por tanto saber si representan un riesgo para la salud de las personas. Además, conocer la fuente de la cual provienen dichos patotipos favorecería su prevención.

- ❖ Identificar a los microorganismos presentes en los medios de cultivo empleados en este trabajo con la finalidad de saber si corresponden a bacterias patógenas.
  
- ❖ Recabar una mayor cantidad de datos como los presentados en este trabajo permitiría comparar la calidad del agua de lluvia captada en diferentes delegaciones de la Ciudad de México.
  
- ❖ Evaluar el efecto del tipo de techo y de su edad en la presencia de microorganismos en el agua de lluvia.
  
- ❖ Conocer la calidad fisicoquímica del agua de lluvia es de vital importancia en una ciudad como la Ciudad de México debido a la gran cantidad de industrias y vehículos que emiten contaminantes todos los días.

## 9. REFERENCIAS

Abbott, S., y Caughley, B. (2012). Roof-Collected rainwater consumption and health. In *Pacific Water Conference*.

Ahmed, D., Islam, M. S., Begum, Y. A., Janzon, A., Qadri, F., y Sjöling, Å. (2013). Presence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in biofilms formed in water containers in poor households coincides with epidemic seasons in Dhaka. *Journal of Applied Microbiology*, 114(4), 1223-1229.

Ahmed, O.B., Asghar, A.H. y Elhassan, M.M. (2014). Comparison of three DNA extraction methods for polymerase chain reaction (PCR) analysis of bacterial genomic DNA. *African Journal of Microbiology Research*, 8(6), 598-602.

Ahmed, W., Huygens, F., Goonetilleke, A. y Gardner, T. (2008). Real-Time PCR Detection of Pathogenic Microorganisms in Roof-Harvested Rainwater in Southeast Queensland, Australia. *Applied and Environmental Microbiology*. 5490-5496.

Ahmed, W., Sidhu, J. y Toze, S. (2012). An attempt to Identify the Likely Sources of *Escherichia coli* Harboring Toxin Genes in Rainwater Tanks. *Environmental Science and Technology*, 46(9), 5193-5197.

Ahmed, W., Vieritz, A., Gardner, T., y Goonetilleke, A. (2009). Microbial risks from rainwater tanks in South East Queensland. *Water*, 36(8), 80-85.

Aladenola, O. O. y Adeboye O. B. (2010). Assessing the Potencial for Rainwater Harvesting. *Water Resour Mange*, 24, 2129-2137.

APHA (2005). Standard Methods for the examination of water and wastewater. Washington, USA: American Public Health Association. 9222 B.

Aureli, A., Deutsch, J., Izambart, G. y Tassin, B. (Coord.). (2016). Agua, megaciudades y cambio climático. Retrato de 15 ciudades emblemáticas del mundo. Francia. UNESCO/ARCEAU IdF.

Bashar, M. Z. I., Karim, M. R., y Imteaz, M. A. (2018). Reliability and economic analysis of urban rainwater harvesting: A comparative study within six major cities of Bangladesh. *Resources, Conservation and Recycling*, 133, 146-154.

Bigas, H. (Ed.). 2012. The Global Water Crisis: Addressing an Urgent Security Issue. Papers for the InterAction Council, 2011-2012. Hamilton, CANADA: UNU-INWEH.

Cabral, J. P. (2010). Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(10), 3657-3703.

Campisano, A., Butler, D., Ward, S., Burns, M. J., Friedler, E., DeBusk, K. y Han, M. (2017). Urban rainwater harvesting systems: Research, implementation and future perspectives. *Water Research*, 115, 195-209.

Cardona, C.N., Sánchez-Jiménez, M., Lavalett, L., Muñoz, N., y Moreno, J. (2009). Development and evaluation of a multiplex polymerase chain reaction assay to identify *Salmonella* serogroups and serotypes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 65(3), 327-330.

Che-Ani, A. I., Shaari, N., Sairi, A., Zain, M. F. M. y Tahir, M. M. (2009). Rainwater harvesting as an alternative water supply in the future. *European Journal of Scientific Research*, 34(1), 132-140.

CONAGUA. (2018). Estadísticas del Agua en México. 306 pp.

Coutts, A. M., Tapper, N. J., Beringer, J., Loughnan, M., y Demuzere, M. (2013). Watering our cities: The capacity for Water Sensitive Urban Design to support urban cooling and improve human thermal comfort in the Australian context. *Progress in Physical Geography*, 37(1), 2-28.

Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., y Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 822-880.

De Kwaadsteniet, M., Dobrowsky, P. H., Van Deventer, A., Khan, W., y Cloete, T. E. (2013). Domestic rainwater harvesting: microbial and chemical water quality and point-of-use treatment systems. *Water, Air, and Soil Pollution*, 224(7), 1629.

De Medici, D., Croci, L., Delibato, E., Di Pasquale, S., Filetici, E., y Toti, L. (2003). Evaluation of DNA extraction methods for use in combination with SYBR green I real-time PCR to detect *Salmonella enterica* serotype enteritidis in poultry. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6), 3456-3461.

Dobrowsky, P. H., De Kwaadsteniet, M., Cloete, T. E., y Khan, W. (2014). Distribution of indigenous bacterial pathogens and potential pathogens associated with roof-harvested rainwater. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7), 2307-2316.

Dobrowsky, P.H., Lombard, M., Cloete, W.J., Saayman, M., Cloete, T. E., Carstens, M., Khan, S. y Khan, W. (2015). Efficiency of Microfiltration Systems for the Removal of Bacterial and Viral Contaminants from Surface and Rainwater. *Water Air & Soil Pollution*, 226: 33.

Ferdous, J., Hossain, Z., Tulsiani, S., Rashid, R., Jensen, P. y Begum, A. (2016). Optimization and Validation of Real Time PCR Assays for Absolute Quantification of toxigenic *Vibrio cholera* and *Escherichia coli*. *Tropical Biomedicine*, 33(4), 641-651.

Ferens, W. A. y Hovde, C. J. (2011). *Escherichia coli* O157: H7: animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(4), 465-487.

Fonseca, C. R., Hidalgo, V., Díaz-Delgado, C., Vilchis Francés, A. Y. y Gallego, I. (2017). Design of optimal tank size for rainwater harvesting systems through use of a web application and geo-referenced rainfall patterns. *Journal of cleaner production*, 145, 323-335.

Franklin, L. J., Fielding, J. E., Gregory, J., Gullan, L., Lightfoot, D., Poznanski, S. Y. y Vally, H. (2009). An outbreak of *Salmonella* Typhimurium 9 at a school camp linked to contamination of rainwater tanks. *Epidemiology & Infection*, 137(3), 434-440.

Fuentes Galván, M. L., Ortiz Medel, J., y Arias Hernández, L. A. (2018). Roof Rainwater Harvesting in Central Mexico: Uses, Benefits, and Factors of Adoption. *Water*, 10(2), 116.

Fujioka, M., Kasai, K., Miura, T., Sato, T. y Otomo, Y. (2009). Rapid diagnostic method for the detection of diarrheagenic *Escherichia coli* by multiplex PCR. *Japanese Journal Infectious Diseases*, 62(6), 476-80.

Furumai, H. (2008). Rainwater and reclaimed wastewater for sustainable urban water use. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 33(5), 340-346.

García Velázquez, Jesús Hiram (2012). Sistema de Captación y aprovechamiento pluvial para un ecobarrio de la Cd. De México (Tesis para optar por el grado de maestro). UNAM. México. 115 p.

Gikas, G. D., y Tsihrintzis, V. A. (2017). Effect of first-flush device, roofing material, and antecedent dry days on water quality of harvested rainwater. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(27), 21997-22006.

Godínez O. A. (2017). Prevalencia y causas de enfermedades gastrointestinales en niños del estado de Hidalgo, México. *Salud Pública de México*, 59(2), 118-119.

Gomi, R., Matsuda, T., Fujimori, Y., Harada, H., Matsui, Y. y Yoneda, M. (2015). Characterization of pathogenic *Escherichia coli* in River Water by Simultaneous Detection and Sequencing of 14 Virulence Genes. *Environmental Science and Technology*. 49(11), 6800-6807.

Grimont, P. A., Grimont, F. y Bouvet, P. (2000). Taxonomy of the genus *Salmonella*. *Salmonella in domestic animals*, 1-17.

Guerrero, T., Rives, C., Rodríguez, A., Saldívar, Y. y Cervantes, V. (2009). "El agua en la ciudad de México". *Ciencias*, 94, 17-23.

Guimarães de Freitas, C., Santana, A.P., Caldeira da Silva, P. H., Picão Gonçalves, V. S., Ferreira Barros, M. de A., Gonçalves Torres, F. A., Murata, L. S. y Perecmanis, S. (2010). PCR multiplex for detection of *Salmonella Enteritidis*, *Typhi* and *Typhimurium* and occurrence in poultry meat. *International Journal of Food Microbiology*, 139, 15-22.

Gutiérrez, A. S. (2014). Captación de agua pluvial, una solución ancestral. *Impluvium Sistemas de Captación de Agua de Lluvia* (1). 6-11.

Gwenzi, W., Dunjana, N., Pisa, C., Tauro, T. y Nyamadzawo, G. (2015). Water Quality and public health risk associated with roof rainwater harvesting systems for potable supply: Review and perspectives. *Sustainability of Water Quality and Ecology*, 6, 107-118.

Helmreich, B. y Horn, H. (2009). Opportunities in rainwater harvesting. *Desalination*, 248, (1-3), 118-124.

Hernández, C. C., Aguilera, M. A., y Castro, E. G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31(4), 137.

INAI. (2018). Dirección General de Epidemiología. Anuario de Morbilidad 1984-2017. 20 principales causas de enfermedad estatal por grupo de edad. [http://187.191.75.115/anuario/html/principales\\_estatal\\_grupo.html](http://187.191.75.115/anuario/html/principales_estatal_grupo.html) (consultado 18 de febrero de 2019).

Isla Urbana. (2018). Captación de agua de lluvia. <http://islaurbana.org/> (consultado 7 de junio de 2018).

Jawad, A., y Al-Charrakh, A. H. (2016). Outer Membrane Protein C (*ompC*) Gene as the Target for Diagnosis of *Salmonella* Species Isolated from Human and Animal Sources. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 8(1), 42-45.

Jensen, B. H., Olsen, K. E., Struve, C., Krogfelt, K. A., y Petersen, A. M. (2014). Epidemiology and clinical manifestations of enteroaggregative *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3), 614-630.

Kibbee, R. y Örmeci, B. (2017). Development of a sensitive and false-positive free PMA-qPCR viability assay to quantify VBNC *Escherichia coli* and evaluated disinfection performance in wastewater effluent. *Journal of Microbiological Methods*, 132, 139-147.

Kumar, P., Singh, S. P., Upadhyay, A. K., y Kumar, D. (2017). Biochemical, serological and molecular confirmation of *Salmonella* isolates. *bioRxiv*, 100917.

Larrea Murrell, J. A., Rojas Badía, M. M., Romeu Álvarez, B., Rojas-Hernández, N. M., y Heydrich Pérez, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(3).

Lee, J. Y., Bak, G. y Han, M. (2012). Quality of roof-harvested rainwater—comparison of different roofing materials. *Environmental Pollution*, 162, 422-429.

Lee, J. Y., Yang, J. S., Han, M. y Choi, J. (2010). Comparison of the microbiological and chemical characterization of harvested rainwater and reservoir water as alternative water resources. *Science of the Total Environment*, 408, 896-905.

Li, Y., Zhuang, S. y Mustapha, A. (2005). Application of a multiplex PCR for the simultaneous detection of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* and *Shigella* in raw and ready-to-eat meat products. *Meat Science*, 71(2), 402-406.

Maddocks, S., Olma, T. y Chen, S. (2002). Comparison of CHROMagar *Salmonella* medium and xylose-lysine-desoxycholate and *Salmonella-Shigella* agars for isolation of *Salmonella* strains from stool samples. *Journal of clinical microbiology*, 40(8), 2999-3003.

Maheux, A. F., Picard, F. J., Boissinot, M., Bissonnette, L., Paradis, S. y Bergeron, M. G. (2009). Analytical comparison of nine PCR primer sets designed to detect the presence of *Escherichia coli/Shigella* in water samples. *Water research*, 43(12), 3019-3028.

Mahout, A., Picard, F., Bassinet, M., Bissonnette, L., Paradis, S. y Bergeron, M. (2009). Analytical comparison of nine PCR primer sets designed to detect the presence of *Escherichia coli/Shigella* in water samples. *Water Research*, 43, 3019-3028.

Masters, N., Wiegand, A., Ahmed, W., y Katouli, M. (2011). *Escherichia coli* virulence genes profile of surface waters as an indicator of water quality. *Water Research*, 45(19), 6321-6333.

Mendez, C. B., Klenzendorf, J. B., Afshar, B. R., Simmons, M. T., Barrett, M. E., Kinney, K. A. y Kirisits, M. J. (2011). The effect of roofing material on the quality of harvested rainwater. *Water research*, 45(5), 2049-2059.

Modarressi, S. y Thong, K.L. (2010) Isolation and molecular sub typing of *salmonella enterica* from chicken, beef and street foods in Malaysia. *Scientific Research and Essays*, 5 (18), 2713-2720.

Moganedi, K. L. M., Goyvaerts, E. M. A., Venter, S. N. y Sibara, M. M. (2007). Optimisation of the PCR-*invA* primers for the detection of *Salmonella* in drinking and surface waters following a pre-cultivation step. *Water Sa*, 33(2).

Nescerecka A., Rubulis J., Vital M., Juhna T. y Hammes F. (2014). Biological Instability in a Chlorinated Drinking Water Distribution Network. *PLOS ONE*, 9(5), e96354.

Ngan, G. J. Y., Ng, L. M., Lin, R. T., y Teo, J. W. (2010). Development of a novel multiplex PCR for the detection and differentiation of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A. *Research in Microbiology*, 161(4), 243-248.

OMS. Organización Mundial de la Salud (2018). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water> (consultado el 7 de marzo de 2019).

Palla, A., Gnecco, I. y La Barbera, P. (2017). The impact of domestic rainwater harvesting systems in storm water runoff mitigation at the urban block scale. *Journal of Environmental Management*, 191, 297-305.

Petit A., Devkota J., Phillips R., Vargas M., Josa, A., Gabarrell, X. y Apul, D. (2018). Life cycle and hydrologic modeling of rainwater harvesting in urban neighborhoods: Implications of urban form and water demand patterns in the US and Spain. *Science of The Total Environment*, 621, 434-443.

Puerta, A. G. y Mateos, F. R. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51): 3426-31

Queipo Ortuño, M. I., Colmero, J.D., Macias, M., Bravo, M.J. y Morata, P. (2008). Preparation of Bacterial DNA Template by Boiling and Effect of Inmunoglobulin G as an Inhibitor in Real-Time PCR for Serum Samples from Patients with Brucellosis, *Clinical and Vaccine Immunology*, 15(2), 293-296.

Ram, S., Vajpayee, P. y Shanker, R. (2008). Rapid culture-independent quantitative detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in surface waters by real-time PCR with molecular beacon. *Environmental Science and Technology*, 42(12), 4577-4582.

REDMA. Dirección de Monitoreo Atmosférico (2018). [http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc=%27aKBJ%27\\_\(consultado el 21 de febrero de 2019\)](http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc=%27aKBJ%27_(consultado el 21 de febrero de 2019)).

Rivero, M., Passucci, J., Rodriguez, E. y Parma, A. (2010). Role and clinical course of verotoxigenic *Escherichia coli* infections in childhood acute diarrhoea in Argentina. *Journal of Medical Microbiology*, 59(3), 345-352.

Rojas, M. N., G., J. R. y Martínez, A. (2012). Implementación y caracterización de un sistema de captación y aprovechamiento de agua de lluvia. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 15(1), 16-23.

Sámamo, R.G., Mautner, M., Chávez, M.A. y Jiménez, C.B. (2016). Assessing marginalized communities in Mexico for implementation of rainwater catchment systems. *Water*, 8(4), 140.

Sánchez, A. S., Cohim, E. y Kalid, R. A. (2015). A review on physicochemical and microbiological contamination of roof-harvested rainwater in urban areas. *Sustainability of Water Quality and Ecology*, 6, 119-137.

Schets, F. M., Italiaander, R., Van Den Berg, H. H. J. L. y de Roda Husman, A. M. (2010). Rainwater harvesting: quality assessment and utilization in The Netherlands. *Journal of Water and Health*, 8(2), 224-235.

Serrano, S. (2014). Aprovechar el agua de lluvia. Doble solución. *Impluvium Sistemas de Captación de Agua de Lluvia* (1). 23-27.

Silva, C. M., Sousa, V. y Carvalho, N. V. (2015). Evaluation of rainwater harvesting in Portugal: Application to single-family residences. *Resources, Conservation and Recycling*, 94, 21-34.

Soto E. G., Moreno A. L. y Pahua D. D. (2016). Panorama epidemiológico de México, principales causas de morbilidad y mortalidad. *Revista de la Facultad de Medicina*, 59(6), 8-22.

Struck, S. (2011). Rainwater Harvesting for Non-potable Use and Evidence of Risk Posed to Human Health. *British Columbia Centre for Disease Control*, 17.

Tobias, J. y Vutukuru, S. R. (2012). Simple and rapid multiplex PCR for identification of the main human diarrheagenic *Escherichia coli*. *Microbiological Research*, 167, 564-570.

Tobias, J., Von Mentzer, A., Frykberg, P. L., Aslett, M., Page, A. J., Sjöling, Å. y Svennerholm, A. M. (2016). Stability of the encoding plasmids and surface expression of CS6 differs in enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) encoding different heat-stable (ST) enterotoxins (STh and STp). *PloS one*, 11(4), e0152899.

Tortajada, C. (2008). Challenges and realities of water management of megacities: the case of Mexico City Metropolitan Area. *Journal of International Affairs*, 147-166.

Valdez, M. C., Adler, I., Barrett, M., Ochoa, R. y Pérez, A. (2016). The water-energy-carbon nexus: optimizing rainwater harvesting in Mexico City. *Environmental Processes*, 3(2), 307-323.

WWAP (Programa Mundial de la Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas). 2016. Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2016: Agua y Empleo. París, UNESCO.

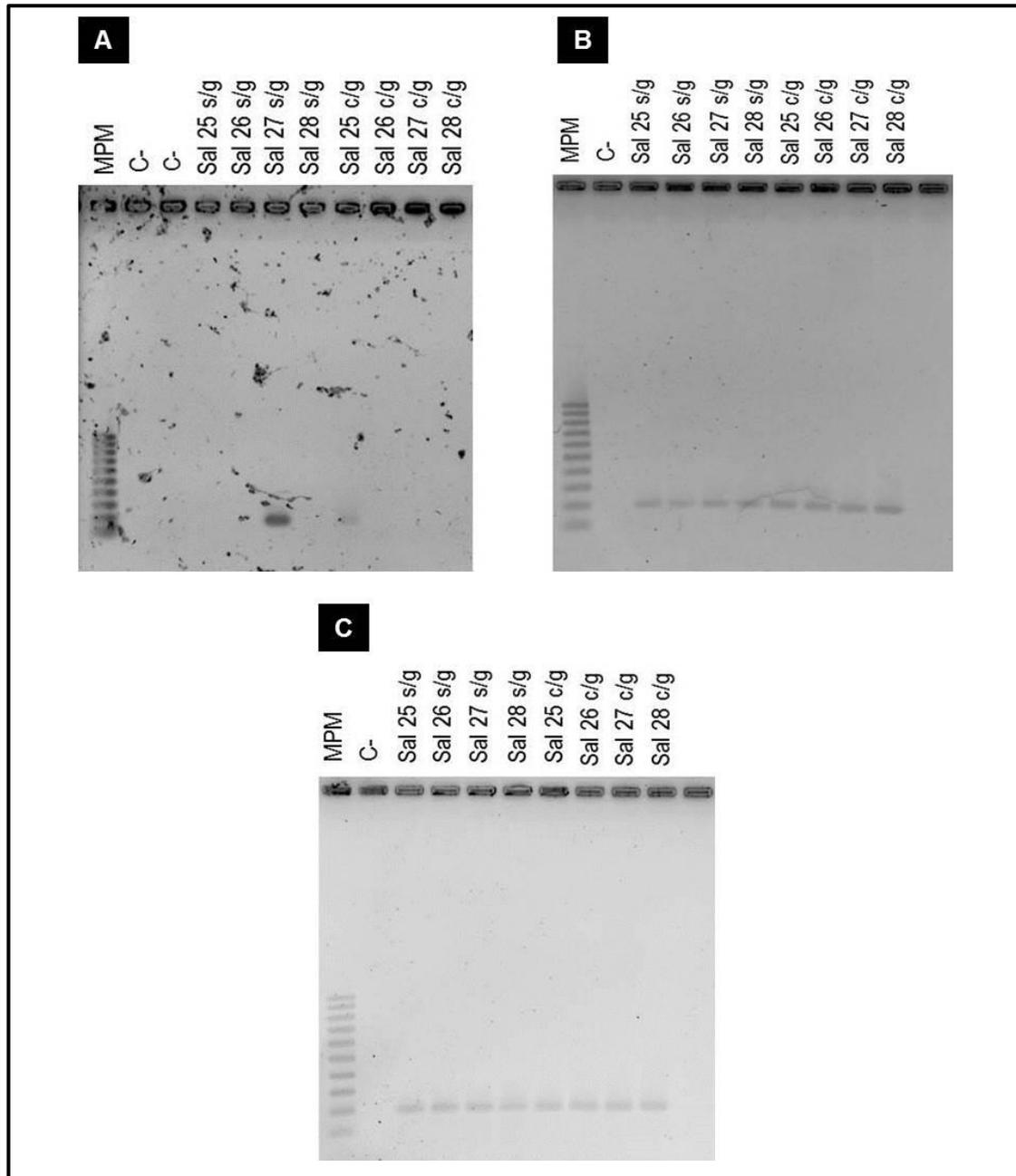
## 10. ANEXOS

### 10.1. CUESTIONARIO APLICADO EN CAMPO

Clave Muestra:	Fecha:
Nombre usuario: Dirección: Teléfono: La casa se encuentra en una VÍA PRINCIPAL_____ o VÍA SECUNDARIA_____	
CLAVE DE MUESTRA_____ FECHA_____ Hora_____	
1. Fecha de instalación del sistema de captación_____	
Documento probatorio de entrega e instalación de sistema, ¿se verificó fecha de instalación? Sí_____ NO_____	
2. Tipo de techo a) Lámina b) Lámina galvanizada c) Loza d) Loza impermeabilizada	
3. ¿Usted limpia el techo antes de iniciar las lluvias? Sí_____ NO_____	
4. ¿Me puede decir cómo limpia su techo? a) Sólo barrió b) Barrió y echó una cubeta de agua c) Barrió y talló con algún detergente en polvo y/o líquido d) Barrió y talló con algún detergente y cloro	
5. ¿Cuándo fue la última vez que drenó el Tlaloque? a) Antes de que iniciara la temporada de lluvias b) Una vez iniciada la temporada de lluvias c) No lo drenó	
6. ¿Qué tipo de cisterna tiene en casa? a) Cisterna de concreto b) Tanque cisterna c) Tanque rotoplas	
7. En el último año, ¿usted lavó la cisterna? Sí_____ ¿En qué mes? _____ NO_____	
8. Además del agua de lluvia que capta, ¿usted recibe agua de alguna otra fuente? Sí_____ NO_____ <b>Ir a P9</b>	
a) Pipa ¿Cuándo? _____ b) Red de suministro constante c) Red de suministro con cortes, ¿cada cuándo la recibe? _____	
9. Aproximadamente, ¿cuánto tiempo rinde el agua de lluvia almacenada una vez que ha dejado de llover? _____	
10. ¿Cada cuándo agrega pastillas de cloración en el sistema? _____	
11. ¿Cuántas pastillas coloca en su flotador cada vez?	
12. En el último año, ¿cuándo fue la última vez que cambió los filtros? a) Filtro para sedimentos _____ b) Filtro de carbón activado _____	
13. ¿Usted lavó el tinaco antes de iniciar las lluvias? Sí_____ NO_____ <b>Ir a P15</b>	
14. ¿Me puede decir cómo lavó el tinaco? a) Lavó sólo con agua b) Lavó con detergente en polvo y/o líquido	

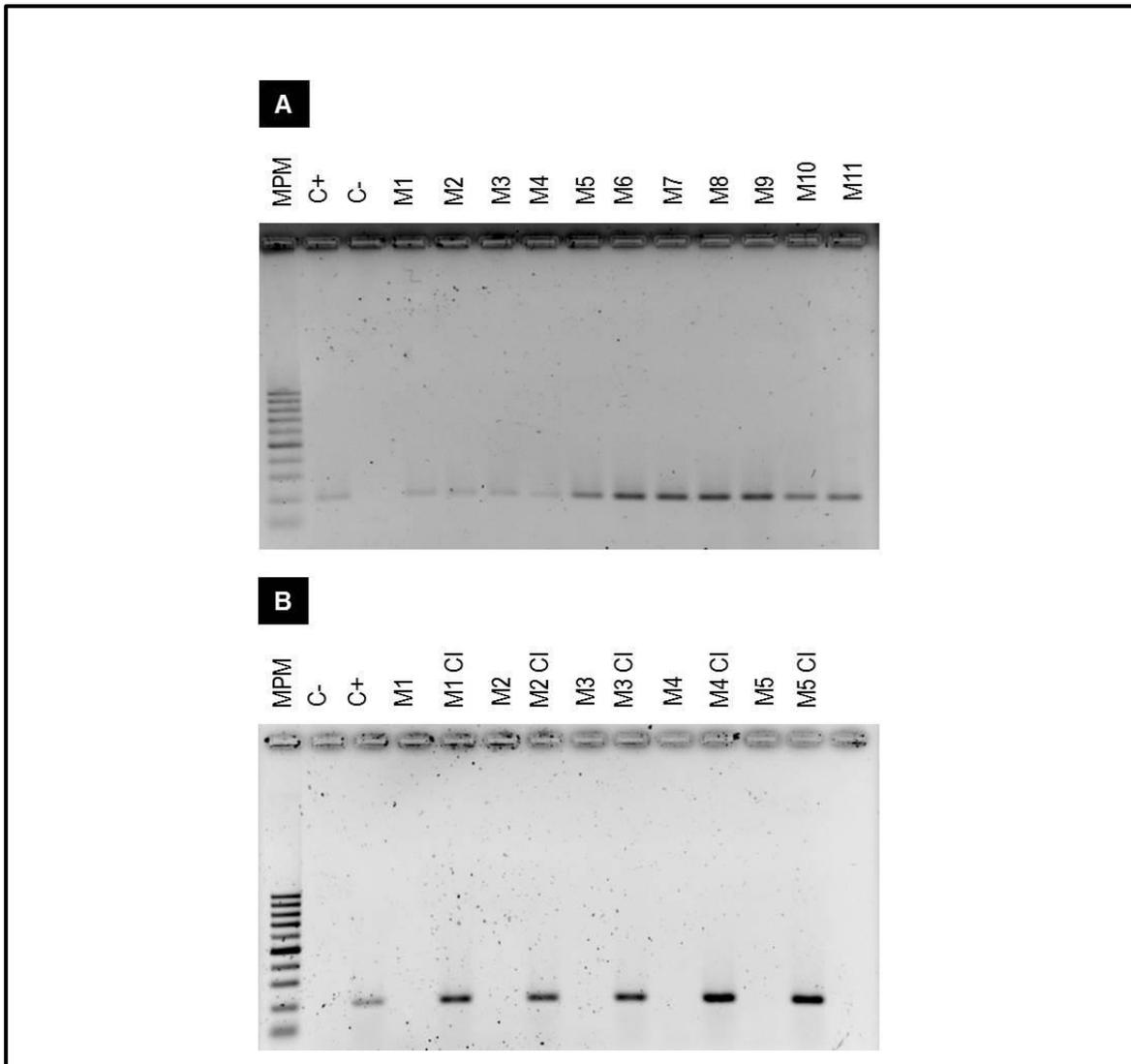
<p>c) Lavó con detergente y cloro</p> <p>15. ¿Para qué usa el agua de lluvia que capta?</p> <p>a) Cocinar</p> <p>b) Beber</p> <p>c) Bañarse</p> <p>d) Lavar trastes</p> <p>e) Lavar ropa</p> <p>16. ¿Para qué usa el agua del Tlaloque? _____</p> <p>17. ¿Cuántas personas habitan esta casa? _____</p> <p>18. ¿Cuáles son las edades promedio de los habitantes de esta casa?</p> <table><tr><td>a) Neonato o recién nacido (1 a 28 días)</td><td>[ ]</td></tr><tr><td>b) Lactante (1 mes a 2 años)</td><td>[ ]</td></tr><tr><td>c) Niño pre-escolar (2 a 5 años)</td><td>[ ]</td></tr><tr><td>d) Niño escolar (6 a 11 años)</td><td>[ ]</td></tr><tr><td>e) Adolescente (12 a 18 años)</td><td>[ ]</td></tr><tr><td>f) Adulto joven (18 a 35 años)</td><td>[ ]</td></tr><tr><td>g) Adulto maduro (36 a 59 años)</td><td>[ ]</td></tr><tr><td>h) Adulto mayor (≥60 años)</td><td>[ ]</td></tr></table>	a) Neonato o recién nacido (1 a 28 días)	[ ]	b) Lactante (1 mes a 2 años)	[ ]	c) Niño pre-escolar (2 a 5 años)	[ ]	d) Niño escolar (6 a 11 años)	[ ]	e) Adolescente (12 a 18 años)	[ ]	f) Adulto joven (18 a 35 años)	[ ]	g) Adulto maduro (36 a 59 años)	[ ]	h) Adulto mayor (≥60 años)	[ ]
a) Neonato o recién nacido (1 a 28 días)	[ ]															
b) Lactante (1 mes a 2 años)	[ ]															
c) Niño pre-escolar (2 a 5 años)	[ ]															
d) Niño escolar (6 a 11 años)	[ ]															
e) Adolescente (12 a 18 años)	[ ]															
f) Adulto joven (18 a 35 años)	[ ]															
g) Adulto maduro (36 a 59 años)	[ ]															
h) Adulto mayor (≥60 años)	[ ]															
<p>OBSERVACIONES</p>																

## 10.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE DNA



Extracción de DNA mediante el método: Figura A. Trizol-cloroformo. Figura B. Kit QIAamp DNA minikit (QIAGEN). Figura C. Hervidos. Línea MPM Marcador de Pesos Moleculares de 100 pb. C- Control negativo *Escherichia coli* K12; Línea Sal 25, 26, 27 y 28 corresponden a diferentes muestras de *Salmonella* ATCC 700730 que sirvieron para elegir el que sería el control positivo para la detección de *Salmonella* en muestras de agua de lluvia. Las letras s/g son muestras con recrecimiento antes de la extracción de DNA (sin glicerol). Las letras c/g son muestras sin recrecimiento previo (tomadas directo de glicerol; con glicerol). El fragmento amplificado fue de 204 pb y correspondo del gen *ompC*.

### 10.3. CONTROLES INTERNOS PARA LA DETECCIÓN DE *SALMONELLA* SP.



En la Figura A y B se observan algunos de los resultados de los controles internos para *Salmonella* sp. En A controles internos para la extracción de DNA mediante hervidos y en B controles internos para la PCR, en esta figura se muestra primero la PCR de la muestra y después la PCR de su control interno (CI). Línea MPM Marcador de Pesos Moleculares de 100 pb. Línea C+ Control positivo DNA de *Salmonella* ATCC 700730. Línea C- Control negativo DNA de *Escherichia coli* K12. El fragmento a amplificar es de 204 pb y corresponde al gen ompC.

10.4. CARACTERIZACIÓN DE COLONIAS DE *SALMONELLA* SP.

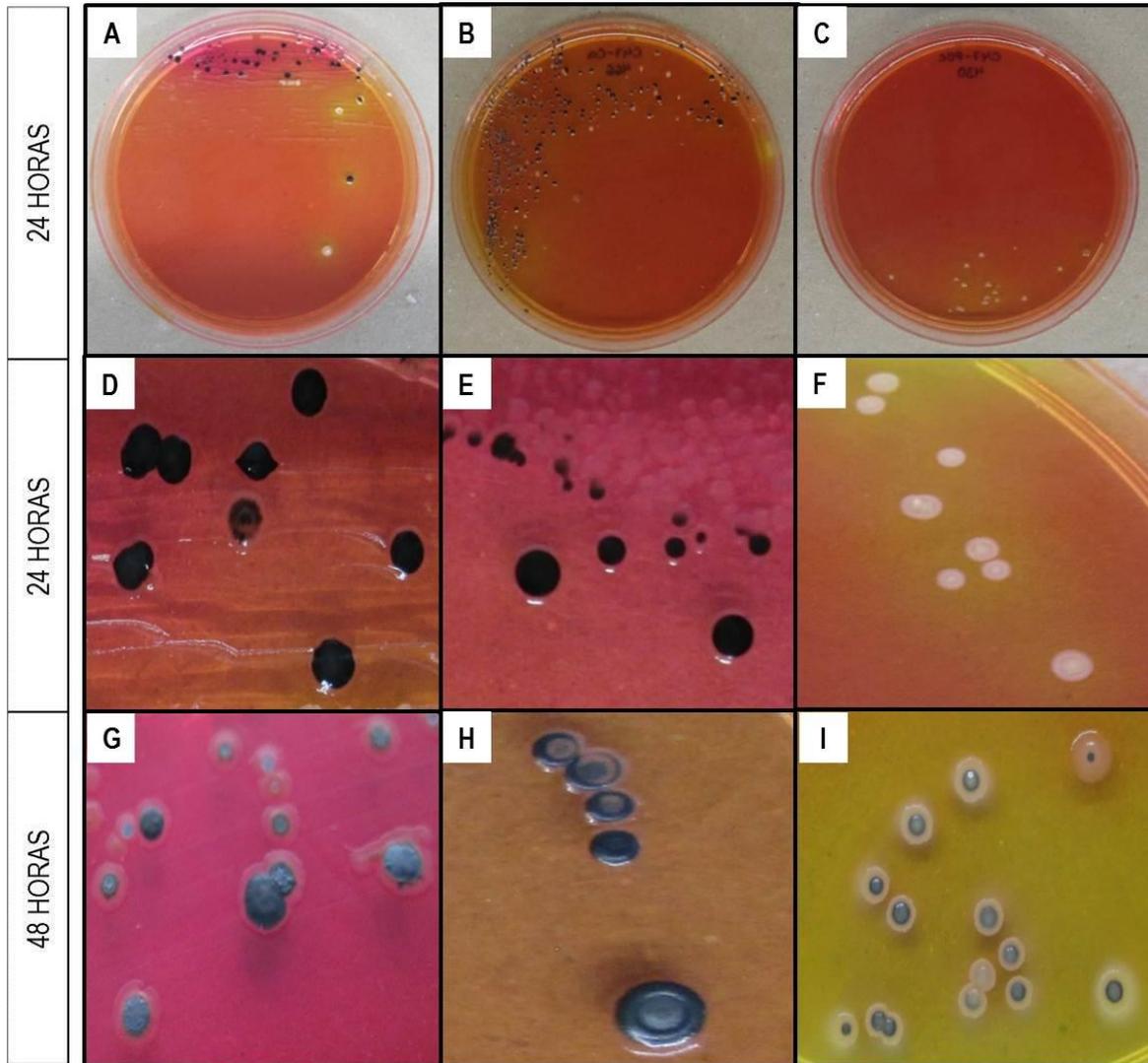


Figura A, D y G colonias de *Salmonella* ATCC 700730 usada como control positivo.; B, E y H colonias con morfología similar al control positivo desde las 24 hrs; C, F e I colonias con morfología similar a *Salmonella* sp. a las 48 hrs.

## 10.5. CONFIRMACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* MEDIANTE PCR

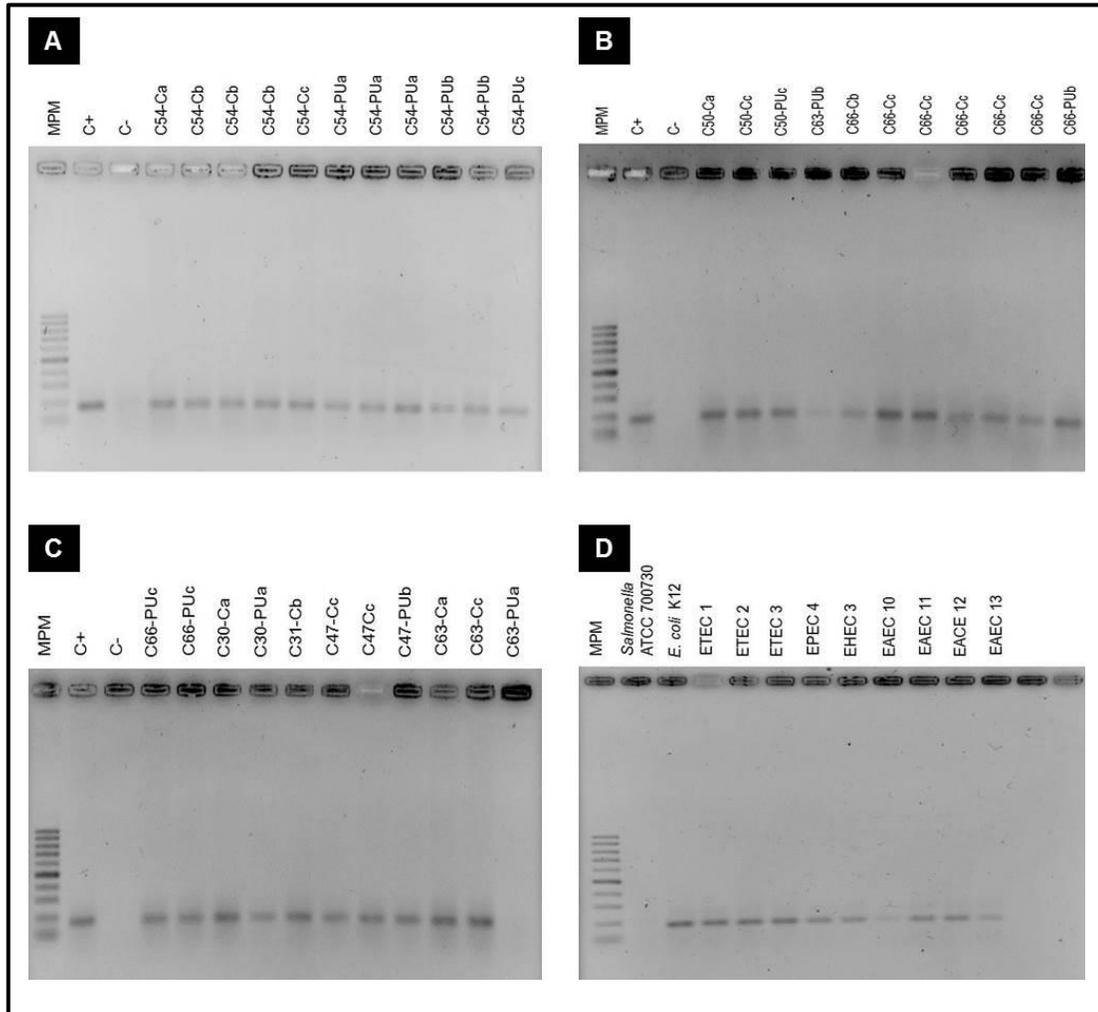


Figura A, B y C se observan algunas de las muestras positivas para el gen *uidA* de 167 pb presente en *E. coli*. Línea MPM Marcador de Pesos Moleculares de 100 pb. C+ Control positivo DNA de *Escherichia coli* K12. C- Control negativo DNA de *Salmonella* ATCC 700730. El nombre de la muestra indica la casa donde creció la colonia (Ej. C54), si fue obtenida de la Cisterna o del Punto de Uso (C o PU) y la réplica (a, b ó c) (Ej. C54-Ca). En la figura D se presenta la confirmación de que las cepas que se emplearán como controles positivos para detectar los diferentes patotipos de *E. coli* diarreagénica corresponden efectivamente a ellos: ETEC *E. coli* Enterotoxigénica, EPEC *E. coli* Enteropatógena, EHEC *E. coli* Enterohemorrágica, y EAEC *E. coli* Enteroagregativa.

10.6. PUNTAJE DE RIESGO DE INSPECCIÓN SANITARIA

		Sanitary Inspection Risk Score (Susceptibility of rainwater to contamination by human and animal faeces)			
		0-2	3-5	6-8	9-10
E. Coli Classification (counts/100 ml)	<1		Green	Yellow	Red
	1-10	Green	Green	Yellow	Red
	11-100	Yellow	Yellow	Yellow	Red
	>100	Red	Red	Red	Red

Key:

Low Risk: No action required	Intermediate risk: Low action priority	High Risk: High action priority	Very High Risk: Urgent action required
------------------------------------	--	---------------------------------------	--

Marco de evaluación de riesgo de inspección sanitaria para priorizar acciones de control/remediación basado en recuentos de *E. coli* y puntajes de riesgo de inspección sanitaria. Gwenzi *et al.*, 2015.