



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

EVALUACIÓN DE
PATÓGENOS E INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL EN UN SITIO DE REÚSO DE
AGUA RESIDUAL NO PLANIFICADO EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

MARÍA ALEJANDRA FONSECA SALAZAR

TUTORA: DRA. MARISA MAZARI HIRIART
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DR. CARLOS DÍAZ ÁVALOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATEMÁTICAS APLICADAS Y SISTEMAS, UNAM
DR. IVÁN MORENO ANDRADE
INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. DICIEMBRE, 2016.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

EVALUACIÓN DE
PATÓGENOS E INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL EN UN SITIO DE REÚSO DE
AGUA RESIDUAL NO PLANIFICADO EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

MARÍA ALEJANDRA FONSECA SALAZAR

TUTORA: DRA. MARISA MAZARI HIRIART
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DR. CARLOS DÍAZ ÁVALOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATEMÁTICAS APLICADAS Y SISTEMAS, UNAM
DR. IVÁN MORENO ANDRADE
INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

MÉXICO, D.F. DICIEMBRE, 2016.

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina, en su sesión ordinaria del día 20 de junio de 2016, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la alumna **FONSECA SALAZAR MARIA ALEJANDRA** con número de cuenta **303252441** con la tesis titulada: **"EVALUACIÓN DE PATÓGENOS E INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL EN UN SITIO DE REÚSO DE AGUA RESIDUAL NO PLANIFICADO EN MÉXICO"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. MARISA MAZARI HIRIART**:

Presidente:	DR. HORACIO RIOJAS RODRÍGUEZ
Vocal:	DR. RODOLFO OMAR ARELLANO AGUILAR
Secretario:	DR. CARLOS DÍAZ AVALOS
Suplente:	DRA. ROSA ELENA SARMIENTO SILVA
Suplente	DR. DANIEL DE LOS COBOS VASCONCELOS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx. a 05 de diciembre de 2016

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

“Si deseamos la continuidad de la vida como la conocemos, es necesaria la creación de una nueva cultura que reconozca y respete el valor del agua.

De esta nueva cultura dependerá la supervivencia de las futuras generaciones y especies del planeta”.

Lynn Margulis

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Al Instituto de Ecología, Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad. Por el apoyo brindado durante el Doctorado.

Agradecimiento a CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) por la beca otorgada para la realización de los estudios de Doctorado (CONACYT 278613705–Convocatoria 290649. Beca 412952/262627).

El trabajo de campo que comprende esta investigación fue financiado por el proyecto “Scale dependency of formation of resistences and their transfer to human pathogens during wastewater reuse”, apoyado por CONACYT I0110/193/10 y DFG (DeutscheForschungsgemeinschaft) de 2010 a 2012.

A mi comité académico Dra. Marisa Mazari Hiriart, Dr. Carlos Díaz Ávalos y Dr. Iván Moreno Andrade por su apoyo constante, y siempre buena actitud hacia mi crecimiento personal como investigadora.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis compañeros de Laboratorio Rosa, Nallely Gustavo, Erick, Toño, Tere, Ivonne sin su ayuda en una u otra forma no hubiera sido posible este trabajo de investigación.

A Mirsha por la elaboración y mejoramiento de los mapas de los artículos.

Lucero por su ayuda en campo.

A la Dra. Ana Cecilia, siempre con una sonrisa dispuesta a colaborar y ayudar en lo posible.

A la Dra. Marisa Mazari por su ingenio, constante motivación y apoyo incondicional.

A mi hija Vera Valentina que me ha dado fuerza para terminar este proyecto, te amo.

A mi madre Olga por toda la ayuda, en sentidos inimaginables, sin ti no hubiera terminado. Te quiero mucho.

A David por su amor y escucharme.

A Enrique por su ayuda en los datos del Valle del Mezquital y sus valiosos consejos.

A mi primo Ariel por su ayuda en las referencias.

A mi familia, mi padre Rodolfo, mi tía Maggie, Sofí, Fer, Guisel, Beto, Luis, Georgina, Griselda, Diego, por escuchar y siempre estar ahí.

A todas las personas que de una u otra forma contribuyeron a esta tesis, los señores de los pozos, los habitantes del Valle del Mezquital... entre muchos otros.

ÍNDICE

Índice	1
Índice de Tablas	3
Índice de Figuras	4
Nomenclatura	5
Resumen	6
Abstract	9
Organización de la tesis	12
Capítulo 1	
Introducción	15
Marco conceptual	16
Situación mundial del agua y el reúso de agua residual como alternativa	16
Antecedentes del reúso de agua residual	19
Ventajas y desventajas del reúso de agua residual	21
Agua subterránea y reúso de agua residual	23
Riesgos a la salud relacionados con el agua subterránea	26
Reúso de agua residual en México y normatividad	28
Casos de reúso de agua residual en la cuenca de México	33

Características generales de generales de los organismos analizados en el trabajo de investigación	35
Métodos	47
Área de estudio	52
Justificación y objetivos	80
Capítulo 2	
Microbial indicators, opportunistic bacteria and pathogenic protozoa for monitoring urban wastewater reused for irrigation in proximity to a Megacity	85
Resumen del artículo	86
Capítulo 3	
Pathogenic microorganisms in a groundwater pathway impacted with wastewater	104
Resumen del artículo	105
Capítulo 4	
Conclusiones y consideraciones finales	134

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Categorías del reúso de agua residual y aplicaciones a nivel mundial (Modificado de Asano <i>et al.</i> , 2007).	18
Tabla 2. Patógenos asociados con agua residual municipal (Modificado de Ikehata, 2013).	27
Tabla 3. Microorganismos potencialmente patógenos presentes en agua residual (Modificado de Ikehata, 2013).	27
Tabla 4. Límites máximos permisibles de contaminantes microbiológicos para aguas residuales tratadas que se reúsan en servicios al público NOM-003-SEMARNAT-1997,(DOF, 2003).	30
Tabla 5. Límites máximos permisibles de la calidad microbiológica del agua para la recarga artificial en el acuífero de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México con agua residual tratada NADF-003-AGUA-2002, (DOF, 2004).	31
Tabla 6. Límites máximos permisibles de microorganismos para la recarga artificial de acuíferos de acuerdo con NOM-014-CONAGUA-2003 (DOF, 2009).	32
Tabla 7. Límites permisibles para el agua de uso y consumo humano de acuerdo con NOM-127-SSA1-1994, (DOF, 2000).	33
Tabla 8. Factores ambientales que afectan la supervivencia de los virus en ambientes acuáticos.	43
Tabla 9. Enfermedades gastrointestinales en niños de 1 a 14 años en el estado de Hidalgo.	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Subcuencas hidrográficas de la región XIII, Aguas del Valle de México (Modificado de CONAGUA, 2009).	24
Figura 2. Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales en México.	29
Figura 3. Permanencia de patógenos en agua subterránea y agua limpia (entre 4° y 15°C).	45
Figura 4. Filtración a través de membrana.	48
Figura 5. Ultrafiltración.	51
Figura 6. Área de estudio en el estado de Hidalgo y sitios de muestreo. Elaboración propia con ARCGIS 10.1 (INEGI, 2010).	56
Figura 7. Índice de marginación en el área de estudio. Elaboración personal con ARCGIS 10.1 (INEGI, 2010).	60

NOMENCLATURA

PTAR Panta de Tratamiento de Aguas Residuales
ZMCM Zona Metropolitana de la Ciudad de México
UFC Unidades Formadoras de Colonia
CFE Comisión Nacional de Electricidad
CONAGUA Comisión Nacional del Agua
PEMEX Petróleos Mexicanos
NMP Número Más Probable
SAGARPA Secretaría de Ganadería, Agricultura y Pesca
DOF Diario Oficial de la Federación
NOM Norma Oficial Mexicana
SSA Secretaría de Salud
ZMT Zona Metropolitana de Tula
INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía
CF Coliformes fecales
EF Enterococos fecales
m³ metros cúbicos
¹⁸O oxígeno dieciocho

RESUMEN

El reúso de agua no es una práctica nueva, pero se adopta de manera cada vez más extensiva sin la planeación y precauciones necesarias para ser considerada como una práctica segura. Establecer y hacer cumplir las normas necesarias para que el reúso sea eficiente, que no implique un peligro ambiental, ni para la salud humana, así como dar un tratamiento adecuado, deberían ser temas prioritarios para las instituciones responsables a nivel local, municipal, estatal y federal, responsables de estas actividades. En este trabajo de investigación se expone el caso del Valle del Mezquital, ubicado en el estado de Hidalgo, en el que desde hace más de 100 años se reutiliza el agua residual, carente de tratamiento previo, proveniente de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México, y es utilizada para riego agrícola, lo que ha llevado a que se recargue el acuífero de la zona sin planeación alguna, una práctica que se ha extendido y se seguirá incrementando. Algunos efectos a la salud y al ambiente en esta zona han sido ya descritos.

Una de las aportaciones de este trabajo de investigación es el análisis de virus, bacterias, y protozoarios, explorando la asociación entre la presencia de estos microorganismos y el tipo de agua en los diferentes sitios de muestreo, así como considerando las diferentes temporadas.

En el primer artículo se encontró que no existe interacción significativa entre el sitio de muestreo y las temporadas respecto a la concentración de bacterias. Además de la detección y cuantificación de protozoarios patógenos,

Pseudomonas aeruginosa e indicadores de contaminación fecal. Los resultados ilustran la densidad de estos microorganismos en las aguas residuales, se proporciona un diagnóstico actual de la calidad del agua en toda la zona, que podría afectar la salud de los habitantes, así como contaminar el agua subterránea y el suelo, en el Valle del Mezquital, y demuestra la necesidad urgente de tratar las aguas residuales tanto a escala local como regional. No se detecta disminución en la concentración de bacterias indicadoras de contaminación fecal ni genomas de *Pseudomonas aeruginosa* en el trayecto de muestreo del sur de la Ciudad de México hasta el Valle del Mezquital. Se detectan concentraciones de 10^8 UFC de los indicadores de contaminación fecal, enterococos y coliformes fecales y 10^8 genomas/mL de *Pseudomonas aeruginosa*, esto variando dependiendo del sitio de muestreo.

En el segundo artículo se analiza la calidad del agua subterránea en el Valle del Mezquital, explorando si existe infiltración del agua residual al acuífero en una zona piloto en la que se conoce la composición, dirección de la infiltración del agua y profundidad del acuífero, llamada Tlahuelilpan, ubicada en el Valle del Mezquital. En este sitio se tomaron muestras de agua a distintas profundidades del acuífero y se utilizaron Deuterio y ^{18}O para conocer si era el mismo tipo de agua de los canales de agua residual infiltrándose hacia el acuífero. Se analizaron e identificaron bacterias con resistencia a antibióticos como *Pseudomonas aeruginosa* y Enterococos spp, así como indicadores de contaminación fecal en sitio de agua residual y manantiales. Adenovirus, y protozoarios patógenos como *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* también fueron detectados a distintas profundidades en el acuífero del Valle del Mezquital.

Con los resultados obtenidos en esta investigación es evidente la necesidad en

atender este tema de reúso de aguas residuales, principalmente el tratamiento de este tipo de aguas. Ante el aumento de la población en zonas urbanas del país, el suministro de agua de buena calidad, el alcantarillado para una canalización adecuada de lluvias y el tratamiento de las aguas residuales debe ser prioritario tanto para el gobierno, como para la sociedad civil. Esto para enfrentar unos de los grandes retos de este siglo, que es la escasez del agua. Proteger los cuerpos de agua superficiales y subterráneos, debería ser también prioritario considerando a las generaciones actuales y futuras.

ABSTRACT

The reuse of water is not a new practice, but is adopted in an increasingly extended without the planning and precautions necessary to be considered as a safe practice. Establish and enforce the necessary rules for the re-use is efficient, which does not involve an environmental hazard, or to human health, as well as to give an appropriate treatment, should be a priority for the institutions responsible at the local level, municipal, state and federal, responsible for these activities. In this work of investigation, it is exposed the case of the Mezquital Valley, located in the state of Hidalgo, in which more than 100 years ago is reused the residual water, devoid of prior treatment, from the Metropolitan Area of Mexico City, and is used for agricultural irrigation, which has led to recharge the aquifer of the area without any planning, a practice that has been extended and will continue increasing. Some effects on health and the environment in this area have already been described.

One of the contributions of this research work is the scanning of viruses, bacteria and protozoa, exploring the association between the presence of these microorganisms and the type of water in the different sampling sites, as well as considering the different seasons.

In the first article was found that there is no significant interaction between the sampling site and the seasons with regard to the concentration of bacteria. In addition to the detection and quantification of protozoan pathogens, *Pseudomonas aeruginosa* and indicators of fecal contamination. The results

illustrate the density of these microorganisms in wastewater, provides a current diagnosis of the quality of the water throughout the area that could affect the health of the inhabitants, as well as polluting the groundwater and soil, in the Valley of the Mezquital, and demonstrates the urgent need to treat wastewater at both the local and regional levels. Is not detected decrease in the concentration of bacteria indicators of fecal contamination or genomes of *Pseudomonas aeruginosa* sampling along the route of the south of the City of Mexico to the Valley of the Mezquital. Detected concentrations of 10^8 CFU of indicators of fecal contamination, enterococci and fecal coliforms and 108 genomes/mL of *Pseudomonas aeruginosa*, this varying depending on the sampling site.

In the second article analyzes the quality of groundwater in the Valley of the Mezquital, exploring whether there is infiltration of waste water into the aquifer in a pilot area in which you know the composition, direction of water infiltration and depth of the aquifer, call Tlahuelilpan, located in the Valley of the Mezquital. In this site water samples were taken at different depths of the aquifer and used deuterium and oxygen 18to know if it was the same type of water of the channels of residual water infiltrating into the aquifer. Were analyzed and identified bacteria with resistance to antibiotics such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus* spp, as well as indicators of fecal contamination in site of residual water and springs. Adenovirus, and protozoan pathogens such as *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* were also detected at different depths in the aquifer of the Valley of the Mezquital.

With the results obtained in this investigation is evident the need to attend this issue of reuse of wastewater, mainly the treatment of this type of waters. According to the increase of the population in urban areas of the country, the supply of good quality water, sewerage for an adequate pipeline of rains and wastewater treatment should be a priority both for the government and for civil

society. This to face some of the major challenges of this century, which is the shortage of water. Protect the bodies of surface and underground water, priority should also be given to the present and future generations.

ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

Esta tesis de grado está organizada en cuatro capítulos, como se describe a continuación.

En el Capítulo 1 se presenta el marco conceptual del reúso del agua residual, considerando definiciones, los usos a los que se destina y la situación del reúso, tanto a nivel mundial como en México. Se aborda, así mismo, el tema de los patógenos presentes en distintos tipos de agua y la normatividad respecto al reúso de agua en nuestro país. En este capítulo se hace una descripción detallada de los microorganismos que se utilizaron en esta investigación y los métodos para su detección y cuantificación.

Se plantean los objetivos del trabajo de investigación que consisten principalmente en evaluar la presencia de patógenos potenciales e indicadores de contaminación fecal en el acuífero del Valle del Mezquital, Hidalgo, que recibe agua residual sin previo tratamiento de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México; se hace una descripción detallada del área de estudio desde una perspectiva histórica, social y ambiental.

En el Capítulo 2 se presenta un primer artículo que se generó basado en esta investigación, en el que se determinó la carga de coliformes fecales y otros organismos como enterococos y *Pseudomonas aeruginosa* en agua subterránea, agua superficial y agua residual que ingresan al acuífero del Valle

del Mezquital, desde la Zona Metropolitana de la Ciudad de México, y que influyen en la calidad del agua de esta área. Se complementó información con protozoarios patógenos como *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium parvum* para el primer artículo. Se buscó si existía una relación espacial y temporal, entre los microorganismos estudiados y el tipo de agua, las variaciones a través del trayecto de muestreo y entre las temporadas de muestreo a lo largo de un ciclo anual incluyendo época de secas y lluvias. Esta información fue generada como parte del proyecto *Scale dependency of formation of resistences and their transfer to human pathogens during wastewater reuse*, proyecto financiado por CONACYT I0110/193/10 y DFG (DeutscheForschungsgemeinschaft) de 2010 a 2012.

El acuífero del Valle del Mezquital es recargado con agua residual, carente en la actualidad de un tratamiento previo, producto de riego por inundación. El Capítulo 3 corresponde a un segundo artículo producto de esta investigación que se enfoca en la cuantificación adenovirus y rotavirus en agua subterránea que se utiliza como fuente de abastecimiento para las poblaciones locales y se determinó si estos virus estaban asociados con la infiltración de agua residual para reúso agrícola, con base en el análisis de isótopos Deuterio y ^{18}O . Esta información resulta relevante, ya que no existen datos de virus entéricos en la zona de estudio.

A manera de consideraciones finales, se revisaron los aportes de esta tesis y los retos futuros, tanto metodológicos, como de integración interdisciplinaria para el entendimiento de un problema complejo como es el reúso de agua residual y las implicaciones que esto tiene desde diversas perspectivas. Lo anterior, se presenta en el Capítulo 4. Con una visión de transición a la sostenibilidad se plantean los escenarios actuales respecto a la calidad

microbiológica del agua residual para riego y agua subterránea en el Valle del Mezquital, y se plantean consideraciones basadas en la situación futura, una vez que entre en operación la Megaplanta de Tratamiento de Aguas Residuales de Atotonilco en el Estado de Hidalgo.

C
A
P
Í
T
U
L
O

1

INTRODUCCIÓN

MARCO CONCEPTUAL

Situación mundial del agua y el reúso de agua residual como alternativa

El agua es el núcleo del desarrollo sostenible. Los distintos tipos de agua y los servicios ecosistémicos que prestan, ayudan a la reducción de la pobreza y crecimiento económico. Con el agua, se consolida la seguridad alimentaria y energética, hasta la salud ambiental. El agua contribuye a las mejoras en el bienestar social y el crecimiento inclusivo (UN-Water, 2014).

Monitorear la calidad de todos los tipos de agua es fundamental para conocer el estatus de este recurso y tomar medidas para su uso, reúso y tratamiento. Se sabe que al menos 1.800 millones de personas en el mundo utilizan una fuente de agua potable que está contaminada con materia fecal, más del 80% de las aguas residuales resultantes de las actividades humanas se vierte en ríos o el mar sin que se eliminen contaminantes. Además cada día, cerca de 1.000 niños mueren a causa de enfermedades diarreicas prevenibles relacionadas con el agua y el saneamiento (OMS, 2016).

La carga de enfermedad atribuible al ambiente es de aproximadamente 12.6 millones de muertes, de estas, las muertes por enfermedades diarreicas ocupan el sexto lugar con 846 000 muertes anuales (OMS, 2016)

Estos problemas pueden atribuirse a factores como: la gestión inadecuada del agua que está acelerando la disminución de las aguas subterráneas y superficiales, la calidad del agua que se ha degradado por las fuentes de

contaminación de origen doméstico, industrial, así como fuentes agrícolas y pecuarias no puntuales, además de la falta de infraestructura y servicios de saneamiento, entre otros. En las zonas urbanas, la demanda de agua ha ido en constante aumento, debido al exacerbado crecimiento poblacional, el desarrollo industrial y la expansión de la agricultura. Adicionalmente los cambios en las condiciones climáticas, como son los patrones de lluvia, los ciclos de inundaciones y sequías, han afectado el ciclo del agua (Verstraete *et al.*, 2009).

Frente a esta problemática, existe la necesidad urgente de mejorar la eficiencia del consumo de agua, entre otras cosas aumentando las fuentes de agua existentes, con alternativas más sostenibles. Entre estas alternativas se encuentra el reúso del agua residual, que se ha convertido en una salida importante en la nueva gestión de los recursos hídricos, tanto por razones ambientales como económicas (Lazarova y Asano, 2013). El reúso del agua residual tiene una larga historia, principalmente para la agricultura, y otras áreas, incluyendo la industrial, doméstica y urbana, que son usos más actuales.

En la Tabla 1 se muestran las principales categorías en las que se clasifica el reúso del agua residual.

Tabla 1. Categorías del reúso de agua y aplicaciones a nivel mundial (Modificado de Asano *et al.*, 2007).

Categorías	Aplicación
Agricultura	Riego de cultivos
Riego de jardines	Parques, patios de escuelas, carreteras, campos de golf, cementerios y residenciales
Industrial	Refrigeración, para enfriamiento de calderas, construcción
Recarga de acuíferos	Reposición de aguas subterráneas, control de intrusión salina
Usos recreativos ambientales	Recarga de lagos y estanques, aumento de caudales, pesca y producción artificial de nieve
Usos urbanos no potable	Hidrantes, aire acondicionado y sanitarios
Uso potable	Mezcla con reservorios de agua Mezcla con agua subterránea Mezcla directa en el sistema de distribución (tubería)

El reúso del agua residual puede ser aplicado con fines benéficos, como el riego agrícola, procesos industriales, recarga de acuíferos, e incluso para el suministro de agua para uso y consumo humano, después de un tratamiento específico. Para asegurar que las aplicaciones de reúso sea sostenible y exitoso, es necesario que cumplan los siguientes requisitos:

- Evaluación y disminución de riesgos potenciales para la salud pública asociados con agua residual y agua de reúso.
- Aplicaciones específicas de reúso en función de la calidad del agua.

Los beneficios sociales, ambientales y económicos del reúso del agua residual son extensos, aunque implican consideraciones especiales, principalmente en temas como la salud pública y que requieren también una estrecha planeación de infraestructura; como la construcción de plantas de tratamiento, la eficiencia de los proceso de tratamiento, la aplicación de las regulaciones específicas asociadas, así como su seguimiento para un adecuado manejo del agua

(UNEP, 2005).

Antecedentes del reúso de agua residual

Los registros más antiguos del reúso de agua residual datan de aproximadamente de 3000 a.C, en la civilización Minoan de Creta, Grecia, que utilizaban el agua residual para riego agrícola. Fue hasta mediados del siglo XIX que el reúso de agua empezó a ser una necesidad debido a que era una forma de retirar el agua residual de las ciudades (principalmente las viviendas); canalizar el agua residual tenía una función más bien de sistema colector que retiraba de los centros de población los desechos de todo tipo; utilizando la “dilución” del agua residual como una forma de solución, que es una práctica que persiste aún en el siglo XXI (Chanan *et al.*, 2013).

En el caso de Europa en el siglo XIX, la contaminación de ríos como el Támesis en Gran Bretaña, contraía serias consecuencias, principalmente a la salud, con epidemias de cólera causadas por la contaminación de las fuentes de abastecimiento. La derivación del agua residual proveniente de hogares e industrias; así como desechos de las granjas en las zonas rurales, que llegaban directamente al río.

En el caso de México, desde 1890 se construyeron canales de desagüe hacia el norte de la ciudad de México, con el propósito de evitar inundaciones en la ciudad, para sacar el agua de lluvia y agua residual de la cuenca de México. Está situación continúa y es aprovechada por los agricultores de la región en el estado de Hidalgo, además de la recarga no intencional del acuífero con agua

residual sin previo tratamiento que ha ocurrido en el Valle del Mezquital.

En 1926 en Estados Unidos se utilizó por primera vez agua residual tratada del Parque Nacional del Gran Cañón para descarga de inodoros, riego por aspersores, sistemas de enfriamiento y agua para calderas. En Japón, desde 1955 algunas industrias son abastecidas por agua residual proveniente de la Planta de tratamiento de Tokio (Levine *et al.*, 2008).

Otro caso importante de reúso de aguas residuales es Israel, que desde inicios de los años 70 empezó a utilizar en forma masiva este tipo de agua para el cultivo de algodón; actualmente, todo tipo de cultivos son irrigados con aguas residuales tratadas, el 80% de las aguas residuales tratadas de Israel son reutilizadas para la irrigación agrícola. Las aguas residuales tratadas son consideradas una parte integral de los recursos hídricos del país (Quipuzco-Ushñahua, 2004).

A nivel mundial después de China, México es el segundo país en el mundo que más agua residual emplea para el desarrollo de actividades agrícolas y en América Latina es el país con más hectáreas bajo riego (Jiménez y Chávez, 2004). Actualmente el Valle del Mezquital, Hidalgo, es el campo agrícola más extenso del mundo regado con agua residual con aproximadamente 100,000 hectáreas (IWMI, 2010).

Estos ejemplos muestran la importancia que a lo largo del tiempo ha venido adquiriendo el agua residual y su reutilización.

Ventajas y desventajas del reúso del agua residual

La recuperación y reutilización del agua residual permite a las comunidades vincular estratégicamente la distribución y el uso de los recursos hídricos disponibles a nivel local con la calidad y la cantidad de agua que requieren (Levine *et al.*, 2008).

El reúso de agua residual permite la aplicación de ésta con propósitos benéficos como, el riego, procesos industriales, recarga de agua subterránea, e incluso para el suministro de agua para uso y consumo humano, después de tratamiento efectivo que asegure su calidad. Esto para garantizar que el reúso de aguas residuales sea sostenible y exitoso, se deben cumplir los siguientes requisitos (UNEP, 2005):

- Deben ser evaluados y minimizados los riesgos potenciales al ambiente y a la salud pública.
- Asegurar una calidad del agua de nivel aceptable para el uso específico al que se destinará.
- La aceptación de los consumidores.

En resumen, las aguas residuales pueden ser utilizadas para el desarrollo de diversas actividades productivas y presentan el potencial benéfico de mejorar la calidad de vida de las personas, tanto en comunidades rurales como en zonas urbanas. Sin embargo, es necesario tener en cuenta las ventajas y desventajas del reúso de agua residual para determinar si es una medida adecuada para atender problemas específicos por región. A continuación se presenta un breve listado de algunos beneficios ambientales, económicos, y sociales que tiene el reúso del agua residual (Asano, 2007; McKenzie, 2005).

Ventajas

- Reducción de la presión sobre las fuentes de abastecimiento de agua dulce, incluyendo ríos, lagos y sistemas de agua subterránea.
- Disminución del volumen de las descargas de agua residual, en beneficio de los ecosistemas acuáticos que es la reducción de la alteración de la calidad del agua en ecosistemas acuáticos superficiales y sistemas de agua subterránea.
- Aumento de la producción agrícola, con la consecuente descarga de aguas con alto contenido de nutrientes.
- Suministro regular de agua, especialmente en zonas con escasez del recurso. Por ejemplo, los agricultores tendrían acceso al agua para riego restringido, incluso en épocas de sequía.
- Mantenimiento de riego y campos de golf en zonas turísticas.

Desventajas

- Problemas a la salud pública causados por enfermedades transmitidas por el agua; e irritaciones de la piel, principalmente en personas que están en contacto directo con aguas residuales no tratadas.
- En algunos casos, el reúso de las aguas residuales no es económicamente factible dado los altos costos de mantenimiento.

- El uso de aguas residuales sin previo tratamiento para riego o reinyección al acuífero puede resultar en la contaminación de los sistemas de agua subterránea.
- El reúso de agua puede ser estacional por naturaleza. Dependiendo de la temporada de lluvias, su duración e intensidad, puede llegar a sobrecargar las instalaciones de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR), provocando la descarga de aguas residuales crudas.

Agua subterránea y reúso de agua residual

El agua subterránea es una fuente fundamental para obtener agua para uso y consumo humano. Cerca de 2 mil millones personas en zonas tanto urbanas como rurales dependen de este tipo de agua para satisfacer sus necesidades básicas diarias (Foster *et al.*, 2007; Blacksmith Institute, 2013).

Se ha calculado que el agua subterránea en el mundo proporciona el 35% del suministro de agua para consumo humano, 41% del agua para la agricultura y el 24% para uso industrial (Döll *et al.*, 2012), aunque las proporciones varían considerablemente entre un país y otro. Sin embargo, los países y regiones que más agua subterránea utilizan son: China, India, Pakistán, Bangladesh, Irán, Estados Unidos, México, la Unión Europea, África del Norte y Medio Oriente (Wada *et al.*, 2010). Los sistemas de agua subterránea constituyen un reservorio de agua dulce, son un recurso natural fundamental que permite el desarrollo socioeconómico, sin embargo, es un recurso todavía escasamente entendido, poco valorado, mal gestionado y que no recibe la protección adecuada (Foster *et al.*, 2013).

En México 53.6% del agua que se utiliza para distintas actividades como uso doméstico, agrícola e industrial proviene de agua subterránea. En zonas urbanas como la cuenca de México el uso del agua subterránea asciende a 70% (SEMARNAT-CONAGUA, 2011; SEMARNAT-CONAGUA, 2009). En la región de la cuenca del Valle de México se tienen identificados 14 acuíferos, actualmente cinco acuíferos están sometidos a una explotación intensiva, de los cuales cuatro se ubican en la subregión Valle de México y uno en Tula (Figura 1). La importancia del agua subterránea en la región, queda de manifiesto por la magnitud de volumen utilizado, ya que de los acuíferos suministran aproximadamente el 69% de la extracción regional para todos los usos, sin considerar el reúso (SEMARNAT-CONAGUA, 2009).



Figura 1. Subcuencas hidrográficas de la región XIII, Aguas del Valle de México (Modificado de CONAGUA, 2009).

Este tipo de agua puede ser contaminada, principalmente por actividades humanas, algunos ejemplos son los tiraderos de basura a cielo abierto, rellenos sanitarios mal diseñados o con un manejo inadecuado, letrinas mal construidas o sin mantenimiento y la infiltración de agua residual. Cada uno de estas actividades puede aportar una amplia gama de patógenos, metales pesados y sustancias químicas que pueden migrar hacia los acuíferos. Es importante destacar que el agua subterránea también puede no ser apta para abastecimiento como cuando se presenta una contaminación natural, ya que las formaciones geológicas y el suelo forman parte esencial en estos sistemas, por ejemplo, se pueden encontrar altos niveles de metales pesados sin necesariamente existir una fuente puntual de contaminación (Gallay *et al.*, 2006; Foster *et al.*, 2006).

El agua subterránea utilizada para uso y consumo humano requiere también de un monitoreo microbiológico. La diversidad de microorganismos patógenos presentes en agua subterránea es amplia, incluye bacterias como *Escherichia coli* O157: H7, *Campylobacter jejuni*, virus como rotavirus, adenovirus y norovirus, así como protozoarios, *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium parvum* (Sinreich *et al.*, 2013).

La infiltración de agua residual a los sistemas de agua subterránea se produce directa o indirectamente, principalmente por efluentes mal manejados como lo son la descarga directa de agua residual municipal y sistemas de riego por inundación en zonas agrícolas. El reúso de agua residual es una práctica común, tanto en países en desarrollo como desarrollados, con frecuencia ésta práctica no está planificada ni controlada, generando infiltración directa e indirecta a los acuíferos principalmente en zonas áridas (Blacksmith Institute, 2013; Miller, 2005).

Los patógenos que están presentes en los suelos y las aguas superficiales, regularmente ingresan a los sistemas de agua subterránea. Por lo tanto, no es de sorprender que la mayoría de los microorganismos y virus patógenos conocidos han sido encontrados en el agua subterránea (Krauss y Griebler, 2011).

Riesgos a la salud relacionados con agua residual

Las consecuencias para la salud por la exposición a patógenos en los distintos tipos de agua son significativos y constituyen una gran preocupación para los países desarrollados y en desarrollo (Percival *et al.*, 2004). Desde el punto de vista epidemiológico algunos autores han propuesto varias categorías para clasificar las enfermedades relacionadas con el agua. De acuerdo con Leclerc y colaboradores (2002), las enfermedades transmitidas por el agua son aquellas transmitidas por la ingestión de agua contaminada, actuando como portador pasivo de agentes infecciosos: a) enfermedades de origen hídrico; b) contacto con agua contaminada por ingesta y/o contacto con la piel y c) enfermedades transmitidas por vectores acuáticos, directamente o bien con un hospedero intermedio.

El agua residual sin tratamiento representa un riesgo potencial para la transmisión de enfermedades de origen hídrico, como cólera, fiebre tifoidea, disentería, peste y helmintiasis (WHO, 2015), ya que los patógenos que las producen son eliminados por heces de los individuos infectados. Algunos de los principales patógenos que se encuentran en aguas residuales crudas se resumen en la Tabla 2. Además de estos agentes patógenos, el agua residual sin tratar, puede contener sustancias químicas dañinas para los seres humanos

y el ambiente (Ikehata, 2013). En la Tabla 3 se presentan los microorganismos potencialmente patógenos detectados en agua residual.

Tabla 2. Patógenos asociados con agua residual municipal (Modificado de Ikehata, 2013).

Grupo	Microorganismos
Bacterias transmitidas por el agua	<i>Salmonella</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Legionellaceae</i>
Virus	Hepatitis A, Rotavirus, Enterovirus
Protozoarios	<i>Giardia</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp
Helmintos	<i>Ascaris</i> , <i>Toxocara</i> , <i>Ancylostoma</i>

Tabla 3. Microorganismos potencialmente patógenos presentes en agua residual (Modificado de Ikehata, 2013; Gleick, 1998).

Agente	Ejemplo	Riesgos a la salud	Ruta de exposición
Bacterias entéricas	<i>E. coli</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp.	Gastroenteritis, meningitis, toxinas y neumonía	Contacto, consumo, ingestión
Virus	Hepatitis A y E, adenovirus, rotavirus, norovirus	Síntomas tipo resfriado (fiebre, fatiga), dolor abdominal, diarrea, náusea	Contacto, consumo, ingestión, vectores
Protozoarios	<i>Giardia</i> spp., <i>Cryptosporidium parvum</i> , <i>Entamoeba</i> spp.	Gastroenteritis, diarrea, dolor abdominal, deshidratación	Contacto, consumo, ingestión
Helmintos	<i>Ascaris</i> spp., <i>Ancylostoma</i> spp., <i>Necator</i> spp., <i>Hymenolepis</i> spp.	Dolor abdominal, obstrucción intestinal, insomnio	Contacto, consumo, ingestión, vectores

Un equilibrio entre los beneficios y los posibles riesgos para la salud de estas diversas aplicaciones debe ser cuidadosamente evaluado. Estos riesgos se pueden minimizar mediante el tratamiento adecuado, la desinfección y el uso

controlado de agua residual tratada.

Reúso del agua residual en México y normatividad

En México, las descargas de aguas residuales se clasifican en municipales e industriales. Las primeras se refieren a las aguas residuales manejadas por los sistemas de alcantarillado municipales, urbanos y rurales, las segundas son las descargas directas a los cuerpos de agua receptores (CONAGUA, 2013). Pese a esta clasificación, el país no cuenta con una infraestructura para la separación de los distintos tipos de aguas residuales, ni aguas pluviales.

En 2009 de acuerdo con CONAGUA, en México se trató solamente el 37.1% de las aguas residuales municipales que se generaron y el 19.3% de las aguas residuales no municipales, incluyendo las de origen industrial. Con el propósito de preservar la calidad del agua, actualmente se construyen por todo el país Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales para tratar estas aguas previo a su descarga en los cuerpos de agua naturales (CONAGUA, 2011).

En la Figura 2. se muestran los principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales utilizados en México (CONAGUA, 2009).

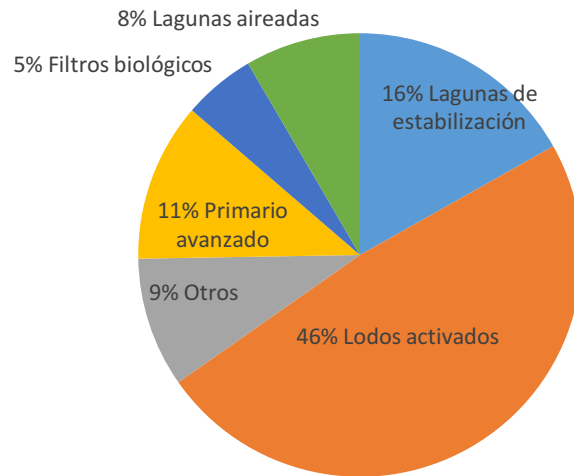


Figura 2. Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales en México (Modificado de CONAGUA, 2009).

Como se observa en la Figura 2, el tratamiento por lodos activados ocupa el primer lugar, las lagunas de estabilización segundo lugar y tercero lo ocupa el tratamiento primario avanzado.

El reúso de agua de origen municipal se utiliza principalmente para el riego de cultivos agrícolas y, en menor proporción en las industrias. El agua residual proveniente de la industria azucarera, por ejemplo, es utilizada para el riego de cultivos de caña de azúcar en el estado de Veracruz. Según la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) para 2009 el país contaba con 2,029 PTAR municipales en operación y 2,186 PTAR industriales.

Con respecto a la legislación, en México existen cinco Normas Oficiales referentes a la calidad microbiológica del agua. Para el reúso de aguas residuales esta la NOM-003 (Tabla 4), para la infiltración de aguas residuales tratadas a los acuíferos se cuenta con dos normas, una norma exclusiva para

el Distrito Federal NADF-003 (Tabla 5) y la NOM-014 y NOM-001 a nivel Federal (Tabla 6), así como la NOM-127 referente a la calidad del agua para uso y consumo humano (Tabla 7). A continuación se muestran los nombres completos y límites permisibles de cada una de estas Normas Oficiales.

En la Tabla 4 se muestran los valores máximos permisibles de contaminantes microbiológicos, para el reúso de aguas residuales, cabe mencionar que es la única norma relacionada con el reúso y la exposición a la salud humana.

Tabla 4. Límites máximos permisibles de contaminantes microbiológicos para aguas residuales tratadas que se reúsan en servicios al público (NOM-003-SEMARNAT-1997).

Tipos de reúso	Coliformes fecales (NMP/100 mL)	Huevos helminto (h/L)
Servicios al público con contacto directo	240	≤1
Servicios al público con contacto indirecto u ocasional	1 000	≤5

En la NOM-003 se consideran actividades con contacto directo, en donde el público esté expuesto, en contacto físico, incluye: el llenado de lagos y canales artificiales recreativos con paseos en lancha, remo, canotaje, esquí, fuentes de ornato, lavado de vehículos, riego de parques y jardines; por otra parte el contacto indirecto considera actividades en donde el público esté expuesto indirectamente o en contacto físico incidental y que su acceso es restringido, ya sea por barreras físicas o personal de vigilancia; incluye actividades como: riego de jardines, camellones, autopistas, fuentes de ornato, campos de golf, abastecimiento de hidrantes de sistemas contra incendio, lagos artificiales no

recreativos, barreras hidráulicas de seguridad y panteones.

La Norma Ambiental para las condiciones y requisitos para la recarga por inyección directa de agua residual tratada al acuífero de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México NADF-003-AGUA-2002 (Gaceta Oficial del Distrito Federal, 2004), únicamente aplica en el Distrito Federal y establece los límites de contaminantes microbiológicos que deben estar presentes para poder realizar ésta práctica.

Tabla 5. Límites máximos permisibles de la calidad microbiológica del agua para la recarga artificial en el acuífero de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México con agua residual tratada, NADF-003-AGUA-2002.

Características	Límite máximo permisible
<i>E. coli</i> o coliformes fecales u organismos termotolerantes	Ausente
<i>Streptococos fecales</i>	Ausente
Enterovirus	Ausente
<i>Giardia lamblia</i>	Ausente

La Norma Oficial Mexicana NOM-014-CONAGUA-2003, establece los lineamientos para la recarga artificial de acuíferos con agua residual tratada. Esta norma debe cumplir los siguientes requisitos en lo que se refiere a calidad microbiológica (Tabla 6).

Tabla 6. Límites máximos permisibles de microorganismos para la recarga artificial de acuíferos de acuerdo con la NOM-014 (DOF, 2009).

Microorganismo	Máximo nivel
<i>Cryptosporidium</i>	Ausente o no detectable
<i>Vibrio cholerae</i>	Ausente o no detectable
<i>Giardia lamblia</i>	Ausente o no detectable
Conteo de Bacterias	
Heterotróficas (HPC)	Ausente o no detectable
<i>Legionella</i>	Ausente o no detectable
Enterovirus	Ausente o no detectable

La Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, establece los límites máximos permisibles de contaminación en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, con el objetivo de proteger la calidad y posibilitar sus usos. Esta Norma Oficial Mexicana no se aplica a las descargas de aguas provenientes de drenajes separados de aguas pluviales. Incluye ríos, embalses naturales, aguas costeras y suelos. Para determinar la contaminación por microorganismos se toma como indicador a los coliformes fecales. El límite máximo permisible para las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales, así como las descargas vertidas a suelo (en riego agrícola) es de 1,000 y 2,000 como número más probable (NMP) de coliformes fecales por cada 100 mL para el promedio mensual y diario, respectivamente.

Y en cuanto al agua limpia de primer uso, la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000), que establece los límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Establece que el abastecimiento de agua para uso y consumo humano debe poseer una calidad adecuada para prevenir y evitar la transmisión de enfermedades gastrointestinales y otras, con el fin de asegurar y preservar la calidad del agua en los sistemas, hasta la entrega al consumidor.

Tabla 7. Límites permisibles para el agua de uso y consumo humano de acuerdo con la NOM-127-SSA1-1994.

Características	Límites permisibles
Organismos coliformes fecales	Ausencia o no detectables
<i>E. coli</i> o coliformes fecales u organismos termotolerantes	Ausencia o no detectables

Desafortunadamente, los análisis completos para la detección de microorganismos son costosos, requieren tiempo y personal calificado para realizarlos, es por esto que no se llevan en forma rutinaria. Además es necesario puntualizar que la ausencia de bacterias indicadoras fecales, no garantiza seguridad sanitaria. Factores como la persistencia, resistencia a desinfección, procesos de transporte, tamaño de partícula, resistencia a condiciones ambientales, depósito en el subsuelo, especialmente en microorganismos como los virus y protozoarios, pueden ser factores importantes y que difieran con los datos que se obtienen con el monitoreo de bacterias indicadoras fecales (Sinreich *et al.*, 2013; Craun *et al.*, 2010), razón por la cual resulta fundamental complementar con estos análisis.

Casos de reúso de agua residual en la cuenca de México

El tratamiento y reciclaje del agua fue parte de las prácticas de los habitantes originales de la cuenca de México hasta el periodo de La Colonia. Actualmente, el área metropolitana genera aproximadamente 40 m³/s de aguas residuales; existe la capacidad instalada para el tratamiento de 10 m³/s y se logran tratar únicamente 5 m³/s (Burns, 2009). Los usos del agua tratada actualmente son:

- Llenado de lagos y canales de Xochimilco, Tláhuac, Chapultepec y Bosques de Aragón, con agua proveniente de las respectivas plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) Cerro de la Estrella, San Luis Tlaxiátemanco, San Lorenzo Chapultepec y Bosques de Aragón.
- Riego agrícola metropolitano con agua proveniente de PTAR San Pedro Actopan, San Andrés Mixquic, La Lupita, Tetelco y Cerro de la Estrella.
- Riego de áreas verdes, camellones, parques y jardines con agua proveniente de PTAR: Coyoacán, Reclusorio Sur, Pemex–Picacho, Tlatelolco, Iztacalco, Campo Militar, Ciudad. Deportiva, Parres y Chapultepec.

El reúso es un componente esencial de la gestión integral de los recursos hídricos, especialmente en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), en donde la disponibilidad de agua es escasa. En la subregión de Tula, el reúso del agua residual sin tratar, que se genera en la ZMCM, ha sido utilizada desde hace más de 100 años, hasta la fecha y en particular en el Distrito de Riego 003 Tula, en el estado de Hidalgo, que es el ejemplo más grande en el mundo de reúso de agua residual sin tratamiento para riego agrícola (Sobsey, 2014 comunicación personal). El reúso de agua residual en la región asciende a un volumen anual de 56.60 m³/s, el mayor del país. Casi un 94% se emplea para el riego, principalmente en el Valle de Tula; un 4% se utiliza para el riego de jardines y lavado de autos en la ZMCM y el 2% restante en las industrias asentadas en ambas subregiones (Burns *et al.*, 2009; CONAGUA, 2009).

Características generales de los organismos analizados en el trabajo de investigación

Se analizaron muestras de agua para detectar bacterias indiciadoras de contaminación fecal coliformes fecales y enterococos fecales, enterovirus *Adenovirus* y *Rotavirus* la bacteria oportunista e indicadora de proceso *Pseudomonas aeruginosa* y los protozoarios *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium parvum*.

A pesar de que el Valle del Mezquital ha sido ampliamente estudiado, no se ha profundizado en patógenos específicos y ha pasado el tiempo desde que se hizo un análisis profundo en el que se cuantifiquen los indicadores de contaminación fecal incluidos en la “NOM-003-SEMARNAT-Límites máximos permisibles de contaminantes para aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público”, que en el caso de México únicamente son los coliformes fecales. El último monitoreo de la calidad microbiológica de las entradas de agua residual del valle del Mezquital fue en el año de 2003 (Jiménez *et al.*, 2003) y de cuantificaron 10^8 UFC/mL, cantidad que no ha variado en el transcurso de los años y que únicamente disminuye una unidad logarítmica en temporada de lluvias. Es por esto que el monitoreo de microorganismos específicos es primordial antes de que inicie operaciones la PTAR de Atotonilco y será recomendable hacer un muestreo después de que entre en operación esta PTAR.

Los indicadores de contaminación fecal y patógenos que se utilizaron en este trabajo de investigación responden por una parte al Proyecto “Scale dependency of formation of resistences and their transfer to human pathogens during wastewater reuse” y por otro son una aportación novedosa, ya que en México estos patógenos e indicadores no forman parte de las Normas Oficiales Mexicanas sobre calidad de agua, así como su relevancia epidemiológica.

Las técnicas utilizadas para la detección de microorganismos fueron homologadas, como en el caso de la bacteria oportunista *Pseudomonas aeruginosa* para el Proyecto “Scale dependency of formation of resistences and their transfer to human pathogens during wastewater reuse”. En el caso de las técnicas de detección de indicadores de contaminación fecal coliformes fecales y enterococos fecales se utilizó la técnica de filtración a través de membrana; la detección de virus entéricos se hizo mediante las técnicas y el de parásito fue que se describen a continuación.

Estas técnicas fueron elegidas por el bajo costo y tiempo de análisis.

Indicadores de contaminación fecal

La presencia de microorganismo indicadores en el agua implica por lo general contaminación fecal y, por tanto, la posible presencia de patógenos. Los patógenos a menudo son difíciles de cultivar a partir de muestras ambientales, debido a sus bajas concentraciones en las fuentes de agua (efecto de dilución) y se requiere el análisis de un gran volumen de muestras. Afortunadamente, una amplia gama de métodos analíticos para organismos indicadores está disponible; estos métodos se utilizan con mayor frecuencia y son significativamente más baratos que los métodos de control de cada uno de los agentes patógenos.

Como indicadores de bacterias patógenas vía fecal-oral, *Escherichia coli*, coliformes fecales (95% de los cuales son *E. coli*) y estreptococos fecales que son recomendadas por la Organización Mundial de la salud como principales indicadores. Sin embargo, existe evidencia de que estos indicadores no pueden representar la presencia / ausencia de virus entéricos (Katayama *et al.*, 2002)

Coliformes fecales

Las bacterias coliformes son organismos anaerobios facultativos. Entre sus características generales se encuentran que, son Gram negativas, no forman esporas, tiene forma de vara, no fermentan lactosa, y producen gases y ácidos entre 24 y 48 horas a 35°C. Estas bacterias pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, que incluye miembros de especies como *Escherichia coli*, y miembros de los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*.

Enterococos fecales

Los enterococos pertenecen al grupo de bacterias Gram-positivas y, han recibido aceptación como indicadores de la calidad microbiológica en el agua, principalmente en el agua salobre. Son utilizados como indicadores de calidad del agua recreativa en países como Estados Unidos.

Presentan ventajas frente a los coliformes fecales, ya que no son ubicuos en el ambiente, su tasa de mortalidad es menor y sus patrones de persistencia son similares a las de bacterias potencialmente patógenas como *Legionella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae* entre otras. Algunas especies que se encuentran dentro de enterococos son: *E. fecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. durans*. Crecen entre los 10 °C y 45 °C, resisten hasta temperaturas de 60 °C, crecen a un pH de 9.6. (Toranzos et al., 2007)

Pseudomonas aeruginosa

El género *Pseudomonas* es un como indicador de riesgos a la salud y al ambiente debido a su alta resistencia a los tratamientos de desinfección, su persistencia y recrecimiento en los sistemas de distribución de agua, y por su

alta incidencia como agente causal de gastroenteritis en niños, meningitis, infecciones respiratorias, dermatitis, infecciones de oído, y bacteremias nosocomiales, entre otras enfermedades (Toranzos, 2002).

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram negativa, con forma de bacilo, aerobio, móvil con un flagelo polar, que por lo general se encuentra en el tracto intestinal de animales y en diversos ambientes como son: los sistemas acuáticos (ríos, lagos, arroyos), aguas para uso y consumo humano, aguas residuales, suelo y plantas (Kerr y Snelling 2009; Rice *et al.*, 2012).

Es un patógeno oportunista causante de diversas infecciones, particularmente en pacientes inmunocomprometidos o susceptibles como pacientes con fibrosis quística, cáncer, VIH, pacientes con quemaduras y enfermedades metabólicas (diabetes). También está asociada con una variedad de infecciones en la piel, ojos y oídos en individuos sanos (Hatchette *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2002; Viola *et al.*, 2006).

A pesar de ser un patógeno oportunista y poseer una dosis infecciosa alta que de acuerdo con Rusin y colaboradores (1997) va de 10^6 – 10^9 unidades formadoras de colonia (UFC), (los estudios fueron realizados en ratones por diferentes vías de inoculación), una de las principales preocupaciones al adquirir una infección con esta bacteria es el tratamiento, ya que se ve obstaculizado por su resistencia a antibióticos.

También es importante mencionar que las cepas de *P. aeruginosa* presentan resistencia a antibióticos, frecuentemente a más de un antibiótico. Esta resistencia provoca complicaciones terapéuticas y se asocia con el fracaso del tratamiento y muerte de los pacientes (Barbier y Wolff 2010). Jane–Castillo y

colaboradores (2006), encontraron que cepas de *P. aeruginosa* de origen hospitalario son multirresistentes a 21 antibióticos pertenecientes a las familias de las penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, carbapenemes, aminoglucósidos y quinolonas.

Virus entéricos

Los virus entéricos (VE) humanos han sido reconocidos globalmente como agentes infecciosos involucrados en brotes de enfermedades transmitidas a través del agua. La detección de estos patógenos en ambientes acuáticos es importante para salvaguardar la salud pública. Los métodos disponibles hoy en día para la detección de virus transmitidos a través del agua incluyen tres pasos básicos: concentración a través de filtración por membrana, concentración secundaria a través de centrifugación y detección a través de cultivo celular y métodos moleculares (Saavedra *et al.*, 2012).

Los VE pueden ocasionar enfermedades cuando son ingeridos en dosis infecciosas bajas, de allí la relevancia que tienen para la salud pública (Roda Husman y Bartram, 2008). Se estima que la probabilidad de infección con rotavirus en humanos susceptibles (niños menores de 5 años) es del 31% y solo se requiere una partícula viral o unidad formadora de placa (1 PFU) para causar infección (Haas *et al.*, 1999; Mena *et al.*, 2008).

Las aguas residuales urbanas constituyen la mayor fuente de contaminación viral de las aguas superficiales y subterráneas (Gerba, 2007). En las aguas residuales urbanas se encuentra una gran diversidad y cantidad de virus, asociados directamente con la carga de enfermedades infecciosas en la población, los patrones estacionales de enfermedades infecciosas y el tratamiento o no que reciben las aguas residuales (Roda Husman y Bartram 2007, Betancourt *et al.*, 2014).

Los virus son parásitos intracelulares obligados constan de un ácido nucleico (ADN o ARN) encerrada en una cubierta proteica llamada cápside. En algunos casos puede tener una envoltura de membranas en la parte exterior de la cápside. Los virus se clasifican dependiendo de la presencia o no de esta envoltura.

Envueltos como el virus del herpes y la influenza y no envueltos como Adenovirus y Parvovirus.

A continuación se presentan algunas características que le confieren estabilidad do no en el ambiente a los virus

Virus envueltos:

1. La capa más externa está compuesta de fosfolípidos, proteínas o glicoproteínas que rodean la cápside.
2. Los virus envueltos son menos virulentos y rara vez causan lisis en la células de su hospedero.
3. Son sensibles al calor, ácidos y desecación.
4. Pierden su infectividad por desecación.
5. Transmisión principalmente a través del a sangre, secreciones.

No envueltos.

1. La capa exterior es la cápside formada por proteínas.
2. Son más virulentos y causan lisis en la célula huésped.
3. Estos virus son resistentes al calor, los ácido y el desecación.
4. Se conserva su infectividad incluso aun después de la desecación.
5. Su transmisión es a través de heces, formites y polvo.

Adenovirus y rotavirus

Los rotavirus humano (HRV), adenovirus (HAdV) y norovirus (HNV), son los virus más comunes que causan gastroenteritis en todo el mundo (Jiang *et al* 2013;. Pang *et al.* 2013; Van Maarseveen *et al.* 2010).

Adenovirus

Estos virus pertenecen a la familia Adenoviridae, su genoma está constituido por ADN de doble cadena (dcADN) que se encuentra rodeado por una cápside proteica de aproximadamente 70 nm de diámetro, no presentan envoltura lipídica y poseen una simetría icosaédrica. Se han logrado identificar 41 serotipos diferentes de adenovirus distribuidos en 6 grupos (A–F). Los serotipos 40 y 41 (adenovirus entéricos) han sido reconocidos como agentes importantes causales de gastroenteritis aguda en niños menores de 5 años y principalmente en el primer año de vida, es poco común en adultos aunque se han detectado en brotes nosocomiales. Los adenovirus humanos se encuentran asociados a una amplia gama de manifestaciones clínicas que incluyen infecciones en vías respiratorias, de la conjuntiva y gastrointestinales (Staruss y Strauss, 2007).

Representan el segundo agente viral más común causante de diarrea después de los rotavirus. La infección por adenovirus se observa en varios países sin considerarse endémica de alguna zona en particular, infectando de igual forma a niñas y niños en cualquier época de año ya que no se han presentado patrones de estacionalidad para la infección (Jain y Jain, 2013)..

Rotavirus

Los rotavirus pertenecen a la familia Reoviridae. Son virus sin envoltura, icosaédricos, de 70 nm de diámetro y presentan una cápside proteica de tres capas que rodea a un genoma de 11 fragmentos de ARN de doble cadena.

Los rotavirus de los grupos A, B y C son los agentes causales de la infección en humanos. De estos, el grupo A es la principal causa de gastroenteritis severa en infantes y niños menores de 5 años a nivel mundial (Strauss y Strauss, 2007).

Los rotavirus tienen distribución mundial, la prevalencia más alta se presenta en los meses fríos, aunque en las regiones con poca variación de temperatura no hay una distribución estacional clara. La infección por rotavirus ocasiona diarrea severa en la población infantil. La infección por rotavirus es un problema de salud pública, particularmente en ciudades en desarrollo (Dey *et al.*, 2009, Greenberg *et al.*, 2009).

Virus en agua subterránea y agua superficial

La penetración de los virus patógenos a los sistemas de acuíferos es más probable que el transporte de las bacterias patógenas y protozoos (Schijven y Hassanizadeh, 2000). A diferencia de las bacterias, los virus no son retenidos por el suelo de una forma efectiva, puesto que las partículas virales se encuentran en un intervalo de diámetro entre 20 y 300 nm. Es importante mencionar que existen factores físicos y ambientales que favorecen la filtración o retención de virus a través del suelo, por ejemplo, factores como la temperatura; a bajas temperaturas, algunos virus permanecen estables por mayor tiempo, el movimiento de las partículas virales es afectado por las cargas y flujos hidráulicos y la presencia de materia orgánica los protege de la inactivación (Sobsey, 1983; Mirsal, 2008). En cuanto a la humedad, algunos

virus persisten más tiempo en suelos húmedos y la mayoría de los virus entéricos son estables en intervalos de pH de 3 a 9 y su actividad puede ser mayor cerca de valor neutro (Azadpour–Keeley *et al.*, 2003).

Tabla 8. Factores ambientales que afectan la supervivencia de los virus en ambientes acuáticos.

Factor	Características
Luz	La luz ultravioleta de la radiación solar puede causar daños en los ácidos nucleicos causando la formación de dímeros
Temperatura	Probablemente el factor más importante, la Supervivencia es mayor a temperaturas bajas
pH	La mayoría de los virus se mantienen estables con los valores de pH encontrados en los ambientes acuáticos
Materia orgánica	La presencia de materia orgánica en las aguas residuales, por ejemplo contribuye con su supervivencia
Sólidos suspendidos/sedimentos	La asociación de los virus con los sólidos prolonga la supervivencia
Interfaces agua/aire	Los virus con mayor hidrofobicidad son más propensos a ser atraídos a las interfaces aire agua donde puede ocurrir desnaturalización de la cápside
Factores biológicos	La microflora acuática es usualmente antagónica
Sales	Algunos virus están protegidos contra la inactivación térmica por la presencia de ciertos cationes

Modificado de Gerba, (2007).

Cuando se presenta deposición de heces de individuos infectados por virus entéricos en zonas de infiltración, la probabilidad de que el agua subterránea se contamine puede incrementarse debido a la tolerancia de las partículas virales a los factores ambientales y por las grandes cantidades que son desechadas en un gramo de heces, que van desde 10^5 hasta 10^{11} (Fong y Lipp, 2005). Además, es necesario considerar que los virus, a diferencia de las

bacterias, presentan dosis infecciosas bajas; sólo se requieren de una partícula viral para producir una enfermedad (dependiendo del tipo de virus), lo que los hace más nocivos que las bacterias, que requieren dosis de entre 10^2 y 10^9 unidades formadoras de colonia (UFC) para producir una enfermedad (Geldreich, 1990). Estas características hacen que el monitoreo los virus patógenos sean necesarios en aguas subterráneas.

Hasta la fecha, más de 15 grupos distintos de virus entéricos se han detectado, de ellos más de 140 serotipos diferentes pueden encontrarse en el intestino humano (Leclerc *et al.*, 2002). Las familias de virus entéricos más comunes son: *Picornaviridae* (poliovirus, enterovirus, virus Coxsackie, virus de la hepatitis A, y echovirus), *Caliciviridae* (norovirus, calicivirus, astrovirus, y sapovirus), *Reoviridae* (reovirus y rotavirus), *Adenoviridae* (adenovirus), y *Coronaviridae* (coronavirus). Una característica común de los enterovirus es la resistencia al estrés ambiental y la estabilidad bajo condiciones ácidas (pH 3). Las enfermedades más comunes causadas por enterovirus son gastroenteritis agudas, meningitis, enfermedades respiratorias, o la poliomielitis en la caso de poliovirus, estos virus infectan tanto a los adultos como a los niños (Tyring *et al.*, 2006).

La supervivencia de virus en agua subterránea es más factible pues, en la superficie, la radiación solar es un importante factor de inactivación viral (Fattal *et al.*, 1983; Sinton *et al.*, 2002; Brookes *et al.*, 2004), la temperatura es un parámetro importante para la inactivación (Yates *et al.*, 1985; Mirsal 2007), ya que las aguas subterráneas presentan temperaturas típicas de $\leq 15^{\circ}\text{C}$, a la cual los virus puede permanecer infecciosos por varios cientos de días (adenovirus 40 y 41 es estable a temperaturas de 4°C en agua de la llave y la supervivencia para el serotipo 41 es de hasta 304 días en agua) (Enriquez *et al.*, 1995).

Los virus presentan mayor permanencia en el agua en comparación con los otros grupos de microorganismos como bacterias y protozoarios como se muestra en la Figura 3. Dentro de los tres grupos principales de microorganismos, se han detectado virus como Poliovirus por más de 400 días y quistes de protozoarios hasta por 200 días. Otros factores importantes son el pH, del cual depende la absorción de los virus a la matriz del suelo y los cationes, que funcionan como estabilizador térmico que protege a los virus, además, mejoran la absorción de los virus al suelo (Mirsal, 2008).

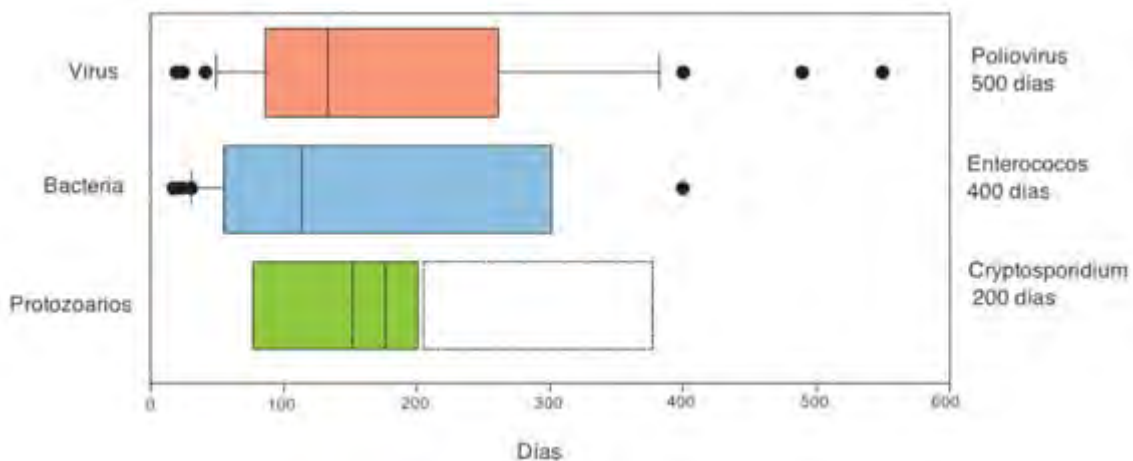


Figura 3. Permanencia de patógenos en agua subterránea y agua limpia (temperatura de entre 4 y 15°C) (Modificado de Krauss y Griebler, 2011).

Giardia lamblia y *Cryptosporidium parvum*

Estos son los parásitos protozoarios de mayor interés como patógenos transmitidos por el agua, debido a características específicas que presentan en sus ciclos de vida (Solarte *et al.*, 2006; Baldursson y Karanis, 2011) y los problemas de salud pública que han ocasionado por el mundo (Betancourt y Querales, 2008). De 199 brotes de enfermedades causadas por la transmisión de protozoarios parásitos que se registraron a nivel mundial del 2004 al 2010,

Cryptosporidium spp. fue el agente etiológico responsable en 60.3% (120) de ellas mientras que *G. lamblia* lo fue en el 35.2% (70) de los brotes (Baldursson y Karanis, 2011).

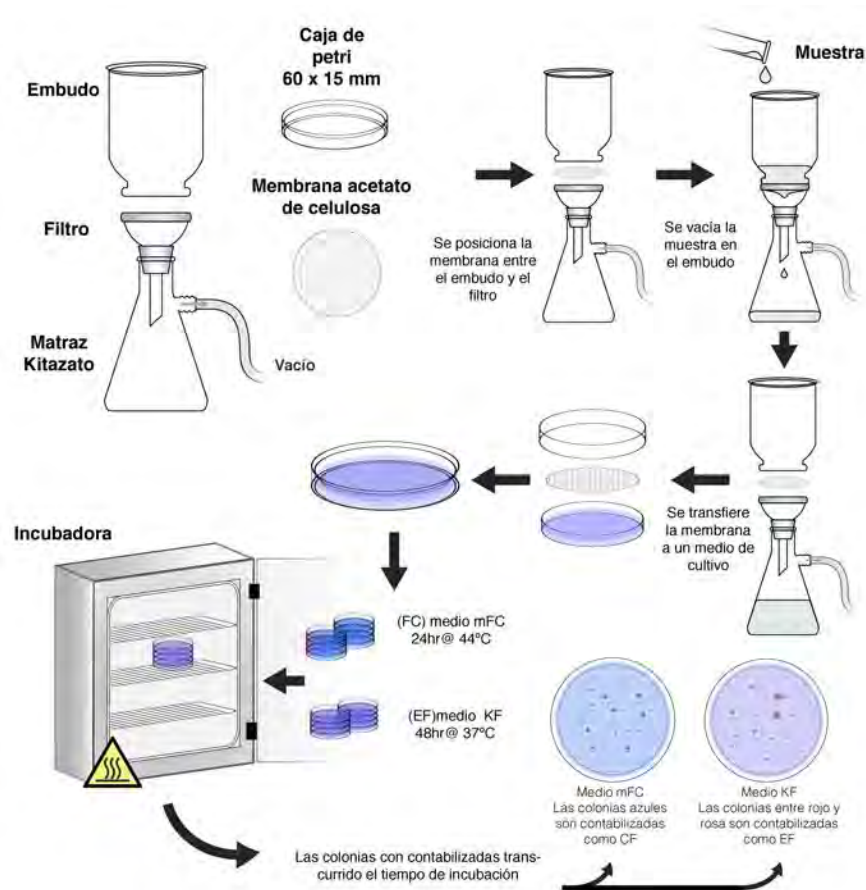
Sus ooquistes son resistentes a desinfectantes y diversas condiciones ambientales como la humedad y altas temperaturas, la transmisión persona-persona, a través del agua o alimentos y la capacidad de causar autoinfección, les confieren un potencial epidemiológico alto (Solarte *et al.*, 2006); aunque *G. lamblia* es un protozoario flagelado y *C. parvum* un coccidio, ambos parásitos pueden colonizar el intestino de mamíferos, aves, reptiles y anfibios (Olson, 2001; Appelbee *et al.*, 2005), siendo causantes de enfermedades zoonóticas, es decir, que se pueden transmitir de forma directa o indirecta entre animales y seres humanos (Appelbee *et al.*, 2005).

En 2011 Navarro *et al* realizaron una estimación de riesgo microbiológico para *G. lamblia* y *A. lumbricoides* en pozos y manantiales del Valle del Mezquital. Reportaron una prevalencia máxima de 29% para *G. lamblia*, resultados que se asemejan a una prevalencia de 20% reportada anteriormente por Cifuentes *et al.* (2000).

MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Determinación de coliformes y enterococos fecales

Se utilizó el método de Filtración a través de membrana (Figura 4), el cual consiste en hacer pasar la muestra de agua por una membrana de 0.45µm (Millipore), la cual es transferida a una caja Petri con medio específico; M-FC agar para coliformes fecales y KF Streptococcus agar para estreptococos/enterococos. La incubación se realizó en una incubadora WTB Binder a 35 °C por 48 horas para los enterococos fecales a 44.5°C por 24 horas para coliformes fecales. En la Figura 4 se describe la metodología de la Filtración a través de membrana.



Elaboración Hjort, 2013.

Cuantificación del genoma de *Pseudomonas aeruginosa* por RT(Q-PCR)

Para los análisis moleculares, se filtraron las muestras de agua a través de membranas de acetato de celulosa de 0.45 μ L y se eluyeron en 6 mL de solución salina con fosfato (PBS). Las muestras se conservaron a -70°C antes del análisis.

Para cuantificar el número de genomas de *P. aeruginosa* presente en las muestras de agua, se empleó la q-PCR. La reacción final fue en un volumen de 25 μ L. Los primers fueron de Volkmann *et al.* (2007) y eran específicos para la detección de *P. aeruginosa*, mediante la amplificación de una región del 23S ADN ribosomal (rADN).

Detección y cuantificación de Adenovirus y rotavirus

Extracción y cuantificación de Adenovirus

La extracción para la cuantificación de Adenovirus se hizo con un minikit de DNA QIAamp (QIAGEN), el volumen final que se obtuvo fue de 250µL y fue almacenado para su posterior análisis a -70°C.

Para conocer el número de genomas de Adenovirus (serotipos 40 y 41) en las muestra de agua se utilizó la técnica de qPCR. La reacción final fue de 20µL que contenía 10µL de Taqman Universal PCR Master Mix con UNG (Applied Biosystems), 1µL de primer HAdV-F4041-hex157, 1µL Primer HAdV-F40-hex245 500nM, 1µL de primer HAdV-F41-hex246 500nM, 1µL de sonda marcada HAdV-F4041-hex214-r 120nM, 1µL de agua estéril y 5µL de ADN extraído, protocolo modificado de Xagorarakí y colaboradores 2007.

Extracción y cuantificación de Rotavirus

La extracción del ARN de las muestras de agua se realizó utilizando Trizol-cloroformo (Invitrogen). El ARN extraído fue resuspendido en 20µL de agua DPEC y almacenado a -70°C hasta su análisis.

Para cuantificar el ARN se hizo un RT-PCR, para la reacción de la transcripción reversa y amplificación se utilizó el kit RT-PCR One-Step (Quiagen). Se utilizaron primers reportados por Villena y colaboradores en 2003, que amplifican en la región que codifica para la proteína VP6.

Detección y cuantificación de quistes de protozoarios

Quince mililitros de los concentrados obtenidos por ultrafiltración se tomaron y centrifugaron a 3000 rpm durante 15 min. El sedimento obtenido se resuspendió en 3 mL de PBS al 1% estéril y separado en tres partes iguales (1 mL de cada uno). La detección y cuantificación de *G. lamblia* y oocistos de *C.*

parvum se hizo por el método de inmunofluorescencia indirecta en fase líquida acuerdo con el Método 1623 [Estados Unidos– Agencia de Protección Ambiental (US–EPA) del 2000] modificado por Rangel–Martínez (2010) y Tapia–Palacios (2012).

Las formas ovaladas de los quistes de *G. lamblia* (8–12 μm) y esféricas de los ooquistes de *C. parvum* (4–6 μm) fueron observadas y cuantificadas, en un microscopio de fluorescencia Axiostar Plus (Carl Zeiss, Göttingen, Alemania), realizando un barrido total de cada portaobjetos con incremento de 20x y 40x, y 100x para confirmación.

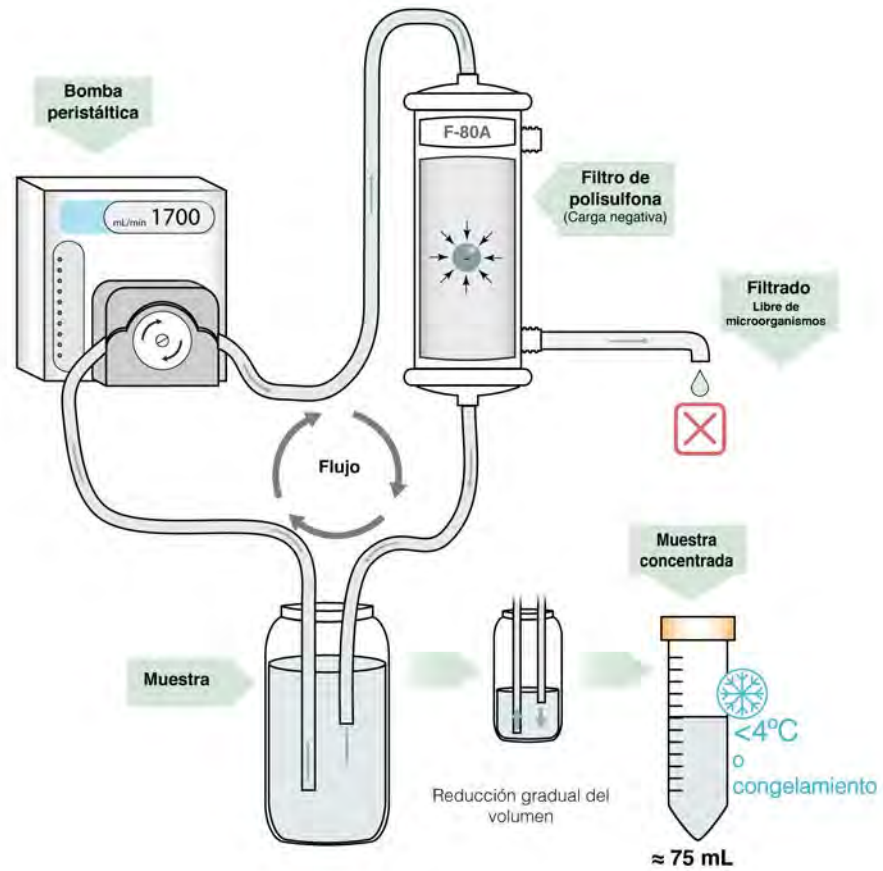
Concentración de muestras de agua para la detección de virus y protozoarios

Se utilizó el método de Ultrafiltración (Figura 5) (Polaczyk *et al.*, 2008).

Este método consiste en concentrar grandes volúmenes de agua (en este caso se tomaron 30 L de agua), mediante cartuchos de hemodiálisis “Hemoflow” F80A (Fresenius medical Care, North America Waltham, Ma) que tiene un corte de entre 15 y 20 KDa, los cuales previamente son preparados haciendo circular durante 30 min 1L de solución al 0.1% de NaPP (polifosfato de sodio), que funciona como bloqueador del cartucho. Se circuló cada muestra de agua por los cartuchos de hemodiálisis por medio de una bomba peristáltica (Master Flex L/s. Cole Palmer Instrument Company, EUA). El volumen final de concentración de la muestra fue de 100mL. En la Figura 5 se muestra la técnica.

Las muestras de agua residual fueron tomadas directas, no hubo concentración.

A continuación se muestra en la Figura 5 el proceso de Ultrafiltración.



Elaboración Hjort, 2013

ÁREA DE ESTUDIO

A finales del siglo XVIII, las aguas residuales de la ciudad de México empezaron a ser enviadas a la zona del Valle del Mezquital con el propósito de deshacerse del exceso de agua de lluvia para evitar inundaciones en la ciudad y eliminar las aguas residuales (Jiménez *et al.*, 2004). El Valle del Mezquital se encuentra 100 km al norte de la ciudad de México, en el estado de Hidalgo. En esta zona se llevan a cabo diversas actividades económicas y recreativas, como la agricultura, la ganadería, la acuacultura y existen parques acuáticos para actividades recreativas (Secretaría de Turismo, 2014; Contreras, 2011).

El Valle del Mezquital se localiza a los 19° 54' y 20° 30' de latitud norte y 99° 22' y 98° 56' de longitud oeste, a una altitud promedio de 1 900 msnm. Abarca 26 municipios de los 84 que comprende el estado. El estado de Hidalgo tiene una población de más de 2.6 millones de habitantes, de los cuales 32.8 por ciento habitan en los municipios del Valle del Mezquital. De esa población local, solamente 10 por ciento son hablantes de una lengua indígena. Aunque la agricultura no es exclusiva de las comunidades agrarias indígenas, se puede decir que los privados tienen más posibilidades de moverse tanto físicamente del lugar como de actividad. De esta forma, se puede decir que la población expuesta de manera directa a los agentes patógenos del agua residual en sus diferentes formas es de aproximadamente 82 mil personas (Contreras, 2011; Contreras, 2016; Jiménez *et al.*, 2005). La zona de riego abarca más 90 000

ha y comprende los Distritos de Riego 003 (Tula), 100 (Alfajayucan) y 112 (Ajacuba) (CONAGUA, 2015). El Distrito de Riego 03 Tula abarca seis municipios

La organización de los Distritos de Riego en el Valle del Mezquital es compleja, consta de nueve presas, tres de agua limpia y seis de agua residual, de las cuales destacan la presa Endhó, Requena, Vicente Aguirre y la Rojo Gómez (Domínguez, 2001). Tres ríos atraviesan la zona: El Salto, El Salado y El Tula, además 850 km de canales para el riego agrícola de aproximadamente 100 000 hectáreas (Garza-Almanza, 2001).

Se ha calculado que se generan 52 m³/s de agua residual sin tratamiento en la ZMCM y que son descargadas en su mayoría al Valle del Mezquital (Chávez *et al.*, 2011).

El Valle del Mezquital es el sitio más grande en el mundo en la que se lleva a cabo riego agrícola con agua residual. A nivel mundial después de China, México es el segundo país que más reutiliza el agua residual para riego (IWMI, 2010).

El territorio de Hidalgo cuenta con una extensión de 2.1 millones de hectáreas de las cuales el 29% se utilizan para la agricultura, 39% para la ganadería, 22% son áreas forestales, el 9% corresponden a zonas urbanas, caminos, instalaciones, entre otras, y sólo el 1% es ocupado por cuerpos de agua. La superficie rural es de 1.9 millones de hectáreas (90%) y la urbana de 0.2 millones de hectáreas (10%). La población que trabaja en las actividades del sector primario es de 184 000 personas, es decir, menos del 25% de las

personas económicamente activas del estado. Los datos disponibles apuntan en el sentido de que esa contracción se debe a la reorientación de la producción hacia productos forrajeros, lo cual podría estar sostenida, a la vez, por la creciente ganaderización regional.

Pero hay otra reorientación productiva regional que desplaza a la actividad agrícola en el Valle del Mezquital, y es la de la industrialización/urbanización. En la actualidad, la actividad industrial es la que generan la mayor cantidad de empleo y producto por unidad económica. Es por ello que las grandes concentraciones urbanas se dan en las inmediaciones de las zonas industriales. Las áreas urbanas se encuentran principalmente en los municipios de Tula, Tepeji del Río, Actopan, Huichiapan e Ixmiquilpan. La Zona Metropolitana de Tula (ZMT) abarca los municipios de Atitalaquia, Atotonilco de Tula, Tlahueliplan, Tlaxcoapan y Tula de Allende, para el año 2010 se tenía una población de 205 848 habitantes (Secretaría de Desarrollo Social, 2004; Plan Estatal de Desarrollo 2011–2016).

Clima y vegetación

Se caracteriza por un clima semidesértico, caliente durante el día y con bajas temperaturas por la noche. Hay escasa precipitación y la vegetación es principalmente xerófila. La temperatura promedio es de 18°C; durante enero, el mes más frío, se registra una temperatura promedio de 13°C, y de 21°C en los meses más calurosos, de junio a agosto. La precipitación anual promedio es de 409 milímetros (Moreno *et al.*, 2006).

El clima seco y semiseco favorece el crecimiento de cactáceas como el maguey pulquero, tuna y nopal (INEGI, 2013). La vegetación natural se limita a

las partes montañosas y se compone de matorral xerófilo principalmente mezquites (*Prosopis juliflora*), huizaches (*Acacia farnesiana*), yucas (*Yucca* spp.), así como una gran diversidad de cactáceas. Los valles están dedicados a la agricultura donde el maíz y la alfalfa representan del 60 al 80% de la producción, dependiendo del ciclo agrícola. En segundo término se cultiva avena, cebada, frijol, y en menor proporción trigo y hortalizas como chile, calabacita y betabel, entre otros (González, 1968; Jiménez *et al.*, 2005).

Suelos

Los suelos del Valle del Mezquital se clasifican como Leptosoles, Feozems y Vertisoles. Leptosoles son suelos poco profundos (0–30 cm), limitando el crecimiento de raíces, la capacidad de retención del agua y el contenido de nutrientes, con capacidad productiva baja (Jiménez *et al.*, 2004). Los Feozems son suelos de profundidad media, ricos en materia orgánica y con capacidad productiva de media a alta. Los Vertisoles son suelos profundos, con contenidos medios a altos de materia orgánica, son los suelos más productivos de la zona, sin embargo, tienden a concentrar sales sobre todo si el agua de riego es rica en iones (Jiménez *et al.*, 2004).

El Valle del Mezquital se encuentra dentro de dos provincias fisiográficas: la Sierra Madre Oriental y Eje Neovolcánico (95% del valle) se subdivide en dos subprovincias: Llanuras y Sierras de Querétaro e Hidalgo, así como los Lagos y Volcanes de Anáhuac. La ubicación del Valle del Mezquital, estado de Hidalgo se presenta en la Figura 6, en el que se presentan los municipios que abarcan el Valle del Mezquital y los puntos de muestreo.

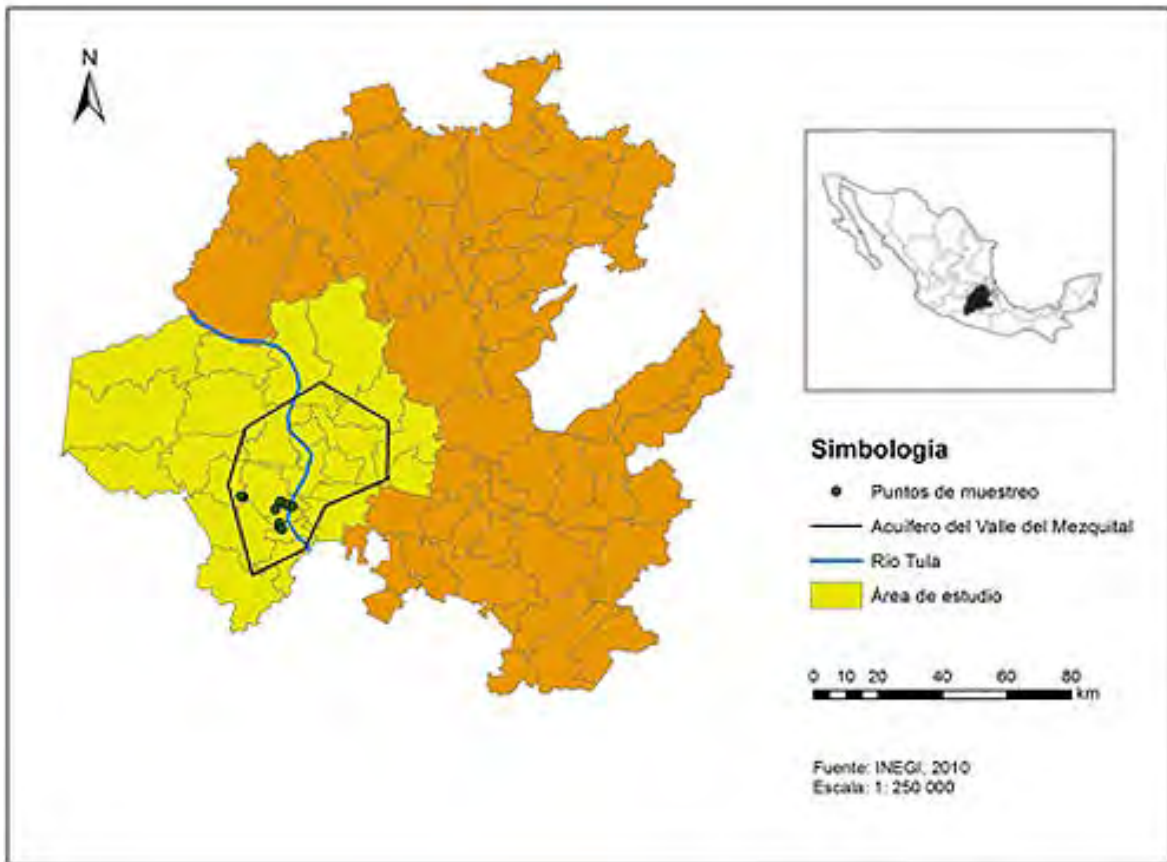


Figura 6. Área de estudio en el estado de Hidalgo y sitios de muestreo. Elaboración propia con ARCGIS 10.1 (INEGI, 2010).

Actividades agropecuarias

Los habitantes del Valle del Mezquital se dedican principalmente a actividades agrícolas y de forma complementaria a la producción ganadera. Las verduras y granos cultivados durante las estaciones de otoño e invierno son: avena forrajera verde, cebada forrajera verde, coliflor, nabo, trigo grano y otros cultivos (CONAGUA, 2010).

Durante las estaciones de primavera y verano se cultivan: calabacita, chile verde, coliflor, perejil, cilantro, frijol, maíz grano, tomate de cáscara (CONAGUA, 2011). Los productos vegetales sembrados en este sitio son distribuidos a los mercados de distintos lugares aledaños, así como a la ciudad de México.

También en esta área se llevan a cabo actividades como la ganadería, la cual ocupa el segundo lugar nacional en producción de carne de ganado ovino, y el octavo lugar a nivel nacional en producción de leche. Las actividades pesqueras y acuícolas producen anualmente 35 313 toneladas con un valor de 52.2 millones de pesos. Las principales especies en la zona son la mojarra, tilapia, carpa, trucha y charal. También existen diversas empresas de acuicultura, en las que se crían principalmente truchas y carpas (SAGARPA, 2012; INEGI, 2010).

Economía

El Valle del Mezquital es la región de Hidalgo con el mayor desarrollo económico impulsado por las industrias y la agricultura de riego. De los municipios que lo conforman, resalta el corredor industrial Atitalaquia–Tula–Tepeji en donde se encuentra la Refinería Francisco Pérez Ríos de Petróleos Mexicanos (PEMEX), la Termoeléctrica de la Comisión Federal de Electricidad (CFE) Francisco Pérez Ríos (OPS/HEP/CEPIS, 2002).

Otras actividades que se llevan a cabo son la producción de cemento (Cruz Azul), industria petroquímica, carnes, lácteos y embutidos, industria textil (Caltex con cinco plantas). Alrededor del 60% de la producción industrial del

estado de Hidalgo se realiza en esta zona con empresas del ramo textil, de la industria del acero, metalurgia, entre otras. Se tienen cuantificadas al menos 137 empresas en el Parque Industrial de Atitalaquia–Tula–Tepeji (Contreras, 2011; OPS/HEP/CEPIS, 2002).

La agricultura en la actualidad es la actividad de mayor impacto en la zona (Jiménez, 2009). Sin embargo, las actividades industriales han propiciado una gran migración a Estados Unidos y concentración de población en este sitio (Contreras, 2011).

La minería es una de las actividades más antiguas de la zona, el estado cuenta con depósitos minerales metálicos y rocas calizas, basaltos y agregados pétreos naturales, cuya explotación ha generado importantes polos de desarrollo industrial con la instalación de empresas productoras de cal, grava, arena y otros materiales para la construcción. Los principales minerales que se extraen son azufre, zinc y plomo; también se extraen plata y oro (Contreras, 2011).

Sociedad

En total en esta zona habitan 889 252 personas (INEGI, 2010). El 48% de la población del estado de Hidalgo es rural. La escolaridad estatal es 8.1 (segundo de secundaria) comparado con el 8.6 del promedio nacional. Ocupa el quinto lugar nacional de habla indígena, esto es que, 15 de cada 100 personas hablan una lengua indígena, a nivel nacional seis de cada 100

personas hablan lengua indígena; las lenguas más habladas son el náhuatl y el otomí (INEGI, 2013).

Desde el punto de vista del índice de marginación, en el área de estudio existen alrededor de 200 localidades que entran en la categoría de “alto y muy alto índice de marginación, este índice evalúa educación (analfabetismo, entre otras), vivienda (agua entubada, servicios sanitarios, entre otros), ingresos (gente que percibe hasta dos salarios mínimos) y distribución de la población (poblaciones con menos de 5,000 habitantes). A nivel nacional ocupa el sexto lugar en alta marginación (Gobierno del Estado de Hidalgo, 2011).

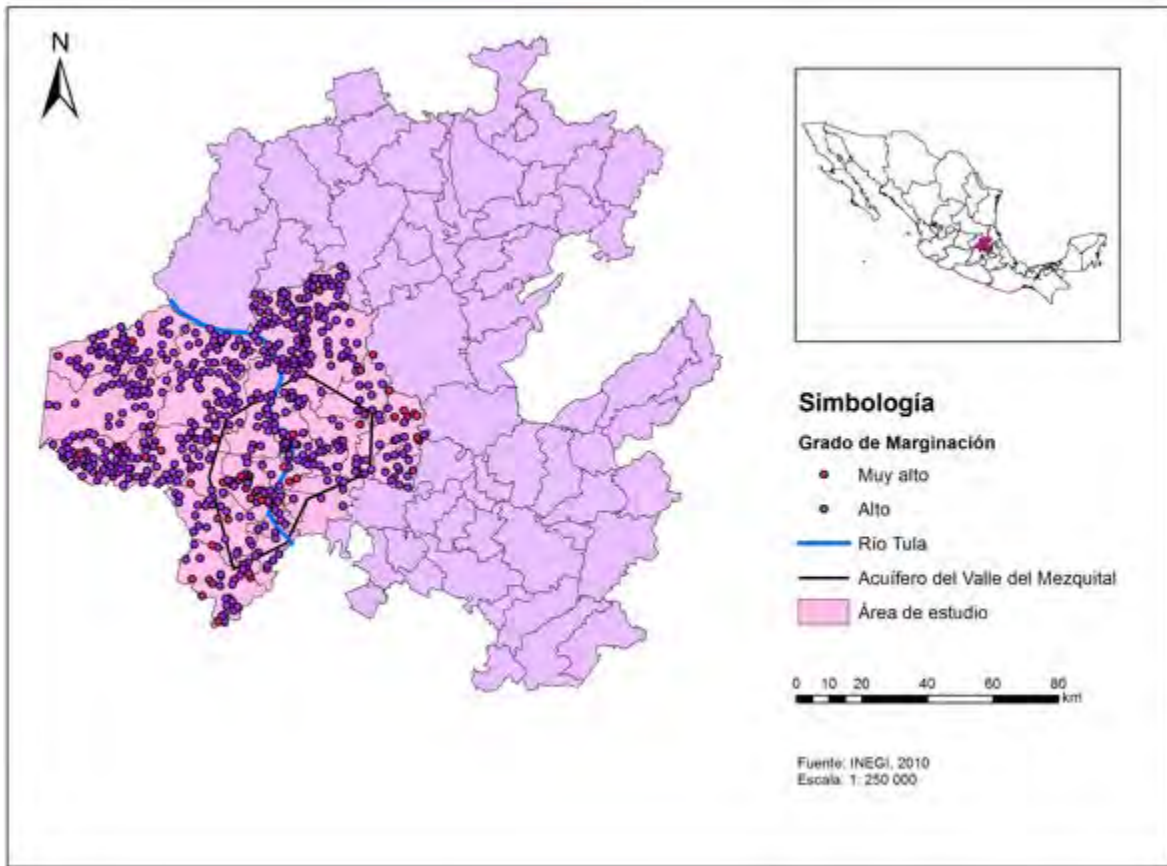


Figura 7. Índice de marginación en el área de estudio. Elaboración personal con ARCGIS 10.1 (INEGI, 2010).

Salud

En cuanto a los aspectos de salud en el estado de Hidalgo se cuenta con las siguientes instituciones: Instituto Mexicano del Seguro Social, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Cruz Roja Mexicana Delegación Hidalgo; también se encuentra el Hospital de PEMEX, clínicas de SEDENA y un Hospital de la Cooperativa de Cruz Azul.

En la entidad existen dos médicos por cada 1 000 habitantes, ocupando el lugar 22 a nivel nacional en esta medición de disponibilidad médica

(Actualización del Programa de Salud 2005–2011). Hidalgo ocupa el lugar 28 a nivel nacional en el número de camas disponibles en hospitales, con menos de una cama disponible por cada 1 000 habitantes, cuando el promedio nacional es de 1.2. El estado se encuentra en el lugar número cinco en mortalidad infantil a nivel nacional, con 14.2 muertes registradas por cada 1 000 nacimientos, los primeros lugares los ocupan los estados de Oaxaca, Guerrero, Chiapas y Veracruz (INEGI, 2010). En el estado de Hidalgo, la mortalidad infantil al igual que en otros estado está relacionada directamente con el índice de marginación, las causas de muerte en menores de un año, el primer lugar lo ocupa el trauma y asfixia en el nacimiento, seguido por malformaciones congénitas de corazón y las enfermedades infecciosas intestinales ocupan el sexto lugar (SS, 2012).

En Hidalgo, la delegación estatal del ISSSTE tiene una población de 275 074 derechohabientes. Cuenta con unidades de primer nivel de atención (dos Clínicas de Medicina Familiar, 29 Unidades de Medicina Familiar y dos consultorios por convenio, de las cuales 15 unidades son propias y 21 subrogadas); unidades de segundo nivel de atención, un Hospital General y dos Clínicas Hospitalares (Actualización del Programa de Salud 2005–2011).

Con respecto a los municipios del área de estudio, cuenta con el IMSS que tiene cuatro unidades médicas en la región de Tula y una en Tepeji del Río. La Cruz Roja Mexicana, Delegación Hidalgo tiene unidades de consulta externa y dos con hospitalización, una de las unidades de consulta externa, están ubicadas en el municipio de Actopan. La Secretaría de Salud, brinda servicio a la mayoría de los habitantes del estado, cuenta con hospitales en los municipios de Huichapan (Hospital General), Actopan (Hospital General), Valle

del Mezquital (Hospital Regional), Tula–Tepeji (Hospital Regional), Mixquiahuala (Hospital Integral), (Actualización del Programa de Salud 2005–2011).

En México existen tres niveles de atención a la salud, estos se diferencian dependiendo del grado de complejidad de las enfermedades o emergencias que manejan, cada uno de ellos cuenta con la infraestructura necesaria para resolver las necesidades de salud dependiendo de la magnitud y severidad. En centro de atención de Primer nivel (Centro de Salud), se realizan actividades de promoción de la salud y protección específica, en consulta de medicina general se realizan diagnósticos prematuros y tratamientos oportunos de los problemas de salud más frecuentes, cuentan con menor especialización, atienden del 70 al 80% de la demanda de la población que padece problemas de salud de baja complejidad. Los de Segundo nivel de atención se encuentran en localidades urbanas, están conformados por hospitales generales, materno infantiles y pediátricos para brindar servicios médicos en cuatro especialidades básicas: medicina interna, cirugía general, pediatría y ginecoobstetricia; ofrece servicios de diagnóstico y tratamiento las 24 horas de los 365 días del año. Atienden la mayor parte de los problemas y necesidades de salud que demandan internamiento hospitalario o atención de urgencias. Los de Tercer nivel son institutos nacionales de salud y hospitales de alta especialidad, resuelven necesidades de salud de alta especialidad y sub-especialidades médico-quirúrgicas, se definen como de alta especialidad aquellos servicios, dirigidos a la reparación de daños a la salud, de baja frecuencia y alta complejidad, que involucran una combinación de procedimientos clínicos o quirúrgicos, con tecnología de última generación, alto costo y elevada calidad (INEGI, 2004; SS, 2016).

El perfil epidemiológico en la población infantil del estado de Hidalgo continúa siendo predominantemente infeccioso, el 98% de la carga de enfermedad corresponde a enfermedades infecciosas y el 1.4% corresponde a enfermedades relacionadas con la nutrición (Actualización del Programa de Salud 2005–2011). En la Tabla 8 se muestran las principales enfermedades gastrointestinales en niños y niñas de 1 a 14 en la entidad para el año 2007.

Tabla 9. Enfermedades gastrointestinales en niños de 1 a 14 años en el estado de Hidalgo.

Enfermedad	Número de casos
Infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas	38 992
Amibiasis	12 199
Ascaris	3 499
Otras helmintiasis	2 087
Otras infecciones por protozoarios	1 449
Hepatitis A	855
Giardiasis	83*

(Actualización del Programa Estatal de Salud 2005–2011, Secretaría de Salud, estado de Hidalgo). *Dato para niños y niñas de 1–4 años, sin información para niños y niñas de 5–14 años.

Es importante señalar que en año 2014, las enfermedades crónicas degenerativas, diabetes mellitus, cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado, enfermedades isquémicas del corazón, cáncer son la primera causa de demanda de atención en los municipios del Valle del Mezquital, y la segunda causa la ocupan las infecciones de vías urinarias, Infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas y en tercer lugar las enfermedades periodontales (Diagnóstico Sectorial de Salud, 2014).

Ambiente

Contaminación microbiológica

En la década de los 90 se estudió el agua residual como fuente de exposición a enfermedades gastrointestinales en la población agrícola del Valle del Mezquital (Cifuentes *et al.*, 1994). Se investigaron las enfermedades diarreicas e infecciones intestinales en 12 250 viviendas. Se tomó en cuenta el grado de exposición de las personas, si el contacto era directo o indirecto, así como grupos de edades cerrados (niños y adultos). En la población infantil se encontraron casos *Ascaris lumbricoides* y *Entamoeba histolytica*, se observó que a menor grado de exposición, se reducía la prevalencia de enfermedades intestinales. Se reporta que aunque la presencia de *A. lumbricoides* es baja, las infecciones por *Giardia lamblia* con nivel de exposición media, la prevalencia era alta.

De este artículo de investigación se retoman tres aspectos que se consideran fundamentales:

a) Que el grado de exposición de las personas a la fuente de contaminación es un factor determinante a desarrollar o no una enfermedad infecciosa, b) Que dependiendo de las condiciones sociales, económicas, políticas y culturales existen grupos más vulnerables que otros. La población infantil en este caso, pero los adultos también en cierta medida en relación con sus actividades son vulnerables a *Giardia*; c) Los factores ambientales en los que se da el estudio son fundamentales; en este caso se cubrió únicamente la temporada de lluvias del ciclo anual (Cifuentes *et al.*, 1994).

Actualmente se entiende que existen factores que pueden influir en el comportamiento de los microorganismos infecciosos, por ejemplo, durante la temporada de lluvias aumenta el flujo de agua, provocando un efecto de arrastre de los materiales que el agua encuentra a su paso y tanto la temperatura como la estacionalidad juegan un papel primordial en el comportamiento de los microorganismos.

Así mismo Cifuentes *et al.* (2000) analizaron el agua residual para riego y realizaron un estudio de la población en los cuales detectaron en agua residual sin tratamiento 10^8 coliformes/100 mL y 300 quistes/L de *Giardia lamblia*. Detectaron mayor prevalencia de *Giardia lamblia* en la población de 1 a 4 años y que los consumidores de vegetales cultivados en el Valle del Mezquital que compraban sus hortalizas en el mercado local presentaban un riesgo mayor a los que compraban en la tienda de la localidad.

Más recientemente Lesser-Carrillo *et al.*, (2011) analizaron 75 pozos de agua para uso y consumo humano, de los cuales algunos recibían cloración y otros no, detectando en 30 de ellos coliformes totales y coliformes fecales utilizando el método de tubos múltiples de fermentación y reportando NMP/100mL de estas bacterias indicadoras.

En el trabajo de Chávez *et al.*, 2011 muestrearon pozos de abastecimiento (algunos recibían cloración), canales y manantiales en tres áreas del Valle del Mezquital y detectaron la presencia de coliformes fecales (por el método de filtración a través de membrana) en el 68%, así como 36% de bacteriófagos (fueron detectados por el método de doble capa de agar), 14% de *Giardia lamblia* (detectado por microscopía) y 8% de huevos de helminto (detectados

por incubación) en las muestras que analizaron en el acuífero del Valle del Mezquital.

Contaminación química

En relación con la contaminación química del agua, Dalkmann *et al.* (2012) estudiaron la acumulación de productos farmacéuticos y genes de resistencia en el Valle del Mezquital. Como resultado, encontraron y cuantificaron antibióticos como Ciprofloxacina (Fluoroquinolona), Sulfametoxazol (Sulfonamida) y genes de resistencia como *sul1*, *sul2*, *qnrS* y *qnrB* en suelo, como consecuencia del riego con agua residual sin tratamiento. Los genes de resistencia en general son de particular preocupación para la salud pública, los genes detectados confieren resistencia microbiana a sulfonamidas y fluoroquinolonas utilizados para el tratamiento contra infecciones bacterianas. Estos genes a menudo codifican para plásmidos y promueven la transferencia horizontal de genes, aumentando así la resistencia a antibióticos tanto, en bacterias de importancia clínica como ambiental.

En esta zona se han detectado agroquímicos y fármacos como organoclorados, nitratos, Triclosan, Ibuprofeno, Diclofenaco, Carbamazepina, Naproxeno y en bajas cantidades el disruptor endócrino Bisfenol A, estos se han detectado tanto en agua subterránea, agua residual y muestras de suelo (Gibson *et al.*, 2010; Downs *et al.*, 1999; Siemens *et al.*, 2007).

Se ha detectado también arsénico en siete pozos de aprovechamiento localizados al sur de Tlaxcoapan (municipio del Valle del Mezquital), fluoruros y fosfatos por arriba de la Norma Oficial Mexicana y plomo, la mayoría superan el límite máximo permisible (Lesser *et al.*, 2011).

Estos estudios, son un referente desde la década de los noventa hasta la actualidad, de la calidad del agua en el Valle del Mezquital.

Referencias

- Appelbee, A. J., A. Thompson y M. E. Olson. 2005. *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – current status and future needs. *Trends in Parasitology* 21: 370–376.
- Asano, T., Burton, F.L., Leverenz, H., Tsuchihashi, R., and Tchobanoglous, G. (2007). *Water reuse: issues, technologies and applications*. McGraw–Hill, New York, 4–6.
- Ana Laura Nuñez García (2015). Caracterización de la problemática de las aguas residuales en Ixmiquilpan, Hidalgo. Tesina para obtener el grado de Licenciatura, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. México, DF.
- Azadpour–Keeley, A., Faulkner B.R and Chen J. (2003). *Movement and Longevity of Viruses in the Subsurface*. United States EPA Report EPA/540/S–03/500. (Acceso marzo 2014). <http://www.epa.gov/nrmrl/pubs/540S03500/540S03500.pdf>.
- Baldursson, S y Karanis, P. (2011). Waterborn transmission of protozoan parasites: Review of Worldwide outbreaks– An update 2004–2010. *Water Research* 45: 6603–6614.
- Barbier, F, y Wolff, M. (2010). [Multi–drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Towards a therapeutic dead end?]. *Medicine sciences: M/S.*, 26(11), 960–8.
- Betancourt, W. y L. Querales (2008) Parásitos protozoarios entéricos en ambientes acuáticos: métodos de concentración y detección. *Interciencia* 33: 418–423.
- Betancourt, W. Q., Duarte, D. C., Vásquez, R. C., y Gurian, P. L. (2014). *Cryptosporidium* and *Giardia* in tropical recreational marine waters

contaminated with domestic sewage: Estimation of bathing-associated disease risks. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1), 268–273.

Blacksmith Institute. Groundwater contamination. Recuperado de http://www.worstpolluted.org/projects_reports/display/58. Consultado, noviembre de 2013.

Brookes, J.D., Antenucci, J., Hipsey, M., Burch, M.D., Ashbolt, N.J., y Ferguson, C. (2004). Fate and transport of pathogens in lakes and reservoirs, *Environment International* 30: 741–759.

Burns, E., (2009). Capítulo 2. Tratamiento. En: “REPENSAR LA CUENCA: La Gestión de Ciclos del Agua en el Valle de México”. Universidad Autónoma Metropolitana–Centro Sustentabilidad Incalli Ixcahuicopa (CENTLI), México, 37–49.

Chanan, A.P., Vigneswaran, S., Kandasamy, J y Simmons, B. (2013). Wastewater Management Journey–From Indus Valley Civilization to the Twenty–First Century. In: Part 1 Wastewater Management and Reuse. Sharma, S.K and Sanghi, R (eds.). Springer Science+Business Media Dordrech, Alemania, 3–19.

Chávez, A., Maya, C., Gibson, R., Jiménez, B. (2011). The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution* 159: 1354–1362.

Cifuentes, E., Blumenthal, U., Ruiz–Palacios, G., Bennett, S y Peasey A. (1994). Escenario epidemiológico del uso agrícola del agua residual: El Valle del Mezquital, México. *Salud Pública de México* 36(1): 3–9.

Cifuentes, E., J. Villanueva y H. Sanin. (2000). Predictors of blood lead levels in agricultural villages practicing wastewater irrigation in central México”, *Environmental Journal of Occupational Environmental Health*, 75, pp. 177–182

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2011). Capítulo 4: Infraestructura hidráulica. En *Estadísticas del agua en México*, México, 57–77.

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2013). Capítulo: Usos del agua. En: *Altas del Agua en México*: pp. 72–74. Consultado, 10 de diciembre de 2013.

- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2011). Estadísticas del Agua en México, Estadísticas del Agua de la Región Hidrológico-Administrativa XII, Aguas del Valle de México. Comisión Nacional del Agua, 162.
- Contreras-Montiel, J.E. (2011). Implicaciones territoriales de la producción industrial en la microrregión Tula-Tepeji del Río. Tesis para obtener el grado de Doctor en Urbanismo, Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.
- Dalkmann, P., Broszat, M., Siebe, C., Willaschek, E., Sakinc, T., Huebner, J., Amelung, W., Grohmann, E., y Siemens, J. (2012). Accumulation of Pharmaceuticals, Enterococcus, and Resistance Genes in Soils Irrigated with Wastewater for Zero to 100 Years in Central Mexico. *PLoS ONE* 7(9): e45397.
- Dey, S. K., Thongprachum, A., Ota, Y., Phan, T. G., Nishimura, S., Mizuguchi, M., Ushijima, H. (2009). Molecular and epidemiological trend of rotavirus infection among infants and children in Japan. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(5), 955-961. doi:10.1016/j.meegid.2009.06.017
- Diagnóstico Sectorial de Salud, Hidalgo 2014. Disponible en: <http://salud.hidalgo.gob.mx/wp-content/uploads/2015/sshnew/Diagn%C3%B3stico%20Sectorial%20de%20Salud%202014.pdf>
- Döll, P., Hoffmann-Dobrev, H., Portmann, F.T., Siebert, S., Eicker, A., Rodell, M., Strassberg, G., Scanlon, B. (2012). Impact of water withdrawals from groundwater and surface water on continental water storage variations. *Journal of Geodynamics* 59-60: 143-156.
- Domínguez, R. (2001) El sistema principal de drenaje del Área Metropolitana del Valle de México. Series del Instituto de Ingeniería. CI-22. Pp. 33.
- Downs T.J., Cifuentes-García E y Suffet I.M. (1999). Risk Screening for Exposure to Groundwater Pollution in a Wastewater Irrigation District of the Mexico City Region. *Environmental Health Perspective* 107: 553-561.
- Enriquez, C.E., Hurst, C.J., y Gerba, C.P. (1995). Survival of the enteric adenoviruses 40 and 41 in tap, sea, and waste water. *Water Research* 29: 2548-2553.
- Erick Ricardo Hjort Colunga (2013) Calidad de agua en pozos aledaños al relleno sanitario, La perseverancia, Cuautla, Morelos. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México.

Estadísticas agrícolas de los distritos de riego. Año agrícola 2008–2009. Consultado, 6 septiembre de 2012. www.conagua.gob.mx.

Estudio complementario el caso del Valle del Mezquital. Convenio IDRC – OPS/HEP/CEPIS. 2000 – 2002. www.bvsde.paho.org/bvsaar/e/proyecto/complemen/.../mezquital.pdf.

Fattal, B., Vasl, R.J., Katzenelson, E and Shuval, H.I. (1983). Survival of bacterial indicator organisms and enteric viruses in the Mediterranean coastal waters off Tel–Aviv. *Water Research* 17: 397–402.

FONATUR. Secretaria de Turismo del Gobierno del Estado de Hidalgo. Programa Estratégico para el Aprovechamiento Turístico de los Balnearios en el Estado de Hidalgo. Resumen Ejecutivo [online]. Disponible en: <http://proturh.hidalgo.gob.mx/descargables/balnearios.pdf>. Consultado, enero 2014.

Fong, T.T and Lipp, E.K. (2005). Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: health risks, detection, and potential water quality assessment tools. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69: 357– 371.

Foster, S., Chilton, J., Nijsten G.J y Richts, A. (2013). Groundwater—a global focus on the ‘local resource’. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 5: 1–11.

Foster, S., Garduño, H., Tuinhof, A., Kemper, K., y Nanni, M. (2006). Urban Wastewater as Groundwater Recharge evaluating and managing the risks and benefits. Series World Bank, Washington D.C.

Foster, S., Hirata, R., Gomes, D., D’Elia, M y Paris, M. (2007). Groundwater Quality Protection a guide for water utilities, municipal authorities, and environment agencies. The World Bank. Washington, DC.

Gaceta Oficial del Distrito Federal. Norma Ambiental para el Distrito Federal. NADF–003–AGUA–2002. Establece las condiciones y requisitos para la recarga en el Distrito Federal por inyección directa de agua residual tratada al acuífero de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. México, D.F.: 26 de marzo del 2004.

Gallay, A., De Valk, H., Cournot, M., Ladeuil, B., Hemery, C., Castor, C., Bon, F., Megraud, F., Le Cann, P y Desenclos, J.C.(2006). A large multi–pathogen

waterborne community outbreak linked to faecal contamination of a groundwater system. *Clinical Microbiology and Infection* 12: 561–570.

Garza–Almanza, V. (2001). Case study: valle de Juárez, México, Ciudad Juárez Chihuahua. Regional Project in Treatment and Integral Use of Wastewater in Latinamerica. Actual situation and potential. Agreement IDCR/OPS/HEP/CEPIS 2000–2002.

Geldreich, E.E. (1990). Microbial quality control in distribution systems. En: Pontius, F.W. (ed.), *Water Quality and Treatment*, 4th ed. AWWA (American Water Works Association), McGraw–Hill, Inc., Nueva York.

Gerba, C.P. (1984). Applied and theoretical aspects of virus adsorption to surfaces. *Advances in Applied Microbiology* 30: 133–168.

Gerba, C. P., y Kennedy, D. (2007). Enteric virus survival during household laundering and impact of Disinfection with sodium Hypochlorite. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(14), 4425–4428.

Gibson, R., Becerril–Bravo, E., Silva–Castro, V., Jiménez, B.(2007). Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1169: 31–39.

Gleick, P. H. (1998). *The World 's Water 1998–1999. The Biennial Report on Freshwater Resources*. Island Press. Washington, D. C.

González, L. (1968). *Tipos de Vegetación del Valle del Mezquital, Paleoecología*. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México, 53.

Greenberg, H. B., y Estes, M. K. (2016). Rotaviruses: From pathogenesis to vaccination. *Gastroenterology*, 136(6), 1939–1951.

Haas, C. N., Rose, J. B., y Gerba, C. P. (1999). *Quantitative microbial risk assessment*. New York, NY: Wiley, John & Sons.

Hatchette, T., Gupta, R., y Marrie, T. (2000). *Pseudomonas aeruginosa* community–acquired pneumonia in previously healthy adults: Case report and review of the literature. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America.*, 31(6), 1349–56.

- Helmer, R., y Hespanhol, I. (1999). "Políticas y Principios." En: *Control de la contaminación del agua*, CEPIS OPS/OMS, ed., Lima, Perú, 1–9.
- Huang, Y., Lin, T., y Wang, C. (2002). Community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* sepsis in previously healthy infants and children: Analysis of forty-three episodes. *The Pediatric infectious disease journal*, 21(11), 1049–52.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2010). <http://cuentame.inegi.org.mx/>
<http://www.inegi.org.mx/sistemas/productos/>. Consultado, 17 de febrero de 2013.
- Ikehata, K. (2013). Hazardous Agents in Wastewater: Public Health Impacts and Treatment Options for Safe Disposal and Reuse. En: Sanjay K. Sharma y Rashmi Sanghi (Eds). *Wastewater Reuse and Management*. Springer: New York, 165– 191.
- International Water Management Institute (IWMI) (2010) *Wastewater use in agriculture: not only an issue where water is scarce!*; Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute.
- Jain, P., y Jain, A. (2013). 4 Waterborne Viral Gastroenteritis: An Introduction to Common Agents. In P. P. Singh & V. Sharma (Eds.), *Water and health*. Springer Science & Business Media India (pp. 53–73).
- Jane-Castillo, V., Ribas-Aparicio, R.M., Osorio-Carranza, L. y Aparicio, G. (2006) Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen hospitalario multirresistentes a 21 antibióticos, *Bioquímica*, 31(2), pp. 41–48.
- Jiang, B., Wang, Y., y Glass, R. (2013). Does a monovalent inactivated human rotavirus vaccine induce heterotypic immunity? Evidence from animal studies. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 9(8), 1634–7.
- Jiménez B. (2009). Risk and integrated management of the urban water cycle in megacities of the developing world: Mexico City. In: *Water and Urban Development Paradigms*. (Eds.) J. Feyen, K. Shannon, M. Neville. CPC Press.
- Jimenez B., Chávez A. (2004), Quality assessment a potential use of an aquifer recharged with wastewater: "El Mezquital Case". *Water, Science and Technology* 50: 269–276

- Jiménez B., Siebe C. y Cifuentes E. (2005). El reúso intencional y no intencional del agua en el Valle de Tula. En *El agua en México vista desde la Academia*. (Eds). Blanca Jiménez y Luis Marín. Academia Mexicana de Ciencias. México, DF, 33.
- Jiménez B (2003) El agua en el Valle de México. *Revista Páramo del Campo y de la Ciudad*, 1 (1): 26–33.
- Katayama, H., Shimasaki, A. y Ohgaki, S. (2002). Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. *Applied Environmental Microbiology*, 68:1033–1039.
- Kerr, K.G. y Snelling, A.M. (2009) *Pseudomonas aeruginosa*: A formidable and ever-present adversary', *Journal of Hospital Infection*, 73(4), pp. 338–344. doi: 10.1016/j.jhin.2009.04.020.
- Keswick, B y Gerba, C. (1980): Viruses in groundwater. *Environmental Science & Technology* 14: 1290–1297.
- Krauss, S y Griebler C. (2011). *Georessource Wasser*. Deutsche Akademie der Technikwissenschaften. München, 69.
- Lazarova, V., Asano, T., Bahri, A., y Anderson, J. (2013). Milestones in Water Reuse: main challenges, keys to success and trends of development. An overview. En: *Milestones in Water Reuse. The Best Success Stories*. Reino Unido: IWA (International Water Association), 1–20.
- Leclerc, H., Schwartzbrod, L y Dei-Cas, E. (2002). Microbial Agents Associated with Waterborne Diseases. *Critical Reviews in Microbiology* 28(4):371–409.
- Lesser-Carrillo L. E., Lesser-Illades J .M., Arellano-Islas, S y González-Posadas, D. (2011). Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del Valle del Mezquital, México central. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 28(3), 323–336.
- Levantesi, C., La Mantia, R., Masciopinto, C., Böckelmann, U., Neus Ayuso-Gabella, U.N., Salgot, M., Tandoi, V., Van Houtte, E., Wintgens, T., Grohmann, E. (2010). Quantification of pathogenic microorganisms and microbial indicators in three wastewater reclamation and managed aquifer recharge facilities in Europe. *Science of the Total Environment* 408(21), 4923–4930.

- Levine A.D., Leverenz H.L., y Asano T. (2008). Water reclamation and reuse. En *Water and Health*. UNESCO-EOLS, 1-11.
- Ley General de Aguas (LGA). (2016). Iniciativa Ciudadana de Ley General de Aguas. 13 de septiembre de 2016, de Agua para tod@s, agua para la vida Sitio web: <http://aguaparatodos.org.mx/nuestro-proceso/>
- Maarseveen, van, Wessels, E., Brouwer, de, Vossen, A., y Claas, E. (2010) Diagnosis of viral gastroenteritis by simultaneous detection of Adenovirus group F, Astrovirus, Rotavirus group A, Norovirus genogroups I and II, and Sapovirus in two internally controlled multiplex real-time PCR assays. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 49(3), 205-10.
- Mckenzie, C. (2005). Wastewater reuse conserves water and Protects waterways. The National Environmental Services Center (NESC). Recuperado de www.nesc.wvu.edu/nsfc_manufacturers.htm. (Acceso enero de 2014).
- Mena, K. D., Mota, L. C., Meckes, M. C., Green, C. F., Hurd, W. W., y Gibbs, S. G. (2008). Quantitative microbial risk assessment of a drinking water -wastewater cross-connection simulation. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 7(5), 525-530.
- Miller, G.W. (2005). Integrated concepts in water reuse: managing global water needs. *Desalination* 187: 65-75.
- Mirsal, I. A. (2007). *Soil pollution: Origin, monitoring and remediation* (2nd ed.). Berlin: Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K.
- Moscoso, J., y Young, L. E. (2002). "Sistema integrados de tratamiento y uso de aguas residuales en América Latina: realidad y potencial." Pp.360,589.
- Moscoso, J., y Alfaro, T. (2007). *Panorama de Experiencias de Tratamiento y Uso de Aguas Residuales en la Ciudad de Lima*. Perú, 10.
- NOM-003-ECOL-1997 Modificación a la Norma Oficial Mexicana 1998. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. México, D.F.: 21 de septiembre, 1998. Diario Oficial de la Federación (DOF).

- NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental Modificación a la Norma Oficial Mexicana. (2000). Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse el agua para su potabilización. México, D.F.: 22 de noviembre, 2000. Diario Oficial de la Federación (DOF).
- NOM-001-SEMARNAT- 1996. (2003). Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. México, D.F.: 23 de abril de 2003. Diario Oficial de la Federación (DOF).
- NADF-003-AGUA-2002. (2004). Que establece las condiciones y requisitos para la recarga en el Distrito Federal por inyección directa de agua residual tratada al acuífero de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. México, D.F.: 26 de marzo de 2004. Gaceta Oficial del Distrito Federal.
- Olson, M., Hannigan, C., Gaviller, P., y Fulton, L. (2001). The use of a Giardia vaccine as an immunotherapeutic agent in dogs. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 42(11), 865-8.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2016). Cada año mueren 12,6 millones de personas a causa de la insalubridad del medio ambiente. 20 de septiembre de 2016, de Organización Mundial de la Salud Sitio web: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/deaths-attributable-to-unhealthy-environments/es/>
- Organización de las Naciones Unidas (ONU). (2016). Objetivo 6: Garantizar la disponibilidad de agua y su gestión sostenible y el saneamiento para todos. 13 de octubre de 2016, de Organización de las Naciones Unidas Sitio web: <http://www.un.org/sustainabledevelopment/es/water-and-sanitation/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO). (2009). World Water Assessment Programme: The United Nations World Water Development Report 3: Water in a Changing World. Paris.
- Organización de las Naciones Unidas (2014). Decenio internacional para la acción “El agua fuente de vida 2005-2015”. Acceso en: http://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/water_and_sustainable_development.shtml

- Pang, X., Preiksaitis, J., y Lee, B. (2013). Enhanced enteric virus detection in sporadic gastroenteritis using a multi-target real-time PCR panel: A one-year study. *Journal of medical virology*, 86(9), 1594-601.
- Percival D; Chalmers R; Embrey M; Hunter P; Sellwood J; y Wyn-Jones P. (2004). *Microbiology of Waterborne Diseases*. Elsevier Academic Press. San Diego California, Estados Unidos, 3-21.
- Polaczyk, A., J. Narayanan, T. Cromeans, D. Hahn, J. Roberts, J. Amburgey y V. Hill. (2008) Ultrafiltration-based techniques for rapid and simultaneous concentration of multiple microbe classes from 100-L tap water samples. *Journal of Microbiological Methods* 73: 92-99.
- Plan Estatal de Desarrollo 2011- 2016 México. Gobierno del estado de Hidalgo.(2011). (versión electrónica). Acceso en: <http://sepladerym.hidalgo.gob.mx/PED/documentos/PLAN%20ESTATAL%20DE%20DESARROLLO.pdf>
- Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) (2003).Acceso en: http://hdr.undp.org/sites/default/files/hdr_2003_es.pdf
- Propuesta ciudadana “Ley General de Aguas”. Agua para tod@s, aguas para la vida”. Acceso en: <http://aguaparatodos.org.mx/la-iniciativa-ciudadana-de-ley-general-de-aguas/>
- Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY – NOM – 014 – CNA – 2003. Norma Oficial Mexicana NOM –014– CONAGUA – 2003, “Requisitos para la recarga artificial de acuíferos con agua residual tratada”. México, D.F.: 18 de agosto de 2009.
- Quipuzco-Ushñahua, L.E. (2004). Valoración de las aguas residuales en Israel como un recurso agrícola: consideraciones a tomar en cuenta para la gestión del agua en el Perú. *Revista del Instituto de Investigación (FIGMMG)* 7 (13): 64-72.
- Rangel-Martínez, C (2010) Identificación de *Blastocytis hominis* en muestras de agua obtenidas de Ciudad Universitaria en la Ciudad de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Simón Bolívar, México.
- Rice, S., den, van, Pomati, F., y Roser, D. (2012). A risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in swimming pools: A review. *Journal of water and health*, 10(2), 181-96.

- Roda Husman A.M. y Bartman J. (2008). Global Supply of Virus Safe Drinking Water. In Bosch. A (Ed.), *Human viruses in water: Perspectives in medical Virology*. Amsterdam: Elsevier Science & Technology.
- Rusin, P., Rose, J., Haas, C., y Gerba, C. (1997). Risk assessment of opportunistic bacterial pathogens in drinking water. *Reviews of environmental contamination and toxicology.*, 152, 57–83.
- Saavedra, M., Tovar, C., y Betancourt, W. Q. (2012). Virus entéricos en ambientes acuáticos: métodos de concentración y detección. *Interciencia*, 37(4), 260–265.
- Schijven, J.F., y Hassanizadeh, S.M. (2000). Removal of Viruses by Soil Passage: Overview of Modeling, Processes, and Parameters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 30, 49–127.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIACON) 1980–2010, en: www.sagarpa.gob.mx (agosto de 2012).
- Secretaria de Desarrollo Social del estado de Hidalgo (2004). Acceso en: <http://sedeso.hidalgo.gob.mx/>.
- Secretaria de Salud del estado de Hidalgo. (2012). Actualización del Programa de Salud 2005–2011. Consultado el 5 de julio de 2012. Acceso en: <http://s-salud.hidalgo.gob.mx/wp-content/Documentos/Actualizacion%20del%20Programa%20Institucional%20de%20los%20Servicios%20de%20Salud%20de%20Hidalgo%202014.pdf>
- Siemens, J., G. Huschek, C. Siebe y M. Kaupenjohann. 2007. Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico City–Mezquital Valley. *Water Research* 42: 2124–2143.
- Sinreich, M., Pronk, M., Kozel, R. (2013). Microbiological monitoring and classification of karst springs. *Environmental Earth Sciences*, DOI 10.1007/s12665-013-2508-7.
- Sinton, L.W., Hall, C.H., Lynch, P.A., y Davies–Colley, R.J. (2002). Sunlight Inactivation of Fecal Indicator Bacteria and Bacteriophages from Waste Stabilization Pond Effluent in Fresh and Saline Waters. *Applied Environmental Microbiology* 68: 1122–1131.

- Sobsey, M.D (1983). transport and fate of viruses in soils. In: Microbial Health Considerations of soil Disposal and Domestic Wastewater. EPA 600/9.
- Solarte, Y., M. Peña y C. Madera. 2006. Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. Colombia Médica 37: 74–82.
- Strauss, J.H y Strauss, E.G.(2008). Viurs and Human disease. Elsevier (2nd ed). Canadá, pp. 476.
- Tapia–Palacios, M. A (2012) Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en agua del río Cuitzmala, Jalisco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias–Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Toranzos GA (2002). Pseudomonas. In: Bitton G, (ed). Encyclopedia of Environmental Microbiology. John Wiley & Sons; New York, NY, USA: pp. 2632–2639.
- Toranzos G.A, McFeters G.A, Borrego J.J, Savill M (2007). Detection of microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters. In: Hurst CJ, Crawford RL, Garland JL, Lipson DA, Mills AL, Stetzenbach LD, (eds). Manual of Environmental Microbiology. 3rd ed. American Society for Microbiology Press; Washington, DC, USA: pp. 249–264.
- Tyring, S.K., Ward, R., Jiang, X., Farkas, T., y Bass, D. (2006): Virology of the Gastrointestinal Tract. En: Mucosal Immunology and Virology: Springer. London, 55–98.
- United Nations Environment Programme (UNEP) and Global Environment Centre Foundation. (2004). Water and Wastewater Reuse; An Environmentally Sound Approach for Sustainable Urban Water Management. Acceso en: http://www.unep.or.jp/ietc/Publications/Water_Sanitation/wastewater_reuse/Booklet-Wastewater_Reuse.pdf. (Acceso noviembre 2013).
- United Nations (UN–Water). (2014). Water and Energy. The United Nations World Water Development Report 2014. Francia: UNESCO,CLD.
- United Nations Environment Programme. (UNEP). (2005). WATER AND WASTEWATER REUSE an Environmentally Sound Approach for Sustainable Urban Water Management. Acceso en: http://www.unep.or.jp/ietc/Publications/Water_Sanitation/wastewater_reuse/index.asp (Acceso enero 2014).

- United Nations Environment Programme (UNEP). (2002) 'State of the Environment and Policy Perspective: 1972–2002', Global Environment Outlook 3, pp. 150–179, Division of Early Warning and Assessment (DEWA), Kenya.
- United Nations Environment Programme and Global Environment Centre Foundation (UNEP). (2005). Water and Wastewater Reuse: An Environmentally Sound Approach for Sustainable Urban Water Management. Japón, Kusatsu, pp. 5–12.
- Verstraete, W., de Caveye, P.V., Diamantis, V. (2009) Maximum use of resources present in domestic “used water”. *Bioresource Technology* 100: 5537–5545.
- Villena C, El-Senousy WM, Abad FX, Pinto RM, Bosch A (2003) Group A Rotavirus in sewage samples from Barcelona and Cairo: Emergence of unusual Genotypes. *Appl. Environ. Microbiol* 69(7), 3919–3923
- Viola, L., Langer, A., Pulitano, S., Chiaretti, A., Piastra, M., y Polidori, G. (2006). Serious *Pseudomonas aeruginosa* infection in healthy children: Case report and review of the literature. *Pediatrics International*, 48(3), 330–333.
- Volkman, H., Schwartz, T., Kirchen, S., Stofer, C y Obst, U (2007) Evaluation of inhibition and cross-reaction effects on real time PCR applied to the total DNA of wastewater samples for the quantification of the bacterial antibiotics resistance genes and taxon-specific targets. *Molecular and cellular Probes*, 21(2), 125–139.
- Wada, Y., Van Beek, L.P.H., Van Kempen, C.M., Reckman, J.W.T.M., Vasak, S., Bierkens, M.F.P. (2010). Global depletion of groundwater resources. *Geophys Res. Lett* 37, L20402.
- World Health Organization (WHO). (2006). WHO guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Vol 2. Wastewater Use in Agriculture. World Health Organization, Geneva.
- Xagorarakis I, Kuo DH, Wong K, Wong M, Rose JB (2007) Occurrence of human Adenoviruses at Two recreational beaches of the great lakes. *Environ. Microbiol* 73(24), 7874–7881
- Yates, M.V., Gerba, C.P., and Kelley, L.M. (1985). Virus persistence in groundwater. *Applied Environmental Microbiology* 49, 778–781.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Justificación

Más del 80% de las aguas residuales resultantes de las actividades humanas se vierte en ríos o el mar sin que se eliminen los contaminantes.

Los objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) presentan en el Objetivo 6 que se expone que se debe “garantizar la disponibilidad de agua, su gestión y el saneamiento para todos”. Esto es, que para el año 2030, se debe mejorar la calidad del agua mediante la reducción de la contaminación, la reducción al mínimo de la descarga de materiales y productos químicos peligrosos, la reducción a la mitad del porcentaje de aguas residuales sin tratar y un aumento sustancial del reciclado y la reutilización del agua residual en condiciones de seguridad a nivel mundial. También para el 2030, aumentar sustancialmente la utilización eficiente de los recursos hídricos en todos los sectores y asegurar la sostenibilidad de la extracción y el abastecimiento de agua dulce para hacer frente a la escasez de agua y reducir sustancialmente el número de personas que la sufren (ONU, 2016).

El control de la contaminación de los cuerpos de agua contribuye con el alcance de estrategias de manejo de aguas residuales, que deben implementarse en el contexto de la gestión integral de los recursos hídricos, considerando la cuenca hidrográfica como la unidad de análisis (Moscoso y Alfaro, 2007).

El 90% del agua residual en los países en economías emergentes se descarga sin tratamiento alguno a los cuerpos de agua. En América Latina, sólo el 14% del agua residual es tratada y sólo el 6% recibe tratamiento adecuado (Moscoso y Young, 2002). El uso seguro de las aguas residuales, contribuye a una menor presión sobre los recursos hídricos y reduce los riesgos de salud para las comunidades expuestas directa o indirectamente; cuando es tratada adecuadamente mejora el saneamiento en apoyo a la reducción de las excretas, lo que ayuda a proteger la salud ambiental; también promueve la gestión adecuada del agua, incluyendo el control de la contaminación y la conservación de las fuentes naturales de agua, que es un factor clave en el mantenimiento de la integridad de los ecosistemas y en la agricultura con lo que puede contribuir a la mejora de las condiciones de vida de los pobladores de una región (WHO, 2006; ONU-Agua, 2014).

El agua utilizada para fines domésticos, saneamiento, agricultura, industria y energía generan aguas residuales, causando la alteración de sistemas de aguas subterránea, superficial y zonas costeras cuando no existe un tratamiento previo adecuado para cada uso; es por esto que los recursos hídricos deben ser gestionados en conjunto y de manera sostenible, si se desea mantener un suministro tanto para las personas como considerando el ambiente, así como para los usos productivos. En México en el año 2012, se propuso una nueva “Iniciativa Ciudadana de Ley General de Aguas”, cuyas bases establecen el acceso, uso equitativo y sustentable de los recursos hídricos, promoviendo la participación de estados y municipios, así como la participación de la ciudadanía. Esta ley en primera instancia garantizar el derecho humano al agua y saneamiento a todos los habitantes e incluye garantizar el derecho a un ambiente sano mediante la disponibilidad de agua suficiente y de calidad para los ecosistemas. En lo que se refiere a la sustentabilidad propone el reúso de

aguas residuales tratadas para conservar el volumen de agua ecológicamente disponible en cada cuenca y obliga las autoridades en los tres niveles de gobierno a dar tratamiento y reusar las aguas de origen doméstico, y referente a las aguas residuales de origen industrial se debe garantizar que no entren a los sistemas de recolección de aguas residuales municipales; así como una transición hacia el manejo separado de las aguas residuales previamente canalizadas al alcantarillado mixto, mediante el impulso a la instalación de infraestructura específica para aguas pluviales y para la recolección, tratamiento y reúso de aguas residuales (LGA, 2015). Como podemos observar esta ley si incluye aspectos de sostenibilidad, es incluyente y tiene una visión transdisciplinaria; en comparación con la “Ley General de Aguas” propuesta por la CONAGUA (CONAGUA, 2015) en la que se promueve la privatización del agua, la construcción de grandes obras hidráulicas y en donde se propone recolectar y “alejar” aguas pluviales y residuales “sin aprovechamiento por sistemas alternativos” excepto cuando no existe una obra hidráulica, por mencionar algunos de los aspectos que propone esta Ley; sin tomar en cuenta la cuenca como unidad fundamental y todas las repercusiones ambientales y sociales que derivan en ella.

El reúso de las aguas residuales beneficia a las actividades económicas como son la agricultura con la posibilidad de la producción de alimentos, al ambiente reutilizando y minimizando el uso de agua limpia. Sin embargo, sus principales desventajas son los efectos negativos que esta pueda tener en la salud, y la degradación de los suelos (*i.e* salinización) y cuerpos de agua que estén a su paso durante su uso a través de contaminación biológica y química. Es por esto que la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde 1973, ha implementado guías para el uso seguro de las aguas residuales, minimizando los riesgos a la salud y al ambiente. En la guía más reciente del año 2006, propone un manejo preventivo integral en el cual se deben establecer los riegos

asociados al reúso del agua residual, identificándolos específicamente; así como otros componentes fundamentales que se deben incorporar como: el monitoreo, la evaluación, supervisión documentación y la vigilancia de los usos y los usuarios, así como la responsabilidad institucional que gira entorno a las aguas residuales (WHO, 2006).

Es por esto que el área de estudio, el Valle del Mezquital representa una gran oportunidad para llevar a cabo un estudio prospectivo de estas guías, ya que como se ha mencionado a lo largo de este trabajo, es un sitio en el que reúsa agua residual para el riego agrícola, la producción de alimentos con fines tanto agrícolas como ganaderos, los cuales son distribuidos en la ZMCM y las comunidades cercanas al Valle del Mezquital. Además existe exposición de trabajadores, sus familias, así como a la población cercana ya que muchos de los canales de agua residual no se encuentran revestidos y se encuentran a cielo abierto. Desde la perspectiva ambiental, el agua residual sin tratamiento de la ZMCM llega directamente, a su paso infiltrándose al acuífero de la zona y al Río Tula que desemboca a su vez en el Golfo de México.

Con base en lo expuesto se proponen los siguientes objetivos para este trabajo de investigación.

Objetivos

General

Evaluar la calidad microbiológica del agua superficial, subterránea y residual mediante muestreos en la ZMCM y el VM, para conocer la condición actual y generar información útil para la toma de decisiones con respecto a la salud ambiental y un uso sostenible del agua.

Particulares

Analizar y cuantificar microorganismos indicadores, coliformes fecales, así como enterococos fecales y *Pseudomonas aeruginosa*, con el fin de determinar si existe relación entre estos microorganismos en distintos tipos de agua, y su variación espacial y temporal a lo largo de un ciclo anual.

Determinar la presencia de adenovirus y rotavirus en agua subterránea utilizada como fuente de abastecimiento en la comunidad de Tlahuelilpan, Hidalgo; a través de análisis de agua de pozos de extracción utilizados para el abastecimiento público, de manantiales y piezómetros ubicados en parcelas regadas con agua residual sin tratamiento.

Conocer a través de isótopos estables ^{18}O y Deuterio, si existe una conexión entre los sistemas de agua residual y de agua subterránea para comprender si esta relación tiene implicaciones en la sobrevivencia de virus en agua subterránea utilizada para uso y consumo humano.

Generar información sobre la calidad microbiológica de los distintos tipos de agua en el Valle del Mezquital, así como los usos del agua como herramientas para mejorar el manejo del agua.

C

A

P

Microbial indicators,

Í

opportunistic bacteria and

T

pathogenic protozoa for

U

wastewater reused monitoring

L

urban for irrigation in

0

proximity to a megacity

2

Resumen del artículo

El siguiente artículo es parte de una colaboración en un proyecto multidisciplinario llamado “Scale dependency of formation of resistences and their transfer to human pathogens during wastewater reuse”, en el cual participaron diversas dependencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, Universität Bonn y Universität Freiburg. En este artículo se muestran los resultados de dicha colaboración, en los cuales se logró detectar la presencia de la bacteria oportunista *Pseudomonas aeruginosa* por métodos moleculares, indicadores de contaminación fecal coliformes fecales y enterococos, así como parásitos gastrointestinales patógenos en distintos tipos de agua, que están relacionados con el agua residual proveniente de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México y que llega posteriormente al Valle del Mezquital para ser reutilizada para riego agrícola. Este estudio aportó nuevas evidencias e información actualizada sobre la calidad microbiológica del agua en el Valle del Mezquital y los posibles efectos a la salud. Este artículo contó con la colaboración del Doctor Carlos Díaz Ávalos, especialista en el área de estadística, el alumno de maestría Antonio Tapia y alumna de licenciatura Tere Castañón para el análisis de los parásitos protozoarios. Este artículo actualmente se encuentra en revisión.

Microbial Indicators, Opportunistic Bacteria, and Pathogenic Protozoa for Monitoring Urban Wastewater Reused for Irrigation in the Proximity of a Megacity

María Alejandra Fonseca-Salazar, Carlos Díaz-Ávalos, María Teresa Castañón-Martínez, Marco Antonio Tapia-Palacios, et al.

EcoHealth

One Health - Ecology & Health - Public Health Official journal of International Association for Ecology and Health

ISSN 1612-9202

EcoHealth

DOI 10.1007/s10393-016-1172-2



Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by International Association for Ecology and Health. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".

Original Contribution

Microbial Indicators, Opportunistic Bacteria, and Pathogenic Protozoa for Monitoring Urban Wastewater Reused for Irrigation in the Proximity of a Megacity

María Alejandra Fonseca-Salazar,^{1,2} Carlos Díaz-Ávalos,³ María Teresa Castañón-Martínez,^{2,4} Marco Antonio Tapia-Palacios,^{1,2} and Marisa Mazari-Hiriart²

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

²Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-275, Tercer Circuito Exterior Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 Mexico City, DF, Mexico

³Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

⁴Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

Abstract: In Latin America and the Caribbean, with a population of approximately 580 million inhabitants, less than 20 % of wastewater is treated. Megacities in this region face common challenges and problems related with water quality and sanitation, which require urgent actions, such as changes in the sustainable use of water resources. The Mexico City Metropolitan Area is one of the most populous urban agglomerations in the world, with over 20 million inhabitants, and is no exception to the challenges of sustainable water management. For more than 100 years, wastewater from Mexico City has been transported north to the Mezquital Valley, which is ranked as the largest wastewater-irrigated area in the world. In this study, bacteria and pathogenic protozoa were analyzed to determine the association between the presence of such microorganisms and water types (WTs) across sampling sites and seasons in Mexico City and the Mezquital Valley. Our results show a difference in microbiological water quality between sampling sites and WTs. There is no significant interaction between sampling sites and seasons in terms of bacterial concentration, demonstrating that water quality remains constant at each site regardless of whether it is the dry or the rainy season. The results illustrate the quantity of these microorganisms in wastewater, provide a current diagnosis of water quality across the area which could affect the health of residents in both Mexico City and the Mezquital Valley, and demonstrate the need to transition in the short term to treat wastewater from a local to a regional scale.

Keywords: wastewater reuse, pathogens, sustainability, planning, public health, megacity

INTRODUCTION

Water, whether for drinking, washing, food production, or recreational use, plays an important role in public health

(Leclerc 2002). Millions of people worldwide are exposed daily through their water supply to some level of biological and chemical agents as a result of inadequate wastewater management in urban, industrial, or agricultural areas (United Nations 2013). Monitoring microbiological water quality represents an important mechanism to support the design of policies that include disease control and preven-

Correspondence to: Marisa Mazari-Hiriart, e-mail: mazari@unam.mx

tion, as well as an important element for achieving sustainability goals (Kates et al. 2001). This continues to be particularly important in developing countries, because it is related to cases of gastrointestinal diseases, which are in turn linked to high mortality rates associated with their presence (Sardin et al. 2009). The impact of water quality on human health can be severe, with millions of deaths each year from waterborne diseases, while water contamination and aquatic ecosystem destruction continue to rise (Sharma 2009; WHO 2013).

As part of more sustainable water management strategies, conventional urban water systems, which include water supply, wastewater, and stormwater management, require major rethinking. In order to manage urban water systems more efficiently in the future, a flexible approach will allow the incorporation of novel technologies and the adaptation to external changes (for example, climate change). Because water is an essential resource for sustaining health, both the quantity and quality of available water supplies must be improved.

The significance of sustainability in water resources management has changed over time. Initially, meeting the increasing water demand was the dominant concern for water managers, while water quality issues became more important later, followed by intensive exploitation of water resources and water reuse. Today, sustainability in water management must include a whole range of technological aspects (i.e., energy, contamination, persistent chemicals, and treatment), social (equality and justice), and ecological issues at various spatial and time scales (Hermanowicz 2008).

MEGACITY USE AND REUSE OF WATER

Throughout its history, the Mexico City Metropolitan Area (MCMA or Mexico City for purposes of simplicity) has undergone various changes regarding water management. The area that is presently occupied by the city originally was a closed basin, with five lakes that interconnected during the rainy seasons, merging into a single surface system and that, during the dry season, could be separated; the Aztecs managed the connections among the lakes. The Basin of Mexico where the city is located was artificially opened during the seventeenth century by the Tajo de Nochistongo Pit and, in 1900, by the construction of El Gran Canal, a sanitary drainage canal that aids in draining sewage and rainwater from the Basin of Mexico in order to prevent the flooding of Mexico City (Mazari-Hiriart et al. 2001).

WATER REUSE IN MEXICO CITY

According to the hydraulic balance (CONAGUA 2007), the annual volume of water usage in the MCMA is 81.9 m³/s, distributed as follows: domestic use (64.6 m³/s), industrial (4.6 m³/s), and agricultural (12.6 m³/s). Seventy-two percent of the total water consumed originates in MCMA aquifers, including 4 % from rivers and springs, and 24 % is imported from external sources (CONAGUA 2011). The volume of wastewater exported from the Basin of Mexico to the Mezquital Valley to the north of the city has reached 52 m³/s or 1.6 million m³/year (Burns 2009). This volume could provide around 150 L of water daily to a population of 30 million inhabitants. The remaining 29 m³/s drains into the Pánuco River and after a 513-km run-off, these waters flow into the Gulf of Mexico. The rate of artificial recharge of the Mezquital Valley aquifer is nearly 15 times its natural recharge rate (Jiménez 2003; CONAGUA 2008). Consequently, the groundwater level has risen by 50 m in recent decades, which has in turn given rise to the appearance of water springs in the Mezquital Valley lower area (CONAGUA 2007; Burns 2009).

Advances in the treatment of wastewater delivered by the MCMA have been nearly null, of the 120 treatment plants operating in the metropolitan area, which represent a combined capacity to treat 12.2 m³/s, only 7 m³/s is really treated. Compared with other Latin America cities like Santiago, Chile, treats 16.8 m³/s (with two treatment plants) and São Paulo, Brazil, treats 13.6 m³/s (with four treatment plants) (CONAGUA 2013; Jordan et al. 2010).

In 2007, as part of a Water Sustainability of the Basin of Mexico Program, the Mexican Government initiated the construction of the Atotonilco Wastewater Treatment Plant (AWWTP), with a treatment capacity of 23 m³/s that, at present, remains under construction and whose operations should start at the end of the last year (2015). The total cost of the project was about \$9.4 billion Mexican pesos (approximately \$78 million USD). This AWWTP plant will benefit 700,000 inhabitants of the Mezquital Valley through the provision of water for agricultural activities.

PATHOGENS ASSOCIATED WITH WASTEWATER

The fundamental condition for wastewater reuse is that it does not represent a threat to public health. However, untreated wastewater poses a potential risk for transmission of waterborne diseases, such as cholera, typhoid fever,

dysentery, and helminthiasis (WHO 2006); the pathogens that cause the majority of gastrointestinal infections are excreted in the feces of infected individuals (Ikehata 2013). Some disadvantages of reuse include the following: (a) public health problems, including skin irritations related with water quality, mainly for people in direct contact with treated wastewater, (b) in some cases, wastewater reuse is not economically feasible due to high maintenance costs, and (c) the use of untreated wastewater for irrigation or reinjection into the aquifer can result in contamination of the groundwater system (Asano et al. 2007; McKenzie 2005). These risks can be minimized by the appropriate treatment, disinfection, and controlled use of treated wastewater.

BACKGROUND

The Mezquital Valley is located 100 km North of Mexico City, in the State of Hidalgo. In this area, several economic activities are common, such as agriculture, livestock, and aquaculture, and there are also recreational areas, such as water parks (FONATUR 2007; Contreras-Montiel 2011).

The irrigation area covers more than 90,000 ha, and 10 % of the state's population resides in this area (Jiménez et al. 2004; Contreras-Montiel 2011). It is a hydrologically complex system consisting of nine dams, three of which receive surface water, while the remaining six dams are wastewater reservoirs. Three rivers traverse the study area, including the Tula, the Salado, and the El Salto Rivers, plus 850 km of open canals that distribute wastewater for the irrigation of crops such as alfalfa, corn, beans, wheat and, at a lesser proportion, coriander, onions, tomatoes, green peppers, radishes, lettuce, chard, and beets (Domínguez 2001; Romero-Álvarez 1997). This site is considered the largest area worldwide that is irrigated with raw wastewater and the second largest area after China that utilizes wastewater for agricultural activities (Garza-Almanza 2000; IWMI 2010; Mara and Cairncros 1989; Cifuentes et al. 1994; Jiménez and Chávez 2004; Siemens et al. 2008).

Studies of this site with regard to its microbiological and chemical water quality have been published. In the 1990s, wastewater was studied as a source of exposure to microorganisms for the Mezquital Valley agricultural community (Cifuentes et al. 1994, 2000), revealing exposure to *Ascaris lumbricoides*, *Entamoeba histolytica*, and *Giardia lamblia* in infants and adults. Lesser-Carrillo et al. (2011) analyzed the wells for human use and consumption

in the Mezquital Valley, and they detected in 30 of 75 wells presence of total coliforms and fecal coliforms (FCs). In the same year, Chávez et al. (2011) sampled three areas of the Mezquital Valley aquifer and detected the presence of FC, bacteriophages, *G. lamblia*, and helminth eggs. Navarro et al. (2011) conducted a microbiological risk assessment to estimate *G. lamblia* and *A. lumbricoides* in Mezquital Valley wells and springs, and reporting a maximal prevalence of 29 % for *G. lamblia* with 220 interviewees, the results resembling a previously reported prevalence of 20 %, with 9088 individuals interviewed and stool samples analyzed (Cifuentes et al. 2000).

In terms of chemical water quality, Dalkmann et al. (2012) found an accumulation of pharmaceuticals and resistant genes in the Mezquital Valley. The authors found and quantified antibiotics such as ciprofloxacin (fluoroquinolone) and sulfamethoxazole (sulfonamide), and resistant genes such as *sul1*, *sul2*, *qnrS*, and *qnrB* in soils as a result of irrigation with untreated wastewater. Organochlorine pesticides, nitrates, triclosan, ibuprofen, diclofenac, carbamazepine, naproxen, and low amounts the endocrine disruptor bisphenol A have been detected; these have been found in groundwater and in wastewater, as well as in soil samples (Gibson et al. 2007; Downs et al. 1999; Siemens et al. 2008).

STUDY AREA

The study area is located in the Mezquital Valley in central Mexico, in Hidalgo State and approximately 100 km distance from Mexico City (Fig. 1). Sampling sites were selected within the study area to represent a water quality gradient in a very complex hydrologic system, and study area also includes sites that are considered sources of groundwater supply from southern Mexico City and sampling sites where domestic, industrial, and hospital discharges mix and contribute to wastewater irrigation canals.

METHODS

Sampling Site Selection

A sampling pathway from Mexico City to the Mezquital Valley was established for water sampling (Fig. 2). Ground- and wastewater samples were taken during two seasons: the rainy and the dry seasons at 19 sites, covering the 2011–2012 annual cycle. Eight sites correspond to two highly specialized hospitals in the southern area of Mexico City, in

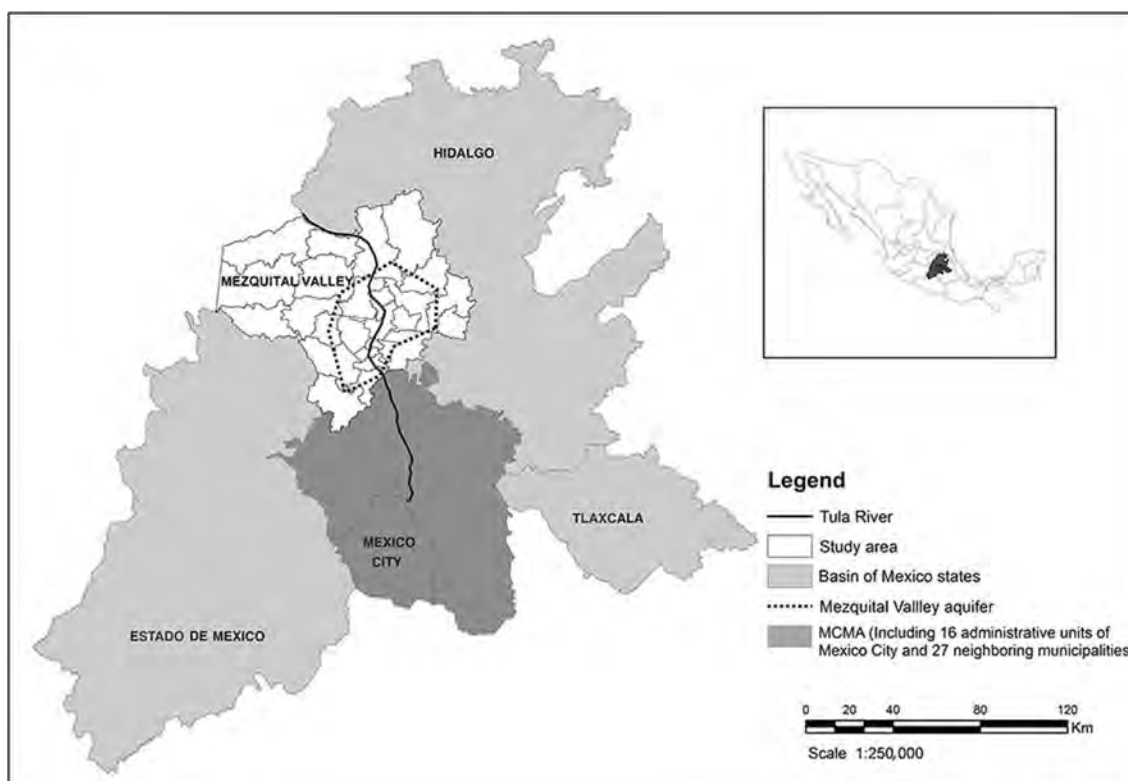


Figure 1. The Mezquital Valley study area (CONAGUA 2007).

which the groundwater on one floor of each hospital, in the intensive care unit, and the wastewater effluent was sampled. It is noteworthy that hospitals lack wastewater treatment plants. Therefore, 11 sites correspond to the Mezquital Valley, Hidalgo, four of these correlating with groundwater and the remaining seven associated with wastewater used for irrigation.

The sampling path allows local and regional assessment of microbiological water quality in the MCMA region, to demonstrate and take action on potential environmental and health implications that may arise from exposure. Protozoan pathogens, opportunistic bacteria, and fecal indicators were analyzed. This investigation comprises part of a larger project that sought to identify bacteria and antibiotic-resistant genes; thus, methods to unify the bacteria were identified by molecular methods. Additionally, we employed these samples to detect pathogens, indicator bacteria, and parasites, in order to be able to diagnose the water quality situation effectively.

Field Methods

Washing and sterilization of the materials was carried out according to American Public Health Association (APHA)

2005 stipulations. The volumes collected were as follows: 30 L for groundwater and 1 L for wastewater, and volumes sampled for molecular analysis of each site for bacteriological analysis were 1 L for groundwater and 500 mL for wastewater. All samples were collected and analyzed in triplicate. Time elapsed between sample taking in the field and time of preservation and analysis in the laboratory was less than 24 h.

Genome Quantification of *Pseudomonas aeruginosa* by Real-Time Polymerase Chain Reaction (q-PCR)

For molecular analyses, the water samples were filtered through 0.45 μm cellulose acetate membranes eluted previously with 6 mL of phosphate-buffered saline (PBS) solution. The samples were preserved under cooling of the solution at -70°C prior to analysis.

To quantify the number of genomes of *P. aeruginosa* present in the water samples, we employed the q-PCR technique. The reaction was performed in a final reaction volume of 25 μL . The primers were from Volkmann et al. (2007) and were specific for the detection of *P. aeruginosa*, by amplifying a region of the 23S ribosomal DNA (rDNA)

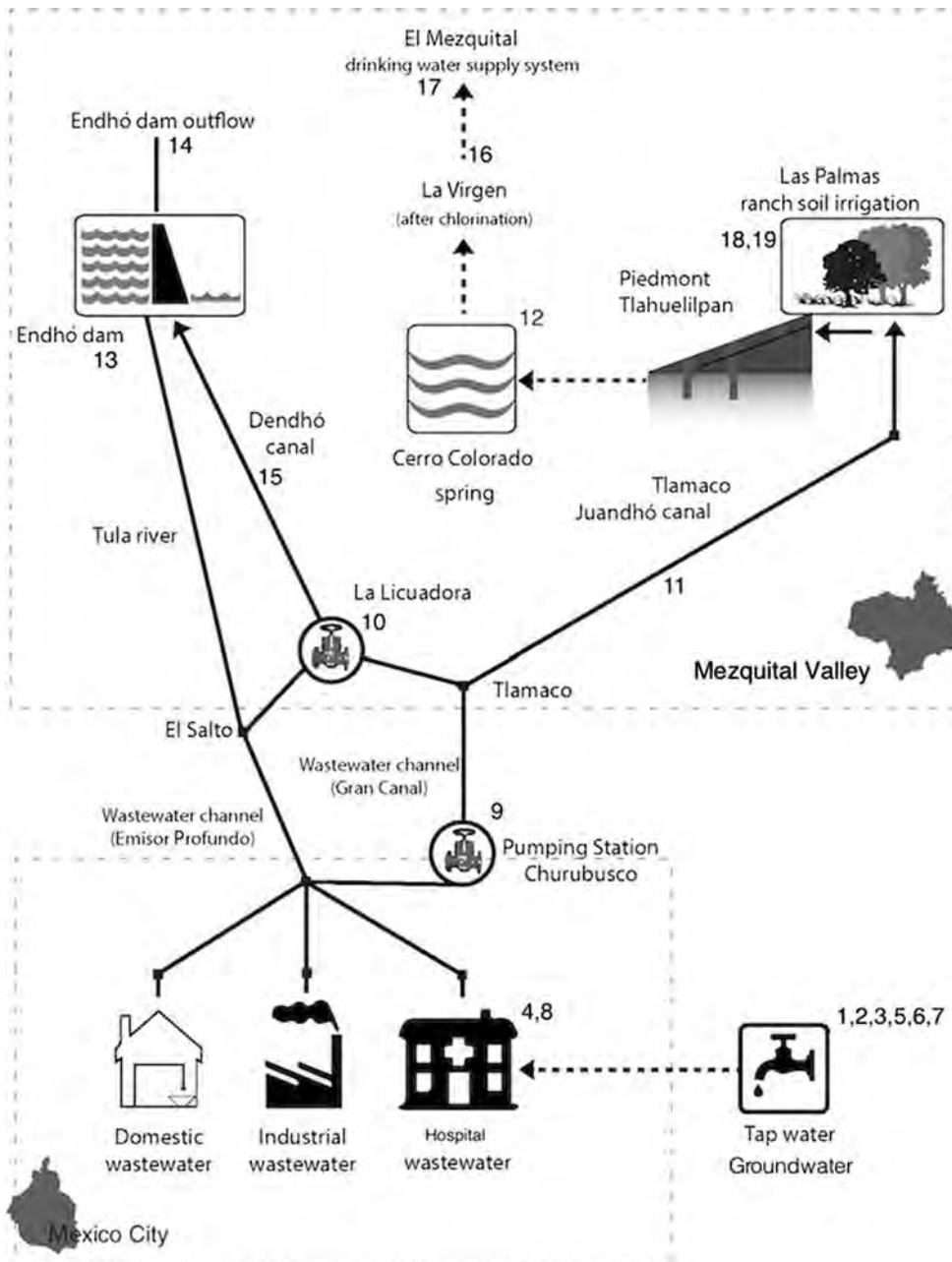


Figure 2. Sampling pathway from Mexico City to the Mezquital Valley, Hidalgo (numbers in sampling stations).

(size 94 bp) encoding for rDNA involved in the regulation of transcription and initiation. Primer sequences were tested in wastewater and the probes utilized are illustrated in Table 1.

Bacterial Counts

One liter of groundwater and 500 mL of wastewater were collected for bacteriological analysis from selected sites utilizing polypropylene sterile flasks. Samples taken in triplicate were transported and stored at 4°C according to APHA standard procedures (2005). All samples were ana-

Table 1. *Pseudomonas aeruginosa* Primers and Probe.

Primers and probe

Fw 5'-TCCAAGTTTAAGGTGGTAGGCTG

Rv 5'-ACCACTTCGTCATCTAAAAGACG

FAM 5'-AGGTAAATCCGGGGTTTAA

lyzed in triplicate and were reported in colony forming units (CFUs).

Two bacteriological variables, including FC (CFU/100 mL) and fecal enterococci (FE, CFU/100 mL), were

measured. The membrane filtration method was performed employing 0.45 μm cellulose acetate membranes, and the latter were placed on M-FC agar for FC and on KF *Streptococcus* agar for streptococci/enterococci. Incubation was performed with a WTB binder incubator at 35°C for 48 h for enterococci and at 44.5°C for 24 h for FC, according to APHA criteria (2005).

Protozoa Quantification

Ten liters of groundwater and 1 L of wastewater were collected for pathogenic protozoa and for *G. lamblia* and *Cryptosporidium parvum* detection. The 10 L samples were concentrated by the ultrafiltration (UF) technique developed by Hill (2005) as modified by Polaczyk et al. (2008). Fifteen milliliters of the concentrates obtained by UF was taken and centrifuged at 3000 rpm for 15 min. The pellet obtained was resuspended in 3 mL of sterile 1 % PBS and separated into three equal parts (1 mL each). Detection and quantification of *G. lamblia* and *C. parvum* oocysts were performed by the indirect immunofluorescence method in liquid phase according to Method 1623 [United States-Environmental Protection Agency (US-EPA) 2000] modified by Rangel-Martínez (2010) and Tapia-Palacios (2012). The spherical forms of *G. lamblia* cysts (measuring 8–12 μm) and *C. parvum* oval oocysts (measuring 4–6 μm) were observed and quantified, both with an Apple green color in an Axiostar Plus fluorescence microscope (Carl Zeiss, Göttingen, Germany), performing a total sweep of each plate with increases of $\times 20$ and $\times 40$.

Statistical Analysis

Statistical analysis included exploratory analysis to gain insight into the manner of the possible relationship between the response variable (count logarithm) and the external factors [water type (WT), season, and sampling location] (Figs. 6, 7, and 8). R software was utilized for all of the statistical analyses performed. Formal significance tests to compare the effect of external factors on response variables were conducted using linear models. Note that the models fitted are solely explanatory, and not predictive nor mechanistic.

Count data may be assumed to have a Poisson (λ) distribution. However, because the observed pathogen fell within a range of 10^3 – 10^9 , the expected value should lie somewhere within that range; their probability distribution can be approximated to an $N(\lambda, \lambda)$ distribution (Draper

and Smith 1998). Further, due to the wide range of the count data, we utilized a logarithmic transformation aimed at stabilizing the variation of the original pathogen count data. Thus, the linear model fitted to the log-transformed data was of the following type

$$\log(\text{count}) = X\beta + \varepsilon, \quad (1)$$

where X is a design matrix whose entries are the values of the covariates, β are the regression coefficients, and ε is the random error with an $N(0, \lambda)$ distribution. Note that when the columns of X are factors, model (1) yields an ANOVA analysis (Kutner et al. 2005).

RESULTS AND DISCUSSION

Wastewater generated in the MCMA presents a steady flow. For almost a century, wastewater and stormwater as outfall of the urban area has been sent to the Mezquital Valley. The estimated flow generated in the metropolitan area reaches approximately 32 m^3/s of wastewater and 20 m^3/s of rainwater that flow toward the Mezquital Valley, during the rainy season (Escolero et al. 2009). On its way to the Mezquital Valley, no marked dilution effect was observed. It is also important to point out that wastewater and stormwater flow together in the same sewage system, and they do not receive any previous treatment.

It is noteworthy that the drainage and canal systems in the Mezquital Valley are arbitrarily controlled depending on farmer's requests. Therefore, this does not allow an accurate record of what exactly happens in the system during the sampling period covered by this study, masking any chance to detect a seasonal effect.

WTs and their use for each of the sampling sites are summarized in Table 2 and Fig. 2. In Mexico City, nine samples were taken, mainly corresponding to groundwater employed as the water supply source. In the Mezquital Valley, wastewater employed for irrigation, water from irrigation canals, springs, piezometers, and groundwater for human supply were sampled. It is also noteworthy that no gradient was observed in water quality along the sampling path (Fig. 2).

Models of type were fitted as follows:

$$\log(y) = \beta_0 + \beta_1 \text{Season} + \beta_2 \text{Site} + \beta_3 \text{WT} + \beta_4 \text{Season} * \text{Site} + \beta_5 \text{Season} * \text{WT} + \beta_6 \text{Site} * \text{WT} + \varepsilon,$$

where WT denotes water type. The model includes first-order interactions between factors Site and WT to test

Table 2. Type and Use of Water in Locations Sampled for the Bacteriological Analysis [1 March (Dry), 2 November (Dry) and 3 June (Rainy)].

Sampling sites	Water types	Water use	Seasons
Mexico City			
1	Groundwater	Water supply	1
2	Groundwater	Tap water	2
3	Groundwater	Tap water	3
4	Wastewater	Wastewater	
5	Groundwater	Water supply	
6	Groundwater	Tap water	
7	Groundwater	Tap water	
8	Wastewater	Wastewater	
9	Wastewater	Wastewater	
Mezquital Valley			
10	Wastewater	Wastewater	
11	Wastewater	Irrigation channel	
12	Groundwater	Spring water supply	
13	Wastewater	Influent of a dam for irrigation	
14	Wastewater	Effluent of a dam for irrigation	
15	Wastewater	Irrigation channel	
16	Groundwater	Water supply	
17	Groundwater	Water supply	
18	Groundwater	Water supply	
19	Wastewater	Observation well in a plot irrigated with wastewater	

whether the pathogen concentration at different sites depended on the WT. Response variable y was $\log(\text{FC})$, $\log(\text{FE})$, $\log(P. \text{aeruginosa})$, $\log(G. \text{lambliia})$, or $\log(C. \text{parvum})$, where the argument of the model's logarithm function refers to the concentration of one of each of the pathogens considered in the study. Logarithmic transformation was utilized to compensate for differences in variance depending on the mean value (heteroscedasticity) expected in count data. However, the conclusions based on the maximal likelihood estimator obtained do not change because of the invariance property of such estimators under 1:1 transformation (Hogg and Craig 1995; Mood et al. 1987). We used treatment contrasts; thus, the first class of each factor was considered as base level. As discussed later, not all of the terms in the models were statistically significant ($P = 0.05$). For FC, the results demonstrate the existence of statistically significant effects ($P < 0.05$) for factors "season" and "water type" for bacterial and pathogen counts. Formal statistical tests for interactions among all of the factors considered in the study could not be performed because of the lack of sufficient observations, in the majority of cases due to

insufficient degrees of freedom to include such terms in the models.

Some of the sampling sites are directly interconnected because they are "neighbors" in the direction of the water flow along the wastewater conducting channels. However, the size of the dataset, and in particular the number of sampling sites directly connected along the water path, is too small to provide a reliable estimate of the one-dimensional variogram or of the autocorrelation function to improve the power of the significance test obtained from the linear model fitters. Because we had no evidence to the contrary, we assumed independence among the counts.

Bacterial counts were higher than any other microorganism in all of the sampling locations, where WT was classified as "wastewater," regardless of the position of the sampling location along the water path (Figs. 3, 4, and 5). There were no significant differences in pathogen concentrations among the sites classified as "wastewater," suggesting that the Mexico City water sewage system may presently be at the highest concentration of bacteria, protozoa, and viruses that have been measured. However, there are concerns about the effects that this can exert on the

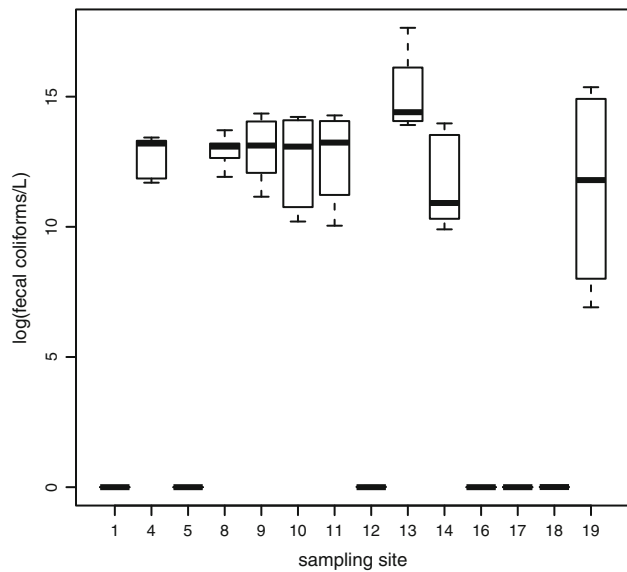


Figure 3. Fecal coliform (FC) counts at different sampling sites in all water types (WTs).

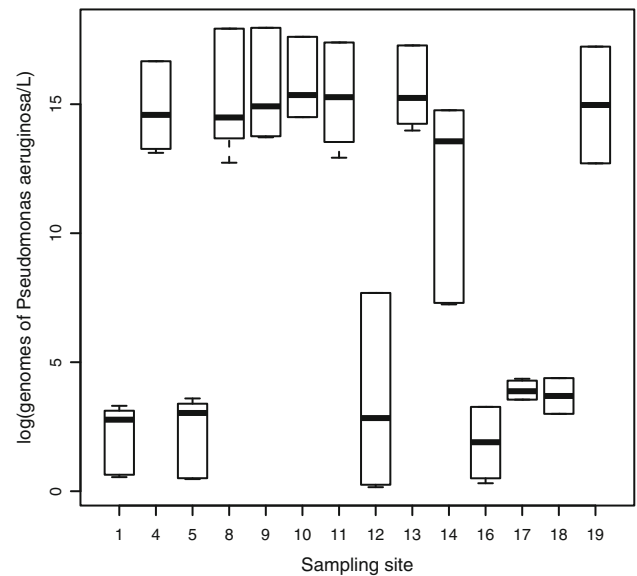


Figure 5. Counts of the *Pseudomonas aeruginosa* genome during all sampling periods and at all sites.

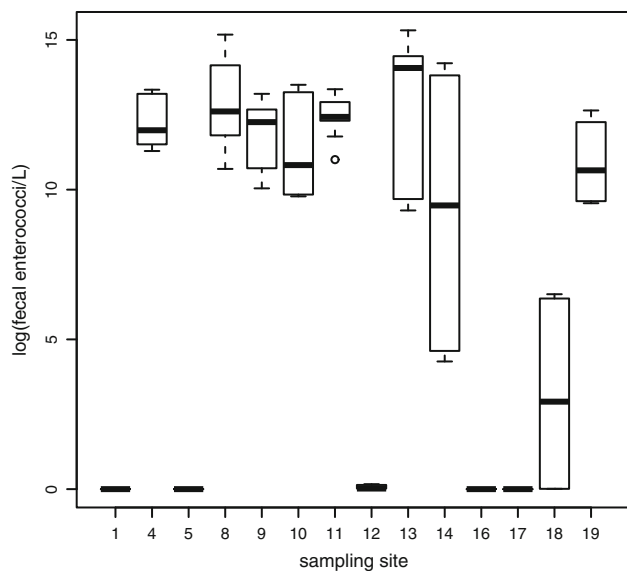


Figure 4. Fecal enterococci (FE) counts at different sampling sites in all water types (WTs).

environmental accumulation of other substances, in addition to irrigation, such as FC, ions, surfactants, nitrates, and heavy metals (Siebe and Cifuentes 1995). Wastewater inlets along the wastewater path throughout Mexico City do not appear to affect the concentration of the pathogens considered in our analyses.

The estimated coefficients in Table 3 demonstrate that, compared with tap water, the increase in bacterial indicator concentration is increased by > 12 logarithmic units at sites

where WT was classified as “wastewater.” This finding is also supported by coefficient estimates associated with sites where water was classified as “wastewater,” which are the sites depicted in Table 2. FC counts at sampled sites with WT corresponding to the category “water supply” exhibited lowest counts for the three pathogens and demonstrated no significant differences with pathogen counts at water supply Site 1. Sites 12 (spring water supply), 15 (irrigation canal), and 19 (observation well) exhibited significant differences from the base category. A similar pattern was found for the logarithm of FE and *P. aeruginosa* (Figs. 4, 5), although mean counts for the latter pathogen were well above 3 logarithm units of genome/mL.

Regarding the sampling sites’ geographic location, FC counts in wastewater from Mexico City and the Mezquital Valley were similar, and no significant difference was found ($P > 0.05$); such counts exceeded 10^6 CFU/100 mL. FC were detected at Site 12, which corresponds to a spring that supplies groundwater for human uses. Site 19 corresponds to a piezometer installed on a plot irrigated with wastewater, with a depth of 3 m; it can be observed that these bacteria are present on the subsurface of the aquifer.

During the three sampling seasons, the amounts of FE were consistent. At Site 12, a spring, which comprises groundwater used for human supply, levels of these bacteria were detected between samples 4 and 8 as increasing by one order of magnitude. *P. aeruginosa* genomes were detected at all of the sampling sites, including those with

Table 3. Estimates for Significant Coefficients for Each of the Models Fitted.

Model terms	Log(fecal coliforms)		Log(fecal enterococci)		Log(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	
	Coefficient estimates	<i>P</i> values	Coefficient estimates	<i>P</i> values	Coefficient estimates	<i>P</i> values
Season 2			2.286	0.012		
Season 3	-1.892	0.0247	1.843	0.039	-1.563	0.021
Site 4	16.120	<0.001	13.242	<0.001	16.940	<0.001
Site 8	16.730	<0.001	13.710	<0.001	16.510	<0.001
Site 9	13.400	<0.001	13.947	<0.001	15.020	<0.001
Site 10	15.290	<0.001	14.224	<0.001	17.150	<0.001
Site 11	15.700	<0.001	13.803	<0.001	16.580	<0.001
Site 13	15.670	<0.001	13.958	<0.001	17.460	<0.001
Site 14	12.710	<0.001	10.348	<0.001	15.300	<0.001
Site 15	13.670	<0.001	14.971	<0.001		
Site 18	5.283	0.0195				
Site 19	15.020	<0.001	12.684	<0.001	16.210	<0.001
Water type 2	15.010	<0.001	16.210	0.0347	12.6844	<0.001

“groundwater” WT in Mexico City, as well as in tap water. Compared with groundwater, the presence of this opportunistic pathogen increases by about 10^{12} on the logarithmic scale for sites classified as “wastewater” (Fig. 5). Such values surpass the reported infective dose for this pathogen, although it is necessary to understand that what we detected were genomes, and it is not clear how many of such opportunistic bacteria continued to be viable. *Pseudomonas* has been proposed as an indicator of health risks due to its high resistance to disinfection treatments and regrowth in water distribution systems, as well as to its high incidence as a cause of gastroenteritis in children, meningitis, respiratory infections, dermatitis, ear infections, and nosocomial bacteremia (Toranzos 2002).

Contamination of recreational waters and drinking water has been associated with outbreaks of *Pseudomonas* (Mena and Gerba 2009). Site 12, although located in the Mezquital Valley, exhibited low values for all of the pathogens because it is spring water that has undergone a natural filtration process. *P. aeruginosa* has been considered as an example of a process indicator of water distribution systems (Ashbolt et al. 2001). In many Latin American countries, including Mexico, chlorine is employed as the main process for water disinfection. Chlorine aids in decreasing bacteria counts, but other microorganisms can regrow in distribution systems; thus, these can then pose a potential source of exposure gastrointestinal disease. In considering the huge amount of organic matter in wastewater, it would appear possible that, with inadequate treatment, bacteria such as *P. aeruginosa* could regrow in

water for human consumption and come to pose a public health threat.

The interaction plot for FC demonstrates that the concentration of this opportunistic bacterium by site underwent slight interaction with season, particularly at sites where water quality was low. Pathogen concentration at these sites (Sites 8–11, 13, and 14) was higher during the months of November and June (Fig. 6). This could be related with a decrease in the inactivation rate associated with a warmer water temperature (Sinton et al. 1999). This

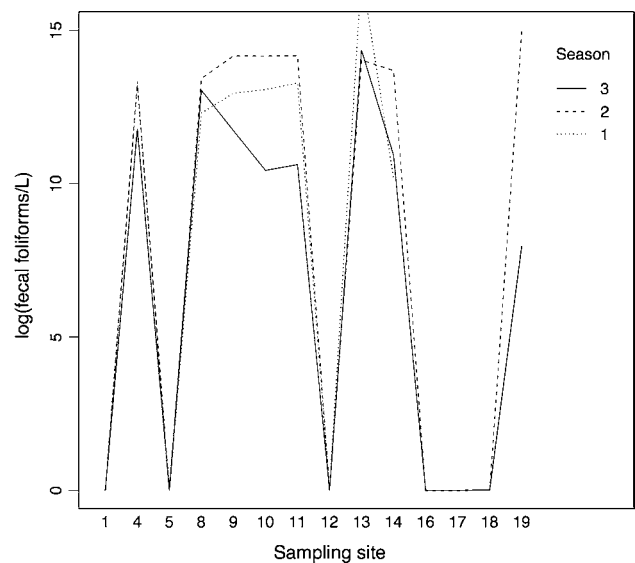


Figure 6. Interaction plot between sampling site and season for the logarithm of the mean concentration of fecal coliforms (FCs) in water samples at all of the sampling sites.

indicates that, contingent upon the sampling season, FC concentration is dependent on the sampling site (Montgomery 2012). Similar behavior can be observed for FE (Fig. 7), where there is interaction between sampling site and season due to a season-dependent concentration at sampling locations 8–11, 13, and 14. For *P. aeruginosa* (Fig. 8), there was no interaction, inferring that the concentration of this pathogen was not season dependent at any sampling site.

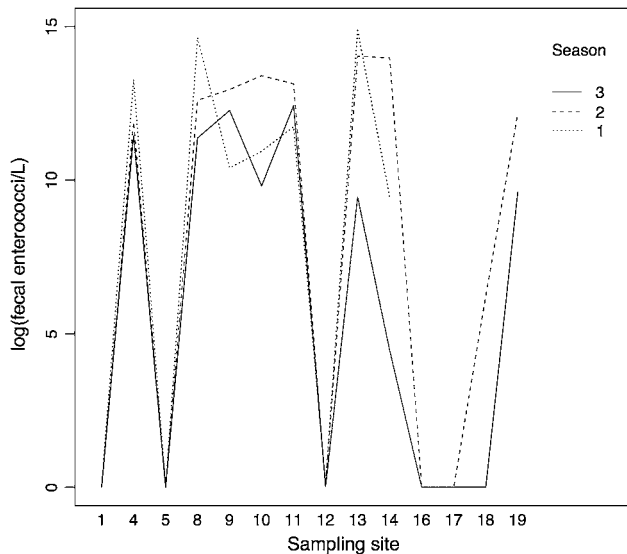


Figure 7. Interaction plot between sampling site and season for the logarithm of the mean concentration of fecal enterococci (FE) in water samples at all sampling sites.

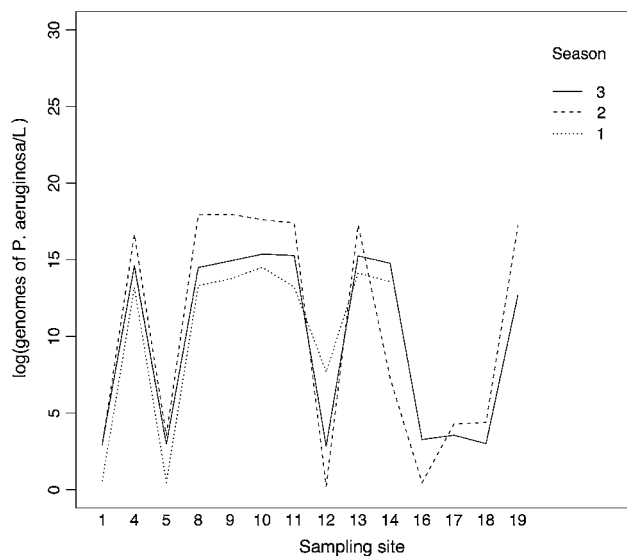


Figure 8. Interaction plot between sampling site and season for the logarithm of the mean concentration of *Pseudomonas aeruginosa* in water samples at all sampling sites.

Giardia lamblia and *Cryptosporidium parvum* Interaction

Counts of the protozoan *G. lamblia* demonstrated only differences in WT, while *C. parvum* oocysts exhibited significant differences between season and WT (Table 4).

The highest concentration of *C. parvum* oocysts was found at Site 11. In the case of *G. lamblia*, the highest concentration was observed at Site 10 (Figs. 9, 10). Both sites are characterized by major irrigation canals and wastewater concentration from the MCMA, which would explain the high counts of these pathogens (LeChevallier et al. 1991). Also, the presence of cattle and other mammals near these sites may influence the increase in the concentration of both species in any season (Bodley-Tickell et al. 2002; Castro-Hermida et al. 2009).

Sites 4, 8–10, and 14 demonstrated high variability in the concentration of *C. parvum* oocysts (Fig. 9). For *G. lamblia*, high outliers were located at Sites 13 and 14 (Fig. 10). Apparently, this variability can be explained by the detection method and quantification of these parasites (Olivas et al. 2013). Cox et al. (2005), Solarte et al. (2006), and Wilkes et al. (2009) mention that some biological characteristics of each species, such as oocyst size and shape, can be difficult to detect, especially in *C. parvum*.

Figures 11 and 12 depict interaction among oocyst concentration at each site and season. In the case of *C. parvum*, these two factors interact because, for Sites 17 and 18, Site 17 has highest concentrations of *C. parvum* during season 3, while Site 18 exhibited highest concentration of *C. parvum* in season 1. As observed, *G. lamblia* concentrations at Sites 8–10, and 13 interact. This can be due to high precipitation events that were marked in MCMA (SMN 2012) by scouring material in the area and the effect of evapotranspiration during the warm-dry season (Castro-Hermida et al. 2009).

On analyzing the interaction between WT and season, there are significant differences in both species (Figs. 13, 14). For WT 1 (groundwater) in the three seasons, oocyst concentrations were similar; however, for WT 2 (wastewater), the counts are inverted and the increase is greater in the warm-dry season. This suggests that seasonal effects are solely perceptible at streams flowing at surface level (Jiménez et al. 2005).

Giardia lamblia and *C. parvum* are the pathogenic protozoa most often found in drinking water, in water for recreational use, and in water for the irrigation of fresh

Table 4. Effect Factors on the Concentration of Different Microorganisms (Bacteria and Protozoa).

Microorganisms	Effects	Estimates	Standard errors	P values
Fecal coliforms	Water type	13.50	1.61	< 1E-13
Fecal enterococci	Water type	12.89	1.67	< 6.4E-12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Water type	10.63	1.90	< 1.8E-7
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Water type	8.71	1.64	< 5.77E-7
	Season	3.25	1.20	< 0.008
	Water type * Season	-2.83	0.72	< 1.47E-4
<i>Giardia lamblia</i>	Water type	4.27	1.65	< 0.01

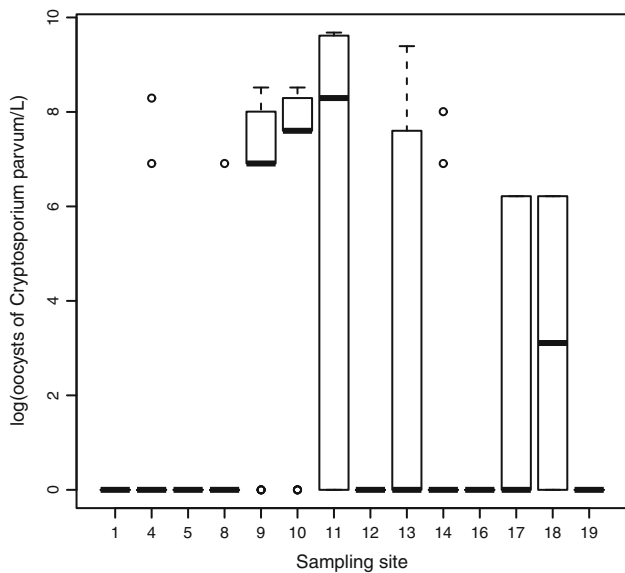


Figure 9. *Cryptosporidium parvum* oocyst counts in different water types (WTs) during sampling periods.

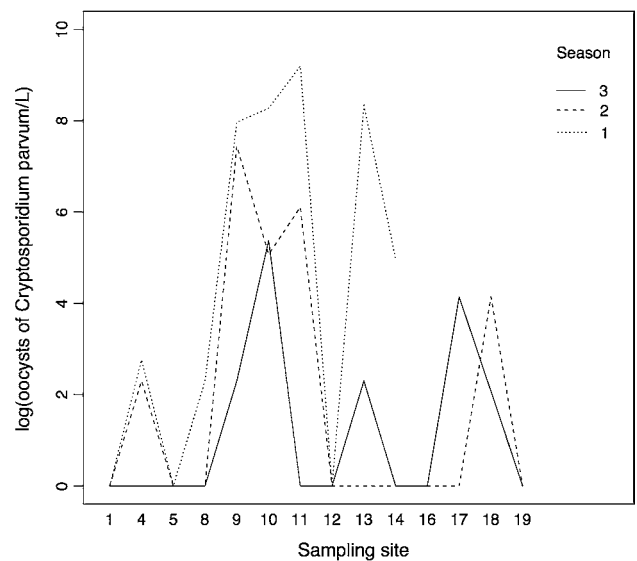


Figure 11. Interaction plot between sampling site and season for the logarithm of mean concentration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water samples in the study area.

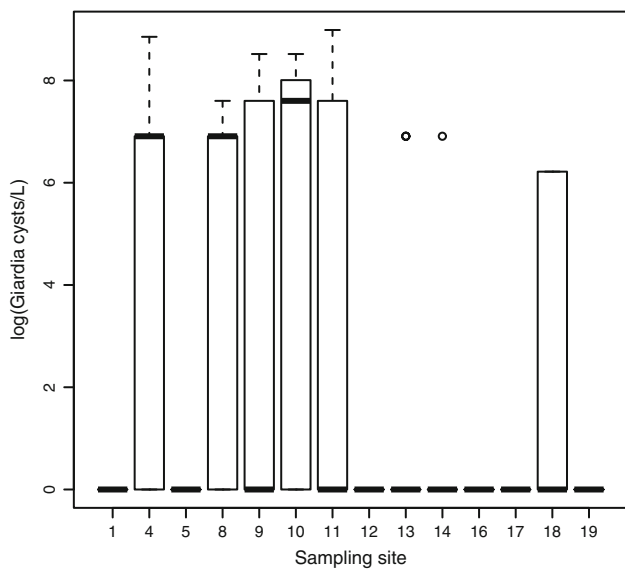


Figure 10. *Giardia lamblia* cyst counts in different water types (WTs) during sampling periods.

vegetables for direct consumption (Solarte et al. 2006). Both are characterized by their high capacity for survival in the environment and their low infectious dose (ID; Rendtorff 1979; DuPont et al. 1995; Betancourt and Querales 2008; Espinosa-García 2009). The parasite loads detected in this study exceeded the mean ID (ID₅₀) reported for *G. lamblia* (25–100 cysts) and *C. parvum* (30–132 oocysts), which may result in a potential risk for persons exposed to them, increasing the likelihood of infection (Smith et al. 2007; Putignani and Menichella 2010). Vulnerability to this transmission is associated with exposure level, age of the individual, health conditions (Cedillo-Rivera 1989; US-EPA 2000), socioeconomic status, and even the individual's own immune status (Gallego 2007; Rojas 2011).

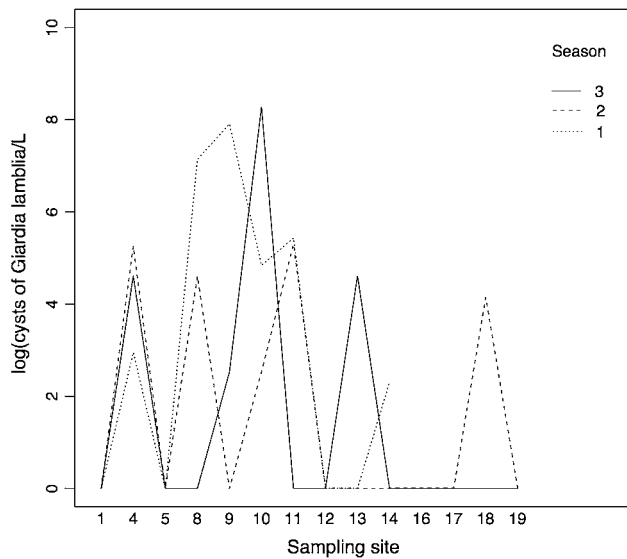


Figure 12. Interaction plot between sampling site and season for the logarithm of mean concentration of *Giardia lamblia* cysts in water samples in the study area.

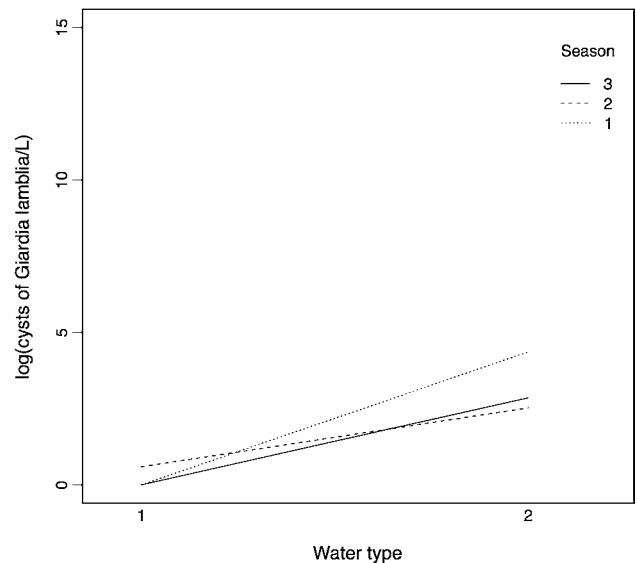


Figure 14. Interaction plot between sampling site and water type (WT) for the logarithm of mean concentration of *Giardia lamblia* cysts in water samples in the study area.

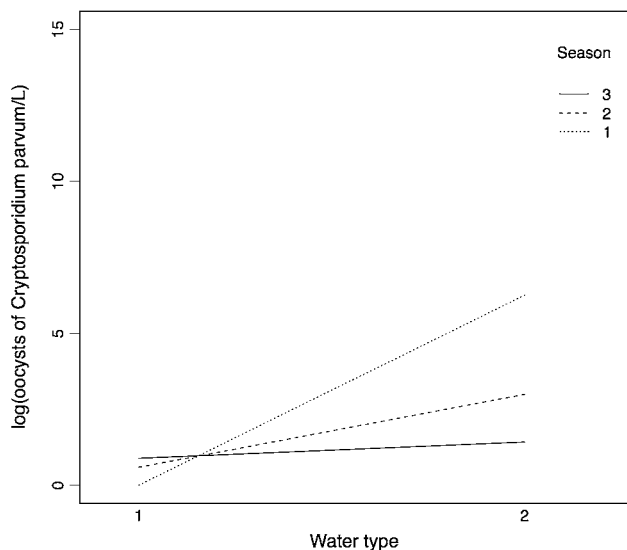


Figure 13. Interaction plot between sampling site and water type (WT) for the logarithm of mean concentration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water samples in the study area.

CONCLUSIONS

The presence of bacteria and protozoa in all WT was constant along time, mainly because the input rate of microbiological contaminants is not time-dependent, in that human population and its need for water were constant within the time scope of our study. However, in contrast with what was observed in bacteria, protozoan

parasite concentrations showed to be dependent on variations of seasonal effects.

The presence of indicator bacteria at all sampling sites indicate the need for an updated microbiological risk assessment study for the population exposed directly or indirectly along the wastewater pathway, considering a novel, before-and-after AWWTP operation. This work permits us to distinguish where efforts need to be focused to improve public health policies and monitoring, in that there are exposure types that are sensitive to different kinds of microorganisms. It is noteworthy that the Mexican standard for treated wastewater that is reused only considers FC and helminth eggs as microbiological contaminants.

Further work and investigation is required in order to acquire high-quality information on the concentration of other pathogens in MCMA wastewater as support information for planning new wastewater treatment plants with a long-term vision and sustainable management in a megacity such as Mexico City, as well as wastewater treatment in agreement with the purpose of its final reuse, a common topic for other developing cities.

It is important to mention the negative impacts, both social and environmental, generated by megacities on peri-urban areas, and the lack of equity and justice for populations that receives the wastewater, altering their health and environmental conditions, also merits special attention in terms of these individuals' rights. In the case of the

Mezquital Valley, which for over 100 years has received wastewater from the MCMA, and the latter has been the recipient of the vegetables grown in the Valle del Mezquital, with environmental and health repercussions in a bidirectional manner.

Sensitizing citizens is essential to put an end to this environmental and public health issue, in order to devise a plan for the management and treatment of water that includes all stakeholders.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) for the Scholarship assigned to María Alejandra Fonseca-Salazar; to Dr. Christina D. Siebe-Grabach and Dr. Jan Siemens, for inviting us to collaborate in the Project entitled “Scale dependency of formation of resistances and their transfer to human pathogens during wastewater reuse,” which was funded by the DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) and CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) México I0110/193/10; are especially grateful to all of the researchers and students who participated in this Project, Dr. Melanie Broszat, Dr. Elisabeth Grohmann, from Department of Infectious Diseases, University Hospital Freiburg, Freiburg, Germany, for the bacteria concentration method; to Dr. Yolanda López-Vidal, from the Laboratorio of the Programa de Inmunología Molecular Microbiana, Facultad de Medicina, UNAM, for providing *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; to the Faculty and students of the Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, especially Gustavo Pérez-Ortíz, Rosa Solano-Ortiz, Jannice Alvarado, Víctor Jesús García-Luna, Marco Antonio Tapia; and to Mirsha Quito for the elaboration of Fig. 2.

REFERENCES

American Public Health Association (APHA), American Water Works Association, Water Environmental Federation (2005) *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, Washington, DC: United Book Press

Asano T, Burton FL, Leverenz H, Tsuchihashi R, Tchobanoglous G (2007) *Water Reuse: Issues, Technologies and Applications*, New York: McGraw-Hill

Ashbolt NJ, Grabow OK, Snozzi M (2001) Indicators of microbial water quality. In: *Water Quality: Guidelines, Standards and Health*, Fewtrell L, Bartram J (editors), London: IWA Publishing, pp 259–315

Betancourt W, Querales L (2008) Parásitos protozoarios entéricos en ambientes acuáticos: métodos de concentración y detección. *Interciencia* 33:418–423

Bodley-Tickell AT, Kitchen SE, Sturdee AP (2002) Occurrence of *Cryptosporidium* in agricultural surface waters during an annual farming cycle in lowland UK. *Water Research* 36:1880–1886

Burns E (2009) Tratar y reusar las aguas residuales. México: UAM-Centro Sustentabilidad Incalli Ixcahuicopa (CENTLI) (Editores), pp 37–49

Castro-Hermida JA, García-Preseido I, Almeida A, González-Warleta M, Correia JM, Mezo M (2009) Detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in surface water: a health risk for humans and animals. *Water Research* 43:4133–4142

Cedillo-Rivera R (1989) Es la giardiasis un problema real? *Boletín Mensual de Epidemiología* 4:1–6

Chávez A, Maya C, Gibson R, Jiménez B (2011) The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution* 159:1354–1362

Cifuentes E, Blumenthal U, Ruiz-Palacios G, Bennett S, Peasey A (1994) Escenario epidemiológico del uso agrícola del agua residual: El Valle del Mezquital, México. *Salud Pública de México* 36:5–9

Cifuentes E, Gómez M, Blumenthal U, Téllez-Rojo MM, Romieu I, Ruiz-Palacios G, Ruiz-Velazco S (2000) Risk factors for *Giardia intestinalis* infection in agricultural villages practicing wastewater irrigation in Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 62:388–392

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA, 2007) *Equilibrio Hidrológico en la Cuenca del Valle de México: XXIV Congreso Nacional de Ingeniería Civil*. Available at: http://agua.org.mx/h2o/index.php?option=com_content&view=article&id=21162:equilibrio-hidrológico-en-la-cuenca-del-valle-de-méxico&catid=1220:cuenca-del-valle-deméxico&Itemid=110 (accessed May 28, 2014)

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA, 2008) Documentos de Licitación para “La Prestación de Servicios de Tratamiento de Aguas Residuales del Valle de México por 25 Años, que incluye la elaboración del proyecto ejecutivo, construcción, equipamiento electromecánico, pruebas, operación, conservación y mantenimiento de la planta de tratamiento de aguas residuales denominada PTAR Atotonilco”

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA, 2011) *Agenda del agua 2030*. Available at: (http://agendadelagua2030.conagua.gob.mx/Doc_Foroagendadelagua2030/Respuesta/ZMVMCUENCASEQUILIBRIO.pdf) (accessed October 20, 2014)

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA, 2013) *Estadísticas del Agua en México*. Available at: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/SGP-2-14Web.pdf> (accessed December 13, 2014)

Contreras-Montiel JE (2011) Implicaciones territoriales de la producción industrial en la microrregión Tula-Tepeji del Río. Tesis (PhD), Facultad de Arquitectura, Universidad Nacional Autónoma de México, México

Cox SE, William F, Doremus L, Huffman RL, Defawe RM (2005) *Ground Water/Surface Water Interactions and Quality of Discharging Ground Water in Streams of the Lower Nooksack River Basin, Whatcom County, Washington*, Washington, DC: USGS report 2005-5255

Dalkmann P, Broszat M, Siebe C, Willaschek E, Sakinc T, Huebner J, Amelung W, Grohmann E, Siemens J (2012) Accumulation of pharmaceuticals, *Enterococcus*, and resistance

- genes in soils irrigated with wastewater for zero to 100 years in Central Mexico. *PLoS One* 7:e45397
- Domínguez R (2001) El sistema principal de drenaje del área Metropolitana del Valle de México. Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México. Series del Instituto de Ingeniería 22:33
- Downs TJ, Cifuentes-García E, Suffet IM (1999) Risk screening for exposure to groundwater pollution in a wastewater irrigation district of the Mexico City Region. *Environmental Health Perspectives* 107:553–561
- Draper NR, Smith H (1998) *Applied regression analysis*, New York: Wiley
- DuPont HL, Chappell C, Sterling C, Okhuysen P, Rose JB, Jakubowski W (1995) The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *The New England Journal of Medicine* 332:855–859
- Escolero OA, Martínez S, Kralish S, Perevichikova M (2009) Vulnerabilidad de las fuentes de abastecimiento de agua de la Ciudad de México en el contexto de cambio climático. Informe Final. Available at: http://www.cvcccm-atmosfera.unam.mx/sis_admin/archivos/agua_escolero__inffinal_org.pdf (accessed May 9, 2014)
- Espinosa-García AC, Arias CF, Sánchez-Colón S, Mazari-Hiriart M (2009) Comparative study of enteric viruses, coliphages and indicator bacteria for evaluating water quality in a tropical high altitude system. *Environmental Health* 8:1–34
- Fondo Nacional de Fomento al Turismo (FONATUR). Secretaria de Turismo del Gobierno del Estado de Hidalgo (2007) *Programa Estratégico para el Aprovechamiento Turístico de los Balnearios en el Estado de Hidalgo: Resumen Ejecutivo*. Available at: http://intranet.ehidalgo.gob.mx/NormatecaE/Archivos/Programa_Balnearios07.pdf (accessed January 12, 2014)
- Gállego J (2007) *Manual de Parasitología: Morfología y Biología de los Parásitos de Interés Sanitario*, Barcelona: Universidad de Barcelona, España
- Garza-Almanza V (2000) Reúso Agrícola de las Aguas Residuales de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. *Revista Salud Pública y Nutrición*. Available at: <http://www.Bvsde.paho.org/bvsair/e/repindex/rep184/vleh/fulltext/acrobat/garza.pdf> (accessed May 27, 2014)
- Gibson R, Becerril-Bravo E, Silva-Castro V, Jiménez B (2007) Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography and mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1169:31–39
- Hermanowicz SW (2008) Sustainability in water resources management—changes in meaning and perception. *Sustainability Science* 3:181–188
- Hill VR, Polaczyk AL, Hahn D, Narayanan J, Cromeans TL, et al. (2005) Development of a rapid method for simultaneous recovery in diverse microbes in drinking water by ultrafiltration with sodium polyphosphate and surfactants. *Applied and Environmental Microbiology* 71(11):6878–6884
- Hogg RV, Craig AT (1995) *Introduction to mathematical statistics*, New York: Prentice Hall
- Ikehata K (2013) Hazardous agents in wastewater: public health impacts and treatment options for safe disposal and reuse. In: *Wastewater Reuse and Management*, Sharma SK, Sanghi R (editors), New York: Springer, pp 165–191
- International Water Management Institute (IWMI, 2010) *Wastewater Use in Agriculture: Not Only an Issue Where Water is Scarce!* Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute (DOI: [10.5337/2010.217](https://doi.org/10.5337/2010.217) (online 14 June 2013))
- Jiménez B (2003) El agua en el Valle de México. *Revista Páramo del Campo y de la Ciudad* 1:26–33
- Jiménez B, Chávez A (2004) Quality assessment a potential use of an aquifer recharged with wastewater: “El Mezquital case”. *Water Science and Technology* 50:269–276
- Jiménez B, Siebe C, Cifuentes E (2005) El reúso intencional y no intencional del agua en el Valle de Tula. In: *El Agua en México Vista Desde la Academia*, Jiménez B, Marín L (Editores), México: Academia Mexicana de Ciencias, México pp 33–56
- Jordan R, Rehner J, Samariago J (editors, 2010) *Regional Panorama Latin America. Megacities and Sustainability Project Document*, Santiago de Chile: United Nations (UN). Available at: <http://www.cepal.org/en/publications/3856-regional-panorama-latin-america-megacities-and-sustainability> (accessed June 15, 2015)
- Kates RW, Clark WC, Corell R, Hall JM, Jaeger CC, et al. (2001) Sustainability science. *Science* 292(5517):641–642
- Kutner MH, Neter J, Nachsheim C, Wasserman W (2005) *Applied Linear Regression Models, 5th ed.*, New York: McGraw-Hill
- LeChevallier MW, Norton WD, Lee RG (1991) Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in surface water supplies. *Applied and Environmental Microbiology* 57:2610–2616
- Leclerc H (2002) Relationships between common water bacteria and pathogens in drinking water. In: *Heterotrophic Plate Counts and Drinking-Water Safety*, Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C, Glasmacher A (editors), London: WHO/IWA Publishing, pp 80–118
- Lesser-Carrillo LE, Lesser-Illades JM, Arellano-Islas S, González-Posadas D (2011) Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del Valle del Mezquital, México central. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 28:323–336
- Mara D, Cairncross S (1989) *Guidelines for the Safe Use of Wastewater and Excreta in Agriculture and Aquaculture: Measures for Public Health Protection*, Geneva, Switzerland: World Health Organization
- Mazari-Hiriart M, de la Torre L, Mazari-Menzer M, Ezcurra E (2001) Ciudad de México: Dependiente de sus recursos hídricos. Ciudades. *Revista Trimestral de la Red de Planeación Urbana* 51:42–51
- Mckenzie C (2005) *Wastewater Reuse Conserves Water and Protects Waterways*, The National Environmental Services Center (NESC). Available at: www.nesc.wvu.edu/nsfc_manufacturers.html (accessed January 18, 2014)
- Mena KD, Gerba CP (2009) Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 201:71–115
- Montgomery DC (2012) *Design and Analysis of Experiments*, Hoboken, NJ: Wiley
- Mood AM, Graybill FA, Boes DC (1987) *Introduction to the theory of statistics*, México City: McGraw Hill
- Navarro I, Chávez A, Jiménez B (2011) Risk assessment of the unplanned reuse of an aquifer recharged with wastewater as a source of drinking water. In: *8th IWA International Conference in Water Reclamation and Reuse*, Barcelona, Spain: Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ingeniería
- Olivas E, Flores JP, Di Giovanni G, Corral B, Osuna P (2013) Contaminación fecal en agua potable del Valle de Juárez. *Terra Latinoamericana* 31:135–143

- Polaczyk A, Narayanan J, Cromeans T, Hahn D, Roberts J, Am-burgey J, Hill V (2008) Ultrafiltration-based techniques for rapid and simultaneous concentration of multiple microbe classes from 100-L tap water samples. *Journal of Microbiological Methods* 73:92–99
- Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853TM)
- Putignani L, Menichella D (2010) Global distribution, public health and clinical impact of the protozoan pathogen *Cryptosporidium*. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* 2010:1–39 (DOI: [10.1155/2010/753512](https://doi.org/10.1155/2010/753512), online May 2010)
- Rangel-Martínez C (2010) Identificación de *Blastocystis hominis* en muestras de agua obtenidas de Ciudad Universitaria en la Ciudad de México. Tesis de Licenciatura, Universidad Simón Bolívar, México
- Rendtorff RC (1979) The experimental transmission of *Giardia lamblia* among volunteer subjects. In: *Waterborne Transmission of Giardiasis*, US Environmental Protection Agency, Jakubowski W, Hoff JC (editors), Report No. EPA-600/9-79-001, Cincinnati, OH: Environmental Research Center, pp 64–81
- Rojas C (2011) Criptosporidiosis: *Cryptosporidium* spp. In: *Parásitos Emergentes. Conceptos Básicos y de Diagnóstico*, Rojas C, Zapata J (editors), Cali: Universidad del Valle, pp 27–37
- Romero-Álvarez H (1997) Case study VII—the Mezquital Valley, Mexico. In: *Water Pollution Control. A Guide to the Use of Water Quality Management Principles*, Helmer R, Hespanhol I (editors), Bury St Edmunds, Suffolk, Great Britain: St Edmundsbury Press, pp V1–V7
- Sardin TR, Dowd SE, Herman DC, Maier RM (2009) Aquatic environments. In: *Environmental Microbiology*, Maier R, Pepper I, Gerba CP (editors), China: Elsevier Academic Press, pp 103–119
- Sharma VA (2009) Sustainability and water. In: *Sustainability 2009: The Next Horizon. Conference Proceedings. AIP Conference Proceedings*, Hronzsky I, Gordon LN (editors), Melbourne: American Institute of Physics, pp 128–137
- Siebe C, Cifuentes E (1995) Environmental impact of wastewater irrigation in central Mexico: an overview. *International Journal of Environmental Health Research* 5:161–173
- Siemens J, Huschek G, Siebe C, Kaupenjohann M (2008) Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico City-Mezquital Valley. *Water Research* 42:2124–2143
- Sinton LW, Finlay RK, Lynch PA (1999) Sunlight inactivation of fecal bacteriophages and bacteria in sewage-polluted seawater. *Applied and Environmental Microbiology* 65:3605–3613
- Sistema Meteorológico Nacional (SMN, 2012) *Resúmenes mensuales de temperatura y lluvia*. Available at: http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=12&Itemid=77 (accessed September 10, 2013)
- Smith HV, Caccio SM, Cook N, Nichols RA, Tait A (2007) *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Veterinary Parasitology* 149:29–40
- Solarte Y, Peña M, Madera C (2006) Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colombia Médica* 37:74–82
- Tapia-Palacios MA (2012) Detección de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en agua del río Cuitzmala, Jalisco. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias-Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México
- Toranzos GA (2002) *Pseudomonas*. In: *Encyclopedia of Environmental Microbiology*, Bitton G (editor), New York: Wiley, pp 2632–2639
- United Nations Department of Economic and Social Affairs (UNDESA, 2013) *International Decade for Action 'Water for life' 2005–2015: Water Quality*. Available at: <http://www.un.org/waterforlifedecade/quality.shtml> (accessed September 10, 2013)
- US-Environmental Protection Agency (EPA, 2000) *Giardia: Drinking Water Fact Sheet*. Available at: http://water.epa.gov/action/advisories/drinking/upload/2009_02_03_criteria_human_health_microbial_giardiafs.pdf (accessed October 20, 2013)
- Volkman H, Schwartz T, Kirchen S, Stofer C, Obst U (2007) Evaluation of inhibition and cross-reaction effects on real time PCR applied to the total DNA of wastewater samples for the quantification of the bacterial antibiotics resistance genes and taxon-specific targets. *Molecular and Cellular Probes* 21:125–139
- Wilkes G, Edge T, Gannon V, Jokinen C, Lyautey E, Medeiros D, Neumann N, Ruecker N, Topp E, Lapen DR (2009) Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenic bacteria, *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, and hydrological indices for surface waters within an agricultural landscape. *Water Research* 43:2209–2223
- World Health Organization (WHO) (2006) *WHO Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater*, Geneva: WHO
- World Health Organization (WHO, 2013) *Water Quality and Health Strategy 2013–2020*. Available at: http://www.zaragoza.es/ciudad/medioambiente/onu/en/detallePer_Onu?id=633 (accessed March 6, 2014)

C

A

P

Í

T

U

L

0

3

Pathogenic microorganisms
in a groundwater pathway
impacted by wastewater

Resumen del artículo

En este artículo se muestran los resultados obtenidos del muestreo de agua subterránea del Valle del Mezquital. Toma como base el artículo anterior. Se analizaron pozos de abastecimiento público en la localidad de Tlahuelilpan, Hidalgo, detectando la presencia de genomas virales de Adenovirus y protozoarios patógenos gastrointestinales en agua subterránea. Adicionalmente, para corroborar que existe una conexión entre el agua residual de los canales no revestidos (al menos en esta zona del Valle del Mezquital) y el agua subterránea se analizaron los isótopos estables Deuterio y ^{18}O dando como resultados que el agua detectada es una mezcla entre el agua subterránea y el agua residual. El estatus de este artículo es en revisión.

Environmental Monitoring and Assessment

Pathogenic microorganisms in a groundwater pathway impacted with wastewater

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	EMAS-D-16-01495
Full Title:	Pathogenic microorganisms in a groundwater pathway impacted with wastewater
Article Type:	Original Research
Keywords:	pathogens, unplanned aquifer recharge, sustainability, microbiological water quality.
Corresponding Author:	Marisa Mazari-Hiriart, D. Env. Universidad Nacional Autónoma de México México, Distrito Federal MEXICO
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidad Nacional Autónoma de México
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Marisa Mazari-Hiriart, D. Env.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Marisa Mazari-Hiriart, D. Env. Alejandra Fonseca-Salazar, B.Sc. Carlos Díaz-Ávalos, Ph.D Hermes Rochin-García
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	Groundwater requires quantitative understanding of its microbiological water quality for short- and long-term management of this water that is mainly used for consumption. Monitoring viruses, protozoa, and bacteria on different spatial and temporal scales can technically support planning strategies for environmental and health protection from scenarios caused by common anthropogenic impacts. Viruses, protozoa, and bacteria were detected at different depths in the Mezquital Valley aquifer in order to analyze the influence of wastewater in the groundwater in a pilot site of this Valley. Also, stable isotopes were performed, Deuterium and 18O, to determine whether this was the same type of water. Bacteria identification and antibiotic resistance were performed at the sampling sites.
Suggested Reviewers:	Douglas M Mackay, Dr. Adjunct Professor, University of California dmmackay@ucdavis.edu Dr. Mackay knows the place where this research took place and has a lot of experience in groundwater research. David L Rudolph, Dr. Professor, University of Waterloo, Canada drudolph@uwaterloo.ca Dr. Rudolph is an expert in groundwater processes and has worked in Mexico, he knows about the problems with the wastewater reuse. Oscar A Escolero-Fuentes, Dr. Researcher, Universidad Nacional Autónoma de México escolero@geologia.unam.mx Dr. Escolero, is interested in the management of groundwater, and has published several scientific articles related to mathematical modeling of aquifers, hydrogeological evaluation, hydrogeochemical, hydrogeological reserves and environmental issues related to groundwater.

Marcos A Ortega-Guerrero, Dr.
Researcher, Universidad Nacional Autónoma de México
maog@servidor.unam.mx
Dr. Ortega, his research areas are studies to understand the behavior of contaminants in groundwater, contaminant migration mechanisms in granular and fractured media, disposal of urban and industrial waste: non-hazardous, hazardous and radioactive, characterization of contaminated aquifers, evaluation bulbs pollution and application of mathematical models of flow and transport to predict the impact of pollution on critical areas (wells supplying drinking water, for example), among others.

Pathogenic microorganisms in a groundwater pathway impacted with wastewater

Fonseca-Salazar, María Alejandra^{1,2}, Díaz-Ávalos, Carlos³, Rochin-García Hermes⁴ and Mazari-Hiriart, Marisa^{2*}

1. Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico. Unidad de Posgrado, Edificio "D" primer nivel, Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, C.P. 04510, México D.F.
2. Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico. Circuito Escolar 3000, Ciudad Universitaria, Ciudad de México, D.F.
3. Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico. Apartado Postal 70-275, Tercer Circuito Exterior Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 México, D.F, México.
4. Posgrado en Ciencias de la Tierra, Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geofísica, UNAM Ciudad Universitaria C.P 04510, México, D.F.

Corresponding Author:

Marisa Mazari-Hiriart

Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México

Apartado Postal 70-275, Tercer Circuito Exterior Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 México, D.F, México.

Phone: (52 55) 5623 7715, Fax (5255) 56 16 19 76

Abstract

Groundwater requires quantitative understanding of its microbiological water quality for the short- and long-term management of this water that is used principally for consumption. Monitoring viruses, protozoa, and bacteria at different spatial and temporal scales can aid in planning strategies for environmental and health protection from situations caused by common anthropogenic impacts. Viruses, protozoa, and bacteria were detected at different depths of the Mezquital Valley aquifer in order to analyze the influence of the wastewater in to the groundwater in a pilot site of this Valley. Also stable isotopes were performed Deuterium and O18 to

determinate that there was the same type of water. Antibiotic resistance and bacteria identification were analyzed in the sampling sites.

Key Words: pathogens, unplanned aquifer recharge, sustainability, microbiological water quality.

Acknowledgments

We are grateful to the Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), María Alejandra Fonseca Salazar was supported during her Ph.D. studies (Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México) by a fellowship from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Mexico) Students of the Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad-instituto de Ecología (UNAM), , especially Gustavo Pérez-Ortíz, Erick Ricardo Hjort Colunga, Stepnahie Espinosa, Rosa Solano-Ortiz, Jannice Alvarado, Tere Castañon and Marco Antonio Tapia; to Ph. D Jeanny Lucero Hernández Martínez for the collaboration in the field and sampling.

[Click here to view linked References](#)

1 Pathogenic microorganisms in a groundwater pathway impacted with wastewater

2

3 Fonseca-Salazar, María Alejandra^{1,2}, Díaz-Ávalos, Carlos³, Rochin-García, Hermes⁴ and Mazari-Hiriart, Marisa²

4

5 ¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México City, Mexico6 ²Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, UNAM, Mexico City, Mexico7 ³Departamento de Probabilidad y Estadística, Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas,

8 UNAM, Mexico City, Mexico

9 ⁴Posgrado en Ciencias de la Tierra, UNAM, México City, Mexico

10

11 Corresponding author email: mazari@unam.mx

12

13

14 Abstract

15 Groundwater requires quantitative understanding of its microbiological water quality for short- and long-term
16 management of this water that is mainly used for consumption. Monitoring viruses, protozoa, and bacteria on different
17 spatial and temporal scales can technically support planning strategies for environmental and health protection from
18 scenarios caused by common anthropogenic impacts. Viruses, protozoa, and bacteria were detected at different depths
19 in the Mezquital Valley aquifer in order to analyze the influence of wastewater in the groundwater in a pilot site of
20 this Valley. Also, stable isotopes were performed, Deuterium and ¹⁸O, to determine whether this was the same type of
21 water. Bacteria identification and antibiotic resistance were performed at the sampling sites.

22

23 **Key words:** pathogens, unplanned aquifer recharge, sustainability, microbiological water quality.

24

25

26 Introduction

27

28 Groundwater is an important water source for human use and consumption, representing about 97% of accessible
29 freshwater reserves in the world. In addition, nearly two billion people in urban and rural areas employ groundwater
30 for basic daily needs (Foster et al., 2007; Blacksmith Institute, 2013). Groundwater is, in fact vital to public health,
31 the environment, and the economy (National Groundwater Association, 2004).

32 Groundwater can be contaminated, mainly, by human activities, such as open garbage dumps that are poorly
33 constructed and without proper maintenance, or landfills, latrine maintenance, and sewage infiltration. Wastewater
34 infiltration into groundwater occurs directly and indirectly, mainly through mismanaged effluents (direct discharges
35 of municipal wastewater) and excessive irrigation in agricultural areas. Each of these activities can provide a wide
36 range of pathogens, heavy metals and chemicals that can migrate into aquifers. Other important sources of
37 groundwater contamination comprise industries and human settlements.

38 In addition, agriculture is another major source of contamination due to excessive use of pesticides; and, fertilizers
39 tent can leach into these water sources (Gallay et al., 2006; Foster et al., 2006).

40 Groundwater also provides various valuable ecosystem services that include the following: purification of water and
41 its storage in good quality for decades or centuries; active biodegradation of anthropogenic contaminants, thus
42 avoiding (,) or minimizing (,) contamination of surface water bodies and safeguarding environmental, human and
43 animal health by the inactivation and elimination of pathogens; recycling of nutrients such as nitrogen and phosphorus
44 and mitigation of floods and droughts (Griebler and Avramov, 2015; Manzoor et al., 2015).

45 Aquifer recharge with wastewater can be planned or unplanned. Research on and the practice of the use of wastewater
46 for aquifer recharge have focused primarily on planned aquifer recharge in developed countries and on unplanned
47 aquifer recharge in developing countries. In the case of utilizing highly contaminated wastewater for recharging good
48 quality groundwater, there may be obvious implications for groundwater quality deterioration, should be avoided
49 (Manzoor et al., 2015).

50 Some health-related effects of groundwater contamination include gastrointestinal infections caused by
51 microorganisms in the water, which can be denominated short-term effects. However, there are also more severe long-
52 term effects of the accumulation of heavy metals and organic contaminants, which can cause various types of cancer
53 and reproductive problems, among others (Wellender et al., 2013).

54
55 The use of groundwater for human use and consumption requires the monitoring of its microbiological quality. The
56 variety of pathogenic microorganisms in groundwater is wide, including bacteria such as *Escherichia coli* O157: H7,
57 *Campylobacter jejuni*, and viruses such as rotavirus, adenovirus, and norovirus, as well as the pathogenic protozoa
58 *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* (Sinreich et al., 2013).

59
60 Unfortunately, full analysis of microorganism is expensive and time-consuming, and sometimes even qualified staff
61 is required to perform technical work; thus, it is not routinely performed. As for other water types, microbiological
62 monitoring of groundwater quality is based on the concept of fecal indicator bacteria, which has been used from the
63 late XIX century. These indicators are primarily the organisms *E. coli* and *Enterococcus*, which are regularly measured
64 to detect fecal contamination and to predict the possible presence of pathogenic microorganisms. However, the
65 absence of fecal indicator bacteria does not guarantee health safety. Factors such as persistence, resistance to
66 disinfection, transport processes, particle size, resistance in the environment, and deposit into the subsoil, especially
67 for microorganisms such as viruses and protozoa, can be important factors that differ from the data obtained when
68 monitoring fecal indicator bacteria. Detailed knowledge of the microbiological–criteria status of groundwater,
69 especially in relation to pathogens, represents a major advance in the use of this valuable resource of the water supply
70 (Sinreich et al., 2013; Craun et al., 2010).

71 While the majority of wastewater generated in developing countries remains in its untreated or partially treated forms,
72 the use of highly contaminated wastewater for aquifer recharge may pose health and environmental risks in the long
73 term, particularly if the groundwater employed for drinking receives wastewater. , the impact on groundwater quality
74 varies widely in terms of the following: the vulnerability of the aquifer to contamination the quality of the natural

75 groundwater and its potential use; the origin of sewage effluent and the likelihood of persistent contaminants; the scale
76 of wastewater infiltration, and the quality of wastewater and its level of treatment and dilution (Foster et al., 2005).
77 Periodic monitoring of groundwater quantity and quality would be required for the assessment of long-term effects
78 (Manzoor et al., 2015).

79
80 Raghavendra and Chandra in 2015 stated that “sustainable groundwater resources development refers to the efficient
81 management of existing groundwater resources as a source of water supply to meet the needs of the present, on a long-
82 term basis in an equitable manner sustaining its quality, without negotiating the risks associated with damage to aquifer
83 physical characteristics, storage capacity, and recovery ability for future-generation needs”. It is vital to preserve and
84 monitor Mexico City Metropolitan Area (MCMA) aquifers to ensure the water supply of this densely populated area
85 that continues to expand and in continual expansion and, likewise, to ensure the environmental health of the residents
86 of the Mezquital Valley, who are in direct and indirect contact with wastewater from the MCMA. For >100 years, this
87 site has received wastewater without treatment, and now the question is: how much longer can this system resist its
88 great quantity of biological and chemical contaminants without posing a risk to the population? This is why monitoring
89 is vital to this area, in addition to integrated management of wastewater deriving from the MCMA to the Mezquital
90 Valley. A complex plan is required for water management, including wastewater, surface water (rivers, dams), unlined
91 irrigation canals and groundwater, and the sites involved because, at some point, this water flows into the Gulf of
92 Mexico, a situation whose consequences has not been studied in depth.

93
94 **Study area**

95
96 Untreated wastewater from the MCMA has been utilized for decades to irrigate the Mezquital Valley, localized in the
97 state of Hidalgo, Mexico. Excessive irrigation in the area has given rise to the appearance of springs and aquifers, and
98 the groundwater is employed for the public water supply (Chávez et al., 2011).

99 The MCMA drains its wastewater into the Mezquital Valley through the Gran Canal, Interceptor Poniente, and Emisor
100 Central. The Gran Canal and Interceptor Poniente cross two basins: The Mezquital and Mexico, through the
101 Nochistongo Pit and the Tequixquiac Tunnel, to join the Salado and El Salto Rivers, respectively; 81% of the main
102 channels and 52% of the side channels are not covered, and the wastewater flows directly into the aquifer recharge
103 (Downs et al., 1999; Lesser-Carrillo et al., 2011).

104 Wastewater is composed of a mixture of municipal and industrial wastewater and storm water runoff. This water does
105 not receive any pretreatment, and this mixture is transported from the MCMA to the irrigation region. Approximately
106 55% of domestic industry in Mexico is located in the MCMA (paper, food, chemical, mining, thermal power,
107 petrochemical, textile, and automotive). Approximately 43% of the wastewater in the Mezquital Valley irrigation
108 district is of industrial origin, and 57%, of municipal origin (Siebe and Cifuentes, 1995) (Figure 1).

109
110 Figure 1. Mezquital Valley location and hydraulic infrastructure.

111 The main entry of water into the Mezquital Valley aquifer corresponds to infiltration of wastewater, which represents
112 approximately 70% of wastewater from the MCMA, arriving through water canals and agricultural return. The water
113 from the aquifer flows into springs, and once it is used, it is discharged into the Tula River. Part of the groundwater is
114 extracted through wells and distributed to the surrounding towns. The remainder is discharged to the North and
115 Northeast, superficially, and is drained by the Salado River and groundwater (BGS, 1998; Lesser-Carrillo et al., 2011).
116 Groundwater recharging of the Mezquital Valley aquifer was calculated at 231.7 million m³/year and extraction, at
117 about 203.4 million m³/year (Comisión Nacional de Agua y Alcantarillado, 2011). The Mezquital Valley aquifer is
118 considered as underexploited, in that levels have recovered gradually because recharging should be due to the return
119 of wastewater employed for irrigation. Gutiérrez-Ángeles and Silva de la Rosa (1998) reported that the direction of
120 groundwater flow was Southeast-Northwest, and the BGS (1998) reported this as South to North, coinciding with the
121 direction of surface drainage. However, 6 years later, Cervantes and Armienta (2004) noted that it is difficult to define
122 the direction of groundwater flow in the Valley because it is influenced by fracturing patterns. These authors reported,
123 for this fracturing in the Southern part of the Valley (the Tula and Actopan Rivers), a SE-NW direction and, toward
124 the center area of the Valley, a Southwest-Northeast direction, finding discontinuity in the hydraulic gradient toward
125 the vicinity of Tlahuelilpan caused by possible faults.

126
127 The Mezquital Valley consists of diverse geological materials and hydrogeological characteristics, largely due to the
128 faulting of rocks, as well as to volcanic deposits (rendering porosity and permeability soils). This, coupled with
129 prolonged irrigation, has led to the formation of small aquifers in some areas of the Valley (BGS, 1998).

130 In the Mezquital Valley, there are three defined hydrogeological units: alluvium in the Quaternary; volcanic rocks in
131 the Tertiary, and limestones in the Lower Cretaceous (BGS, 1998; Cervantes and Armienta, 2004).

132 The first aquifer is shallow, varying in depth, and with an irregular extension. It is located in the alluvial material of
133 the Quaternary fluvial. Recharging derives from the infiltration of rainwater, from underground side supply, but
134 mainly by infiltration of water excess; it is considered as unconfined and is approximately 10 meters in depth. The
135 second aquifer is located mainly in Tertiary lava flows (it is considered near the surface, it is free and that it increases
136 as the depth increases, it becomes semi-confined, with high permeability; withal, it has interbedded clay lenses, which
137 affect transmissibility and promote horizontal flow. This is the most important aquifer unit and comprises the main
138 source of groundwater supply in the area. It is approximately 150 meters deep (Arenal, 1985; Cervantes and Armienta,
139 2004; Gutiérrez and Silva de la Rosa, 1998). The third aquifer is located in the Lower Cretaceous limestones. It is of
140 great importance due to its productivity, with a thickness of 200 meters (Cervantes and Armienta 2004). It sometimes
141 manifests as an unconfined aquifer and sometimes as a partially or completely confined aquifer (Del Arenal, 1985;
142 BGS, 1998; Cervantes and Armienta, 2004).

143
144 Prolonged irrigation has modified the original hydrogeological area, and the infiltration of wastewater has increased
145 the levels of existing aquifers and has led to the emergence of new water-discharge points, such as the spring localized
146 in the Cerro Colorado, East portion of Tlahuelilpan (Arenal, 1985; BGS, 1998).

147 Tlahuelilpan was chosen as the study area because it has been instrumented and there is some scientific information
148 that allows a better understanding of the process taking place in the area. Some studies suggest groundwater flow

149 patterns, and there is an experimental plot in which wastewater flow from a main channel is measured at its different
150 depths (Hernández-Martínez et al., 2014).

151

152

153 **Methods**

154

155 *Water samples*

156 Water samples were taken from Tlahuelilpan, eight samples during two sampling campaigns, covering the warm-rainy
157 and cold-dry season in 2014. The samples correspond to three public wells, one private well, a spring, and two
158 piezometers installed on a plot irrigated with wastewater from one of the main wastewater canals, which was also
159 sampled. For wastewater, 500-mL samples were taken in triplicate and 50-L groundwater samples were acquired for
160 virus and protozoan analysis concentration, while for bacterial counts, 1 L was taken, in triplicate (Figure 2).

161

162

163 Figure 2. Samples from Tlahuelilpan.

164

165

166 Table 1. Sample sites and water depth

167

168

169 *Indicator bacteria*

170 One L of groundwater and 500 mL of wastewater were collected for bacteriological analysis from selected sites using
171 sterile polypropylene flasks. Samples in triplicate were transported, and stored at 4°C according to American Public
172 Health Association (APHA) standard procedures (2005), and analyzed, and the results were reported in Colony-
173 Forming Units (CFU).

174 Two bacteriological variables, including Fecal Coliform (FC, CFU/100 mL) and Fecal Enterococci (FE, CFU/100
175 mL), were measured. The membrane filtration method was performed using 0.45-µm cellulose acetate membranes,
176 and these were placed on M-FC agar for FC and KF Streptococcus agar for streptococci/enterococci, respectively.
177 Incubation was performed with a WTB BINDER incubator at 44.5°C for 24 h for FC, and at 37°C for 48 h for
178 enterococci according to APHA (2005).

179

180

181 *Adenovirus detection*

182

183 For quantification of adenoviruses (serotypes 40 and 41), the quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR)
184 technique was performed. The reaction was carried out in a volume of 20 μ L containing 10 μ L of TaqMan Universal
185 PCR Master Mix with 2X UNG (Applied Biosystems), 1 μ L of First HAdV-F4041-hex157 1 μ L First HAdV-F40-
186 hex245 500 nM, 1 μ L of First HAdV-F41-hex246 500 nM, 1 μ L of labeled probe-r HAdVF4041- hex214 120 nM, 1
187 μ L of water, and 5 μ L of sterile and extracted DNA. The reaction was performed at 50°C for 2 min, followed by 15
188 min at 95°C for inactivation of the enzyme uracil-DNA-Glycosylase, preventing reamplification of DNA fragments
189 and promoting DNA denaturation and polymerase activation.

190 Then, 45 cycles at 95°C were run for 15 sec, at 60°C for 30 sec, and then at 72°C for 10 sec. The protocol was modified
191 from that reported by Xagorarakis et al. (2007), including a final step of 30°C for 10 sec.

192 The oligonucleotides and probe were used in the area of adenovirus hexon (serotypes 40 and 41). The oligonucleotide
193 forward and labeled probe utilized for adenovirus was the same for both viral serotypes, while for the reverse
194 oligonucleotide, a specific design was employed for each viral type (Xagorarakis et al., 2007).

195

196 *Rotavirus detection*

197

198 RNA extraction from the samples was conducted using the Trizol-chloroform method (Invitrogen). A 500- μ L aliquot
199 of each sample and 500 μ L of Trizol were taken and added to a 1.5-mL Eppendorf tube, leaving this to incubate on
200 ice for 10 min. Subsequently, 250 μ L of chloroform was added, centrifuged at 10,000 rpm for 15 min, and the aqueous
201 phase recovered in a 1.5-mL Eppendorf tube containing 500 μ L of previously chilled isopropanol and allowing it to
202 precipitate at -70°C overnight. Subsequently, this was centrifuged at 10,000 rpm for 10 min, the pellet was washed
203 with 1 mL of 75% ethanol, and this was centrifuged twice at 10,000 rpm for 10 min. Ethanol was discarded by
204 decantation and the pellet was allowed to dry at room temperature for 20 min. The RNA was resuspended in 20 μ L of
205 DiethylPyroCarbonate (DPEC) water and stored at -70°C until further analysis.

206 Prior to RT-PCR, the RNA concentration was measured in a NanoDrop ND 1000 spectrophotometer (Thermo
207 Scientific). Subsequently, the RNA was denatured at 99°C for 5 min in a thermal cycler.

208 The RT-PCR One-Step (Qiagen) Kit was employed for the reverse transcription reaction and amplification. With a
209 final reaction volume of 25 μ L, for this purpose, 5 μ L of 5X RT-PCR buffer and 1 μ L of dNTP was added (10 mM),
210 and 1 μ L of the enzyme RT-PCR, 0.5 μ L of the ribonuclease inhibitor (Invitrogen), and 1.5 μ L of each primer, VP6-
211 3 (5'- GCTTTAAAACGAAGTCTTCAAC-3 '), VP6-4 (5'- GGTAATTACCAATTCCTCCAG-3 ') was added at
212 concentrations of 0.49 and 0.387 nM respectively, plus 9.5 μ L of RNase-free water was added to 5 μ L of denatured
213 RNA.

214 Primers from Villena et al. (2003) were used, which amplified the region encoding the VP6 protein to obtain a
215 fragment of 186 bp. The conditions for reverse transcription and amplification were also modified from Villena et al.
216 (2003), and the volume of the final reaction was different; the RT-PCR reaction was performed in one step. The
217 conditions were the following: at 50°C for 2 min; at 50°C for 30 min; at 95°C for 15 min; at 95°C for 9 min; at 40
218 cycles of 94°C for 1 min; at 50°C for 1 min; at 72°C for 1 min, and a final extension of 72°C for 10 min.

219 The amplified products were subjected to agarose gel electrophoresis (Invitrogen) at 2% and 100 V, stained with
220 ethidium bromide at 0.01% (Research Organics) for 10 min, and observed in an Ultraviolet (UV) transilluminator
221 (UVP).

222

223 *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* detection

224

225 Fifty L of groundwater and 300 mL of wastewater were collected for pathogenic protozoa analyses including *Giardia*
226 *lamblia* and *Cryptosporidium parvum* detection. Samples were concentrated by the Ultrafiltration technique developed
227 by Hill (2005) as modified by Polaczyk et al. (2008); the concentrate was the same for protozoa and viruses.

228 Fifteen mL of the concentrates obtained by UF was taken and centrifuged at 3,000 rpm for 15 min. The pellet obtained
229 was resuspended in 3 mL of sterile 1% PBS and separated into three equal parts (1-mL each).

230 Detection and quantification of *G. lamblia* and *C. parvum* oocysts was performed by the indirect immunofluorescence
231 method in liquid phase according to Method 1623 (United States-Environmental Protection Agency [US-EPA], 2000)
232 modified by Rangel-Martínez (2010) and Tapia-Palacios (2012). The spherical forms of *G. lamblia* cysts (measuring
233 8–12 microns) and *C. parvum* oval oocysts (measuring 4–6 microns) were observed and quantified, both with an
234 apple-green color under an Axiostar Plus fluorescence microscope (Carl Zeiss, Göttingen, Germany), performing a
235 total sweep of each plate with increases of 20X and 40X.

236

237 *Deuterium and ¹⁸O*

238

239 Forty mL of water for each sample was analyzed in order to measure Deuterium and ¹⁸O. 2H/1H (δ D) and 18O/16O
240 (δ^{18} O) analysis of water via Cavity-Ring-Down Spectrometry (CRDS) was performed at Isotech Laboratories
241 (Parkland Court, Champaign, IL, USA), in duplicate.

242

243 Isotope analysis

244

245 The isotopic data of δ D (‰) and δ^{18} O (‰) allow to distinguish different sources of water, such as rivers, lakes, and
246 groundwater in accordance with its isotopic fractionation. The variations are the result of the process caused by the
247 physical differences in isotopic species (Jouzel et al., 1997). In this case, they allowed us to discriminate between
248 groundwater and surface water and know whether they are involved a process of mixing between both sources.

249

250 Table 2. Samples and values of δ D H₂O ‰ and δ^{18} O H₂O ‰

251

252

253

254 Additionally, the water samples were sent to a Certificate Laboratory at the Facultad de Medicina y Zootecnia of the
255 Universidad Nacional Autónoma de México for bacterial identification and for antibiotic-resistance detection.

256

257 **Statistical analysis**

258 The data were analyzed initially using exploratory data analysis techniques (Tukey, 1977) in order to gain insight into
259 the possible association among the different variables measures, as well as the association of virus units and bacterial
260 counts with the other variables (covariates) considered in this study. Analyses included histograms, boxplots,
261 interaction plots, and scatter diagrams. R Software was utilized for all of the statistical analyses performed. When
262 there was indication of a possible association between pathogen concentration and the remaining variables,
263 generalized linear models:

$$264 \quad h(\mu) = Z\beta$$

265

266 were fitted, where μ represents the expected value of the pathogen units, Z is a matrix whose entries are the covariate
267 values, and β is a vector of regression coefficients. The function h is known as the link function, to test the null
268 hypothesis of no effect of covariates on mean value of function h of the mean value known as *link function* as it
269 relates with the mean of the response variable, namely, pathogen units, with linear predictor $Z\beta$.

270 For this study we used the identity link function, assuming a Gaussian structure for the error term. This results in the
271 well-known Analysis of Variance (ANOVA) model:

$$272 \quad y = Z\beta + \epsilon$$

273

274 where ϵ is the random error whose distribution is Normal with zero mean and constant variance σ^2 . Models were fitted
275 using (y) as the response variable for the concentration for each pathogen, and, as covariates or factors, the sampling
276 site, and the sampling season.

277

278

279 **Results**

280

281

282 *Indicator Bacteria Counts*

283

284 Fecal Coliforms (FC) and Fecal Enterococci (FE) were performed as common fecal indicator bacteria.

285

286

287 Fecal Coliforms

288

289 These indicator bacteria were found in the first sampling campaign that corresponds to the dry/warm season. There was
290 presence of these indicators in some wells used for human consumption. FC were quantified in site 1 (Canal Tlamaco
291 [wastewater canal]) on the order of 10^8 , in site 2 Cerro Colorado (spring) in the order of 10^2 , and also found in site 6,
292 San Primitivo (well for human consumption) on the order of 10^1 ; in the two piezometers, FC were quantified on the
293 order of 10^2 .

294 In the second sampling season that corresponded to the dry/cold season, FC were detected in the site 1 Canal Tlamaco
295 on the order of 10^8 and in wells 4 (Miravalle) and 6 (San Primitivo), of the order of 10^2 – 10^3 ; in site 3 Pozo Toño, FC
296 were detected on the order of 10^1 , and in both piezometers, on the order of 10^3 .

297

298

299 Figure 3. Fecal Coliform (CF) quantification and interaction between sampling sites and sampling season.

300

301

302 Fecal Enterococci

303

304 In site 1 Canal Tlamaco (wastewater canal) 10^8 , and in site 2 Cerro Colorado (spring), no detection of this indicator
305 in any well, and detected in the piezometers on the order of the 10^3 – 10^4 in the first sampling season.

306 In the second sampling season, site 1 Canal Tlamaco (wastewater canal) was 10^8 , a decrease in the counts of
307 piezometers 10^2 and the presence of FE in site 3 Pozo Toño.

308

309 Figure 4. Fecal Enterococci (FE) quantification and interaction between sampling sites and sampling season.

310

311

312 *Adenovirus*

313

314 Adenovirus was not detected in the first sampling campaign. In the second sampling season, adenovirus was detected
315 in site 1 Canal Tlamaco at 10^6 and also detected in the wells that are below the level of the Canal Tlamaco. In wells
316 and piezometers, these were on the order of 10^3 – 10^4 .

317

318

319 Figure 5. Adenovirus quantification and interaction between sampling sites and sampling season.

320

321

322 *Rotavirus*

323

324 Rotavirus was not detected in any sampling campaign.

325 *Pathogenic Protozoa*

326

327 *Giardia lamblia*

328

329 In the first sampling campaign, cysts for *Giardia lamblia* were detected on the order of 1–5 per cyst; they were detected
330 in the wastewater canal, Pozo Toño, San Primitivo, and Piezometer 2. Cysts were detected in the first sampling site at
331 the shallower sites.

332

333

334 Figure 6. *Giardia lamblia* interaction between sampling sites and seasons.

335

336

337 *Cryptosporidium parvum*

338

339 Oocysts of *Cryptosporidium parvum* were detected only during the first sampling season, and there was interaction
340 between wells (Munitepec and San Primitivo) in the first sampling season.

341

342 Figure 7. *Cryptosporidium parvum* interaction between sampling sites and seasons.

343 *Bacterial Identification and Antibiotic Resistance*

344

345 *Pseudomonas aeruginosa* was identified in groundwater and was resistant to Imipenem, nalidixic acid, Sulfamide
346 +Trimethoprim and Amoxicillin + clavulanic acid. These bacteria were detected in the Piezometers and Toño Well.
347 Also, *E. coli* and *Enterococcus* spp. were identified at these sites.

348

349

350 *Deuterium and ¹⁸O*

351

352 Deuterium and oxygen 18 were analyzed to determine the manner in which, in the study area, the groundwater was
353 directly related with the main irrigation canal (wastewater). The results of isotope analyses are presented in a plot of
354 $\delta D(\text{‰})$ vs. $\delta^{18}\text{O}(\text{‰})$ (Figure 8).

355

356

357 Figure 8. Isotopic composition of groundwater and wastewater from Tlahuelilpan, $\delta D(\text{‰})$ (espacio) vs. $\delta^{18}\text{O}(\text{‰})$
358 illustrates the influence of wastewater into groundwater, indicating a mixing process. Regional meteoric line value of
359 the Basin of Mexico from Cortés et al., 1997.

360

361 Samples from the deepest wells, Muntepec and Miravalle, represent the isotopic composition of groundwater as the
362 first member in a binary water-mixing process; the values lie below the regional meteoric line as reflective of
363 secondary fractionation by evaporation prior to infiltration (Fritz et al., 1979), the isotopic composition of the
364 wastewater plot with the higher $\delta^{18}\text{O}$ and δD with this composition considered the second member of the binary mixing
365 process.

366 The mixing line exhibits expression $\delta\text{D}(\text{‰}) = 7.424\delta^{18}\text{O} - 1.089$, in samples with influence from wastewater plot along
367 the mixing line, indicating that they are the result of a mixing process.

368 It is important to make the results obtained in this study known, because pathogens were detected in groundwater at
369 different aquifer depths. Viral and protozoan pathogens, which had not been detected in previous studies, were
370 detected and quantified, in addition to opportunistic bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, and
371 Enterococci, which were detected and present antibiotic resistance. All of this information, collected in a small area
372 of the Mezquital Valley, provides data for the authorities to take immediate action. More research is needed, in addition
373 to the monitoring of this sensitive and troubled system, which has sustained, for more than 100 years, the removal of
374 wastewater from Mexico City. This is an opportunity for sustainable planning sustainable water management planning
375 (quality, equitable distribution, treatment) in the region, in order to stop pollution and the disturbance of MAMC
376 aquatic systems and the adverse effects that directly and indirectly affect its inhabitants.

377

378

379 **Conclusions**

380

381 Based on this research, we can affirm there is a mixing process that occurs between wastewater and groundwater in
382 the Mezquital Valley, an issue that should be classified as a priority by MCMA and Mezquital Valley (state of Hidalgo
383 State) authorities in order for them to work together to solve this problem and to communicate it to the citizens.

384

385 The presence of microorganisms, such as adenovirus and the penetration of pathogenic viruses into aquifers can be
386 more than pathogenic protozoa and bacteria (Schijven and Hassanizadeh 2000). Unlike from bacteria, viruses are not
387 retained by the soil in an effective way, in that the viral particles fall into a range diameter of 20–300 nm. It is
388 noteworthy that there are physical and environmental factors that both favor and disfavor
389 virus filtration through soil, for example, factors such as temperature: viruses remain stable for longer at low
390 temperatures. In terms of moisture, some viruses persist longer in wet soils the majority of enteric viruses are stable
391 at pH ranges of 3–9 and their activity may be higher near a neutral pH.

392

393 The presence of organic matter can protect the virus from inactivation and the movement of viral particles is affected
394 by loads and hydraulic flows (Azadpour-Keeley et al., 2003; Sobsey, 1983) this conditions prevailing in the Mezquital
395 Valley and Deuterium and O18 analyses confirm this hypothesis: that wastewater is being mixed with groundwater.

396 It is important to mention that there are practices in the Mezquital Valley that favor the infiltration of wastewater into
397 the ground: the majority of the channels carrying the wastewater are not covered, and irrigation in this area is carried
398 out by flooding. There are some reasons why wastewater should be treated before recharging the Mezquital aquifer

399 so as to not affect overall groundwater quality. The new wastewater treatment plant in Atotonilco should be monitored;
400 there are plans to address these problems.

401 Environmental health is required in order to preserve the citizens' *Quality Of Life* in the region. Additionally, this area
402 is used for food production (vegetables, cattle) and these are sold locally and in the MCMA.

403 For more than 100 years, wastewater from the MCMA has been sent to Mezquital Valley. It is time to formulate a
404 real, sustainable regional plan for water management for one of the biggest cities in the world. There should be a plan
405 to control and treat wastewater, not just at a local scale. The following must be kept in mind: the influence of the
406 wastewater generated in the MCMA with a population of >22 million people, and the wastewaters of industries, cattle,
407 and hospitals do not receive any treatment and impact directly on the rivers and are discharged into the Gulf of Mexico,
408 with potential international legal implications.

409

410

411 **Reference**

412 American Public Health Association, & Water Environment Federation (2005). *Standard methods for the*
413 *examination of water & wastewater: Centennial edition* (21st ed.). Washington, D.C.: American Public Health
414 Association.

415 Arenal-Capetillo, R. del (1985). Estudio hidrogeoquímico de la porción centro-oriental del Valle del Mezquital,
416 Hidalgo. *Revista mexicana de ciencias geológicas*, 6(1), 86–97.

417 Blacksmith Institute. Retrieved November 2013, from http://www.worstpolluted.org/projects_reports/display/58

418 Boelee, E., Amerasinghe, P., Danso, G., & Manzoor, Q. (2015). Coast and Benefits of Using Wastewater for
419 Aquifer recharge. In P. Drechsel, Q. Manzoor, & D. Wichelns (Eds.), *Wastewater: Economic asset in an*
420 *Urbanizing world* (1st ed.) (p. 153). United States: Not Avail.

421 British Geological Survey, Comisión Nacional del Agua, London School of Hygiene and Tropical Medicine, &
422 University of Birmingham. (1998). *British geological survey Website*. Retrieved from
423 <http://http://www.bgs.ac.uk/research/international/searchresults.cfm>:

424 Cervantes, A., & Armienta, M. A. (2004). Influence of faulting on groundwater quality in Valle del Mezquital,
425 Mexico. *Geofísica Internacional*, 43(3), 477–493.

426 Cortés, A., Durazo, J., & Farvolden, R. N. (1997). Studies of isotopic hydrology of the basin of Mexico and vicinity:
427 Annotated bibliography and interpretation. *Journal of Hydrology*, 198(1-4), 346–376.

428 Craun, G. F., Brunkard, J. M., Yoder, J. S., Roberts, V. A., Carpenter, J., Wade, T., ... Roy, S. L. (2010). Causes of
429 outbreaks associated with drinking water in the United States from 1971 to 2006. *Clinical Microbiology*
430 *Reviews*, 23(3), 507–528.

431 Downs, T. J., Cifuentes-García, E., & Suffet, I. M. (1999). Risk screening for exposure to groundwater pollution in a
432 wastewater irrigation district of the Mexico city region. , *107*(7), 553–561.

433 Foster, S., Chilton, J., Nijsten, G.-J., & Richts, A. (2013). Groundwater—a global focus on the “local resource.”
434 *Current Opinion in Environmental Sustainability*, *5*(6), 685–695.

435 Foster, S., Garduño, H., Tuinhof, A., Kemper, K., & Nanni, M. (2006). Urban wastewater as groundwater recharge
436 evaluating and managing the risks and benefits. *GW Mate briefing note series*. Retrieved from [http://www-](http://www-wds.worldbank.org/external/default/WDSContentServer/WDSP/IB/2011/01/18/000334955_20110118040545/R)
437 [wds.worldbank.org/external/default/WDSContentServer/WDSP/IB/2011/01/18/000334955_20110118040545/R](http://www-wds.worldbank.org/external/default/WDSContentServer/WDSP/IB/2011/01/18/000334955_20110118040545/R)
438 [endered/PDF/301040BRI0REVI101public10BOX353822B.pdf](http://www-wds.worldbank.org/external/default/WDSContentServer/WDSP/IB/2011/01/18/000334955_20110118040545/R)

439 Foster, S., Hirata, R., Gomes, D., D’Elia, M., & Paris, M. (2002). *Groundwater Quality Protection: a guide for*
440 *water utilities* (1st ed.). Washington, DC: The World Bank.

441 Fritz, P., Hennings, S., Suzuki, C., & Salati, E. (1979). Isotope hydrology in northern Chile. *Isotope hydrology*

442 Gallay, A., De Valk, H., Cournot, M., Ladeuil, B., Hemery, C., Castor, C., ... Desenclos, J. C. (2006). A large multi-
443 pathogen waterborne community outbreak linked to faecal contamination of a groundwater system, France,
444 2000) on behalf of the outbreak investigation Team*. *Clinical Microbiology and Infection*, *12*(6), 561–570.

445 Griebler, C., & Avramov, M. (2015). Groundwater ecosystem services: A review. *Freshwater Science*, *34*(1), 355–
446 367.

447 Gutiérrez, S., Braulio Francisco Silva de la Rosa, Á., Comisión Nacional del Agua, Genérica Regional de Aguas del
448 Valle de México, & Gerencia Técnica (1998). Aplicación de un Modelo Hidrogeoquímico en el Valle del
449 Mezquital, Hidalgo. . Retrieved from <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/caliagua/peru/mexcca031.pdf>

450 Hernández-Martínez, J. L., Prado, B., Durán-Álvarez, J. C., Bischoff, W. A., & Siebe, C. (2014). Movement of
451 water and Solutes in a wastewater Irrigated Piedmont. *Procedia Earth and Planetary Science*, *10*, 365–369.

452 Hill, V. R., Polaczyk, A. L., Hahn, D., Narayanan, J., Cromeans, T. L., Roberts, J. M., & Amburgey, J. E. (2005).
453 Development of a rapid method for simultaneous recovery of diverse microbes in drinking water by
454 Ultrafiltration with sodium polyphosphate and surfactants. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(11),
455 6878–6884.

456 Lesser-Carrillo, L. E., Lesser-Illades, J. M., Arellano-Islas, S., & González-Posadas, D. (2014). Balance hídrico y
457 calidad del agua subterránea en el acuífero del Valle del Mezquital, México central. *Revista Mexicana de*
458 *Ciencias Geológicas*, *28*(3), 323–336.

459 Polaczyk, A. L., Narayanan, J., Cromeans, T. L., Hahn, D., Roberts, J. M., Amburgey, J. E., & Hill, V. R. (2008).
460 Ultrafiltration-based techniques for rapid and simultaneous concentration of multiple microbe classes from 100-
461 L tap water samples. *Journal of Microbiological Methods*, 73(2), 92–99.

462 Raghavendra, N. S., & Deka, P. C. (2015). Sustainable development and management of groundwater resources in
463 mining affected areas: A review. *Procedia Earth and Planetary Science*, 11, 598–604.

464 Rangel-Martínez, C. (2010). *Identificación de Blastocystis hominis en muestras de agua obtenidas de Ciudad*
465 *Universitaria en la Ciudad de México* (Undergraduate thesis). Universidad Simón Bolívar, Mexico City.

466 Secretaría de Obras Públicas, Comunicaciones, Transporte y Asentamientos. (2007). *Programa Estatal de*
467 *Desarrollo Hídrico 2005-2011*. Retrieved from [http://intranet.e-](http://intranet.e-hidalgo.gob.mx/NormatecaE/Archivos/Programa_PreservacionConservacionAgua.pdf)
468 [hidalgo.gob.mx/NormatecaE/Archivos/Programa_PreservacionConservacionAgua.pdf](http://intranet.e-hidalgo.gob.mx/NormatecaE/Archivos/Programa_PreservacionConservacionAgua.pdf)

469 Siebe, C., & Cifuentes, E. (1995). Environmental impact of wastewater irrigation in central Mexico: An overview.
470 *International Journal of Environmental Health Research*, 5(2), 161–173.

471 Sinreich, M., Pronk, M., & Kozel, R. (2013). Microbiological monitoring and classification of karst springs.
472 *Environmental Earth Sciences*, 71(2), 563–572.

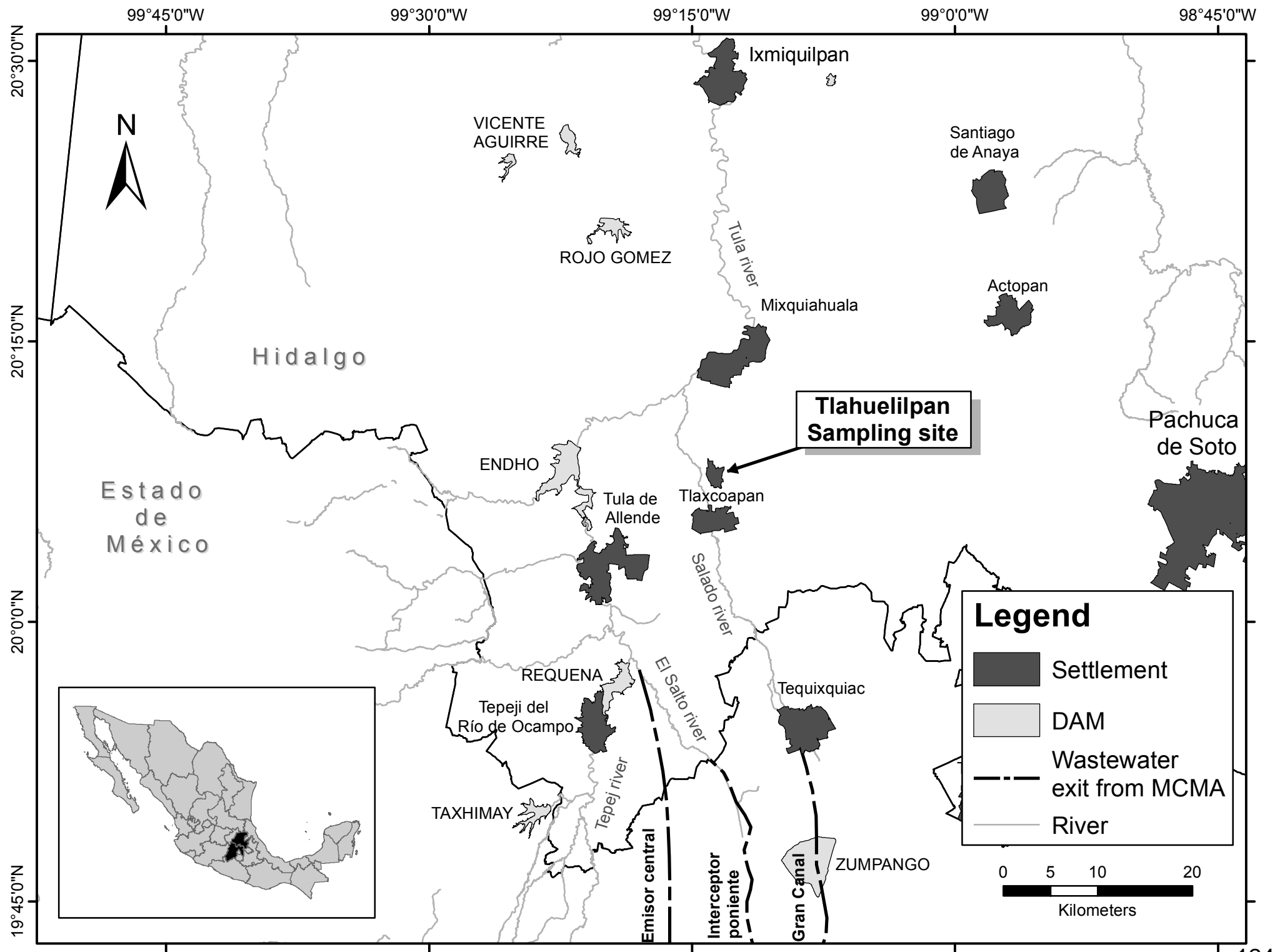
473 Tapia-Palacios, M. A. (2012). *Detección de Cryptosporidium parvum y Giardia lamblia en agua del río Cuitzmala,*
474 *Jalisco* (Undergraduate thesis). Retrieved from
475 [http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/Q6V1GPBTQRX8XCY8D5F4J2Q3J6CA28G6TPSRFBFT5CYMVYQPVA-](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/Q6V1GPBTQRX8XCY8D5F4J2Q3J6CA28G6TPSRFBFT5CYMVYQPVA-44143?func=full-set-set&set_number=028487&set_entry=000005&format=999)
476 [44143?func=full-set-set&set_number=028487&set_entry=000005&format=999](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/Q6V1GPBTQRX8XCY8D5F4J2Q3J6CA28G6TPSRFBFT5CYMVYQPVA-44143?func=full-set-set&set_number=028487&set_entry=000005&format=999)

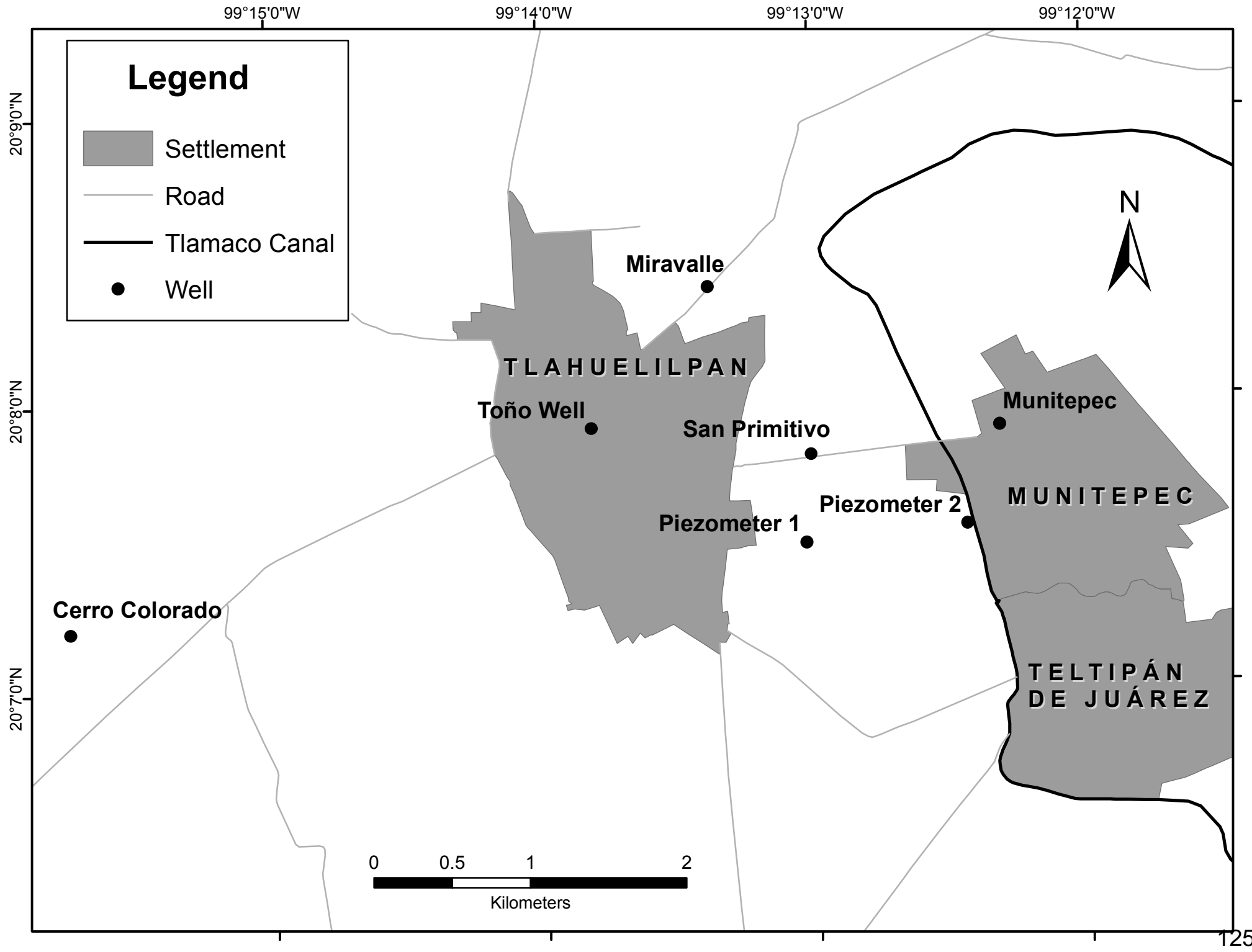
477 Villena, C., El-Senousy, W. M., Abad, F. X., Pinto, R. M., & Bosch, A. (2003). Group A Rotavirus in sewage
478 samples from Barcelona and Cairo: Emergence of unusual Genotypes. *Applied and Environmental*
479 *Microbiology*, 69(7), 3919–3923.

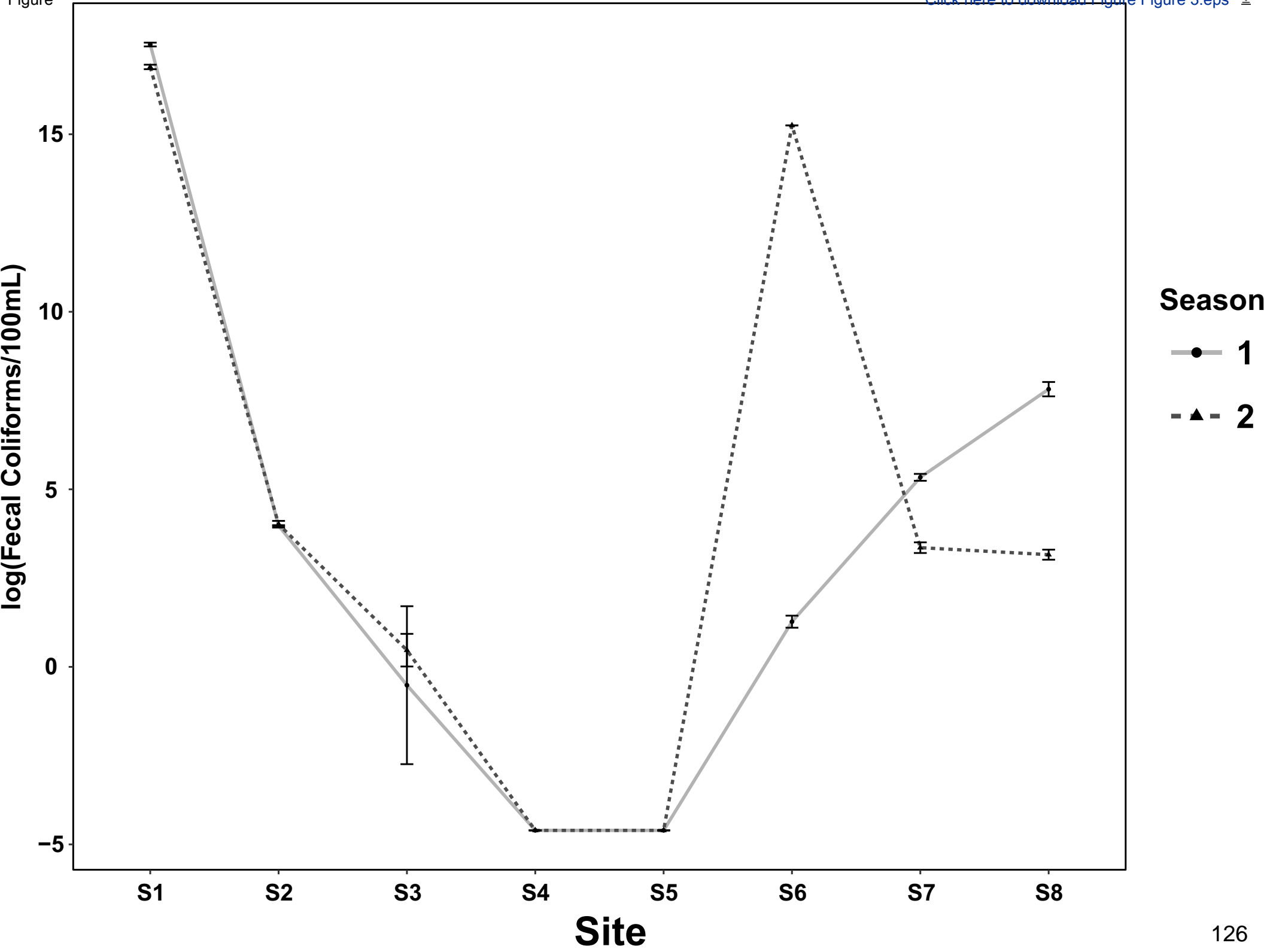
480 Wallender, E. K., Ailes, E. C., Yoder, J. S., Roberts, V. A., & Brunkard, J. M. (2013). Contributing factors to
481 disease outbreaks associated with untreated groundwater. *Groundwater*, 52(6), 886–897.

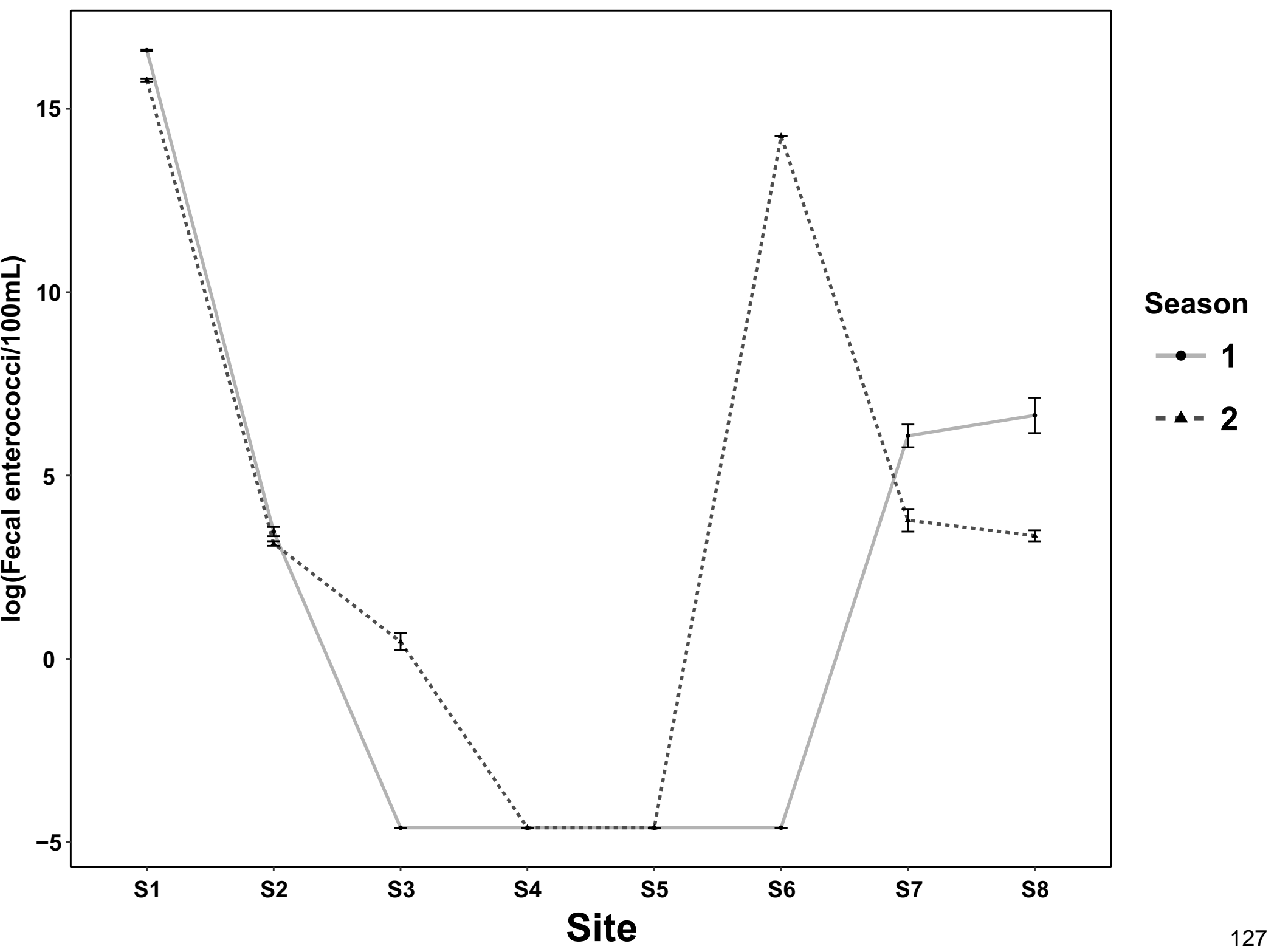
482 Xagorarakis, I., Kuo, D. H., Wong, K., Wong, M., & Rose, J. B. (2007). Occurrence of human Adenoviruses at Two
483 recreational beaches of the great lakes. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(24), 7874–7881.

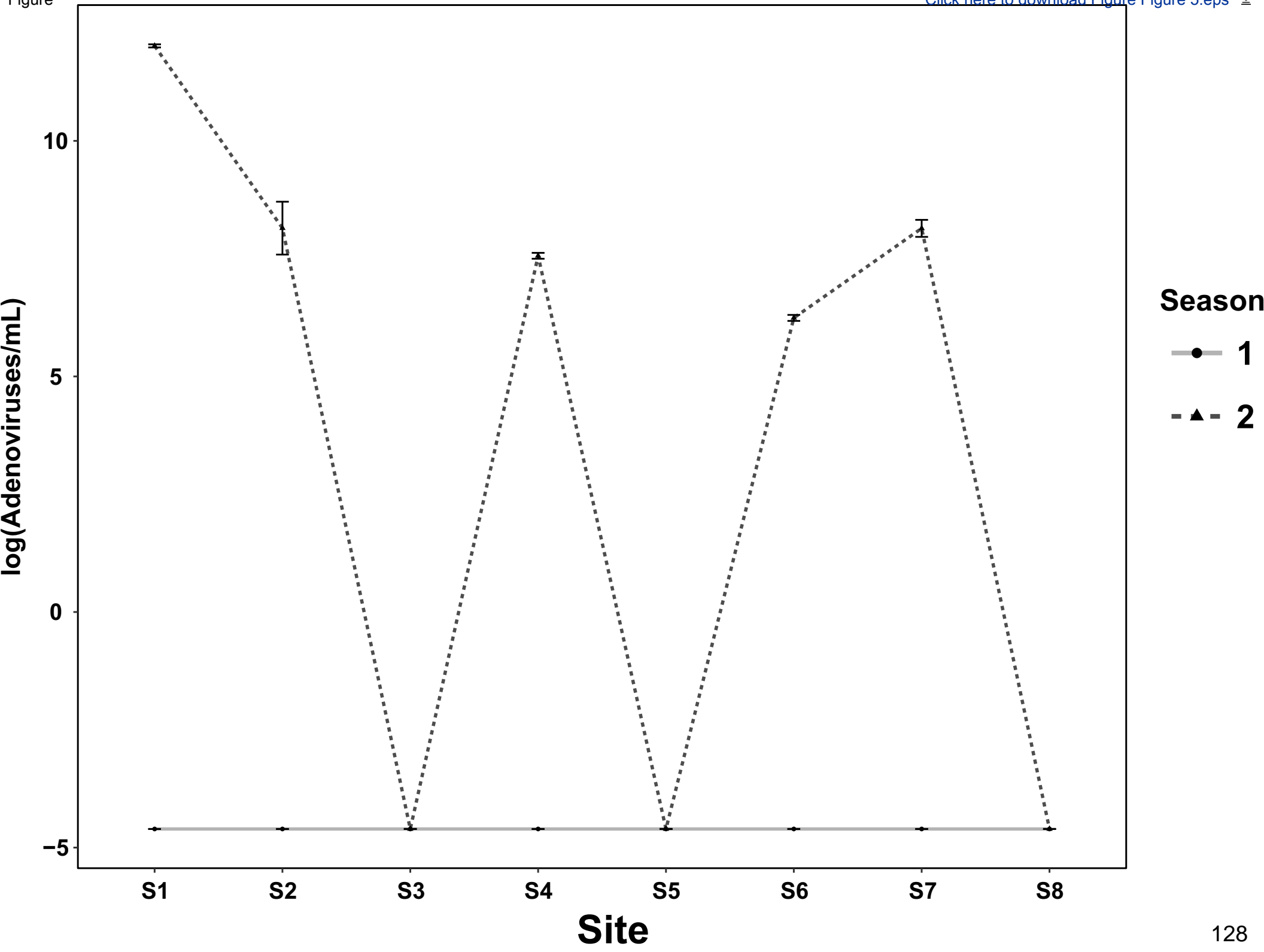
484

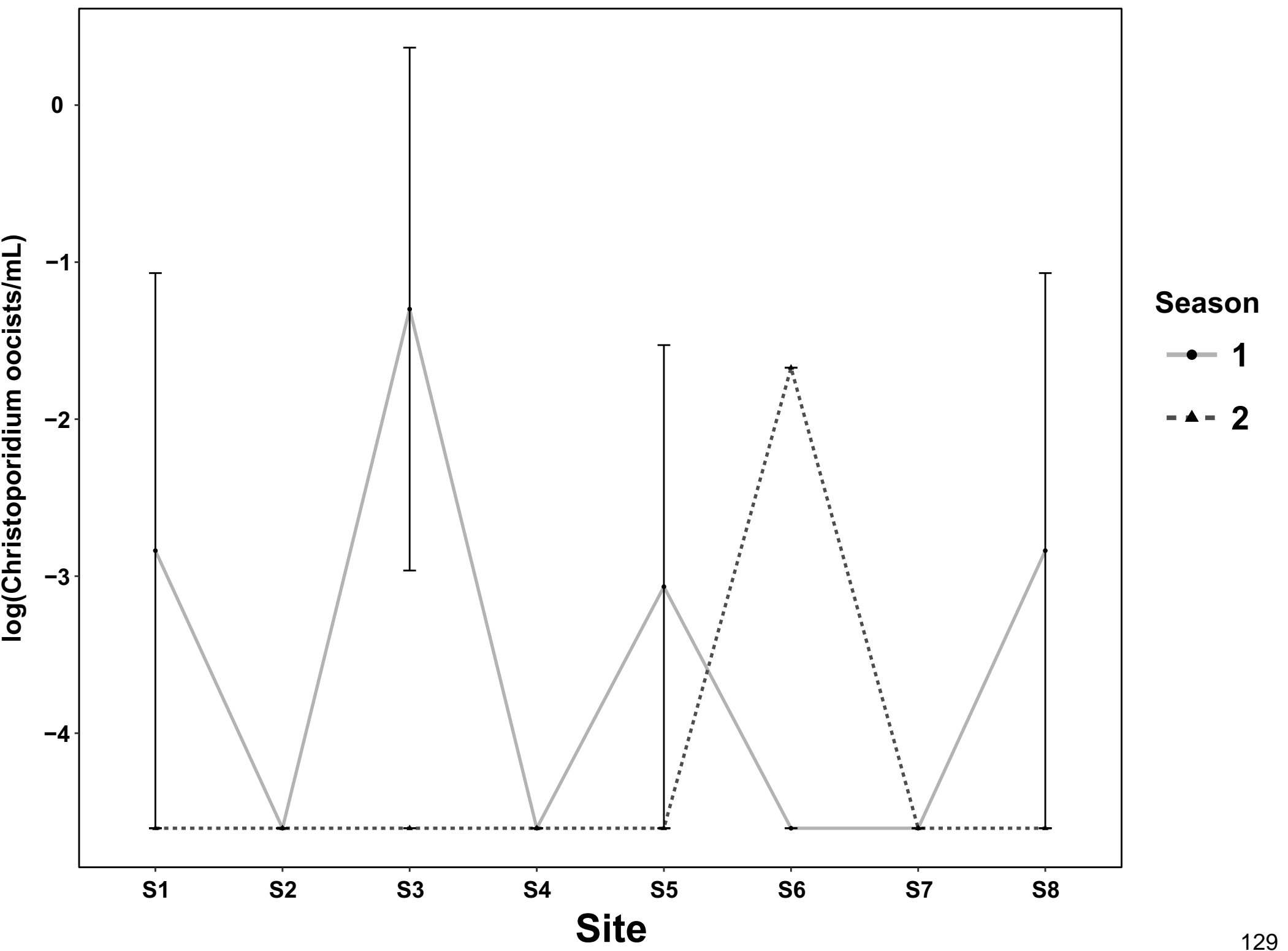


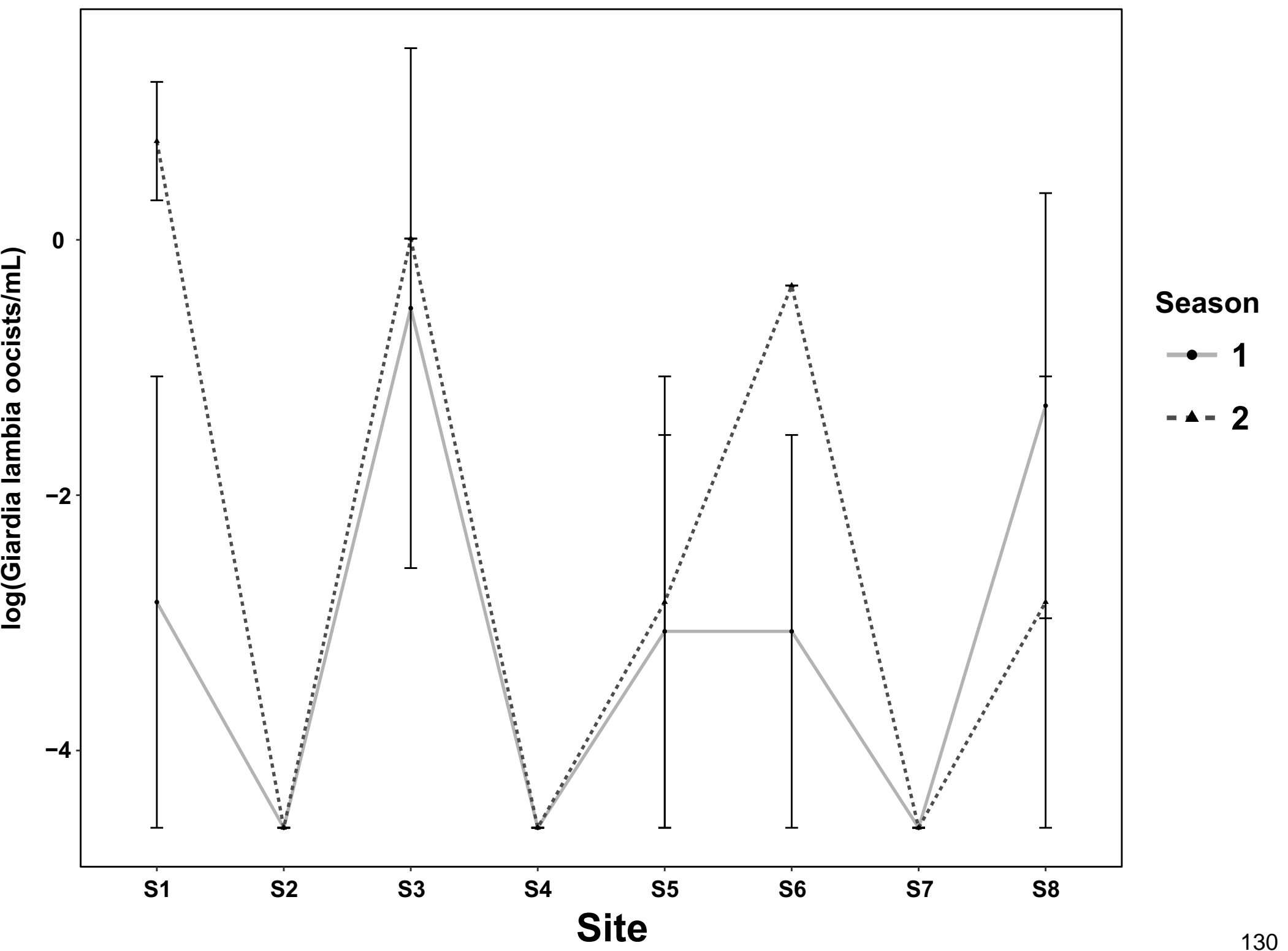


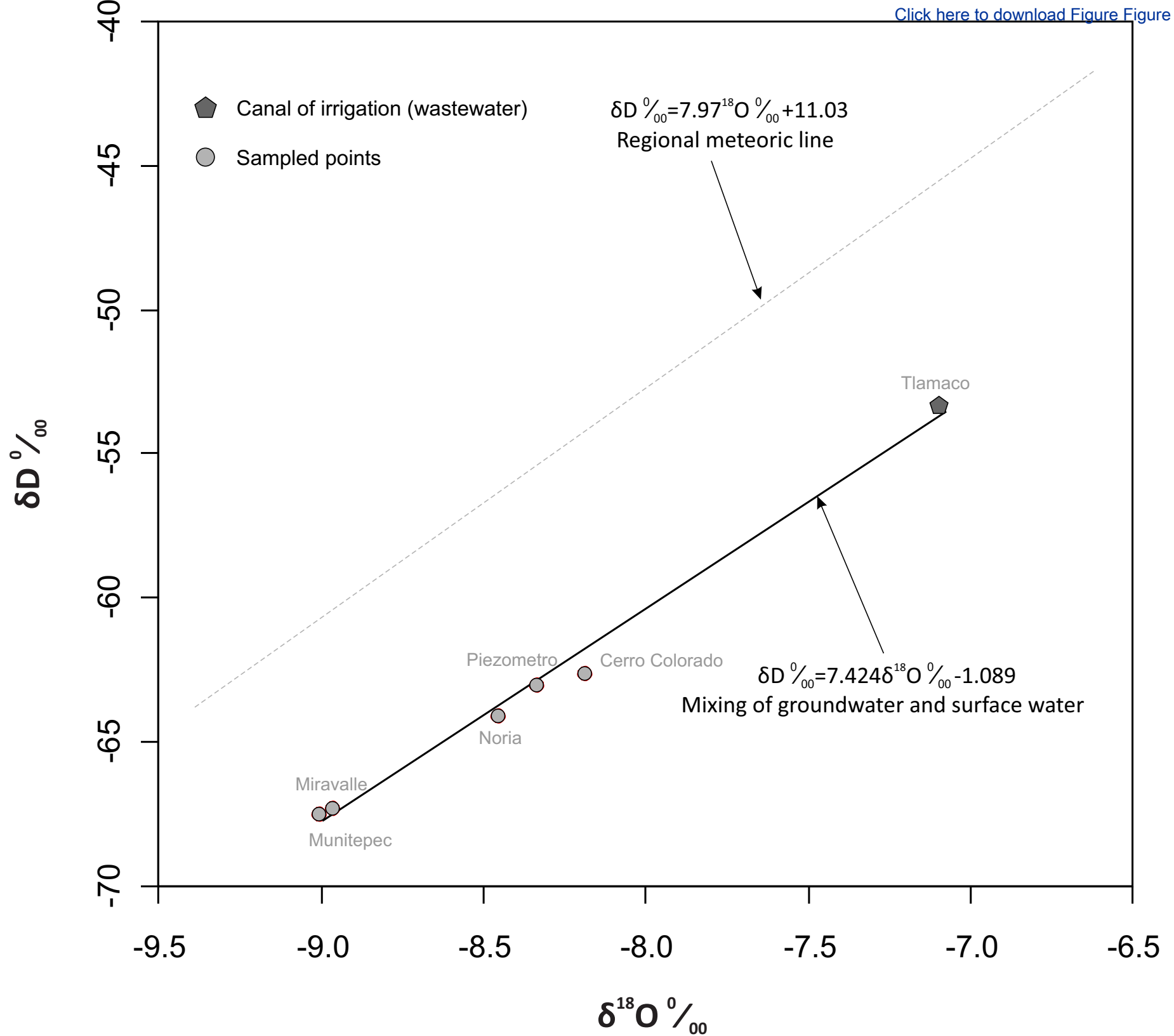












Site	Depth (m)
1. Canal Tlamaco wastewater canal	
2. Cerro Colorado Spring	
3. Toño Well	8
4. Miravalle Well	105
5. Muntepec Well	250
6. San Primitivo Well	250
7. Piezometer 1	38
8. Piezometer 2	24

Sample name	δD H ₂ O ‰	$\delta^{18}O$ H ₂ O ‰
1. Tlamaco wastewater canal	-53.3	-7.10
2. Noria	-64.1	-8.46
3. Cerro Colorado	-62.6	-8.19
4. Piezometer	-63.0	-8.34
5. Miravalle	-67.3	-8.97
6. Muntepec	-67.5	-9.01

δD (‰) and $\delta^{18}O$ (‰) values are relative to Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW).

C
A
P
Í
T
U
L
O

4

CONCLUSIONES Y
CONSIDERACIONES
FINALES

CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES

La falta de tratamiento de las aguas residuales que se descargan directamente en los ríos, lagos y agua subterránea, afecta la calidad del agua y limitan su disponibilidad y aprovechamiento; es por esto que monitorear su calidad microbiológica resulta ser una herramienta fundamental para la protección de la salud y conservación, principalmente de los sistemas acuáticos que se utilizan como fuente de abastecimiento. Sin embargo, también es crucial un tratamiento del agua residual diseñado para el uso final al que se destinará esta agua, ya sea con fines agrícolas, de uso público directo o industrial, entre otros.

El reúso de agua no es una práctica nueva, pero se adopta sin la planeación y precauciones necesarias. Establecer y hacer cumplir las normas existentes (al menos) para que el reúso sea eficiente, debe ser prioridad para las instituciones responsables a nivel local, municipal, estatal y federal, así como para la sociedad civil.

En nuestro país tenemos el caso del Valle del Mezquital, en el que desde hace más de 100 años se reutiliza el agua residual sin tratamiento proveniente de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México para riego agrícola y también se recarga el acuífero de la zona sin ninguna planeación, práctica que se ha venido extendiendo y que continuará incrementándose. Algunos efectos a la salud y al

ambiente en esta zona han sido ya descritos, sin embargo, falta aún investigar los posibles efectos que esta práctica puede tener en la población, principalmente por la exposición directa e indirecta al agua residual, así como para uso y consumo humano proveniente del acuífero con infiltración del líquido residual.

Es importante mencionar que no existen datos precisos sobre la venta y cantidad de hortalizas sembradas en el Valle del Mezquital, así como su destino de venta. Se sabe que se siembra coliflor, lechuga, maíz, frijol espinaca y trigo, hortalizas como jitomate, cebolla, cilantro, rábano y betabel, además de la cuarta parte de la alfalfa y todo el chile verde que se comercializa en el país. La única información con la que se conoce es que estos alimentos son una de las principales fuentes de alimentos que llegan a la Ciudad de México y otras entidades cercanas como Puebla, Tlaxcala y en el mismo estado de Hidalgo (Nuñez, 2015).

Ante el aumento de la población en zonas urbanas del país, el suministro de agua de buena calidad, el alcantarillado para una canalización adecuada de lluvias y el tratamiento de las aguas residuales debe ser prioritario para el gobierno como para la sociedad civil. Es evidente la necesidad de intensificar la reutilización del agua residual tratada, así como fomentar su intercambio por agua de primer uso cuando esto sea posible.

Esta problemática no solamente se desarrolla en nuestro país. En la región de América Latina y el Caribe, con una población de aproximadamente 580 millones de habitantes, son tratadas menos de 20% de aguas residuales. Las grandes ciudades en esta región enfrentan retos comunes relacionados con la calidad del agua y el saneamiento, por lo cual requieren acciones urgentes,

tales como cambios hacia la sostenibilidad de los recursos hídricos.

El significado de la sostenibilidad en la gestión de los recursos hídricos ha cambiado a lo largo del tiempo. Inicialmente, la preocupación dominante fue el cumplimiento de la demanda de agua , en tanto fueron postergados los problemas de calidad hasta que se hicieron importantes por el impacto que tienen sobre el ambiente y la salud. La sostenibilidad del agua actualmente incluye la reutilización, y debe contener toda una serie de aspectos como la energía que se utiliza para extraer y repartir, así como la contaminación biológica y química y su tratamiento a escalas espaciales y temporales (Hermanowicz, 2008).

El agua es clave para nuestra supervivencia y la de las demás especies que habitan junto con nosotros este planeta. Se debe ver como un factor determinante del desarrollo socio- económico que cumple la función básica de mantener el entorno natural. La Gestión Integrada de los Recursos Hídricos (GIRH) permite crear un balance entre la necesidades de los usuarios para las actividades económicas y sociales y, al mismo tiempo, garantizar la sostenibilidad del ambiente. El tratamiento y disposición de aguas residuales adecuados contribuye a una mejor conservación de los ecosistemas, poniendo menos presión sobre los recursos escasos, como lo es el agua dulce (superficial y subterránea). Actualmente, existen 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas aprobada en septiembre de 2015, los cuales entraron en vigor oficialmente el 1 de enero de 2016. Son objetivos de aplicación universal, los cuales plantean que en los próximos 15 años los países intensifiquen sus esfuerzos para poner fin a las principales amenazas para la vida en el planeta. En el Objetivo 6, consistente en “Garantizar la disponibilidad de agua y su

gestión sostenible y el saneamiento para todos”, se propone la meta de *mejorar la calidad del agua* mediante la reducción de la contaminación, la eliminación del vertimiento y la reducción al mínimo de la descarga de materiales y productos químicos peligrosos, la reducción a la mitad del porcentaje de aguas residuales sin tratar y un aumento sustancial del reciclado y la reutilización en condiciones de seguridad a nivel mundial, proteger y restablecer los ecosistemas relacionados con el agua, incluidos los bosques, las montañas, los humedales, los ríos, los acuíferos y los lagos y apoyar y fortalecer la participación de las comunidades locales en la mejora de la gestión del agua y el saneamiento, entre otras (OMS, 2016).

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación muestran los riesgos potenciales a la salud, enfermedades gastrointestinales que existen en el Valle del Mezquital, así como la degradación ambiental que persiste en la ZMCM, en el caso específico del agua, en el agua de abastecimiento público, el agua subterránea, así mismo el agua sin tratamiento que llega directamente al Valle del Mezquital. La PTAR de Atotonilco aún no entra en operación. Esta planta tendrá una capacidad de tratar aproximada de 60% de las aguas del Valle de México (tomando en cuenta la temporada de lluvias). Si bien es más de la mitad del agua residual generada, no es una respuesta integral al problema que se genera en la zona. Los resultados muestran la presencia de bacterias y protozoos en todos los tipos de agua analizados, su presencia fue constante a lo largo del tiempo.

La presencia de bacterias indicadoras en todos los sitios de muestreo muestran la necesidad de un estudio de evaluación de riesgos microbiológicos actualizado para la población expuesta directa o indirectamente a lo largo de la ruta de desplazamiento de las aguas residuales, teniendo en cuenta dos

tiempos: antes y después de la operación de la PTAR de Atotonilco. Este trabajo nos permite distinguir los lugares en los que debe centrarse la atención para mejorar las políticas y la vigilancia de la salud pública. Es también necesario un cambio en la legislación de las aguas residuales, ya que únicamente en México se contempla como contaminantes microbiológicos coliformes fecales y huevos de helminto.

Más trabajos e investigación se requieren con el fin de adquirir información de alta calidad sobre la concentración de otros patógenos en la ZMVM sobre aguas residuales con el fin de apoyar la planificación de nuevas plantas de tratamiento de aguas residuales con una visión a largo plazo y la gestión sostenible en una megaciudad, como la Ciudad de México, como así como un tratamiento de aguas residuales de acuerdo con el propósito de su reutilización final. Estas investigaciones son indudablemente un tema común para otras ciudades en desarrollo.

En este trabajo de investigación también se detectó un proceso de mezcla que se produce entre las aguas residuales y las aguas subterráneas en el Valle del Mezquital, esto fue confirmado mediante análisis de Deuterio y ^{18}O ; este es un problema que debe ser clasificado como una prioridad para la ZMVM y el Valle del Mezquital (estado de Hidalgo). La presencia de microorganismos, tales como adenovirus y la penetración de los virus patógenos en los acuíferos, puede ser más de protozoos patógenos y bacterias (Schijven y Hassanizadeh 2000). A diferencia de las bacterias, los virus no son retenidos por el suelo de una manera efectiva, porque las partículas virales caen en una gama de diámetro de 20 a 300 nm. Cabe señalar que existen factores físicos y ambientales que favorecen la filtración de los virus a través del suelo, por ejemplo, factores como la temperatura: virus permanecen estables durante

más tiempo a bajas temperaturas. En cuanto a la humedad, algunos virus persisten por más tiempo en suelos húmedos. La mayoría de los virus entéricos son estables en intervalos de pH de 3–9 y su actividad puede ser mayor cerca de un pH neutro. La presencia de materia orgánica puede proteger el virus de la inactivación y el movimiento de las partículas virales se ve afectada por las cargas presentes en los suelos y los flujos hidráulicos (Azadpour–Keeley et al., 2003; Sobsey, 1983). Es importante mencionar que existen prácticas en el Valle del Mezquital que favorecen la infiltración de las aguas residuales en el suelo: la mayoría de los canales que transportan las aguas residuales no están cubiertos y el riego en esta zona se realiza por inundación. Además, en esta zona se producen alimentos (verduras, ganado) y estos se venden a nivel local y en la ZMVM. La sensibilización de los ciudadanos es esencial para poner fin a este problema de salud ambiental, con el fin de idear un plan para el manejo y tratamiento de agua que incluya a todas las partes interesadas.

Es importante mencionar los impactos negativos, tanto sociales como ambientales, generados por las megaciudades en las zonas periurbanas, y la falta de equidad y la justicia para las poblaciones que recibe las aguas residuales, la alteración de sus condiciones de salud y el ambiente. También merecen una atención especial los derechos individuales y las responsabilidades sociales. En el caso del Valle del Mezquital, que durante 100 años ha recibido las aguas residuales de la ZMVM, el destinatario de las verduras cultivadas es el mismo beneficiario del desalojo de sus aguas. Es decir, las repercusiones ambientales y de salud se dan de un modo bidireccional.