

Determinación de la calidad microbiológica del agua de la Laguna de Chapulco, Puebla

Assessment of the microbial quality of Chapulco Lagoon, Puebla

Norma Elena Rojas Ruiz¹, Guillermo Muñoz Zurita², Araceli Sosa Jiménez³, Itzamná Baqueiro Peña^{4*}

Rojas Ruiz, N. E., Muñoz Zurita, G., Sosa Jiménez, A., Baqueiro Peña, I. Determinación de la calidad microbiológica del agua de la Laguna de Chapulco, Puebla. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. Número 68: 29-35, mayo-agosto 2016.

RESUMEN

La Laguna de Chapulco forma parte de los seis cuerpos de agua principales que se encuentran funcionando aún en la ciudad de Puebla; sin embargo, podría enfrentar problemas de contaminación. Se realizaron tres muestreos independientes en 10 puntos que seccionaban a la Laguna de Chapulco, las muestras fueron sembradas en los medios de cultivo Agar SS para el aislamiento selectivo de *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y para coliformes en el medio EMB. En las muestras analizadas se determinó la presencia de *Escherichia coli*, con un valor máximo de 3×10^5 UFC/ml, lo cual excede el límite permitido en la NOM-003-ECOL-1997. Los microorganismos *Shigella* sp. y *Salmonella* sp. estuvieron presentes con un valor máximo de 2×10^3 UFC/ml y 8×10^6 UFC/ml, respectivamente. Finalmente, la cantidad de los microorganismos aislados fue variable en los puntos muestreados en la laguna y tuvo estrecha relación con la estación del año en la cual se tomó la muestra.

Palabras clave: Chapulco, bacterias, agua, *E. coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp.

Keywords: Chapulco, bacteria, water, *E. coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp.

Recibido: 30 de abril de 2015, aceptado: 18 de noviembre de 2015

¹ Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

² Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

³ Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

⁴ Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; Coordinación de Ciencias de los Alimentos, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo.

* Autor para correspondencia: itzamna.baqueiro@ciad.mx

ABSTRACT

In the city of Puebla there are six principal water bodies and Chapulco Lagoon is one of them, however lagoon water could face pathogen pollution problems. Three independent samples were taken at 10 sectioned points of Chapulco Lagoon, the samples were inoculated in SS Agar culture media for the selective isolation of *Salmonella* sp., *Shigella* sp. and the coliforms in the media EMB. The presence of *Escherichia coli* was determined with a maximum value of 3×10^5 CFU/ml that exceeds the limit allowed for NOM-003-ECOL-1997. The microorganisms *Shigella* sp. and *Salmonella* sp. presented a maximum value of 2×10^3 CFU/ml and 8×10^6 CFU/ml, respectively. Finally, the amount of the isolated microorganisms was variable at points sampled in the lagoon and had close relations with the season in which the sample was taken.

INTRODUCCIÓN

El agua constituye una parte fundamental del desarrollo de la vida en el planeta, es un recurso renovable; sin embargo, actualmente a nivel mundial nos enfrentamos a graves problemas con respecto a su uso y conservación, uno de ellos es la contaminación de los diversos cuerpos de agua, esto debido principalmente a las actividades humanas.

En el *Plan Municipal de Desarrollo 2011-2014* de Puebla se informó que en la ciudad se tienen registrados 22 cuerpos de agua, de los cuales la mayoría se han perdido por diversas causas, entre ellas la ex-

pansión del suelo urbano que ha contribuido de manera importante al deterioro de la calidad del agua, debido a problemas de contaminación, como se especifica en el *Plan Municipal de Desarrollo 2011-2014* de Puebla (Gobierno Municipal de Puebla, 2015).

El INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) en su reporte presentado en el año 2011 reportó que Puebla es el segundo lugar nacional en puntos de descarga de aguas residuales municipales sin tratamiento, con 226 tiraderos, apenas 45 menos que el estado de México, que presentó el primer lugar nacional, como lo estipula el *Anuario de estadísticas por entidad federativa 2011*. En los 226 puntos del territorio poblano se pueden observar descargas de aguas contaminadas, provenientes de hogares e industrias a las que no se les realiza ningún tipo de tratamiento y que no tienen ningún tipo de control, lo que constituye un problema grave de contaminación para los cuerpos de agua de la ciudad.

De acuerdo con la CONAGUA (Comisión Nacional del Agua), los cuerpos de agua que se encuentran funcionando en los alrededores de la ciudad de Puebla son: la presa Manuel Ávila Camacho (Valsequillo), las lagunas de San Baltazar, del Parque Ecológico Revolución Mexicana, de Ciudad Universitaria BUAP, de Amaluquilla y de Chapulco, como se estipula en el *Plan Municipal de Desarrollo 2011-2014* (Gobierno Municipal de Puebla, 2015). Esta última resulta de importancia debido a que su existencia aporta beneficios ambientales y ecológicos a los habitantes de la ciudad de Puebla, tales como representar un hábitat de diversas especies de flora y fauna endémica, constituir un lugar de esparcimiento y recreación para las ciudades cercanas, además de contribuir a la regulación del microclima en la zona; sin embargo, estos beneficios pueden estar en riesgo debido a los posibles problemas de contaminación que sufre la Laguna de Chapulco.

Está documentado que los cuerpos acuáticos naturales y artificiales son altamente propensos a recibir aguas contaminadas con o sin tratamiento previo, lo cual origina el detrimento en la calidad del agua y con ello la pérdida de diversidad biótica nativa y su potencial como fuente de abastecimiento de agua para diversas actividades humanas (Luna Pabello y Aburto Castañeda, 2014). Una vez alterada la calidad y cualidades del agua se convierte en agua de tipo residual. Con respecto a este concepto, la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997 (SEMARNAT, 1998) la define como el líquido de com-

posición variada proveniente de usos municipal, industrial, comercial, agrícola, pecuario o de cualquier otra índole, ya sea pública o privada y que por tal motivo haya sufrido degradación o alteración en su calidad original.

El ámbito de la calidad microbiológica del agua está en función de la presencia de ciertos microorganismos indicadores de contaminación fecal como las bacterias coliformes, aunque también pueden encontrarse otros microorganismos patógenos para el humano como *Salmonella* sp. y *Shigella* sp., además de virus, bacterias, protozoos y fases enquistadas de metazoarios (Harwood et al., 2005; Savitchcheva y Okabe, 2006). Las bacterias indicadoras de contaminación fecal más utilizadas son las coliformes totales y termotolerantes, los microorganismos coliformes constituyen un grupo heterogéneo de amplia diversidad en términos de género y especie, pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. Dentro de estas, una enterobacteria de gran importancia es *E. coli*, ya que su abundancia se ha asociado más al riesgo sanitario en comparación con el resto de los coliformes (Farnleitner et al., 2010; Rivera et al., 2010).

La contaminación de los cuerpos de agua a nivel nacional no solo repercute en el aspecto ambiental, la presencia de microorganismos patógenos para el hombre presentes en el agua la convierten también en una problemática de tipo sanitario, por lo que es relevante realizar investigación con respecto a la calidad microbiológica de los cuerpos de agua en el país. El objetivo del presente fue llevar a cabo el monitoreo de la calidad microbiológica del agua de la Laguna de Chapulco, Puebla, enfocado principalmente al aislamiento de bacterias indicadoras de contaminación fecal como son *E. coli* y bacterias patógenas de interés sanitario como *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. El monitoreo de la calidad microbiológica permitirá la evaluación de la efectividad del saneamiento implementado en dicho parque recreativo y el futuro planteamiento de alternativas de saneamiento que sean sustentables y compatibles con el ambiente, que favorezcan también la conservación de la misma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones del monitoreo de la Laguna de Chapulco

Se realizaron tres muestreos simples independientes (en diferentes estaciones del año), en 10 puntos que seccionaron de manera representativa. El primero

fue realizado en el mes de octubre de 2013, el segundo en marzo de 2014 y el tercero en mayo de 2014. El horario fue desde las 9 a.m. hasta las 12 p.m. en los tres lapsos. El criterio de selección del muestreo en octubre fue debido a que es el mes posterior a la época de lluvias en la ciudad de Puebla. Cabe mencionar que la laguna se encuentra ubicada geográficamente en una zona urbana y recibe cada año aguas residuales de origen urbano, lo que podría afectar la calidad microbiológica del agua. En el mes de marzo no se registraron lluvias de manera considerable, por lo que el volumen del cuerpo de agua se encontraba dentro de los parámetros normales. Finalmente, el tercero en el mes de mayo fue elegido debido al incremento de la temperatura ambiental, la cual afectó el volumen de agua de la laguna por la evaporación.

La selección de los puntos muestreados se realizó de manera aleatoria en cada una de las zonas que integran la laguna. Las características de la ubicación física de los puntos monitoreados se muestra en la Tabla 1.

Condiciones de la toma de muestras y transporte al laboratorio

Las muestras de agua fueron tomadas en cada uno de los puntos a una profundidad de 30 cm desde la

superficie del cuerpo de agua. El muestreo se realizó de la siguiente manera: se usaron recipientes estériles de 50 ml enjuagados varias veces antes de efectuarlo, se introdujo el recipiente colector en el agua de la laguna y se tomó directamente, esto atendiendo lo establecido en la Norma Mexicana NMX-AA-3-1980 para el respectivo de aguas residuales (SARH et al., s/f). Las muestras fueron mantenidas a baja temperatura y transportadas en hielera hasta llegar al laboratorio para su posterior cultivo, el cual no excedió a 4 h posteriores a la toma de las mismas.

Medios de cultivo para el aislamiento de microorganismos

Para el aislamiento de microorganismos de tipo coliforme presentes en el agua se utilizó el medio Agar Eosina Azul de Metileno marca Bioxon, el cual fue preparado de acuerdo a las especificaciones de su ficha técnica.

En el caso del aislamiento de las bacterias *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. se utilizó el medio de cultivo selectivo Agar SS de la marca Bioxon.

Determinación de microorganismos presentes en las muestras de agua por conteo directo en placa

En condiciones de laboratorio se realizaron diluciones seriadas 1/10, 1/100, 1/1,000, 1/10,000 y 1/100,000

Tabla 1. Características de ubicación física de los puntos muestreados en el monitoreo de la Laguna de Chapulco

Sección muestreada de la laguna	Características del punto muestreado
1	Zona de inicio de la laguna, con corriente de agua, generada por la fuente que se encuentra en la laguna.
2	Zona donde se presentaba una población de gallaretas (<i>Gallinula chloropus</i>), agua con corriente, cerca de la zona de las bombas.
3	Zona norte de la laguna, con agua perteneciente a un canal, cercano a tuberías de SOAPAP, se encontraron desechos de basura orgánica e inorgánica y animales muertos.
4	Zona oeste frente a la antena.
5	Zona centro de la laguna, presencia de corriente en la orilla de la laguna y rocas cercanas a la zona de muestreo.
6	Zona oriente, ubicada cerca de la estructura de pirámide, el agua se encontraba estancada.
7	Zona próxima a las bombas de agua, no hay presencia de corriente.
8	Zona con nivel del agua muy bajo, justo debajo de un puente.
9	Zona perteneciente a la explanada principal, a un costado de las escaleras.
10	Zona perteneciente a la explanada principal, parte inferior de las escaleras, cerca de la base de concreto.

Elaboración propia.

Tabla 2. Aislamiento de la bacteria *E. coli* en agua de la Laguna de Chapulco

Sección de la laguna muestreada	Muestreo 1 UFC/ml	Muestreo 2 UFC/ml	Muestreo 3 UFC/ml	Promedio de los muestreos UFC/ml	Log UFC/ml
1	9.00E + 05	1.00E + 03	1.00E + 04	3.04E + 05	5.5
2	8.00E + 05	5.00E + 02	1.00E + 03	2.67E + 05	5.4
3	9.60E + 05	1.00E + 02	1.00E + 04	3.23E + 05	5.5
4	7.60E + 05	5.00E + 02	1.00E + 04	2.57E + 05	5.4
5	8.80E + 05	1.00E + 02	1.40E + 04	2.98E + 05	5.5
6	1.00E + 06	5.00E + 02	6.00E + 03	3.36E + 05	5.5
7	2.40E + 05	1.00E + 03	2.00E + 04	8.70E + 04	4.9
8	4.00E + 05	1.00E + 03	1.00E + 04	1.37E + 05	5.1
9	2.00E + 05	1.00E + 03	1.00E + 04	7.03E + 04	4.8
10	2.40E + 05	1.00E + 03	1.50E + 04	8.53E + 04	4.9

Elaboración propia.

de las muestras, las cuales fueron sembradas en los medios de cultivo Agar SS y EMB. Los medios inoculados se incubaron por 24 h a 37 °C, transcurrido el tiempo de incubación se determinó el número de unidades formadoras de colonias de las bacterias presentes. Posteriormente se realizaron pruebas bioquímicas confirmatorias.

RESULTADOS

Durante el monitoreo de la calidad microbiológica del agua de la Laguna de Chapulco fue posible determinar la presencia de las bacterias de interés sanitario tales como *E. coli*, *Salmonella* sp. y *Shigella* sp.

En el primer muestreo realizado se encontró que la bacteria *E. coli* obtuvo un valor máximo de 1×10^6 UFC/ml, en el segundo se observó una disminución considerable en el número de unidades formadoras de colonias, hasta alcanzar un valor máximo de 1×10^3 UFC/ml. Antes de realizar el segundo muestreo se implementó el programa de tratamiento químico del agua, lo que explica la disminución del aislamiento bacteriano en algunos puntos de monitoreo de la laguna; sin embargo, al realizar el tercer muestreo se determinó que el máximo valor fue de 2×10^4 UFC/ml. Al analizar la cantidad de UFC/ml de *E. coli* en los tres muestreos se observa que durante el primero se aisló al microorganismo entre tres y cuatro órdenes de magnitud mayor con respecto al segundo y al tercer muestreo, por lo que es posible que el arrastre de agua de origen urbano durante la época de lluvias, con aporte de materia orgánica hacia la laguna, permitiera el incremento del microorganismo. El

valor promedio máximo para *E. coli* en el periodo de muestreos fue de 3×10^5 UFC/ml (Tabla 2), valor considerablemente alto de acuerdo con lo establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997 (SEMARNAT, 1998) en los límites máximos permisibles de contaminantes para cuerpos de agua con fines recreativos, que considera un máximo de 1,000 UFC/100 ml.

Durante el monitoreo de la calidad microbiológica del líquido también fue posible el aislamiento de la bacteria *Shigella* sp. con un valor máximo de 3.5×10^3 UFC/ml, en el primer y segundo muestreos. Los puntos analizados en la laguna mostraron poca variación cuando se aisló este microorganismo, lo cual indica una distribución relativamente homogénea del mismo, independientemente de los cambios que ocurrieron en las condiciones ambientales tales como temperatura, cantidad de agua en la laguna y variaciones en el pH (debido a la implementación del tratamiento de la laguna) después del primer muestreo, ya que *Shigella* sp. es capaz de sobrevivir en rangos de temperatura que varían desde los 8 hasta los 55 °C y en un pH de 4.5 a 9, por lo que el desarrollo del microorganismo no fue afectado. En el tercer muestreo se obtuvieron los valores más bajos, alrededor de uno y dos órdenes de magnitud con respecto a los anteriores, comportamiento similar al de *E. coli*; además *Shigella* sp. es un microorganismo cuyo reservorio principal es el ser humano, por lo que su presencia en el líquido de la laguna se relaciona con el aporte de aguas negras de la ciudad hacia la laguna.

Tabla 3. Aislamiento de *Shigella* sp. en agua de la Laguna de Chapulco

Sección de la laguna muestreada	Muestreo 1 UFC/ml	Muestreo 2 UFC/ml	Muestreo 3 UFC/ml	Promedio de los muestreos UFC/ml	Log UFC/ml
1	3.00E + 03	1.00E + 02	1.00E + 01	1.04E + 03	3.0
2	2.00E + 03	1.00E + 03	1.00E + 02	1.03E + 03	3.0
3	4.00E + 02	2.00E + 03	1.00E + 02	8.33E + 02	2.9
4	1.20E + 03	3.00E + 03	1.00E + 03	1.73E + 03	3.2
5	2.00 E + 03	1.00E + 03	2.00E + 02	1.07E + 03	3.0
6	1.50 E + 03	4.00E + 03	5.00E + 01	1.85E + 03	3.3
7	3.50 E + 03	2.00E + 03	4.00E + 01	1.85E + 03	3.3
8	2.00 E + 03	3.50E + 03	5.00E + 02	2.00E + 03	3.3
9	3.20 E + 03	1.00E + 03	4.50E + 01	1.42E + 03	3.2
10	2.50 E + 03	2.00E + 03	1.00E + 02	1.53E + 03	3.2

Elaboración propia.

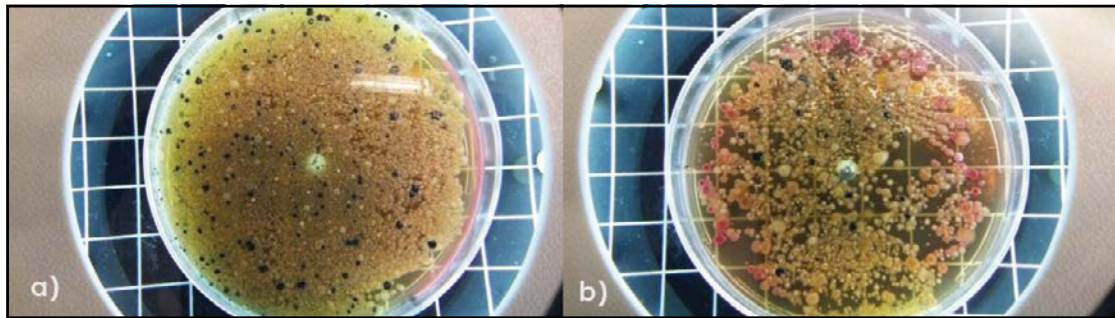


Figura 1. Microorganismos aislados en el medio Agar SS. a) Dilución 1/10, b) Dilución 1/100. Fotografía tomada por Norma Elena Rojas Ruiz.

El valor promedio máximo en el monitoreo para *Shigella* sp. fue de 2×10^3 UFC/ml (Tabla 3 y Figura 1), que aún representa un valor significativo para la presencia de esta bacteria, reafirmando las características fisiológicas de la bacteria para sobrevivir en diferentes condiciones ambientales, lo cual es de importancia, ya que aunque el agua de la Laguna de Chapulco solo se emplea con fines recreativos y de esparcimiento, podría en determinadas circunstancias convertirse en fuente de transmisión de estos microorganismos, sobre todo en aquellas actividades que impliquen contacto directo con ella.

En el caso de la bacteria *Salmonella* sp. solo fue posible su aislamiento durante el primer monitoreo y se determinó en 3 de los 10 puntos muestreados, con un valor máximo de $8.00E + 06$ (Tabla 4), el cual es un valor alto; sin embargo, la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997 (SEMARNAT, 1998) en este caso no es es-

pecífica con respecto a los límites máximos permisibles para *Salmonella* sp. en cuerpos de agua con fines recreativos. La importancia del aislamiento de *Salmonella* sp. radica en que es un microorganismo patógeno para el ser humano; éste se encuentra en la materia fecal, por lo que su presencia en el primer muestreo pudo deberse a las descargas urbanas durante la época de lluvias y haber contaminado el agua.

Tabla 4. Aislamiento de *Salmonella* sp. en agua de la Laguna de Chapulco

Sección de la laguna muestreada	Muestreo 1 UFC/ml	Log UFC/ml
2	1.00E + 06	6.0
3	1.30E + 06	6.1
4	8.00E + 06	6.9

Elaboración propia.

La cantidad de microorganismos aislados fue variable en cada uno de los puntos muestreados de la laguna, además de mostrar fluctuaciones según las condiciones ambientales, como la temperatura de acuerdo a la estación del año, ya que en el caso de *E. coli* se observó un menor desarrollo en el mes de marzo. Tanto *E. coli* como *Salmonella* sp. mostraron ser susceptibles a los efectos del tratamiento químico, el cual posiblemente afectó el pH y temperatura del agua, e inhibió su desarrollo. En el caso de *Shigella* sp., el microorganismo fue aislado en los tres muestreos de manera constante, mostró ser más resistente a los cambios ambientales y al efecto del tratamiento de saneamiento del agua; esto debido a sus características fisiológicas de desarrollo. Es importante mencionar que los tres microorganismos indicadores de contaminación con materia fecal aislados en el presente trabajo mostraron su mayor aislamiento en el primer muestreo, realizado después de la época de lluvias; por lo que se puede relacionar su presencia en el agua de la laguna a la contaminación por descargas de origen urbano.

DISCUSIÓN

Determinar la presencia de *E. coli* en el agua de la Laguna de Chapulco es de suma importancia debido a que los microorganismos coliformes son los principales indicadores de contaminación fecal en el agua (Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994), esto porque ellos forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal, tanto del ser humano como de los animales homeotermos y están presentes en grandes cantidades en él (Del Pilar et al., 2005; Lamendella et al., 2008). La contaminación del agua con *E. coli* puede deberse a las descargas de agua de origen urbano que llegan inevitablemente a la laguna y la alta concentración de esta bacteria se explica porque en las heces se excretan diariamente entre 10⁸-10⁹ unidades formadoras de colonias (UFC/g) de heces (Larrea et al., 2009). La literatura reporta que *E. coli* crece y se divide en su hábitat primario (hospedero) aunque puede sobrevivir en el hábitat secundario (agua, suelo, sedimentos) durante poco tiempo. La sobrevivencia de *E. coli* en el ambiente es variable, pero no mayor a un día; sin embargo, las altas concentraciones se mantienen debido a la constante descarga de su hábitat primario, como son los mamíferos a los cuerpos de agua superficial (Winfield y Groisman, 2003).

Los resultados obtenidos en la presente investigación mostraron una cantidad considerable de aislados de *E. coli* en un hábitat secundario, lo que concuerda con lo postulado en la literatura en donde se menciona que *E. coli* no vive en ambientes inertes, pero que el continuo volumen de estas bacterias es transferido de fuentes humanas y animales que mantienen una población estable fuera del hospedante animal (Winfield y Groisman, 2003).

De acuerdo con los resultados mostrados en la presente investigación para el aislamiento de *Salmonella* sp. únicamente fue posible encontrar a estas bacterias en 30% de las muestras, lo que difiere de lo propuesto por Barrera Escorcía et al. (2013), que determinaron la presencia de bacterias entéricas patógenas con base en el índice de sensibilidad y el modelo de riesgo atribuible en los lagos de Pátzcuaro, Michoacán, México y el ecosistema lacustre de Xochimilco, D. F., en donde determinaron para ambos cuerpos de agua la presencia de *Salmonella* sp. con un índice de sensibilidad de 60% y un riesgo atribuible de 58%. Esta variación en el hallazgo de microorganismos en la Laguna de Chapulco puede deberse a factores ambientales, como las variaciones en la temperatura y pH, además del efecto benéfico del programa de tratamiento químico que entró en marcha después del primer muestreo, afectó los parámetros de temperatura y pH e inhibió el desarrollo de *Salmonella* sp.

La variación entre la cantidad de microorganismos aislados durante los muestreos del monitoreo fue considerable, está documentado que las bacterias responden a factores ecológicos diversos, como la temperatura, la disponibilidad de nutrientes, la salinidad, el pH, la luz solar, que influyen en su permanencia y sobrevivencia. Con respecto a la temperatura algunas enterobacterias han mostrado ser susceptibles a altas temperaturas (González et al., 2010), lo cual es similar a lo mostrado para *E. coli* en el tercer muestreo del presente estudio, registrado en el mes de mayo.

La relevancia de los microorganismos encontrados en el agua de la laguna radica en que las bacterias aisladas representan indicadores ambientales de la contaminación que está sufriendo este cuerpo de agua, ya que aunque esta representa un área recreativa, es un punto de descargas de aguas de diversos orígenes, siendo la principal descarga la de tipo urbano.

CONCLUSIONES

La contaminación de los cuerpos de agua presentes en las ciudades es una problemática actual. La Laguna de Chapulco, Puebla, representa una de las pocas áreas de esparcimiento presentes en la ciudad, por lo cual es de suma importancia su conservación y saneamiento. Al realizar el análisis microbiológico de la calidad del agua se encontraron mi-

croorganismos como *E. coli*, *Salmonella* sp. y *Shigella* sp., los cuales son indicadores reconocidos de contaminación, en especial aquella de origen fecal, vinculada a las descargas de agua urbana en los cuerpos de agua. El conocer los microorganismos que se encuentran como agentes contaminantes del agua de la laguna posibilita en un futuro la búsqueda del mejoramiento de estrategias de saneamiento compatibles con la conservación del ambiente acuático.

LITERATURA CITADA

- BARRERA ESCORCIA, G. et al. La sensibilidad del grupo coliforme como indicador de la presencia de enterobacterias patógenas en cuatro cuerpos acuáticos de México. *Hidrobiológica*, 23(1): 87-96, 2013.
- DEL PILAR, M. et al. Microbiological indicators of contamination of the water sources. *NOVA-Publicación Científica*, 3(4): 69-79, 2005.
- FARNLEITNER, A. H. et al. *Escherichia coli* and enterococci are sensitive and reliable indicators for human, livestock and wildlife faecal pollution in alpine mountainous water resources. *Journal of Applied Microbiology*, 109(5): 1599-1608, 2010.
- GONZÁLEZ, A. M. et al. Relationships between fecal indicators and pathogenic microorganisms in a tropical lagoon in Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 164(1): 207-219, 2010.
- HARWOOD, V. J. et al. Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6): 3163-3170, 2005.
- LAMENDELLA, R. et al. Bifidobacteria in feces and environmental waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(3): 575-584, 2008.
- LARREA, J. et al. Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del Complejo Turístico Las Terrazas, Pinar del Río (Cuba). *Higiene y Sanidad Ambiental*, 9, 492-504, 2009.
- LUNA PABELLO, V. M. y ABURTO CASTAÑEDA, S. Sistema de humedales artificiales para el control de la eutroficación del lago del Bosque de San Juan de Aragón. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 17(1): 32-55, 2014.
- RIVERA, R. et al. Relations fecal coliforms/fecal streptococci as indicators of the origin of fecal pollution in urban and rural water bodies of Temuco, Chile. *Ciencia e Investigación Agraria*, 37(2): 141-149, 2010.
- SAVICHTCHEVA, O. y OKABE, S. Alternative indicators of fecal pollution: relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. *Water Research*, 40(13): 2463-2476, 2006.
- SEMARNAT (SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-003-ECOL-1997, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. *Diario Oficial de la Federación*, 21 de septiembre de 1998.
- WINFIELD, M. D. y GROISMAN, E. A. Role of Non host Environments in the Life styles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7): 3687-3694, 2003.

De páginas electrónicas

- GOBIERNO MUNICIPAL DE PUEBLA. *Plan Municipal de Desarrollo 2011-2014*. 2015. Recuperado de implanpuebla.gob.mx/sitio/wp-content/uploads/2015/03/PMD_2011_2014.pdf
- INEGI (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA). *Anuario de estadísticas por entidad federativa 2011*. 2011. Recuperado de centro.paot.org.mx/documentos/inegi/anuario_esta_federativa_2011.pdf
- SARH (SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRÁULICOS) et al. NORMA MEXICANA NMX-AA-3-1980. Norma Mexicana Aguas Residuales. - Muestreo. *Legismex. Legislación ambiental mexicana* [Folleto electrónico]. Recuperado de <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa003.pdf>
- SSA (SECRETARÍA DE SALUD). Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. *Diario Oficial de la Federación*, 10 de mayo de 1995. Recuperado de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/112ssa14.html>