

## CALIDAD AMEBOLÓGICA DEL AGUA EMBOTELLADA EN GARRAFÓN DEL ÁREA METROPOLITANA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

### Amoeba quality of bottled water in carboy of the metropolitan area of Mexico City

Elizabeth Ramírez Flores<sup>1</sup>, Esperanza del Socorro Robles Valderrama<sup>2</sup>, María de Guadalupe Sáinz Morales<sup>3</sup>, Blanca Nieves Martínez Rodríguez<sup>4</sup>, Brian Guadalupe Vargas Cerón<sup>5</sup>, Miguel Ángel Ramírez Flores<sup>6</sup>

<sup>1-6</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Grupo de Investigación CyMA, México. Email: <sup>1</sup>erf@unam.mx, <sup>2</sup>erobles@unam.mx, <sup>3</sup>biologa\_agua1@yahoo.com, <sup>4</sup>bnmartinez@unam.mx, <sup>5</sup>brian.vargascer@nube.unadmexico.mx, <sup>6</sup>mikee2@comunidad.unam.mx

(Recibido 19 de mayo de 2022 y aceptado 29 de junio de 2022)

#### Resumen

México ocupa el primer lugar a nivel mundial en consumo de agua embotellada per cápita. Esto se debe a la desconfianza que existe en la población acerca de la calidad del agua de grifo y el acceso desigual e intermitente a los sistemas de agua potable. La contaminación del agua embotellada por bacterias se ha reportado alrededor del mundo, pero no se ha investigado la presencia de otros microorganismos, como las amibas de vida libre patógenas, que pueden estar en el ambiente, pero también pueden causar infecciones en el humano. El objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia de las amibas de vida libre patógenas en agua embotellada. Se analizó el agua de 47 garrafones de 20 litros que se venden en el Área Metropolitana de la Ciudad de México. Se analizaron 2 muestras de cada garrafón, una al abrirlo y otra a la mitad del volumen. Las amibas se determinaron por cultivo en el medio agar no nutritivo y se identificaron por morfología. Treinta y un garrafones fueron positivos para la presencia de las amibas, de estos 21 fueron de purificadoras locales y 10 de purificadoras grandes. Se encontraron 15 especies de amibas, la mayoría de ellas no son patógenas, solamente del género *Acanthamoeba* han reportado como patógenas oportunistas, lo que representa un riesgo para la salud de las personas con defensas bajas. Por lo que además de la calidad bacteriológica y fisicoquímica, también se debería de tomar en cuenta la calidad amebológica del agua embotellada.

**Palabras clave:** agua embotellada, amibas de vida libre patógenas, calidad amebológica.

#### Abstract

Mexico stands on the first position in the world about the consumption of bottled water *per cápita*. The consumption has been increased due to the bad quality of the water given by the supply network and the unequal and intermittent access to it. The contamination of the bottled water by bacteria has been reported all around the world, but it has not been investigated the presence of other microorganisms, like pathogenic free-living amoebae, which can be present in the environment, furthermore they can cause infections to humans. The objective of this investigation was to determine the presence of free-living amoebae in bottled water. Water of 47 twenty-liter carboys sold in the metropolitan area of Mexico City was analyzed. Two samples from each carboy were taken, one immediately after opening it and the other when it had reached the half of its volume. The amoebae were determined by cultivation in nonnutritive agar and were identified by morphology. Thirty-one carboys were positive for the presence of amoeba, of these, twenty-one were from local water purifiers and ten were from big water purifiers. Fifteen species were found, most of them have not been reported as pathogenic. Only *Acanthamoeba* has been reported as an opportunistic pathogen. The presence of this amoeba

represents a health risk for the people with a weakened immune system. Because of this, not only the bacteriological and physicochemical quality but also amoeba quality must be considered.

**Key words:** bottled water, pathogenic free-living amoebae, amoeba quality.

## 1. INTRODUCCIÓN

El agua es esencial para la vida, cumple con varias funciones en nuestro cuerpo, mantiene el volumen sanguíneo, transporta nutrientes y oxígeno, sirve como solvente en muchos procesos metabólicos y participa en forma activa en las reacciones químicas [1].

El consumo de agua embotellada en el mundo se ha favorecido por diferentes factores, principalmente, por el aumento de la contaminación de los suministros de agua por las actividades antropogénicas. Así tenemos que en los países en desarrollo el consumo del agua embotellada se ha favorecido por la mala calidad del agua suministrada por la red pública y la carencia de este líquido vital. Mientras que, en países desarrollados el consumo se ha debido a que cuentan con fuentes de agua mineral natural de excelente calidad [2-6].

México tiene el primer lugar a nivel mundial en consumo de agua embotellada per cápita, a pesar de que sus fuentes de suministro son cada vez más escasas. En la década de los ochenta se conjugaron varios acontecimientos que incidieron en la forma de consumo de agua en México, entre ellos la afectación de las redes de distribución de agua potable por un movimiento telúrico de gran magnitud. En esta década las compañías embotelladoras europeas llegaron a nuestro país y a principio de la década de los noventa llegaron las compañías americanas [3-4]. A finales de la década de los ochenta salió a la venta agua en recipientes de vidrio de 20 litros (garrafones o botellones), que reforzó el consumo de agua embotellada. Esto dio como resultado que el 81% de la población del país de todos los niveles socioeconómicos consumiera agua de garrafón [4, 7].

El agua embotellada es considerada como un negocio millonario, debido al dramático incremento en su

consumo a nivel mundial. Esto se atribuye a la preocupación de la gente de consumir agua de buena calidad [2-3, 7]. En México no se tiene el conocimiento si el agua que llega a los hogares se puede considerar potable.

El término agua potable se refiere al agua que tiene las características para que su consumo sea seguro. Varios factores pueden alterar la potabilidad del agua, como la fuente de la cual proviene, el tratamiento de potabilización que se le aplica, cómo se almacena y cómo se distribuye [1].

En el agua se encuentran diferentes microorganismos que pueden causar enfermedades al humano, tales como bacterias, virus, protozoos y helmintos, por lo que se le tiene que someter a procesos de desinfección para eliminar los microorganismos y así distribuirla por la red pública o embotellarla sin riesgo para la salud [1]. El agua embotellada puede no estar libre de microorganismos, estos pueden tener su origen de la fuente de extracción o pueden ser introducidos durante el proceso de tratamiento y/o embotellamiento. La calidad del agua se puede afectar por diversos factores, presentándose contaminación microbiológica, esto representa un peligro para la salud. Por lo que el agua debe tratarse para poder catalogarla como agua apta para el consumo [8].

La contaminación del agua embotellada por bacterias se ha reportado alrededor del mundo, en países de América Latina [9-14]; en otras partes del mundo como Polonia, Bangladesh, Trinidad, Nepal, Etiopía y Arabia Saudita [15-20]. En algunas de estas investigaciones se evaluó el contenido microbiológico en el agua únicamente por el análisis de las bacterias coliformes, mientras que en otras también se determinó la presencia de bacterias patógenas (*Pseudomonas* y *Salmonella* spp). Además de la calidad bacteriológica también se ha determinado la

calidad fisicoquímica del agua embotellada [10-11, 14, 21-22].

La normatividad mexicana para agua embotellada solo contempla el análisis de bacterias [23], motivo por el que no se ha analizado la presencia de otros microorganismos para monitorear la calidad del agua. Este es el caso de las amibas de vida libre patógenas (AVL). Estas amibas tienen la característica que pueden vivir libremente en el ambiente, agua y suelo, pero algunas pueden causar infecciones en el humano, por lo que también se les conoce como amibas anfitriónicas por su capacidad de existir como organismos de vida libre y como endoparásitos en el humano y animales.

Así también, estas amibas pueden causar infecciones del cerebro, ojos y piel. *Naegleria fowleri* causa meningoencefalitis amibiana primaria y algunas especies de *Acanthamoeba*, *Balamuthia mandrillaris* y *Sapinea pedata* causan encefalitis amibiana granulomatosa. *Balamuthia mandrillaris* y *Acanthamoeba* causan infecciones de la piel y *Acanthamoeba* causa infección del ojo [24-25]. Por otro lado, se ha demostrado que las AVL, pueden ser vectores de bacterias patógenas, algunas de estas bacterias son *Legionella pneumophila*, *Vibrio cholerae* y *Mycobacterium avium*, que pueden vivir como endosimbiontes dentro de las amibas [26].

Se han realizado pocas investigaciones de la presencia de amibas de vida libre patógenas en agua mineral embotellada [27-28], pero ninguna en agua embotellada no carbonatada. Considerando esta situación el objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia de las amibas de vida libre patógenas en agua embotellada de garrafones de 20 litros de capacidad.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. Toma de muestra

Se analizó el agua embotellada de 47 garrafones de 20 litros de marcas comerciales que se venden en el Área Metropolitana de la Ciudad de México, esta región comprende alcaldías de la Ciudad de México y municipios

del Estado de México. Se analizaron 25 garrafones de purificadoras grandes (PG) y 22 de purificadoras locales (PL). Se colectaron dos muestras de agua de cada garrafón, una muestra se tomó directamente al abrir el garrafón (M1) y otra muestra se tomó cuando el garrafón estaba a la mitad de su capacidad con el accesorio que el usuario utilizaba para servir el agua (M2).

Las muestras de agua para el análisis de las amibas de vida libre patógenas se tomaron en envases de plástico de 1 litro previamente esterilizados, las muestras se transportaron al laboratorio a temperatura ambiente y se procesaron inmediatamente. Se tomaron muestras de agua de 1.5 litros para el análisis en el laboratorio de los parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad, cloro libre residual y sólidos disueltos. Las muestras se transportaron en refrigeración al laboratorio.

### 2.2. Trabajo de laboratorio

La muestra de agua para el análisis de las amibas de vida libre patógenas se filtró a través de una membrana de 1.2  $\mu\text{m}$  de poro de la marca Millipore en condiciones estériles con la ayuda de vacío para favorecer la filtración. La membrana se colocó con la superficie donde quedaron los microorganismos en contacto con el medio de cultivo Agar no nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes* (NNE). Las cajas se incubaron a 30° C y se revisaron con un microscopio invertido a partir del primer día y hasta 15 días para detectar el crecimiento amibiano. Las placas que no presentaron crecimiento después de 15 días se consideraron negativas.

Las amibas aisladas se identificaron observando las características morfológicas de la forma vegetativa o trofozoito y de la forma quística [29-30]. Se realizaron preparaciones en fresco para observar el movimiento de las amibas y el tipo de pseudópodos. La observación de las amibas se realizó con un microscopio óptico Zeiss con la microscopía de contraste de fases a 40x y 100x.

Las amibas del género *Naegleria* presentan una fase flagelada, por lo que, a las amibas sospechosas de pertenecer a este género, se les realizó la prueba de

flagelación. Al cultivo de la amiba se le agregó agua destilada estéril, se incubó a la temperatura de aislamiento (30 °C) y se observó con el microscopio invertido cada media hora, durante cuatro horas para detectar la fase flagelada.

Los parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad, cloro libre residual y sólidos disueltos totales se analizaron de acuerdo con las técnicas estándar [31].

Con el fin de conocer si había alguna tendencia o comportamiento de las amibas de vida libre patógenas con relación a los parámetros fisicoquímicos, se realizaron histogramas con los valores de los parámetros de los garrafones que fueron positivos para la presencia de las amibas [32].

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Amibas de vida libre patógenas

Más de la mitad de los garrafones analizados (65%) fueron positivos para la presencia de las amibas de vida libre patógenas desde la apertura del garrafón (Figura 1). Las amibas pueden provenir de la fuente de donde se tomó el agua, debido a que estas amibas pueden vivir libremente en el ambiente [24-25]. Su presencia en el agua embotellada puede indicar deficiencias en los procesos de desinfección y/o embotellamiento [8].

La presencia de las amibas en la muestra a mitad de uso del garrafón (M2) (Figura 1), puede tener dos explicaciones. Por un lado, se ha reportado que puede haber contenido de materia orgánica en el agua que se embotella, lo que favorece la proliferación de los microorganismos, esto tiende ser mayor en aguas sin dióxido de carbono y en envases de plástico [8]. Por otro lado, los accesorios que se utilizan en las casas para servir el agua del garrafón, pueden ser una fuente de contaminación debido a que no se limpian frecuentemente.

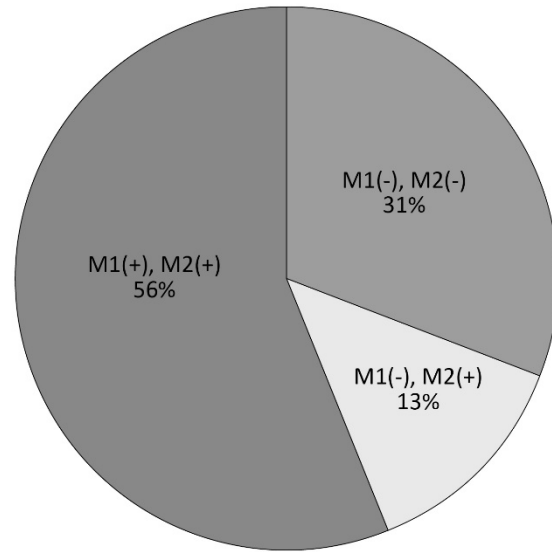
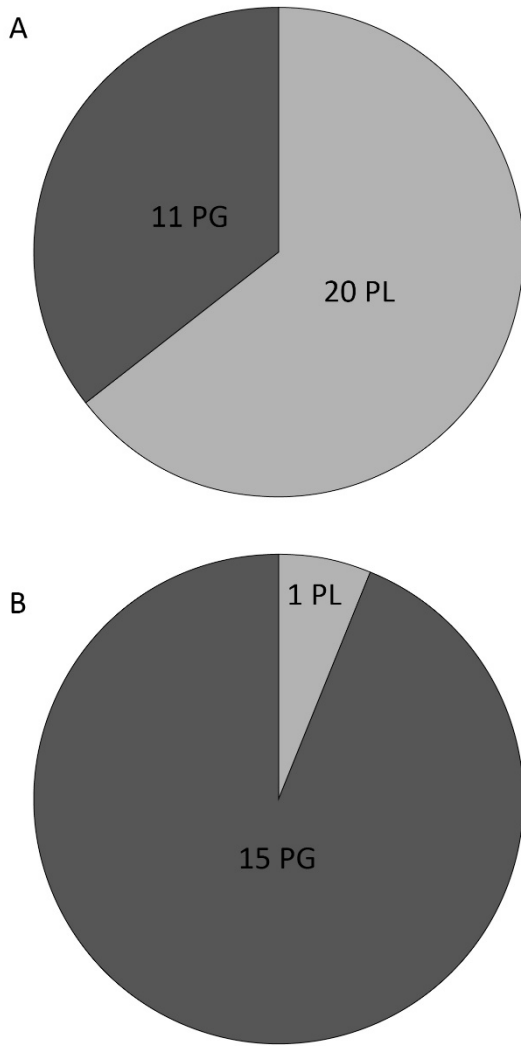


Figura 1. Presencia de AVL en las muestras (M1 y M2).

De los 31 garrafones que fueron positivos para la presencia de las amibas de vida libre patógenas, 21 fueron de purificadoras locales (PL) y 10 de purificadoras grandes (PG). De los 16 garrafones negativos, 15 correspondieron a purificadoras grandes y solo uno a purificadoras locales (Figura 2).

En México más del 80% del mercado del agua embotellada está dominado por las grandes empresas purificadoras (PG), que son empresas transnacionales. Sin embargo, a pesar del dominio de las grandes empresas, han surgido y proliferado purificadoras locales pequeñas (PL), debido a que venden el agua embotellada a un precio más bajo, por lo que se ubican principalmente en zonas de bajos ingresos. Pero no existe una vigilancia sanitaria constante de las autoridades correspondientes para cuidar que el agua embotellada cumpla con la calidad requerida para ser considerada apta para el consumo [3-4].



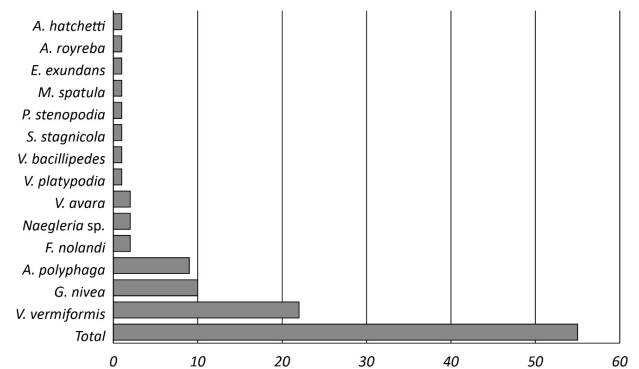
**Figura 2.** Distribución de las muestras positivas y negativas en PG y PL. (A) Muestras positivas. (B) Muestras negativas.

En el agua embotellada se encontraron 14 especies de amebas de vida libre patógenas (Tabla 1), esta es una variedad importante, ya que el agua embotellada se clasifica como apta para el consumo humano y no debería haber presencia de ningún organismo [5].

**Tabla 1.** Especies de AVL encontradas en el agua embotellada.

Género	Especie
	<i>A. hatchetti</i>
Acanthamoeba	<i>A. polyphaga</i>
	<i>A. royreba</i>
Echinamoeba	<i>E. exundans</i>
Filamoeba	<i>F. nolandi</i>
Guttulinopsis	<i>G. nivea</i>
Mayorella	<i>M. spatula</i>
Naegleria	<i>Naegleria</i> sp.
Platyamoeba	<i>P. stenopodia</i>
Saccamoeba	<i>S. stagnicola</i>
Vahlkampfia	<i>V. avara</i>
Vexillifera	<i>V. bacillipedes</i>
Vannella	<i>V. platypodia</i>
Vermamoeba	<i>V. vermiformis</i>

En la Figura 3, se muestra la frecuencia con la que se presentaron las amebas de vida libre patógenas en el agua embotellada. La especie que se encontró con más frecuencia fue *Vermamoeba vermiformis*.



**Figura 3.** Frecuencia de aparición de las AVL en los garrafones.

La mayoría de las especies que se encontraron en el agua embotellada, no se han retribuido como patógenas y se han reportado en diversos cuerpos de agua natural, estas especies son *Vahlkampfia avara*, *Vannella platypodia*, *Mayorella spatula*, *Vexillifera bacillipedes*, *Saccamoeba stagnicola*, *Echinamoeba exundans*, *Platyamoeba*

*stenopodia* y *Filamoeba nolandii* [33-36]. Por lo que es probable que estas amibas estuvieran presentes en el sitio de donde se tomó el agua y que hubiera deficiencias en los procesos de desinfección en las purificadoras [8].

*Guttulinopsis nivea* es una amiba que en su ciclo de vida presenta una fase de hongo. *G. nivea* es considerada como una amiba coprófila y es muy común en lugares donde se encuentran bacterias como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, la presencia de esta amiba en el agua embotellada indica una posible contaminación con bacterias coliformes [37].

Se ha reportado que las amibas patógenas del género *Naegleria* son termófilas, es decir, que proliferan mejor a temperaturas por arriba de 30°C, incluso pueden crecer a 45°C [24-25]. La especie de este género que se encontró en el agua embotellada solamente creció a 30°C, por lo que se puede pensar que no es patógena.

*Vermamoeba vermiformis* fue la especie amibiana que se encontró con más frecuencia en el agua embotellada, detectándose en 22 garrafones. Esta amiba reportada se ha asociado a infecciones cerebrales y del ojo, pero no se sabe si es el agente etiológico de las infecciones. Además, se ha reportado que puede ser vector de microorganismos endosimbiontes patógenos, especialmente de bacterias [24, 38-39].

De las especies del género *Acanthamoeba* encontradas en el agua embotellada, *A. royreba* no se ha reportada como patógena, pero en estudios *in vitro* se ha observado que causa daño en cultivo de tejidos [40]. *A. hatchetti* se ha reportado como patógena en animales de laboratorio [29]. *A. polyphaga* se ha reportado como patógena, pero se ha observado que los diferentes aislamientos, pueden presentar diferente grado de patogenicidad e inclusive puede no ser patógena [41].

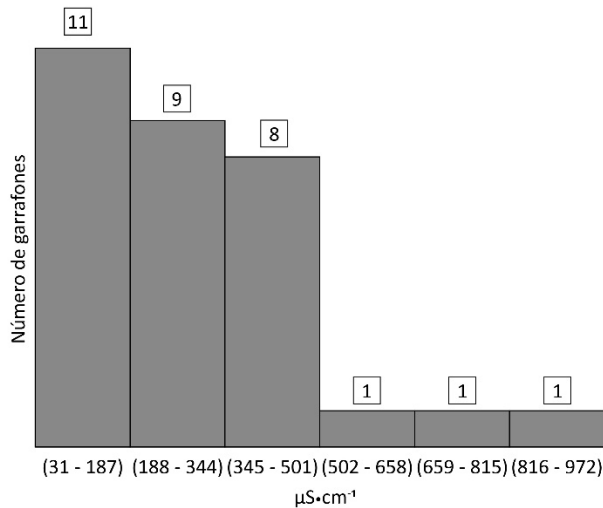
Las especies del género *Acanthamoeba* pueden tener endosimbiontes patógenos [26]. La principal vía de entrada de las amibas de vida libre al humano es por las fosas nasales, pero *Acanthamoeba* puede entrar por heridas y

diseminarse a todo el cuerpo por vía hematológica. Aunque no se ha reportado que las amibas de vida libre patógenas puedan causar daño por vía oral, las personas que tengan úlceras estomacales e intestinales, pueden presentar una vía de entrada para las amibas. Es importante mencionar que *Acanthamoeba* es un patógeno oportunista que puede causar enfermedades a pacientes con defensas bajas [24-25, 42].

### 3.2. Parámetros fisicoquímicos

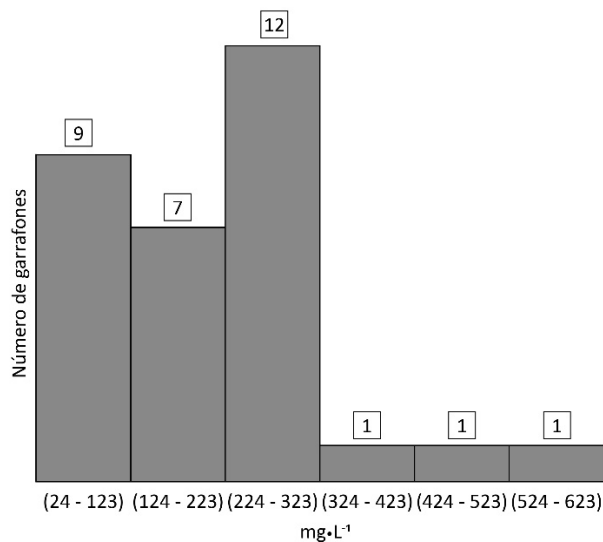
El pH estuvo en un intervalo de 4.8 - 7.9 con un valor promedio de 6.6; la conductividad estuvo en un amplio intervalo de 7.9 - 964  $\mu\text{S cm}^{-1}$  con un valor promedio de 264.2  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ; los sólidos disueltos totales estuvieron en un intervalo amplio de 10 - 615  $\text{mg L}^{-1}$  con un valor promedio de 177.3  $\text{mg L}^{-1}$  y el cloro libre residual en un intervalo de 0 - 1.7  $\text{mg L}^{-1}$  con un valor promedio de 0.1  $\text{mg L}^{-1}$ .

De los 31 garrafones que fueron positivos para la presencia de las AVL, la mayoría de las amibas se agruparon en 3 intervalos de conductividad, en el de 31 - 187  $\mu\text{Scm}^{-1}$  estuvieron 11 garrafones, en el de 188 - 344  $\mu\text{Scm}^{-1}$  estuvieron 9 garrafones y en el de 345 - 501  $\mu\text{Scm}^{-1}$  estuvieron 8 garrafones (Figura 4). En un estudio realizado en agua de canales de riego se reportó la presencia de AVL en valores de conductividad de 1400 - 1800  $\mu\text{S cm}^{-1}$  [35]. La presencia de las amibas en un intervalo amplio de conductividad indica que pueden soportar diversas condiciones de salinidad.



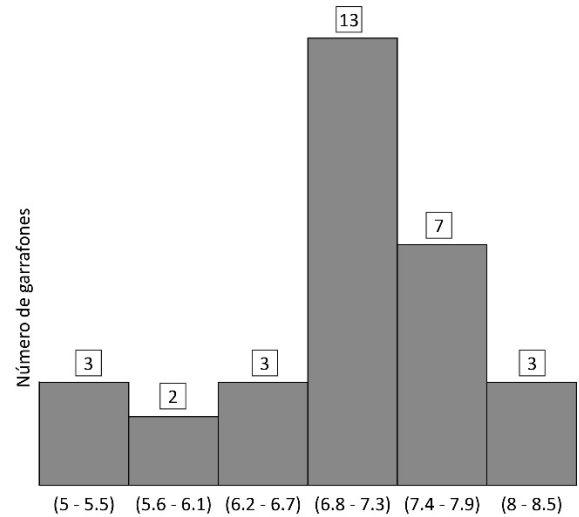
**Figura 4.** Distribución de las AVL de acuerdo con la conductividad.

De los 31 garrafones positivos para la presencia de las AVL, la mayoría de las amibas se agruparon en 3 intervalos de sólidos disueltos, en el de 94 - 123 mg L<sup>-1</sup> estuvieron 9 garrafones, en el de 124 - 223 mg L<sup>-1</sup> estuvieron 7 garrafones y en el de 224 - 323 estuvieron 12 garrafones (Figura 5). Los sólidos disueltos indican la concentración de sales en el agua, por lo que están muy relacionados con la conductividad.



**Figura 5.** Distribución de las AVL de acuerdo con los sólidos disueltos.

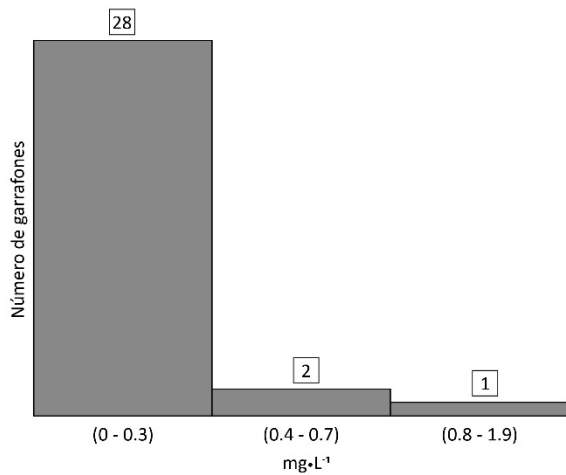
De los 31 garrafones que fueron positivos para la presencia de las AVL, la mayoría de las amibas se agruparon en 2 intervalos de pH, en el de 6.8- 7.3 estuvieron 13 garrafones y en el de 7.4 - 7.9 estuvieron 7 garrafones (Figura 6). Lo que está en concordancia con lo que se ha reportado en la literatura, que las amibas de vida libre patógenas proliferan mejor en valores cercanos a la neutralidad [24].



**Figura 6.** Distribución de las AVL de acuerdo con el pH.

De los 31 garrafones que fueron positivos para la presencia de AVL, la gran mayoría de las amibas se presentaron en el intervalo de 0 - 0.3 mg L<sup>-1</sup> de cloro libre residual, y solamente un garrafón estuvo en la concentración de 1.71 mg L<sup>-1</sup>, que fue la más alta (Figura 7). Es importante mencionar que el agua de garrafón no debería contener cloro, porque este químico no se utiliza para la purificación del agua embotellada. Su procedencia puede deberse a que, muchas purificadoras (principalmente locales) toman el agua de la red pública que se desinfecta con este químico, o que cuando se lavan los garrafones no se enjuagan bien y quedan restos de cloro.

En la concentración de 1.71mg L<sup>-1</sup> se encontró la especie *Acanthamoeba polyphaga*, sin duda, no causa sorpresa, porque esta especie y, en general, todas las del género *Acanthamoeba* tienen gran resistencia a condiciones ambientales extremas, esto se debe a la presencia de celulosa en la pared de su quiste [24].



**Figura 7.** Distribución de las AVL de acuerdo con el cloro libre residual.

#### 4. CONCLUSIONES

Más de la mitad de los garrafones analizados (65%) fueron positivos para la presencia de las amibas de vida libre patógenas. La mayoría de los garrafones positivos fueron de purificadoras locales.

Casi todos los garrafones (95%) procedentes de las purificadoras locales presentaron contaminación por amibas de vida libre patógenas, lo que indica que los procesos de desinfección y embotellado del agua no se realizan adecuadamente y/o que falta mantenimiento a los equipos.

La presencia de amibas de vida libre patógenas en el agua de los garrafones es de llamar la atención, porque el agua embotellada se publicita como agua "pura", libre de microorganismos y adecuada para el consumo humano. En el agua embotellada se encontraron especies de amibas que son reportadas como potencialmente patógenas, lo que puede constituir un peligro a la salud, especialmente, de las personas con defensas bajas.

En vista de los resultados obtenidos se debería de tomar en cuenta la calidad amebológica del agua embotellada en la Normatividad, no solamente la calidad bacteriológica y fisicoquímica.

#### REFERENCIAS

- [1] WHO, *Guidelines for drinking-water Quality*, fourth edition incorporating the first and second addenda. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [2] J. da Cruz, "Agua embotellada: Signo de nuestro tiempo." *Observatorio de la Globalización*, no. 5, pp. 1-5, Mayo 2006. <http://globalizacion.org/wp-content/uploads/2016/01/ODG5DaCruzAguaEmbotellada.pdf>
- [3] R. Pacheco-Vega, "Agua embotellada en México: de la privatización del suministro a la mercantilización de los recursos hídricos", *Espiral*. vol. XXII, no. 63, pp. 221-263, Mayo-Agosto, 2015. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-05652015000200007&script=sci\\_abstract&lng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-05652015000200007&script=sci_abstract&lng=pt)
- [4] D. P. Montero-Contreras, "El consumo de agua embotellada en la Ciudad de México desde una perspectiva institucional", *Agua y Territorio*, vol.7, pp. 35-49, Enero-Junio, 2016. <https://doi.org/10.17561/at.v0i7.2961>
- [5] A. Arellano y V. Lindao, "Efectos de la gestión y la calidad del agua potable en el consumo del agua embotellada", *Novasinergia*, vol. 2, no. 1, pp. 15-23, Diciembre-Mayo, 2019. <https://doi.org/10.37135/unach.ns.001.03.02>
- [6] R. Geerts, *et al* "Bottle or tap? Toward an integrated approach to water type consumption", *Water research*, vol. 173, pp. 115578, April, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115578>
- [7] G.C. Delgado Ramos, "El negocio de bebidas y agua embotellada" En *Apropiación de agua, medio ambiente y obesidad: Los impactos del negocio de bebidas embotelladas en México*, Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, México, 2014, pp. 21-53.
- [8] J. Díaz, *et al* "¿El agua embotellada es adecuada para nuestro consumo?", *Academia*, vol. VI, no. 11, pp. 2-12, 2007. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/27715/articulo1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>



- [9] B.M. Benítez Payares, K.F. Ferrer Villasmil, L.C. Rangel Matos, A.G. Ávila Larreal, Y. Barboza y A. Levy, "Calidad microbiológica del agua potable envasada en bolsas y botellas que se venden en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia-Venezuela", *Multiciencias*, vol. 13, no.1, pp. 16-22, 2013. <https://www.redalyc.org/pdf/904/90428348002.pdf>
- [10] B.M. Benítez Payares, *et al.*, "Evaluación fisicoquímica y microbiológica del agua potable envasada en bolsas que se venden en la zona céntrica de la ciudad de Maracaibo-Venezuela", *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, vol. 35, no. 4, pp. 107-113, 2016. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-02642016000400005](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642016000400005)
- [11] J.C. Marín, E. Behling, S. Carrasquero, G. Colina, A. Díaz y N. Rincón, "Calidad sanitaria de agua envasada expendida en la ciudad de Maracaibo (Venezuela)", *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, vol. LVII, no. 1, pp.26-35, Enero-Julio, 2017. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-46482017000100003#:~:text=CONCLUSIONES-,El%20agua%20envasada%20expendida%20en%20la%20ciudad%20de%20Maracaibo%20representa,%25\)%20y%20fecales%20\(24%25\)](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482017000100003#:~:text=CONCLUSIONES-,El%20agua%20envasada%20expendida%20en%20la%20ciudad%20de%20Maracaibo%20representa,%25)%20y%20fecales%20(24%25))
- [12] J. Arango Meza y E. Yangali Vergara, *Calidad del agua embotellada en diferentes marcas en la localidad de Huancavelica*, 2018. Disponible en: <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/2138>
- [13] A.M. Barbosa Méndez, *Evaluación de la calidad microbiológica del agua envasada que se comercializa por parte de algunas empresas en la ciudad de Villavicencio-Meta*, Colombia: Universidad de los Llanos Villavicencio. Colombia. 2019. Disponible en: <https://repositorio.unillanos.edu.co/handle/001/1341>
- [14] D.E. Santana Quiroz y S.P. Medrano García, *Incidencia del consumo de agua envasada en la salud pública de la ciudad de Calceta, Manabí- Ecuador, Ecuador*, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, 2021, pp.74. Disponible en: <https://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/1452>
- [15] J. Bharath, *et al.*, "Microbial quality of domestic and imported brands of bottled water in Trinidad", *International Journal of Food Microbiology*, vol. 81, no. 1, pp. 53-62, February, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00193-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00193-9)
- [16] A.A. Hazzani, L.W. Al Farra, A. Asran, A. I. Shehata and N. M. S. Moubayed, "Bacterial quality control of domestic and imported brands of bottled water in Saudi Arabia", *Journal of Toxicology*, vol. 5, no. 10, pp. 178-184, December, 2013. <https://doi.org/10.5897/JTEHS2013.0286>
- [17] M. Diduch, Ž. Polkowska and J. Namieśnik, "The role of heterotrophic plate count bacteria in bottled water quality assessment", *Food Control*, vol. 61, pp. 188-195, March 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.024>
- [18] N.D. Pant, N. Poudyal and S.K. Bhattacharya, "Bacteriological quality of bottled drinking water versus municipal tap water in Dharan Municipality Nepal", *Journal of Health Population and Nutrition*, vol. 35, no.17, pp. 1-6, 2016. <https://doi.org/10.1186/s41043-016-0054-0>
- [19] I.M.M. Rahman, *et al.*, "Quality assessment of the non-carbonated bottled drinking water marketed in Bangladesh and comparison with tap water", *Food Control*, vol. 73, part. B, pp. 1149-1158, March, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.032>
- [20] A. Keleb, A. Ademas, T. Sisay, M. Lingerew and M. Adane, "Bacteriological Quality of Bottled Drinking Water and Municipal Tap Water in Northeastern Ethiopia", *Frontiers in Environmental Science*, vol. 10, March, 2022. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.828335>
- [21] J.C. Marín, L.E. Behling, S. Carrasquero, G. Colina, A. Díaz y N. Rincón, "Calidad sanitaria de agua envasada expendida en la ciudad de Maracaibo (Venezuela)", *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, vol. LVII, no. 1, pp. 26-35, Enero-Julio, 2017. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1690-46482017000100003&script=sci\\_arttext](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1690-46482017000100003&script=sci_arttext)
- [22] M.G. Sáinz, *et al.*, "Quality of Water in Carboys in Greater Mexico City", *International Research*

- Journal of Advanced Engineering and Science*, vol. 6, no. 4, pp. 67-71, 2021. Disponible en: <http://irjaes.com/wp-content/uploads/2021/10/IRJAES-V6N4P73Y21.pdf>
- [23] Secretaría de Salud, "Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2002. Productos y Servicios, Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias"
- [24] P. Bonilla y E. Ramírez, "Amibas de vida libre patógenas y oportunistas", En *Parasitología médica*, M. A. Becerril, Ed. McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. De C.V.: México, 2014, pp. 37-50.
- [25] G.S. Visvesvara, "Pathogenic and Opportunistic Free-living Amoebae: Agents of Human and Animal Disease", In: J. Farrar, N. J.White, P. J. Hotez, T. Junghans, Lallod, G Kang, Ed. China, 2014, pp. 683-691, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5101-2.00051-0>
- [26] B. Rayamajhee, D. Subedi, H.K. Peguda, M.D. Willcox, F.L. Henriquez and N. Carnt, "A Systematic Review of Intracellular Microorganisms within *Acanthamoeba* to Understand Potential Impact for Infection", *Pathogens*, vol. 10 no. 225, pp. 2021. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020225>
- [27] F. Rivera, M. Galván, E. Robles, P. Leal, L. González and A.M. Lacy, "Bottled mineral waters polluted by protozoa in Mexico", *Journal of Protozoology*, vol. 28 no. 1, pp. 54-56, February, 1981. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1981.tb02803.x>
- [28] V.J. Maschio, *et al.*, "*Acanthamoeba* T4, T5 and T11 isolated from mineral water bottles in Southern Brazil", *Current Microbiology*, vol. 70, pp. 6-9, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0676-7>
- [29] F.C. Page, *A new key to Freshwater and soil Gymnamoebae with instructions for culture*, Cumbria: *Ambleside: Freshwater Biological Association*, 1988. [https://doi.org/10.1016/S0003-9365\(89\)80039-9](https://doi.org/10.1016/S0003-9365(89)80039-9)
- [30] J.J. Lee, S.H. Huntner, and E.C. Bovee, Eds., *An Illustrated guide to the protozoa*, 2nd ed. Vol. 1–2. Society of Protozoologists, 2000.
- [31] APHA, AWWA, WPCF, *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 22<sup>a</sup>. Joint Editorial Board. Washington, DC. 2012.
- [32] A.M Gutiérrez-Álvarez, Y.L. Babativa y I. Lozano, "Presentación de datos", *Revista Ciencias de la Salud*, vol. 2 no. 1 pp. 65-73, Enero/Junio, 2004. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-72732004000100011&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-72732004000100011&lng=en&tlng=es)
- [33] E. Ramírez, E. Robles, M.G. Sainz, R. Ayala, y E. Campoy, "Calidad Microbiológica del Acuífero de Zacatepec", *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, vol. 25, no.4, pp. 247–255, 2009. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37012013005>
- [34] E. Ramírez, E. Robles, M.E. González, M.E. Martínez, "Microbiological and Physicochemical Quality of Well Water Used as a Source of Public Supply", *Air, Soil and Water Research*, vol. 3, pp. 105–112, December, 2010. <https://doi.org/10.4137/aswr.s4823>
- [35] P. Bonilla-Lemus, A.S. Caballero-Villegas, J. Carmona-Jiménez and A. Lugo-Vázquez, "Occurrence of free-living amoebae in streams of the Mexico Basin", *Experimental Parasitology*, vol. 145, pp. 28-33, November, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.07.001>
- [36] E. Ramírez, E. Robles, M.E. Martinez, M.G. Sáinz, B. Martinez, B. Rivas and A. Rocha, "Distribution of free-living amoebae in springs in Morelos, Mexico", *Global Advanced Research Journal of Microbiology*, vol. 5, no. 5, pp. 57- 67, August, 2016.
- [37] D. Bass, *et al.*, "Coprophilic amoebae and flagellates, including *Guttulinopsis*, *Rosculus* and *Helkesimastix*, characterize a divergent and diverse rhizarian radiation and contribute to a large diversity of faecal-associated protists", *Environmental Microbiology*, vol. 18, no. 5, pp. 1604–1619, 2016. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13235>
- [38] J. Lorenzo-Morales, *et al.*, "Early diagnosis of amoebic keratitis due to a mixed infection with *Acanthamoeba* and *Hartmannella*", *Parasitology Research*, vol. 102, no. 1, pp. 167–169, September, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0754-x>
- [39] P. Scheid, "*Vermamoeba vermiformis*- A Free-Living

Amoeba with Public Health and Environmental Health Significance", *The Open Parasitology Journal*, vol. 7 no. 1, pp. 6-14, April, 2019. DOI: 10.2174/1874421401907010040

- [40] A. González-Robles, L. Salazar-Villatoro, M. Omaña-Molina, J. Lorenzo-Morales and A. Martínez-Palomo, "Acanthamoeba royreba: Morphological features and in vitro cytopathic effect", *Experimental Parasitology*, vol. 133, no. 4, pp. 369–375, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.01.011>
- [41] E. Robles, *et al.*, "Microbiological and Physico-chemical Study of Swimming Pool Water", *International Research Journal of Advanced Engineering and Science*, vol. 4, no. 4, pp. 15–20, 2019. Disponible en: <http://irjaes.com/wp-content/uploads/2020/10/IRJAES-V4N3P396Y19.pdf>
- [42] M. Cabello-Vílchez, "Acanthamoeba spp. un agente oportunista en infecciones humanas", *Revista de Investigación de la Universidad Norbert Wiener*, vol. 4, no.1, pp. 11–32, Septiembre, 2019. <https://doi.org/10.37768/unw.rinv.04.01.002>