



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Microbiología

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIATURA EN
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**Determinación de la calidad bacteriológica del agua potable y
pozos que se distribuye en los hogares de dos colonias de la
comunidad de San Baltazar Tétela, Pue.**

Presenta:

p.Q.F.B. Helem Merari Jiménez Mora

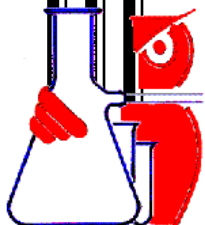
Director de tesis:

M.S.P Carlos Cabrera Maldonado

Co-asesor:

M.C. Gloria León Tello

JULIO 2018



RESUMEN

En la actualidad, la escasez de agua y la calidad físico-química y microbiológica de la misma es un tema que preocupa a los habitantes de todo el mundo, pero en particular a los habitantes de San Baltazar Tétela, debido a que no hay estudios que demuestren y sustenten si el agua intradomiciliaria que llega a sus casas no presenta evidencia por microorganismos patógenos por filtración del agua de la laguna, o si es apta para el consumo humano y cumple con los estándares microbiológicos recomendados en la normatividad vigente.

En la presente investigación se realizó un muestreo aleatorio del agua intradomiciliaria en dos colonias de San Baltazar Tétela, comunidad situada al sur de Puebla capital. Se recolectaron 40 muestras de agua en envases estériles, que fueron trasladadas al laboratorio en condiciones de refrigeración para su análisis posterior para determinar el grado de contaminación microbiológica, mediante los indicadores propuestos en la NOM-127-SSA1-1994 (CT y CF), además de BMA, respectivamente. Teniendo como antecedente que estas colonias tiene la característica de estar rodeadas en casi su totalidad por la laguna de Valsequillo, que recibe la aportación de escurrimientos industriales y domésticos de los estados de Tlaxcala y Puebla, por lo que presenta un alto grado de contaminación biológica como química.

Los resultados de laboratorio reflejaron que solamente 35.0 % de las muestras analizadas cumplen con lo establecido en la NOM-127-SSA1-1994, mientras que el resto de las muestras presentó un alto grado de contaminación por coliformes totales y fecales (65 %) y bacterias mesofílicas aerobias, lo que sugiere que el agua en estas condiciones presenta un alto grado de contaminación de origen fecal. Por lo tanto, se recomienda verificar los niveles de cloro que se adicionan al agua que se obtiene de los pozos que surten a la comunidad, así como la limpieza de tuberías, lavado de cisternas, tinacos, y especialmente no consumir el agua sino se ha sometido a un proceso de potabilización o hervirla.

ÍNDICE		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	MARCO TEÓRICO	2
	2.1 San Baltazar Tétela.	2
	2.2 Historia local de San Baltazar Tétela, Puebla.	3
	2.3 Contaminación.	5
	2.4 Agua potable.	8
	2.5 Indicadores microbiológicos del agua (coliformes totales, coliformes fecales, bacterias mesofilicas aerobias).	8
	2.6 Coliformes totales (CT).	9
	2.7 Coliformes fecales (CF).	9
	2.8 Bacterias mesofilicas aerobias (BMA).	9
	2.9 Análisis microbiológico del agua	9
	2.10 Límites permisibles de calidad de agua	10
3	MARCO DE REFERENCIA.	11
4	PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA.	14
5	JUSTIFICACIÓN.	15
6	OBJETIVOS.	16
	6.1 General.	16
	6.2 Particular.	16
7	METODOLOGÍA.	17
	7.1 Diseño de la investigación.	17
	7.1.1 Tipo de estudio.	17
	7.1.2 Tamaño de muestra.	17
	7.1.3 Sede y lugar de estudio.	17
	7.1.4 Periodo de muestreo.	17
	7.1.5 Criterios de inclusión.	17
	7.1.6 Criterios de exclusión.	17
	7.1.7 Análisis estadístico de la información.	17
	7.2 Materiales y metodología.	18
	7.2.1 Muestras.	18

7.3	Metodología.	19
7.3.1	Esquema de trabajo No. 1. Determinación de bacterias coliformes totales y fecales (Método: NMP).	20
7.3.2	Esquema de trabajo No. 2. Recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA). Método: vertido en placa.	21
7.4	Recursos humanos.	22
7.5	Recursos materiales.	22
7.6	Recursos financieros.	22
8	RESULTADOS	23
8.1	Sitios de muestreo	23
8.2	Análisis microbiológicos	24
8.3	Resultados de los análisis microbiológicos	24
9	DISCUSIÓN	29
10	CONCLUSIONES	33
11	REFERENCIAS.	34

1 INTRODUCCIÓN

El agua siempre ha estado presente en la historia de la humanidad. Su escasez, así como su abundancia es la pauta para el progreso y decadencia de pueblos y naciones. Un ejemplo lo constituye la comunidad de San Baltazar Tétela, Pue., ya que en sus inicios como pueblo indígena, obtenía agua potable de nacimientos de agua y se dedicaba principalmente a la agricultura. Su economía se basaba en el intercambio de lo cosechado en las plazas de San Francisco Totimehuacan y Tecali. De 1941 a 1946 se construye la presa Manuel Ávila Camacho, lo que permitió el desarrollo y progreso de la comunidad en esa época, pues el gobierno de ese entonces les enseñó el oficio de la pesca, hubo abundancia de agua para las tierras que cosechaban, sin importar si era tiempo de lluvia o no, además aumento el turismo. La presa Manuel Ávila Camacho rodea un 90% a dos de las colonias de la comunidad. Para la obtención de agua potable se construyeron pozos, uno de ellos se encuentra en la colonia de Buenavista y otro en Tétela (19).

Actualmente, la presa Manuel Ávila Camacho se convirtió en un foco de contaminación para la comunidad, por las toneladas de contaminantes que desde su construcción (70 años) desembocan en ella. Esta contaminación de origen doméstico e industrial ocasiona la generación de olores desagradables y coloración verde del agua, lo que indica un contenido de materia orgánica, nutrientes, sedimentos y contaminantes tóxicos (6).

La calidad de agua es un tema preocupante para la comunidad, ya que la contaminación cada día aumenta, además del agua potable que actualmente obtiene la comunidad, no hay estudios que demuestren que cumple con los estándares microbiológicos establecidos en la modificación a la NOM-127-SSA1-1994, por ende, no se sabe si la calidad de agua de la comunidad es apta para el consumo humano.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 San Baltazar Tétela

La comunidad de San Baltazar Tétela cuenta con una población aproximada de 3683 habitantes, según el INEGI en el 2010 demuestran que la población más abundante abarca de 0 a 4 años en mujeres y de 5 a 9 años en hombres, seguidos por jóvenes de 20 a 29 años en mujeres y de 10 a 14 años en hombres, como se aprecia en la figura 1 (17).

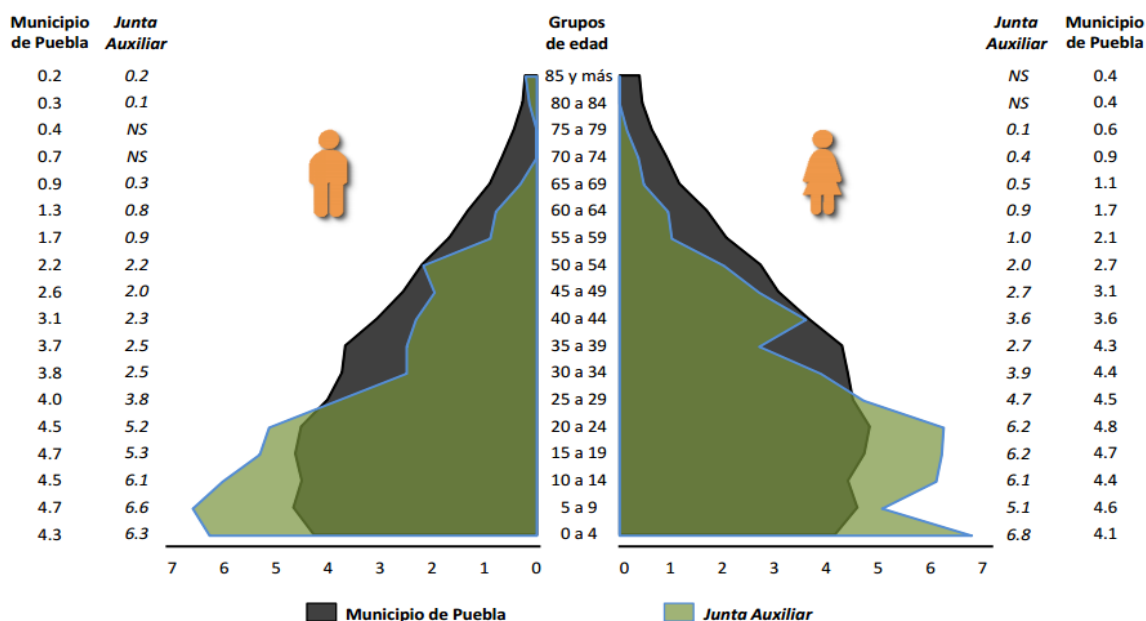


Figura 1. Clasificación de la población de San Baltazar Tétela, por sexo y edad.
Tomado de: INEGI. Censo de Población y Vivienda 2010. Base de datos. Principales resultados por manzana.

Actualmente la población más numerosa en la comunidad de San Baltazar Tétela, abarca los grupos etarios de 5 a 9 años en mujeres y de 10 a 14 años en hombres, seguidos por jóvenes de 25 a 34 años en mujeres y de 15 a 19 años en hombres.

San Baltazar Tétela está situada al sur de Puebla Capital. Sus colindancias: Al norte con el Lago de Valsequillo. Al sur con el ejido Tepenene del Municipio de Tzicatlacoyan. Al este con la localidad de Tejaluca del Municipio de Tzicatlacoyan. Al oeste con la junta de San Francisco Totimehuacan. Su ruta de acceso: De la ciudad de Puebla, con dirección al lago de Valsequillo, por carretera pavimentada, pasando la Junta Auxiliar de San

Francisco Totimehuacán, a 5 kilómetros se localiza la junta auxiliar de San Baltazar Tétela, como se observa en la figura 2 (28).

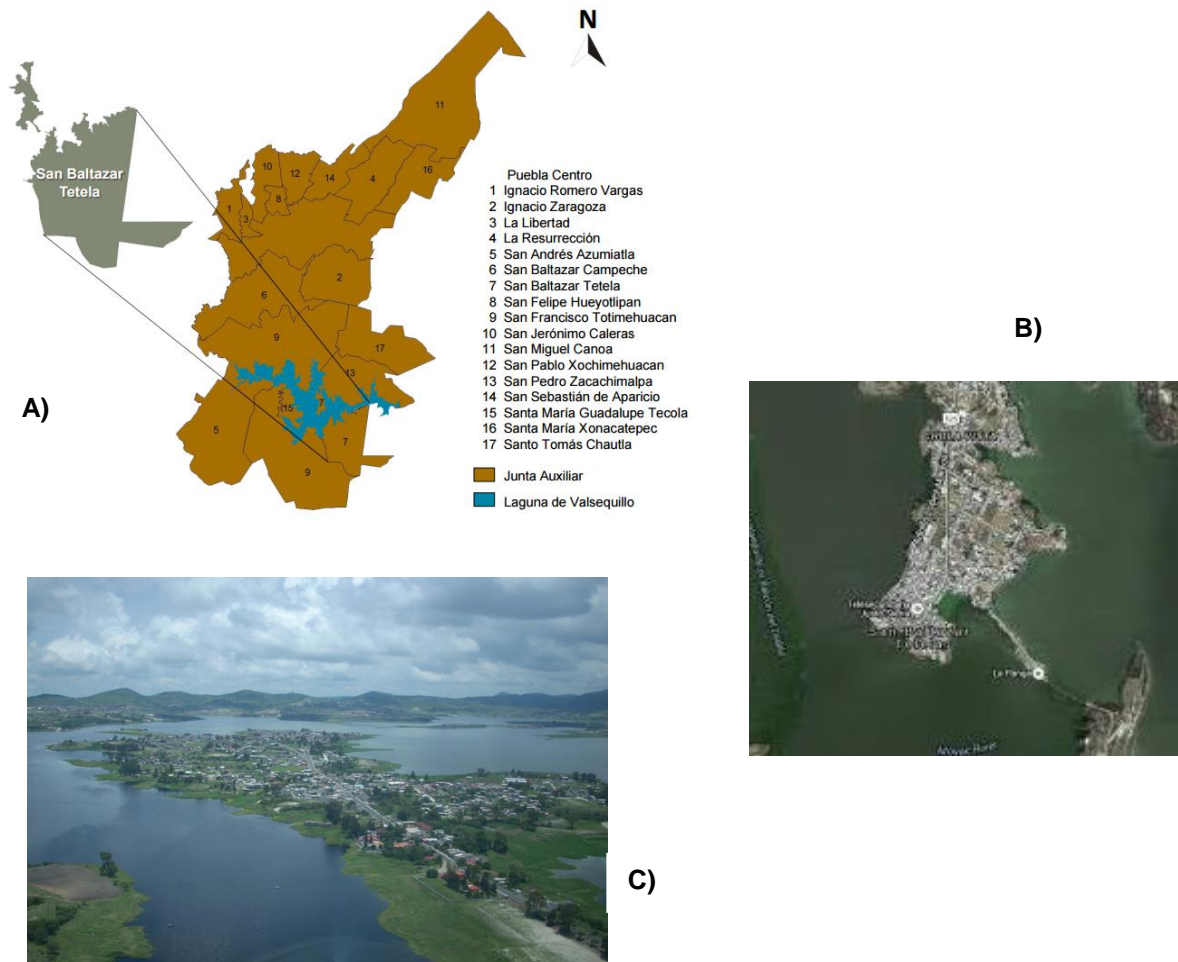


Figura 2. A) Ubicación geográfica de dos colonias de la comunidad de San Baltazar Tétela. Municipios colindantes; B) Vista aérea de la comunidad de San Baltazar Tétela; y C) Vista aérea lateral de la comunidad de San Baltazar Tétela.

Tomado de: Conformación Geopolítica de las Juntas Auxiliares. Administración del Municipio de Puebla (2010) (28).

2.2 Historia local de San Baltazar Tétela, Puebla.

La información histórica de mayor antigüedad acerca de la población de San Baltazar Tétela data del siglo XVI. Se menciona que es una de las comunidades sujetas al pueblo

de Teotimehuacán, antes de la conquista española. De este modo, se puede explicar el origen indígena de esta comunidad y es manifiesto en algunos rasgos culturales y lingüísticos de esta Junta Auxiliar en el presente; muestra de ello es la raíz náhuatl de su nombre: basado en la palabra *tepetl* que significa “piedra”, al mismo tiempo el nombre de San Baltazar, tiene que ver con la fundación de un convento en San Francisco Teotimehuacán y la misión evangelizadora de los frailes; es decir, el sincretismo religioso y cultural que cedió a la conquista de los españoles, puede resumirse en el nombre de San Baltazar Tétela (19).

Para 1569, ya sujetos a los españoles, San Baltazar Tétela era uno de las nueve visitas del recién fundado convento y para fines del siglo XVIII era uno de los cinco pueblos (Azumiatla, Santo Tomás “Chautla, Tecola, Tétela y Xacachimalco) sujetos a Teotimehuacán. No hay rastros históricos de lo que paso con esta comunidad durante el siglo XIX; sin embargo, ya para los inicios del siglo XX y durante el México Revolucionario surgen relatos entre las familias de quienes contaron sus experiencias con los ejércitos revolucionarios, una de ellas es de una mujer que narró la historia de uno de sus hermanos que fue llevado por los revolucionarios y al cual jamás volvió a ver. También narran que a las jóvenes y mujeres las escondían, las disfrazaban y se mostraban sucias para que los revolucionarios no se las llevaran.

El poblado de San Baltazar Tétela en 1937, perteneciente al entonces Municipio de Teotimehuacán, ex Distrito de Tecali. En ese año los habitantes de la población solicitaron al Gobernador del Estado de Puebla al General Maximino Ávila Camacho, la ampliación de tierras cultivables, al considerar insuficientes para satisfacer las necesidades de 82 habitantes que carecían de tierras. También se dio la creación de un Centro de Población Agrícola tras la iniciativa de Samuel Martínez, Jacobo Maravillas y Luciano Vázquez (vecinos de esta comunidad), Presidente, secretario y tesorero, respectivamente del Comisariado Ejidal del poblado de San Baltazar Tétela.

En ese entonces los vecinos de San Baltazar trabajaban en la agricultura como principal actividad económica de autosubsistencia, eran pequeños agricultores que sembraban principalmente maíz, frijol y calabaza. Las cosechas recolectadas las ocupaban para el consumo familiar y lo poco que sobraba era utilizado para el intercambio de productos en los principales mercados de la zona como lo era el pueblo de Teotimehuacán y Tepeaca. El pueblo contaba con algunos nacimientos de agua, es ahí, en donde obtenían el agua

potable y dependían principalmente de la siembra de temporal. El desarrollo de la agricultura y los métodos de siembra datan de la época antigua de México, por lo que tiene una larga tradición agrícola.

Durante la época de la post-revolución, este pueblo tendría la ruptura más reciente para su historia: la construcción de la presa Valsequillo y el lago artificial. Este hecho vino a transformar por completo a esta comunidad en el aspecto social, económico y cultural.

2.3 Contaminación

La presa Manuel Ávila Camacho tiene 70 años desde su construcción. Aproximadamente los primeros 20 años, la presa tuvo beneficios para la comunidad de San Baltazar Tétela, el más importante: el oficio de la pesca y para la zona de Tecamachalco-Tehuacán el abastecimiento de agua para sus cultivos, así como para sus labores domésticas, pero ahora se ha vuelto un foco de contaminación hidráulica.

La presa Manuel Ávila Camacho dejó de ser una laguna con alto potencial para actividades productivas y turísticas para convertirse en un receptáculo de desechos, que causa problemas de Salud a las comunidades aledañas, en este caso a la comunidad de San Baltazar, Tétela. En 1996 se encontraba en la última etapa de la vida biológica, en estado anaeróbico, su vida en estado ecológico terminó en 1992 (4, 6, 15, 20, 22).

Actualmente se ha prohibido su consumo, pero aún la siguen ocupando para riego, lo cual lleva un problema de salud. Su contaminación permite la poca subsistencia de peces, pero a pesar de ello los pobladores practican la pesca y los comercializan. El lirio acuático es otro de los grandes problemas que presenta la presa, pues a pesar de los intentos para erradicarlo, no hay respuesta positiva. Todo lo anterior se muestra en la figura 5.



A)



C)



B)

Figura 3: A) Contaminación eminente del agua de la presa de Valsequillo. B) Muerte de peces por la contaminación; y C). Lirio acuático en la presa.

Las primeras señales de alerta sobre la vulnerabilidad de Valsequillo surgieron en la década de los setenta, en 1972 iniciaron una serie de estudios para determinar el grado de contaminación del embalse, se percibía un incremento acelerado de los niveles de polución, asociados al incremento de la mancha urbana y de la implantación industrial, para 1977 los parámetros químicos y biológicos ya rebasaban los puntos máximos tolerables para un ecosistema (10, 27).

Al finalizar la década de los setenta se registraron los mayores niveles de concentración de contaminantes que los reportados en mediciones en años anteriores, los cuales fueron atribuidos al crecimiento de los corredores industriales de Puebla y Tlaxcala. La situación llevó a considerar a las aguas de la presa como peligrosas para el consumo humano, ya que algunos de los parámetros sobrepasaban hasta cuatro veces los límites máximos

permitidos. Al finalizar la década de los ochenta la situación de la Presa ya se consideraba drástica (10).

En 1996 diversas investigaciones reportaron que el 65 % de la presa estaba azolvada con sólidos sedimentables de desechos humanos y de erosión; el 75 % del área estaba cubierta con lirio acuático saturado con metales pesados, como plomo y mercurio, entre otros; el lirio, aunque servía de agente filtrante de productos químicos peligrosos como los fenoles, consumía todo el oxígeno disuelto y no permitía la piscicultura. Los niveles de contaminación superaron en 2.5 veces los niveles permitidos por cualquier norma nacional e internacional; la contaminación microbiológica se expandió, proliferando importantes contaminantes patógenos como: *Escherichia coli*, amibas, *Salmonella spp.* Lo que permite ver que el problema de contaminación lleva muchos años sin solución, a pesar de los proyectos de rescate que ha implementado el gobierno, asociaciones y las comunidades vecinas, sin que haya un resultado alentador.

Actualmente, la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) tiene como estadística que la presa Manuel Ávila Camacho recibe una aportación de escurrimientos de 22 Municipios de Puebla y 48 Municipios de Tlaxcala (3, 341,772 habitantes). Los niveles de contaminación que presentan las aguas almacenadas en la presa, por los desechos industriales y domésticos de las ciudades de Tlaxcala y Puebla que son arrojados en la corriente del río Atoyac y arrastrados hasta las tierras de riego han provocado que se hayan prohibido los cultivos de verduras, frutas y legumbres, permitiendo sólo la siembra de maíz, frijol, alfalfa, avena y chile (10, 27).

La cantidad de desechos en la presa ha ido en aumento. CONAGUA dio a conocer que la capacidad de almacenamiento de la presa Manuel Ávila Camacho ha disminuido en estos años, ya que en 1946 tenía una capacidad de 404 millones de m³, en 1970 descendió a una capacidad de 303 millones de m³ y en 1998 contaba con una capacidad de 208 millones de m³. Lo anterior, da una idea de la gran acumulación de desechos que tiene la Presa Manuel Ávila Camacho en la actualidad (22,39).

2.4 Agua potable

En definición el agua potable es aquella cuyo uso y consumo no causa efectos nocivos al ser humano y el agua purificada es aquella que ha sido sometida a tratamiento fisicoquímico apta para consumo humano (1,9).

Para considerar si el suministro de agua es o no apta para su consumo ésta ha de someterse a cuatro tipos de análisis (33):

- Análisis químico, donde se determina su dureza, residuo seco, oxígeno disuelto, pH, cloruros, sulfatos, así como otros productos químicos nocivos; por ejemplo, cobre, plomo, zinc, etc.
- Examen físico, que determina la posible turbidez o no, el color, el sabor y olores inadecuados, es decir, las propiedades organolépticas de las aguas.
- Análisis biológico, determina la presencia de algas, protozoos, grupos de nemátodos, larvas de insectos acuáticos, etc.
- Análisis microbiológico, que establece un examen y estudio de gran valor y vital importancia en la prevención de epidemias resultantes de la contaminación de aguas. Con este tipo de análisis se determina el número de bacterias presentes en el agua así como la presencia o ausencia de bacterias del grupo coliforme y *Enterococcus faecalis*, cuya presencia es indicativa de contaminación fecal, y por tanto de la posible presencia de cepas microbianas patógenas responsables de enfermedades tales como: la fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea, disentería, cólera, etc.

2.5 Indicadores microbiológicos del agua (coliformes totales, coliformes fecales, bacterias mesofílicas)

Para determinar la calidad sanitaria del agua, desde el punto de vista bacteriológico, se realiza a través de la investigación de grupos indicadores (agentes bacterianos que comparten características metabólicas, fisiológicas, genéticas, de crecimiento), por lo que surgen los conceptos: coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y bacterias mesofílicas aerobias (BMA) (9, 18).

2.6 Coliformes totales (CT)

El grupo coliforme está formado por bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios, no esporulados que fermentan la lactosa, con producción de gas dentro de las 48 horas de incubación a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. La denominación de coliformes se designa a un grupo de bacterias que tienen características bioquímicas en común, este grupo incluye cuatro géneros principalmente que tienen importancia como indicadores de contaminación del agua: *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., y *Klebsiella* spp (35).

El uso de los coliformes totales como indicador sanitario sugiere contaminación fecal reciente en agua (prácticas higiénicas inadecuadas durante su distribución) (35).

2.7 Coliformes fecales (CF)

Tienen las mismas propiedades fermentativas a $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$. En este grupo se encuentra básicamente *Escherichia coli*. También su uso como indicador sanitario, indica contaminación fecal reciente en agua (35).

2.8 Bacterias mesofílicas aerobias (BMA).

También conocida como cuenta total viable, en este grupo se cuantifican todas las bacterias que crecen en un rango de $20 - 40^\circ\text{C}$ (con una temperatura óptima de crecimiento $35 \pm 2^\circ\text{C}$) en presencia de oxígeno. Recuentos elevados reflejan problemas asociados con (31):

- ✓ Fuente de contaminación
- ✓ Control de calidad.
- ✓ Cumplimiento de una norma.

2.9 Análisis microbiológico del agua

Análisis significa desintegrar un todo en partes, para poder estudiar cada parte de manera particular, así como la relación entre ellas. En el tema del agua existen cuatro tipos de análisis: químico, físico, biológico y microbiológico (1), sin embargo, el análisis a realizar depende de lo que se quiere investigar.

Todos los métodos de análisis tienen un rango de incertidumbre en cuanto a los resultados que producen, esto último debe tenerse en cuenta al seleccionar el método que habrá de utilizarse con un determinado fin.

Los análisis microbiológicos para la determinación de bacterias coliformes totales y fecales se realiza mediante el método del NMP y el recuento de bacterias mesofílas aerobias por vertido en placa.

2.10 Límites permisibles de calidad de agua

Límite se refiere a la cantidad establecida de aditivos, microorganismos, parásitos, materia extraña, plaguicidas, biotoxinas, residuos de medicamentos, metales pesados y metaloides que no se debe exceder en un alimento, bebida o materia prima.

El contenido de organismos resultante del examen de una muestra simple de agua, debe ajustarse a lo establecido en la Tabla 1.

TABLA No. 1 LÍMITES PERMISIBLES MICROBIOLÓGICOS SEGÚN LA NOM-127-SSA1-1994

CARACTERÍSTICA	LÍMITE PERMISIBLE
Organismos coliformes totales	2 NMP/100 mL
<i>E. coli</i> o coliformes fecales u organismos termotolerantes	No detectable NMP/100 mL
Bacterias mesofílicas aerobias	NO APLICA < 250 UFC/mL***

NMP: Número Más Probable

UFC Unidades Formadoras de Colonias y

NA: No aplica

***Límite establecido para este indicador microbiano

Fuente: NOM-127-SSA1-1994 (33).

El recuento de BMA en agua, no se investiga; sin embargo, para fines de esta investigación se consideró aceptar hasta 250 ufc/mL.

3 MARCO DE REFERENCIA

El cauce de los Ríos Zahuapan, Atoyac y Alseseca, son los portadores principales de contaminantes de la presa Valsequillo (30), la cual cuanta con área de 2,8832 hectáreas; en su trayectoria atraviesan parques industriales y empresas dedicadas principalmente a los giros: textil, químico, construcción, electromecánica automotriz y petroquímica; de igual forma son receptores de los colectores industriales y municipales . El caudal medio anual de 1.7 m³/seg de aguas residuales, mientras que el Río Alseseca descarga un caudal medio anual de 07 m³/seg de descargas de alcantarillado sanitario (39, 40).

Esto produce impactos negativos que dañan a la población, las actividades económicas y los ecosistemas aledaños. Los daños ascienden hasta los 483 millones de pesos, siendo la población la más afectada ya que carga con el 87 % de daño total (salud, ingresos, recreación, migración y externalidades de la industria), mientras el 13 % se refiere a las actividades económicas (agricultura, turismo, ganadería y pesca) (41).

En el año 2011 se realizaron los análisis correspondientes de calidad del agua de acuerdo a la normatividad nacional vigente: Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT 1996, “Que establece que los límites máximos permisibles de contaminantes en descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales” y de la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, “Salud ambiental, agua para uso y consumo humano – límites permisible de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización”. El muestreo y trabajo analítico se realizo por personal especializado del Centro de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo (CIEMAD) y del Laboratorio Central de Instrumentación (LCI) de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) que cuenta con la acreditación ante la Entidad Mexicana de Acreditación No. AG-063-007/06. En el muestreo de campo se recolectaron 26 muestras en la Presa de Valsequillo (11 superficiales y 15 a medio fondo). Se concluye que la Presa de Valsequillo se comporta como una gran planta de tratamiento de aguas residuales, donde el lirio acuático tiene el papel más importante en la retención de metales y significativa disminución de demanda bioquímica y química de oxígeno, sin embargo, no para los sólidos totales (40).

Aunque los lirios acuáticos en la Presa tiene desventajas –son introducidos, crecen rápidamente, y cuando se mueren, disminuyen el oxígeno disuelto en agua- tiene ventajas

también. Varias investigaciones demuestran que la acuática en la Presa, especialmente los lirios, mejoran la calidad de agua significativamente. El lirio acuático funciona como biofiltro y provee un servicio ecológico inmenso (38).

En el programa sustentable del Ayuntamiento de Puebla en el 2007 reportaron resultados del análisis del agua de la Presa de Valsequillo para coliformes totales y fecales de los años 1981, 1991 y 1996; lo que permitió ver el aumento de contaminación con el paso de los años (28) (ver tabla 2).

TABLA No. 2 RESULTADOS REPORTADOS POR EL AYUNTAMIENTO DE PUEBLA

Parámetros	1981	1991	1996
CT NMP/100mL	1609.2	3242	3535.33
CF NMP/100 mL	458.8	3000	2520.33

Fuente: Ayuntamiento de Puebla (28).

También se han reportan estudios realizados a las 7 estaciones ubicadas en el río Atoyac, desde la cuenca hasta el distrito de riego de Valsequillo. Se encontraron altas concentraciones de coliformes totales y fecales, asociado a las descargas domésticas directas al río Atoyac de las poblaciones del Estado de Tlaxcala. En la Presa de Valsequillo (estación 6) disminuyeron estos valores en un 99.99%, pero a pesar de la depuración del agua de la presa, el contenido de microorganismos se mantuvo alto: 106 a >1100 NMP/100 mL para coliformes totales y 5-290 NMP/100 mL de coliformes fecales (7).

Otro punto importante es la relación de la tasa de enfermedades con el nivel de contaminación (21). La contaminación por aguas domésticas puede provocar infecciones gastrointestinales en las personas. En el 2013 se reportó un estudio que demuestra la relación de la contaminación del Río Atoyac con la incidencia de enfermedades gastrointestinales en la región Puebla-Tlaxcala, los 169 datos analizados se obtuvieron del Hospital General de Nativitas, los cuales demostraron la relación dependiente con la contaminación del Río Atoyac (25).

Además, se reporta que la Presa de Valsequillo tiene gran importancia en la flora y fauna de Puebla. Se reportó que en la Presa de Valsequillo se concentran un aproximado de 231 especies de aves: 16 en estatus de protección: 12 de protección especial y cuatro amenazadas, esto último demuestra aún más la importancia de la Presa de Valsequillo (39).

4 PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

En la laguna de Valsequillo (Presa Manuel Ávila Camacho) desembocan aguas residuales sin tratamiento, de tipo industrial y domésticos principalmente, lo que resulta un problema ambiental y de salud para las comunidades aledañas, en este caso en particular, para dos colonias de la comunidad de San Baltazar Tétela.

La comunidad de San Baltazar Tétela está conformada por tres colonias: Los Ángeles, Buenavista y Tétela, estas dos últimas colonias están rodeadas casi en su totalidad por la laguna de Valsequillo. El agua potable que surte a estas dos colonias, proviene de pozos (un pozo ubicado en cada colonia), pero se pretende descartar la existencia de una filtración de contaminantes, químicos o microbiológicos, dada la cercanía de éstos al agua de la presa Manuel Ávila Camacho.

5 JUSTIFICACIÓN

Existen en el mundo dos preocupaciones crecientes: la calidad y la disponibilidad del agua dulce limpia, y es uno de los problemas más importantes a los que se enfrenta la humanidad hoy en día, y llegará a ser más crítica en el futuro, debido a que la creciente demanda sobrepasa el suministro.

La evaluación de la calidad del agua es un proceso de enfoque múltiple que estudia la naturaleza física, química y biológica. Los mayores riesgos microbiológicos son derivados del consumo de agua contaminada con excremento de humanos y animales, por esto los patógenos fecales son los que más preocupan al fijar metas sanitarias.

El realizar la detección oportuna de los riesgos de enfermedades intestinales transmitidas por vía alimenticia y consumo de agua de bebida es esencial por lo que esta investigación tiene como finalidad hacer un estudio de la presencia de diferentes organismos microbiológicos dañinos a nuestro organismo en agua, a través de la búsqueda de diferentes grupos indicadores como coliformes totales, coliformes fecales y BMA, mediante técnicas de laboratorio avaladas por la normatividad de nuestro país.

6 OBJETIVOS:

6.1 General

Realizar el estudio bacteriológico del agua potable y de los pozos que se distribuye en los hogares de San Baltazar Tétela, Puebla, a través de los indicadores microbianos establecidos en la Modificación de la NOM-127-SSA1-1994 (coliformes totales, coliformes fecales) además de las bacterias mesofílicas aerobias.

6.2 Particular

Determinar el contenido de bacterias indicadoras de contaminación del agua (coliformes totales, coliformes fecales y bacterias mesofílicas aerobias), según los procedimientos descritos en las Normas Oficiales Mexicanas.

7 METODOLOGÍA

7.1 Diseño de la investigación

7.1.1 Tipo de estudio

Prospectivo, comparativo, transversal y observacional.

7.1.2 Tamaño de muestra

43 muestras del agua potable provenientes de la comunidad de San Baltazar Tétela, Pue.

- 40 de agua potable
- 3 de pozos

7.1.3 Sede y lugar de estudio

Laboratorio de Microbiología del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

7.1.4 Periodo de muestreo

Mayo a Noviembre 2017

7.1.5 Criterios de inclusión:

Muestras de agua potable intradomiciliarias obtenidas en los hogares seleccionadas de la comunidad de San Baltazar Tétela, Pue.

Muestras de pozos obtenidas en los hogares seleccionadas de la comunidad de San Baltazar Tétela, Pue.

7.1.6 Criterios de exclusión:

Se descartaron aquellas muestras provenientes de una zona geográfica distinta a la establecida.

7.1.7 Análisis estadístico de la información

Se aplicará una estadística descriptiva para presentar la información obtenida mediante tablas y gráficos.

7.2 Materiales y metodología

7.2.1 Muestras

Las muestras de agua para el estudio microbiológico sobre indicadores de potabilidad, se colectan en frascos de vidrio estériles con tapón esmerilado o frascos estériles desechables, con capacidad de 125 ó 250 mL, mediante un muestreo aleatorio. La toma de muestra incluye el siguiente procedimiento (34):

1. El agua de los grifos o válvulas debe provenir directamente del sistema de distribución. No debe efectuarse toma de muestra en grifos o válvulas que presenten fugas entre el tambor y el cuello, ya que el agua puede correr por la parte exterior del grifo o válvulas y contaminar la muestra. Deben removerse los accesorios o aditamentos externos como mangueras, boquillas y filtros de plástico o hule antes de tomar la muestra.
2. Debe limpiarse el orificio de salida con una gasa estéril o torunda de algodón impregnada de solución de hipoclorito de sodio con una concentración de 100 mg/L. Adicionalmente cuando el material y las condiciones del punto de salida lo permitan se podrá calentar a flama directa y posteriormente limpiarse con alcohol.
3. Debe dejarse correr el agua aproximadamente 3 min. hasta asegurarse que el agua que contenían las tuberías ha sido renovada o que la temperatura del agua sea estabilizada antes de tomar la muestra. Reducir el volumen de flujo para permitir el llenado del frasco sin salpicaduras.
4. Colocarse los guantes y cubrebocas.
5. Proceder a tomar la muestra sin pérdida de tiempo y sin enjuagar el frasco; se debe dejar el espacio libre requerido para la agitación de la muestra previa al análisis (aproximadamente 10% de volumen del frasco).

El manejo de las muestras, incluye las siguientes especificaciones:

- a) Las muestras tomadas deben colocarse en hielera con bolsas refrigerantes o bolsas de hielo cerradas para su transporte al laboratorio, a una temperatura entre 4 y 10° C, cuidando de no congelar las muestras.
- b) El período máximo que debe transcurrir entre la toma de muestra y el inicio del análisis microbiológico en condiciones de refrigeración será de 3 h.
- c) Para la identificación de las muestras deben etiquetarse los frascos y envases con la siguiente información:
 - Número de control para identificar la muestra.

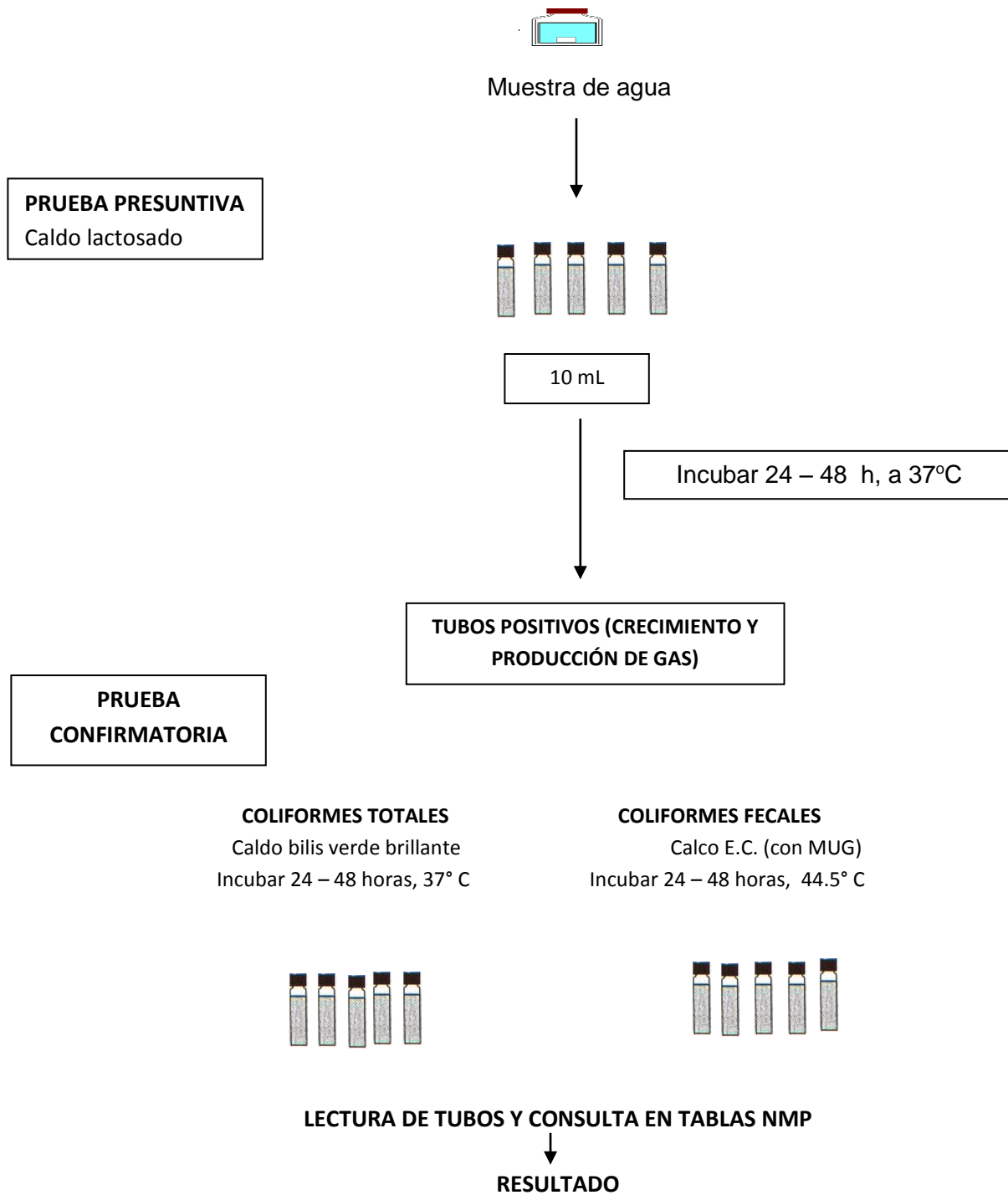
- Fecha y hora de muestreo.
- Identificación del punto o sitio de muestreo.
- Tipo de análisis a efectuar.
- Nombre de la persona que realizó el muestreo.

7.3 Metodología.

Los análisis microbiológicos (CT, CF, BMA) se realizó mediante los métodos descritos en las Normas Oficiales Mexicanas (31, 33, 35), respectivamente (esquemas de trabajo 1, 2).

7.3.1 Esquema de trabajo No. 1

Determinación de bacterias coliformes totales y fecales (Método: NMP)

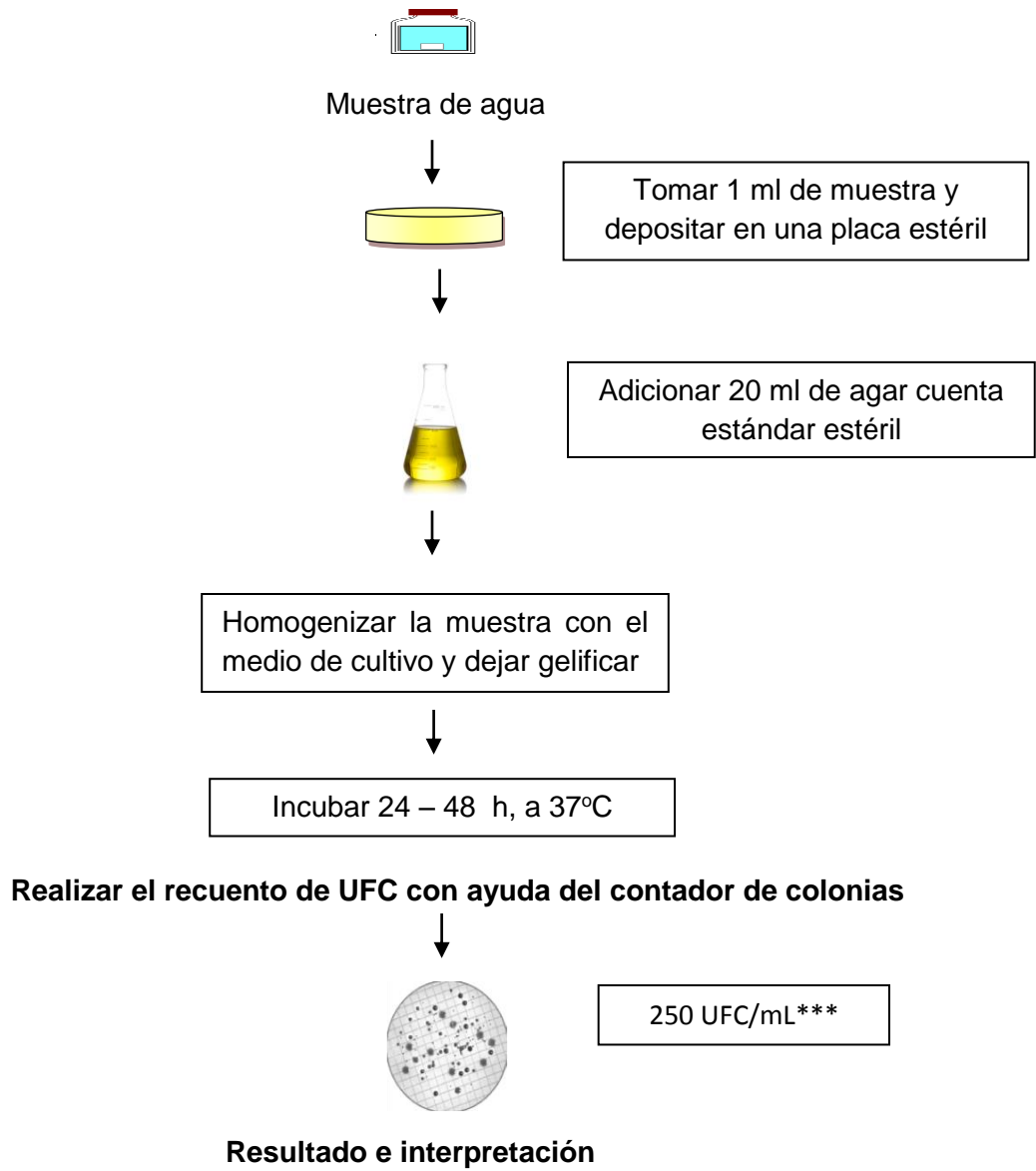


Fuente: Diseño del estudio (33).

7.3.2 Esquema de trabajo No. 2

Recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA)

Método: vertido en placa



Fuente: Diseño del estudio (31).

***Para fines de esta investigación, el equipo de trabajo fijó como límite permisible considerar hasta 250 ufc/mL, tomando en cuenta que no aplica este indicador microbiano a las muestras de agua de pozo analizadas debido a que no existe un sustento legal. Sin embargo en el apéndice informativo B de la NOM-093-SSA1-1994 (derogada) consideraba hasta 100 ufc/mL para muestras de hielo y agua potable (32).

7.4 Recursos humanos.

Director de tesis: M.S.P. Carlos Cabrera Maldonado.

Co- Directora: M.C. Gloria León Tello

Tesista: p Q. F. B. Helem Merari Jiménez Mora

7.5 Recursos materiales.

Todo el material, equipo, medios de cultivo y reactivos utilizados en el Laboratorio de Microbiología Sanitaria.

7.6 Recursos financieros.

Esta investigación fue financiada con aportaciones económicas provenientes del Cuerpo Académico Microbiología 038, de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y del PRODEP.

8 RESULTADOS

8.1 Sitios de muestreo.

En la figura 4 se muestran los sitios de monitoreo obtenidos aleatoriamente y procedentes de 2 colonias de San Baltazar Tétela (Buenavista y Tétela), las cuales están rodeadas casi en su totalidad por la laguna de Valsequillo.

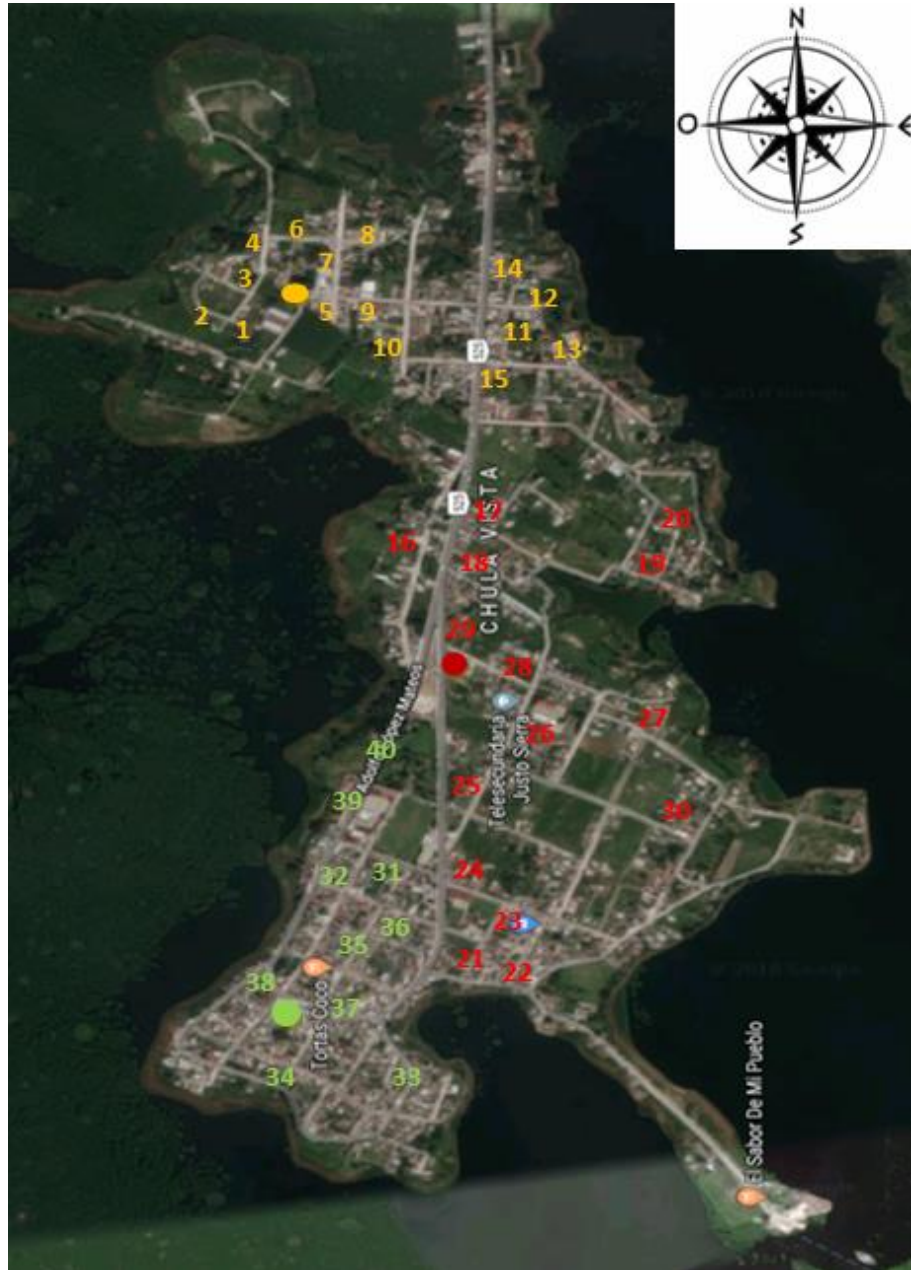


Figura 4. Sitios de monitoreo del agua potable de la comunidad de San Baltazar Tétela. Amarillo: Muestras del pozo 1; Rojo: Muestras del pozo 2; Verde: Muestras del pozo 3.

8.2 Análisis microbiológicos

Los análisis microbiológicos para la determinación de bacterias coliformes totales y fecales fue mediante el método del NMP y el recuento de bacterias mesófilas aerobias fue por vertido en placa, figura 5.

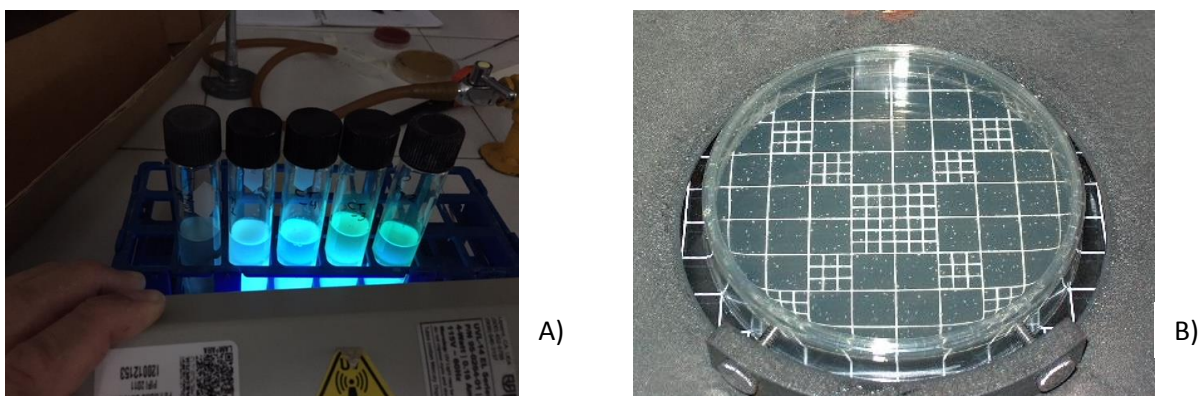


Figura 5. Presencia de CT, CF y BMA en la muestras del agua analizada en la comunidad de san Baltazar Tétela: A) Prueba de coliformes mediante luz UV; y B) Recuento de BMA.

8.3 Resultado de los análisis microbiológicos

Los resultados microbiológicos de las 40 muestras analizadas del agua potable de la comunidad de San Baltazar Tétela se muestran en la tabla 3.

TABLA No. 3 RESULTADO DE LOS ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE AGUA INTRADOMICILIARIA PROVENIENTES DE LA COMUNIDAD DE SAN BALTAZAR TÉTELA, PUEBLA (35)

MUESTRA	CT (NMP/100 mL)	CF (NMP/100 mL)	BMA (UFC/mL)	CUMPLE			INDICADORES MICROBIANOS CT, CF, BMA (%)
				CT	CF	BMA	
1	ND	ND	120	SI	SI	SI	100
2	ND	ND	90	SI	SI	SI	100
3	D	ND	2350	NO	SI	NO	33
4	ND	ND	1280	SI	SI	NO	67

5	ND	ND	20	SI	SI	SI	100
6	D	D	30	NO	NO	SI	33
7	ND	ND	10	SI	SI	SI	100
8	D	D	870	NO	NO	NO	0
9	ND	ND	3780	SI	SI	NO	33
10	ND	ND	1550	SI	SI	NO	33
11	ND	ND	40	SI	SI	SI	100
12	D	ND	820	NO	SI	NO	33
13	D	ND	50	NO	SI	SI	67
14	D	ND	1120	NO	SI	NO	33
15	ND	ND	1360	SI	SI	NO	67
16	ND	ND	30	SI	SI	SI	100
17	ND	ND	10	SI	SI	SI	100
18	ND	ND	2550	SI	SI	NO	67
19	D	ND	2800	NO	SI	NO	33
20	ND	ND	20	SI	SI	SI	100
21	D	D	1620	NO	NO	NO	0
22	D	ND	30	NO	SI	SI	67
23	D	D	830	NO	NO	NO	0
24	ND	D	500	SI	NO	NO	33
25	D	D	1320	NO	NO	NO	0
26	D	D	1680	NO	NO	NO	0
27	D	ND	1320	NO	SI	NO	33
28	D	D	950	NO	NO	NO	0
29	D	ND	40	NO	SI	SI	67
30	D	ND	INCONTABLE	NO	SI	NO	33
31	D	D	INCONTABLE	NO	NO	NO	0
32	D	D	2100	NO	NO	NO	0
33	D	D	500	NO	NO	NO	0
34	D	D	2220	NO	NO	NO	0
35	ND	ND	7200	SI	SI	NO	67
36	D	ND	550	NO	SI	NO	33
37	D	D	INCONTABLE	NO	NO	NO	0
38	D	D	INCONTABLE	NO	NO	NO	0
39	D	ND	1960	NO	SI	NO	33
40	D	ND	1750	NO	SI	NO	33

D: DETECTABLES **ND:** NO DETECTABLES

El porcentaje de indicadores microbiológicos con base a los resultados de laboratorio se muestran en la figura 6.

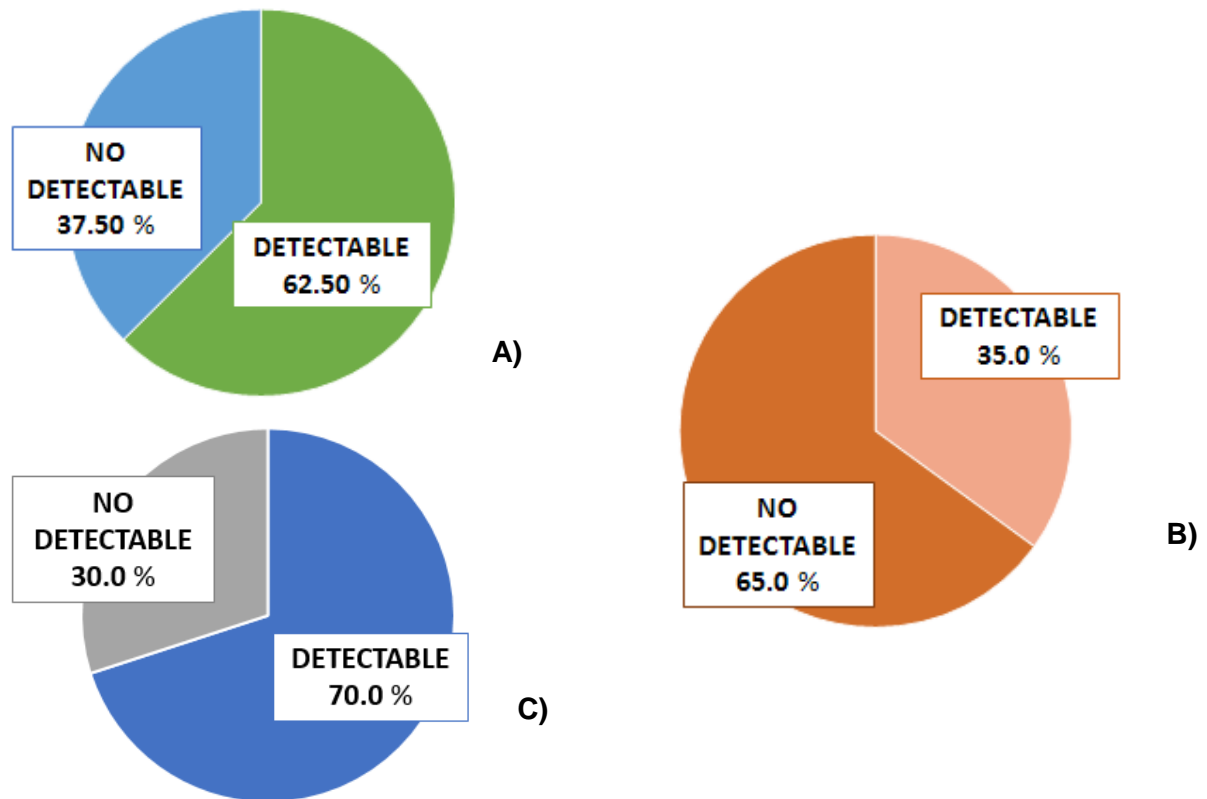


Figura 6. Detección de indicadores microbianos en las muestras de agua. A) CT; B) CF; y C) BMA^{***}. Límite permisible en esta investigación: ^{***}Valores < 250 ufc/mL
Fuente: Resultados de laboratorio.

El porcentaje del cumplimiento de los límites de CT y CF según la NOM-127-SSA1-1994, permite saber si el agua analizada en su mayoría presenta contaminación fecal (Figura 7); y en la tabla 4 se muestran el cumplimiento de los tres parámetros (CT, CF y BMA).

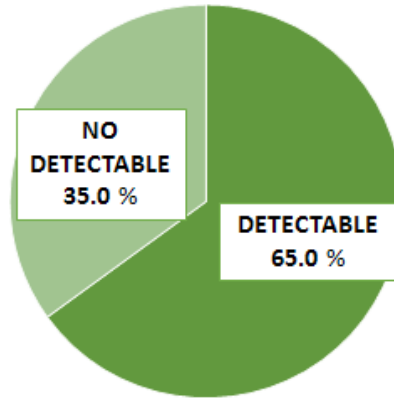


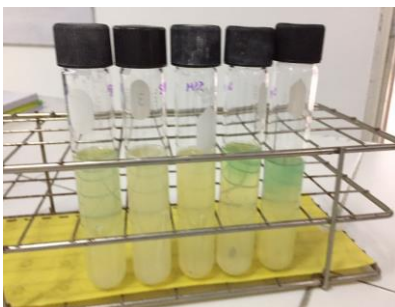
Figura 7. Cumplimiento de los límites de CT y CF según la NOM-127-SSA1-1994
Fuente: Resultados de laboratorio.

TABLA. No. 4 CUMPLIMIENTO DE LOS INDICADORES MICROBIANOS (CT, CF, BMA)

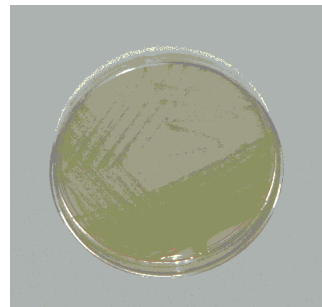
No. de Indicadores microbianos	MUESTRAS
3	8/40 (20.0 %)
2	9/40 (22.5 %)
1	11/40 (27.5 %)
0	12/40 (30.0 %)

Fuente: Resultados de laboratorio.

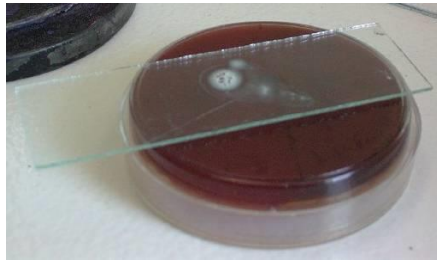
En la muestra No. 15, se aisló e identificó *Pseudomonas aeruginosa*, bacilo gramnegativo, no fermentador, bacteria presente en el medio ambiente y puede encontrarse en heces, suelo, proliferar en ambientes acuáticos (agua y aguas residuales), así como en la superficie de materias orgánicas que estén en contacto con el agua (Figura 8).



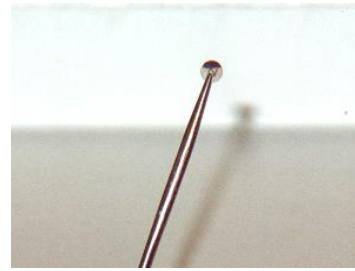
A)



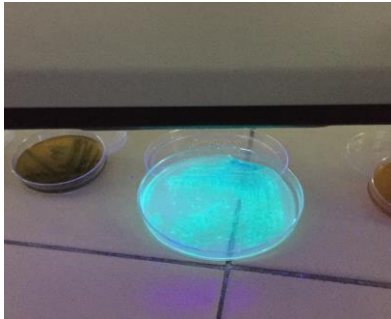
B)



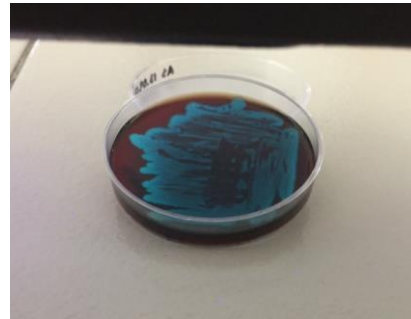
C)



D)



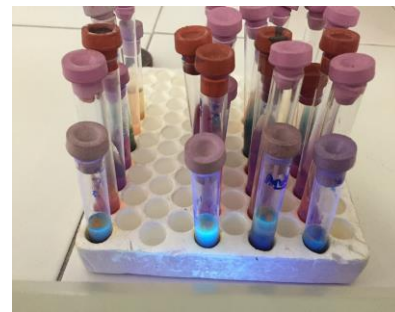
E)



F)



G)



H)

Figura 8. Identificación de *Pseudomonas aeruginosa*. A) Crecimiento presuntivo de *P. aeruginosa* en caldo lactosado; B) Crecimiento presuntivo de *P. aeruginosa* en agar nutritivo. C) Producción de catalasa. D) C) Producción de oxidasa. E) y F) Producción de pigmentos fluorescentes con UV; G) Prueba de metabolismo no fermentados en agar TSI y medio O/F con glucosa. D) Pruebas de identificación bioquímica

Fuente: Resultados de laboratorio.

9 DISCUSIÓN.

Durante el período de muestreo se analizaron 40 muestras de agua intradomiciliaria provenientes de tres pozos en la comunidad de san Baltazar Tétela, Puebla; a través del recuento de coliformes totales, fecales y bacterias mesofílicas aerobias con el propósito de determinar su calidad microbiológica, mediante la investigación de indicadores microbianos propuestos en la NOM-127-SSA1-1994, las muestras fueron analizadas por los métodos oficiales correspondientes. Para realizar inicialmente un diagnóstico microbiológico del agua intradomiciliaria en esta comunidad. Es importante mencionar que no fue posible incluir en el estudio el resultado de los análisis microbiológicos de las muestras de agua provenientes de los 3 pozos (Buenavista y Tétela), la razón fue que al momento de la toma de muestra se adicionaron unas gotas de cloro y la muestras ya no cumplían con los criterios de inclusión, por lo tanto, era inaceptable el resultado. También recordar que las tres colonias: Los Ángeles, Buenavista y Tétela, éstas dos últimas colonias están rodeadas casi en su totalidad por la laguna de Valsequillo (ver figura 4)

El agua debe estar libre de cualquier elemento que cause efectos fisiológicos adversos (12). En este sentido, los coliformes totales (CT) y fecales (CF) son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales porque su origen es principalmente fecal; tradicionalmente se han considerado como indicadores de contaminación en el control de calidad del agua destinada al consumo y su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura (2, 26, 36)

Los límites microbiológicos permisibles de una muestra simple de agua deben ajustarse a lo establecido en la NOM-127-SSA1-1994, que estipula que tanto los coliformes totales como los fecales deben estar ausentes o no ser detectados en las muestras de agua (33).

Los resultados obtenidos en esta investigación revelaron que los coliformes totales no se detectaron en 37.5% de las muestras, pero sí estuvieron presentes en el 62.5% de las muestras (Figura 6-A). Las referencias bibliográficas consultadas destacan como un dato importante que recuentos de CT mayores a un valor de 2 NMP/100mL, sugiere una contaminación fecal reciente (33); es decir, la presencia de coliformes fecales, suceso ocurrido dentro de este estudio. Por lo que, para fines de complemento en nuestro estudio se realizó el estudio confirmatorio de la presencia de CF empleando el método del NMP

(35). Los resultados demostraron que el 35% de las muestras estudiadas no presentan una contaminación fecal reciente (Figura 7).

Los resultados reflejaron una alta contaminación por CT y CF en el agua intradomiciliaria analizada; ya que la NOM correspondiente, estipula ausencia o no detección de este tipo de bacterias; por lo tanto, se tendría que analizar las posibles fuentes de contaminación de agua directamente de los pozos, además de la adición de cloro u otra sustancia que se adicione al agua desde el sitio de almacenamiento, que permita la disminución de este tipo de contaminantes, revisar las tuberías (mangueras) que por la naturaleza de su composición plástica permita la acumulación de microorganismos y la consecuente formación de una biopelícula y realizar de manera periódica análisis microbiológicos (14).

Por otro lado, aun cuando en las muestras de agua intradomiciliaria estén ausentes los CT y CF, pueden presentar otro tipo de carga microbiana y la NOM-127-SSA1-1994, no contempla la cuantificación de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) (figura 5-B). Sin embargo, para fines de esta investigación se consideró que recuentos elevados de BMA > 250 ufc/mL, sugiere deficientes prácticas sanitarias en el proceso de potabilización, formación de biofilms al interior de las tuberías o los depósitos donde se almacena el agua, esta afirmación muestra que lamentablemente poco más de la mitad (70 %) de las muestras en estudio sobrepasan el criterio establecido como un valor sugestivo de BMA (Aceptable < 250 ufc/ml) y solo el restante (30 %) de las muestras de agua cumplen con el límite propuesto, (figura 6-C).

En términos generales la presencia de CT y CF como indicadores de contaminación corresponde al 35% de las muestras en estudio; sin embargo, cuando se incorporaron los tres indicadores realizados se detectó una disminución en el número de muestras que cumplieron con la aceptación de carga microbiológica del 20 % y el restante 65 % no cumple con el contenido de CT y CF; y el 80% con los 3 indicadores propuestos (tabla 4).

Haciendo un análisis más detallado del contenido de CT, CF y BMA, respecto al origen del agua de los pozos, como indicadores del grado contaminación bacteriana, permitió agrupar a las 40 muestras de agua en 3 categorías de contaminación: a) Baja; B) Media; C) Alta. Las primeras 15 muestras provenientes del pozo 1 (Color amarillo) ubicado en la colonia de Buenavista se detectó una menor contaminación de: CT 33.3% (5/15), CF 6.6 % (1/15) y BMA 53.3% (8/15). Mientras que para las 15 muestras de agua del pozo 2

(color rojo) que surte a los domicilios de la Colonia de Tétela se clasificó como una contaminación media ya que se detectó una contaminación de: CT 66.6% (10/15), CF 33.3 % (5/15) y BMA 66.6% (10/15). Finalmente, las 10 muestras del agua del pozo 3 (color verde) fue la que presento mayor contaminación de CT 90.0 % (9/10), CF 60.0 % (6/10) y con mayor incidencia de crecimiento de BMA 100.0% (10/10). Esto último nos permite afirmar que existe mayor contaminación en la colonia de San Baltazar Tétela a comparación de la colonia de Buenavista. Haciendo la recomendando a los habitantes de esta comunidad que pueden utilizar para todas las actividades domésticas, pero no se debe consumir el agua en estas condiciones sin un proceso previo de potabilización en casa como hervirla o adicionarla de unas gotitas de cloro a un volumen definido de este líquido durante un tiempo de contacto mínimo de 30 minutos.

Para que el método desinfectante de cloración para tuberías y pozos sea efectivo en la eliminación de microorganismos que contenga el agua a clorar, se necesita de una concentración de 2 mg/L, se ha reportado que con una concentración menor (1.5 mg/L) no se desinfecta en su totalidad y a una mayor concentración (2.5 mg/L) se encuentra cloro residual. Además, el cloro debe estar en contacto con el agua, al menos, durante 30 minutos y el pH debe estar en un rango de 7.2 a 6.8 (13).

Para la identificación de la cepa *Pseudomonas aeruginosa* (muestra No. 15) aislada, se aplicaron alguno de los criterios de Cowan-Steel, como la tinción de Gram (BGNnoF), catalasa positiva, oxidasa positiva, lactosa negativa en agar Mac Conkey, producción de beta hemólisis en agar sangre de carnero, morfología colonial, metabolismo no fermentador (O/F), MIO y agar Sella's, producción de pigmentos fluorescentes cuando fueron expuestos a la lámpara de luz UV (365 nm) (16) (Ver figura 8).

Recordando que *Pseudomonas aeruginosa*, es una bacteria presente en el medio ambiente y puede encontrarse en heces, suelo, proliferar en ambientes acuáticos (agua y aguas residuales), así como en la superficie de materias orgánicas que estén en contacto con el agua (Figura 8). Además de una fuente conocida de infecciones intrahospitalarias y puede producir complicaciones graves, su presencia en el agua potable es de alto riesgo para la salud, en especial de los neonatos, pacientes hospitalizados e inmunodeficientes (5, 3).

La disponibilidad de una fuente de agua no asegura la utilidad de ésta sino cumple con los estándares de calidad requeridos en las Normas Oficiales Mexicanas (físicoquímicos y microbiológicos (24), por ello no se debe enfocar solamente en su almacenamiento y distribución sino que también debe atenderse la calidad del recurso hídrico, para contrarrestar sus efectos negativos, tales como el deterioro de los ecosistemas acuáticos y el impacto a sector salud.

La evaluación de la calidad del agua es un proceso de enfoque múltiple que estudia la naturaleza física, química y biológica. Los mayores riesgos microbiológicos son derivados del consumo de agua contaminada con excremento de humanos y animales, además de la contaminación microbiológica por desechos de aguas municipales no tratadas; por sustancias químicas de desechos industriales; por fertilizantes y pesticidas; por intrusión salina, entre otros. Por esta razón, se necesita que el agua que se distribuye en la población sea inocua para evitar las enfermedades intestinales transmitidas por vía alimenticia y consumo de agua de bebida, así como el impacto negativo en la economía familiar y reducción en importantes sectores económicos (8, 23)

Finalmente, se recomienda revisar, verificar y validar que los métodos desinfectantes del agua de pozo sean adecuados y correctos, además de no beber el agua antes de clorarla o en su defecto de hervirla (11, 12, 29, 37, 42) y de manera análoga buscar un cambio de cultura respecto al cuidado del agua para que la sociedad no lo vea como un recurso renovable o interminable, sino como un recurso irremplazable y necesario para la sobrevivencia de los seres vivos, en los cuales estamos incluidos los seres humanos.

10 CONCLUSIONES

✓ Las muestras de agua intradomiciliaria en la comunidad de san Baltazar Tétela, Puebla analizadas presentan un alto grado de contaminación por coliformes totales, fecales y bacterias mesofílicas aerobias; al contrastar los resultados del estudio obtenidos con la NOM-127-SSA1-1994.

✓ El recuento de CT y CF representan el 65 %, lo que demuestra que el agua en estas condiciones presenta un alto grado de contaminación de origen fecal.

✓ Solamente (14/40) 35.0 % de las muestras analizadas cumple con lo estipulado en la NOM-127-SSA1-1994.

✓ Las muestras de agua de los pozos que surten a los domicilios en la comunidad fueron clasificadas en 3 categorías de contaminación en base a los resultados obtenidos: a) Baja (Buenavista); B) Media (Tétela) y C) Alta (Tétela) la más contaminada microbiológicamente.

11 REFERENCIAS.

1. Andueza, F. D. (2014). Microbiología del agua. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes Mérida. San José de Costa Rica. XVI Congreso Farmaceutico Municipal. [Power point slides]. Recuperado de: <http://www.cff.org.br>
2. Barrera-Escorcía G., C. L. Fernández-Rendón, I. Wong-Chang y P. Ramírez Romero. (2013). La sensibilidad del grupo coliforme como indicador de la presencia de enterobacterias patógenas en cuatro cuerpos acuáticos de México. *Hidrobiológica México*. pp 87-96.
3. Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Antonio, J., & Valdezate, S. (2010). Manual de laboratorio: Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. SEIMC. pp. 28
4. Cedeño, V. P. C., Téllez, N. D. L., García, F. P., Rosano, O. G., Ascencio, G. J. A. (2006). Artículo: Química y fitoremediación de la presa Manuel Ávila Camacho "Valsequillo". IMP. UAEM, Facultad de Química. UPAEP. Puebla, México.
5. DATABIO. Colección de fichas de agentes biológicos. España 1997. Instituto Nacional de Seguridad e higiene en el trabajo. *Pseudomonas aeruginosa*. D-B-P.a-16.
6. Díaz, R. P., Bonilla, N., Tornero, M., Cabrera, C. Ángeles C. Y., González D. J. y Corona J. E. (2005). Artículo: Calidad del agua de la presa Manuel Ávila Camacho utilizada para el riego de los cultivos en el Distrito de Riego 030 "Valsequillo". [Pdf slides]. Recuperado de: <http://web.uaemex.mx/Redambientales.pdf>
7. Domínguez, M. E. (2005). Geoquímica del Acuífero de Tecamachalco, Puebla. Tesis de doctorado en ciencias. Universidad Autónoma de Puebla.
8. Donis Mejicanos J. A. (2008). Importancia de la calidad fisicoquímica y microbiológica del agua potable del municipio de Nueva Santa Rosa. Ed. Dirección General de Investigación. Guatemala.
9. Fernández, E. E. (2000). Microbiología e inocuidad de los alimentos. En: Agua y alimentos. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro, México. pp. 487 – 499.

10. González, J. A. (2009). El control del agua en la Cuenca de los ríos Atoyac y Zahuapan por el Estado de México post-revolucionario. *Revista Andaluza de Ciencias Sociales*. 8:169.
11. Guía de recomendaciones. (2010). Importancia del consumo de agua segura. Plataforma de conocimiento sobre la construcción de infraestructura ambientalmente sostenible en América Latina y Caribe.
12. Guías para la Calidad del Agua Potable (2008). Alimentos, Agua y Salud Familiar: Manual para Educadores Comunitarios. OMS/UNEP, Oficina de Salud Ambiental Global e Integrada, OMS, Ginebra, Suiza.
13. Guías técnicas sobre saneamiento, agua y salud. OMS. No 11. 3ra. Edición. Revisión Mayo 2009. Ginebra, Suiza.
14. Hoja informativa #3. Bacterias Coliformes en los pozos de agua privada. Septiembre 2009. División de Salud Pública de California del norte. www.ncdhhs.gov/espanol.
15. Ibarra, O. J. R. (1980). La operación en el Distrito de Riego No. 30 Valsequillo, Pue. Tesis de Ingeniera Agrónoma. UDG.
16. Identificación de una cepa bacteriana. Disponible en: <http://bilbo.edu.uy/~microbio/identific02.html> Fecha de consulta: Diciembre de 2016).
17. INEGI. (2010). Censo de Población y Vivienda. Base de datos. Principales resultados por manzana.
18. Jay, M. J. (2000). Microbiología de alimentos. En: *Indicadores de la calidad e inocuidad microbiana de los alimentos*. Ed. Zaragoza. España.

19. Jiménez, M. K. (2016). La presa Manuel Ávila Camacho. Tesis de Licenciatura de Historia. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México.
20. Jiménez, S.R. (2011). Gestión social y procesos productivos: la construcción de la Presa Manuel Ávila Camacho, la formación del Distrito de Riego 030 y su impacto social en el centro del Estado de Puebla. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.
21. Kumate, J. (1988). Morbilidad y mortalidad por diarreas en México. En: Enfermedades diarreicas en el niño. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México 9ª edición, México, D.F. pp. 11-19.
22. Luna, P.V. (2006) Ficha Informativa: MI. Riesgos por contaminación del agua. Facultad de Química, UNAM.
23. Mejía Clara R. (2005). Análisis de la calidad del agua para consumo humano y percepción local de las técnicas apropiadas para su desinfección a escala domiciliaria, en la microcuenca El Limón, San Jeronimo. Honduras. Tesis de Posgrado. Centro Agronomico Tropical de la Investigación y enseñanza (CATIE).
24. Monforte García G., Cantú Martínez P. C. (2009). Escenario del agua en México. Revista CULCyT. No 30.
25. Morales, N. J. A., Rodríguez T. L., Torres, A. F. (2013) Modelo de contaminación del Río Atoyac e incidencia de enfermedades en la región Puebla-Tlaxcala. Universidad Autónoma Metropolitana UAM, D.F. México.
26. Noguera, U. Y. (2005). Frecuencia de *Salmonella*, *E. coli* y organismos coliformes en ensaladas listas para el consumo. Centro de investigaciones Químicas. Universidad autónoma del estado de Hidalgo. Tesis de licenciatura en química de alimentos.
27. Olvera, M. M. (2012). Conflictos por el uso del agua en las políticas de escala de la configuración territorial de grandes presas hidroeléctricas en México: el río Santiago durante el neoliberalismo. Tesis de Maestría, UNAM. México.
28. Programa Municipal de Desarrollo Urbano Sustentable de Puebla. (2007). México.

29. Quick R. (2000). ¿Qué es el agua segura y cuánto debemos desinfectarla? Centers for Disease Control and Prevention Atlanta, GA, EUA. Biblioteca virtual de desarrollo sostenible y salud ambiental. Organización Panamericana de la salud.
30. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. NOM-001-SEMARNAT 1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
31. Secretaría de Salud. NOM-092-SSA1-1993. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial de la Federación, 12 de diciembre de 1995.
32. Secretaría de Salud. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Diario oficial de la federación a 4 de octubre de 1995.
33. Secretaría de Salud. NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
34. Secretaría de Salud. NOM-230-SSA1-2002, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo.
35. Secretaría de Salud. (2015). NOM-210-SSA1-2014. Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.
36. Secretaría de Salud. Nom-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasado y a granel. Especificaciones sanitarias.
37. Solsona F., J. P. Méndez. (2002). Desinfección del agua. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y ciencias del Ambiente.USA. Pp 211.

38. Soto, M. A. (2013) Tesis de Maestría en Políticas Públicas. La valoración económica del medio ambiente a través del método de valoración contingente: el caso de la cuenca del Río Atoyac en Puebla, México. Universidad Iberoamericana. D.F. México.
39. Rose, J. (2011) Ficha informativa de los humedales de Ramsar (FIR): Presa Manuel Ávila Camacho (Presa Valsequillo). Puebla, México.
40. Rodríguez, E.P.F., Morales, G.S.S. Jonathan, M.P., Navarrete, L.M., Bernal, C.A.A, González, C.A., Muñoz. S.N.P. (2011). Servicio Ambiental de la Presa de Valsequillo para las cuencas de Río Atoyac-Sahuapan y Alseseca, Puebla, Tlaxcala, México. CIIEMAD, IPN, SEMARNAT, Puebla, México.
41. Rodríguez, T.L., Morales, N.J.A., Zavala, V.P. (2012). Evaluación socioeconómica de daños ambientales por contaminación del río Atoyac en México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Morelos, México.
42. Urrutia Pérez R., Parra Barrientos O., Acuña Carmona A. (2003). Los recursos hídricos. Una perspectiva global e integral. Colección: Educar para el Ambiente. Manual para el docente. Proyecto INET-GTZ. Buenos Aires, Argentina. Pp 193.