



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

“Evaluación de riesgo de infección asociada a la contaminación de agua de suministro
con bacterias emergentes resistentes”

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN INGENIERÍA

PRESENTA:
IQ. Lidia Alicia López Vega

TUTOR PRINCIPAL:
M. en C. María Inés Josefina Navarro González, II

COMITÉ TUTOR:
Dr. Enrique César Valdez, FI
Dra. María Teresa Orta Ledesma, II
Dra. Alejandra Martín Domínguez, IMTA
M. en C. Gloria Moreno Rodríguez, II

MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO, ENERO DE 2019

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dr. Enrique César Valdez.

Secretario: Dra. María Teresa Orta Ledesma

Vocal 1: Dra. Alejandra Martín Domínguez

Vocal 2: M. en C. Gloria Moreno Rodríguez

Vocal 3: M. en C. María Inés Josefina Navarro González

Lugar donde se realizó la tesis: Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Instituto de Ingeniería, UNAM.

Tutor de tesis: M. en C. María Inés Josefina Navarro González

Nombre

Firma

Este trabajo se realizó con apoyo del CONACYT a través del proyecto “**Desinfección eficaz de agua con presencia de bacterias emergentes resistentes (*Vibrio cholerae*, *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium avium*) evaluando las formas viables no cultivables mediante técnicas moleculares**” el cual pertenece al programa de desarrollo científico para atender problemas nacionales 2014, con número de solicitud 247605.



Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental que cuenta con certificación de la calidad ISO 9001:2008 otorgada por el Instituto Mexicano de Normalización y Certificación, A.C. (IMNC) con registro RSGC 960 de fecha 11 de enero de 2016, vigente al 11 de enero de 2019



Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme una vez más la oportunidad de aprender dentro de sus aulas, su generosidad es inmensa.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por brindarme el apoyo económico necesario para el desarrollo de este proyecto de investigación y la estancia académica en la Universidad de Leeds.

Al Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería por abrirme sus puertas nuevamente para continuar con mi formación académica y por permitirme llevar a cabo la experimentación necesaria para elaborar la presente tesis.

A la Dra. María Teresa Orta Ledesma por permitirme formar parte de su grupo de trabajo y brindarme lo necesario para desarrollar la presente tesis.

A la maestra María Inés Josefina Navarro González por brindarme su asesoría técnica, su gran apoyo, su buen consejo y su amistad durante toda la maestría.

A la maestra Roxana Fabiola Martínez Navarro por su apoyo técnico y compañía en el laboratorio.

Dedicatorias

A mi madre Alicia por darme la vida y enseñarme a vivirla, por todo su apoyo, por su amor infinito... nunca terminaré de retribuirle y agradecerle todo lo que me ha dado.

A mis padrinos María Antonieta y Ranulfo por estar ahí para mí, a pesar de la distancia, por ser un gran ejemplo a seguir y por sus consejos.

A Alejandra y Jorge por todos estos años de complicidad, diversión, cariño y por ser como una familia para mí.

A Marianne y Axayacatl, han sido un gran apoyo y su amistad es invaluable para mí, espero que sigamos divirtiéndonos por mucho tiempo más.

A Míriam por su gran apoyo durante los meses más difíciles.

A Andrea, Teresa, Erick, Isaac, Anelly y David por hacer mi estancia en el Instituto de Ingeniería algo muy agradable y por su amistad.

A Alejandro por su apoyo, su cariño, su compañía, su paciencia y por devolverme la ilusión en las cosas buenas.

Resumen

Las enfermedades transmitidas a través del agua, o en algunos casos de los alimentos, son riesgos ya establecidos, que a su vez se han asociado con transmisiones ambientales y con la contaminación del agua, del aire o de los alimentos (Haas *et al.*, 1999). El enfoque basado en el riesgo fue adoptado por la OMS en 1999 con el Convenio de Estocolmo, en el cual junto con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés) establecieron las directrices que permiten garantizar la inocuidad en los alimentos y las bebidas.

La “Evaluación Cuantitativa de Riesgos Microbiológicos” (QMRA por sus siglas en inglés) es una evaluación cuantitativa que combina el conocimiento científico sobre la naturaleza de los patógenos, su destino potencial y su transporte a través del ciclo del agua, las rutas de exposición en humanos y los efectos a la salud que pueden resultar de dicha exposición, así como el efecto de las barreras de limpieza (naturales o artificiales) y las medidas de higiene (Haas *et al.*, 2014). El proceso de una QMRA se encuentra conformado por cuatro pasos: formulación del problema, evaluación de la exposición, evaluación de los efectos a la salud y caracterización del riesgo (Castejón E, 2007). Un valor de riesgo aceptable es aquel que presenta una probabilidad de 10^{-4} , lo que significa que puede ocurrir un caso en 10,000 habitantes (Sinclair *et al.*, 2015).

En esta investigación se consideran a las bacterias *V. cholerae* y *H. pylori* como un problema global, pues la primera es el agente causante del cólera, mientras que la segunda se ha reconocido como el agente causante de gastritis e incluso de cáncer gástrico. Para la evaluación de la exposición el escenario de exposición se definió con la población del estado de Hidalgo con un nivel de marginación medio, dividida en niños (menores de 15 años) y adultos, y un consumo promedio de agua de 1.4 y 1.89L, respectivamente. Para evaluar los efectos a la salud por *V. cholerae* se usó el modelo dosis – respuesta Beta – Poisson, mientras que el modelo dosis – respuesta empleado para *H. pylori* fue el modelo Exponencial. La caracterización del riesgo puntual y probabilístico se llevó a cabo en dos segmentos: evaluación del riesgo no vigilado para las bacterias en el estado viable no cultivable (VNC) y la evaluación del riesgo vigilado para las bacterias en el estado viable.

En el caso de *V. cholerae* la evaluación de riesgo no vigilado arrojó que únicamente un escenario para población infantil se encuentra en un nivel de riesgo aceptable; mientras que la evaluación de riesgo vigilado arrojó que sólo un escenario para la población adulta y un escenario para la población infantil se encuentran en un nivel de riesgo aceptable. En el caso de *H. pylori* la evaluación de riesgo no vigilado arrojó que dos escenarios de la población infantil y un escenario de la población adulta se encuentran en un nivel de riesgo aceptable; mientras que la evaluación de riesgo vigilado arrojó que ningún escenario se encuentra en un nivel de riesgo aceptable.

CONTENIDO

CONTENIDO	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Justificación	3
1.2 Objetivos.....	4
1.2.1 Objetivo General.....	4
1.2.2 Objetivos Particulares	4
1.3 Alcances	4
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Evaluación de Riesgo	5
2.2 Evaluación Cuantitativa de Riesgo Microbiológico.....	6
2.3 Formulación del problema.....	7
2.3.1 <i>Vibrio cholerae</i>	7
2.3.2 <i>Helicobacter pylori</i>	8
2.4 Evaluación de la exposición.....	11
2.4.1 <i>Vibrio cholerae</i>	11
2.4.2 <i>Helicobacter pylori</i>	12
2.5 Evaluación de los efectos a la salud	14
2.5.1 <i>Vibrio cholerae</i>	16
2.5.2 <i>Helicobacter pylori</i>	16
2.6 Caracterización del riesgo.....	17
2.6.1 <i>Vibrio cholerae</i>	18
2.6.2 <i>Helicobacter pylori</i>	18
2.7 Tecnologías de Desinfección.....	18
2.7.1 Cloración.....	20
2.7.2 Ozonización	21
2.8 Epidemias de <i>Vibrio cholerae</i> en México	23
3. METODOLOGÍA	27
3.1 Desinfección de bacterias en estado VNC.....	28
3.1.1 <i>Vibrio cholerae</i>	29

3.1.2	<i>Helicobacter pylori</i>	30
3.2	Desinfección de bacterias en estado viable	30
3.2.1	<i>Vibrio cholerae</i>	32
3.2.2	<i>Helicobacter pylori</i>	34
3.3	Evaluación de riesgo.....	35
3.3.1	Población de interés	36
3.3.2	Condiciones socio ambientales de exposición	36
3.3.3	Ingesta de agua	38
3.3.4	Evaluación de la exposición.....	39
3.3.5	Riesgo relacionado a la desinfección.....	40
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1	Resultados de <i>Vibrio cholerae</i>	41
4.1.1	Evaluación de riesgo no vigilado.....	41
4.1.2	Evaluación de riesgo vigilado.....	48
4.2	Resultados de <i>Helicobacter pylori</i>	56
4.2.1	Evaluación de riesgo no vigilado.....	56
4.2.2	Evaluación de riesgo vigilado.....	63
4.3	Discusión de resultados.....	71
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	74
5.1	Conclusiones	74
5.2	Recomendaciones	75
6.	REFERENCIAS.....	76
6.1	Libros	76
6.2	Páginas de Internet.....	76
6.3	Artículos Académicos	77
7.	ANEXOS	80
7.1	Datos socioeconómicos por municipio del estado de Hidalgo	80

1. INTRODUCCIÓN

En esta sección se definen los aspectos generales que se tratan en esta investigación: la justificación, los objetivos y los alcances.

1.1 Justificación

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que tan sólo en el 2012 aproximadamente 12.6 millones de personas perdieron la vida a causa de desarrollar actividades en ambientes poco saludables, esta cantidad de decesos representa casi una cuarta parte del total de muertes que ocurren al rededor del mundo (OMS, 2016a). Específicamente, las enfermedades transmitidas a través del agua son la causa de más de medio millón de muertes por diarrea e innumerables casos de enfermedades gastrointestinales, por lo que dichas enfermedades se han vuelto un tema de interés global (OMS, 2017a). Sin embargo, a pesar de la importancia del problema es difícil monitorear los brotes epidémicos y la información disponible tiende a ser una subestimación de los casos, debido a la falta de sistemas de vigilancia eficientes.

El agua se encuentra relacionada con el desarrollo social debido a su importante influencia sobre la salud, ya que condiciones adecuadas de saneamiento pueden reducir de manera importante las enfermedades infecciosas asociadas a la calidad del recurso. Se estima que la mitad de la población en países en vías de desarrollo como México, se encuentra expuesta a fuentes de agua contaminada (UNESCO, 2003).

A pesar de los esfuerzos de la comunidad científica por controlar las enfermedades en la población, hoy en día continúan apareciendo brotes epidémicos de enfermedades infecciosas o incluso emergen nuevas infecciones, por lo que se han clasificado como enfermedades emergentes y reemergentes. Las enfermedades infecciosas emergentes son las que se presentan por primera vez en una población; por su parte las enfermedades infecciosas reemergentes son las que se presumía habían desaparecido en alguna población pero que en los últimos años incrementaron su incidencia o su alcance geográfico. La bacteria *Helicobacter pylori* ha sido definida como una bacteria emergente, mientras que *Vibrio cholerae* ha sido definida como una bacteria re-emergente (Riverón Corteguera, 2002)

Tan sólo en el 2011 en Haití se reportaron más de 500,000 casos de cólera, de los cuales aproximadamente 7,000 fueron mortales. Este brote de cólera causado por la bacteria *V. cholerae* llegó al continente americano en el 2010 y fue una de las peores epidemias registradas en los últimos años (OPS, 2011a). Por otra parte el panorama para la infección por *H. pylori* tampoco es muy

alentador pues se estima que en países en vías de desarrollo, alrededor del 50% de la población infantil la presenta mientras que en los países desarrollados la tasa llega a tan solo el 10% de su población (Torres *et al.*, 1998).

Por lo tanto, se vuelve prioritario mejorar la calidad del agua, mediante la aplicación de tecnologías de desinfección eficaces, pues las epidemias de enfermedades transmitidas por el agua pueden afectar a numerosas personas.

Las estrategias a desarrollar para preservar la calidad del agua deben estar basadas en objetivos de salud y la satisfacción de los consumidores, para ello es necesario dirigir metodologías en las que se evalúen y controlen los riesgos en la fuente de agua, el control de los tratamientos en múltiples etapas, la desinfección terminal como barrera de seguridad, la distribución y una buena gestión en el abastecimiento.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Analizar el riesgo de infección asociado a la contaminación de agua de suministro con bacterias emergentes resistentes *Vibrio cholerae* y *Helicobacter pylori*.

1.2.2 Objetivos Particulares

- Evaluar el riesgo de infección por *Vibrio cholerae* y *Helicobacter pylori* con base en la metodología de la Organización Mundial de la Salud.
- Seleccionar la ruta de exposición a la bacteria *V. cholerae* durante los episodios de la epidemia en la República Mexicana por medio de información documental.
- Construir escenarios de exposición a la ingesta de *V. cholerae* y *Helicobacter pylori* a partir de condiciones de vulnerabilidad observadas durante la epidemia en la República Mexicana en el 2013.
- Comparar el efecto en la disminución/control de la probabilidad de riesgo de infección al aplicar dos tecnologías de desinfección (cloración y ozonización).

1.3 Alcances

En el presente proyecto se plantea el análisis del riesgo relacionado con la ingestión de las bacterias *H. pylori* y *V. cholerae* en agua de abastecimiento, previo y posterior a la aplicación de dos desinfectantes diferentes: hipoclorito de sodio y ozono.

Al tratarse de un análisis de riesgo, el uso de matrices reales adquiere importancia; sin embargo, este estudio se llevará a cabo en agua tipo II (CE: $<1 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$; Resistividad: $>5 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C ; pH: 6.5; COT: $<30 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), sobre la cual las bacterias serán inoculadas.

Para el desarrollo del análisis de riesgo se consultarán los datos disponibles en la bibliografía sobre las dosis infectivas de ambas bacterias dado que la literatura especializada en el tema no reporta las dosis de *H. pylori* y *V. cholerae* a las que la población mexicana ha estado expuesta durante las diferentes epidemias.

2. MARCO TEÓRICO

En este capítulo se presenta la información necesaria, reportada en la literatura científica, para la construcción de la evaluación cuantitativa de riesgo microbiológico de las bacterias emergentes *H. pylori* y *V. cholerae*; así como de las técnicas de detección y de los procesos de desinfección.

2.1 Evaluación de Riesgo

El peligro es un agente (biológico, físico, químico o radiactivo) capaz de causar daño en la salud pública; por su parte un evento peligroso es un evento que introduce un peligro; mientras que el riesgo es la evaluación de la probabilidad de que un evento peligroso ocurra y la severidad o consecuencia del peligro (Haas *et al.*, 2014). La evaluación del riesgo debe realizarse por un equipo científico multidisciplinario (Haas *et al.*, 1999).

Existen tres vías para llevar a cabo la evaluación del riesgo:

1. Inspección Sanitaria: Es una evaluación visual que se basa en listas estandarizadas que permiten identificar los problemas que puedan conducir a la aparición de peligros en un sistema, lo cual es útil para informar a las autoridades a cargo (Haas *et al.*, 2014).
2. Matriz de Riesgo: Es una evaluación cuantitativa o semicuantitativa de la probabilidad combinada de que ocurra un evento peligroso y de la gravedad de la consecuencia; la cual se determina por medio de un juicio de expertos (Haas *et al.*, 2014).
3. Evaluación Cuantitativa de Riesgos Microbiológicos (QMRA por sus siglas en inglés): Como su nombre lo indica es una evaluación cuantitativa que combina el conocimiento científico sobre la naturaleza de los patógenos, su destino potencial y su transporte a través del ciclo del agua, las rutas de exposición en humanos y los efectos a la salud que pueden resultar de dicha exposición, así como el efecto de las barreras de limpieza (naturales o artificiales) y las medidas de higiene (Haas *et al.*, 2014).

De los tres tipos de evaluación de riesgo mencionados, en la presente investigación se emplea la "Evaluación Cuantitativa de Riesgos Microbiológicos (QMRA)" debido a que la QMRA es un método cuantitativo más preciso que los demás y se enfoca en los efectos a la salud por la exposición a patógenos, además de tomar en cuenta el ciclo del agua.

2.2 Evaluación Cuantitativa de Riesgo Microbiológico

Las enfermedades transmitidas a través del agua, o en algunos casos de los alimentos, son riesgos ya establecidos que a su vez se han asociado con transmisiones ambientales y con la contaminación del agua, del aire o de los alimentos (Haas *et al.*, 1999).

La OMS estima que ocurren más de 800,000 muertes a causa de diarrea, en países tanto de bajos como de medios ingresos, todas asociadas al inadecuado saneamiento, la baja calidad del agua y la escasa limpieza; por lo tanto es importante garantizar la seguridad en los servicios de agua y saneamiento, prestando atención a los peligros microbiológicos en el ciclo del agua (Haas *et al.*, 2014).

El enfoque basado en el riesgo fue adoptado por la OMS en 1999 con el Convenio de Estocolmo, en el cual junto con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés) establecieron las directrices que permiten garantizar la inocuidad en los alimentos y las bebidas.

Existen diversos propósitos para llevar a cabo una evaluación de riesgo enfocada en el suministro de agua potable, entre ellos se encuentran:

- Identificar y evaluar los riesgos críticos a la salud asociados con el suministro de agua.
- Determinar si los peligros a la salud son controlados de manera adecuada.
- Informar de la operación y manejo en el suministro de agua.
- Identificar las mejoras o actualizaciones necesarias para asegurar un suministro de agua potable de calidad.

La QMRA es una metodología que ofrece un procedimiento para usar información científica que permita estimar resultados cuantitativos de los efectos de patógenos sobre la salud humana y así apoyar la gestión y la administración segura del agua, priorizando las acciones correctivas y los esfuerzos en investigación; por lo que durante el desarrollo de una QMRA se debe obtener la mejor información que permita entender la naturaleza de los efectos potenciales de la exposición a los microorganismos, y si no se cuenta con la información completa se debe calcular un error potencial involucrado en el análisis de riesgo (Haas *et al.*, 2014).

Como cualquier método de análisis cuenta con ventajas y desventajas. Las ventajas son que es un enfoque basado en evidencias sólidas, que es objetivo y transparente, además de que proporciona una cuantificación detallada del riesgo. La desventaja es que en ciertas ocasiones existe información limitada sobre los patógenos de estudio o sobre las características de la población expuesta, por lo que si no existen suficientes datos disponibles debe desarrollarse la metodología con base en supuestos, lo que genera alta variabilidad o incertidumbre (Haas *et al.*, 2014).

El proceso de una QMRA se encuentra conformado por cuatro pasos principales: formulación del problema, evaluación de la exposición, evaluación de los efectos a la salud y caracterización del riesgo (Castejón E, 2007). En la Figura 2.1 se muestra un esquema de los pasos que conforman una QMRA.

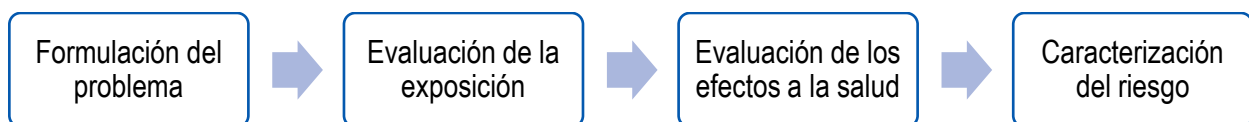


Figura 2.1 Esquema de QMRA

2.3 Formulación del problema

La identificación del peligro es el principal objetivo en esta etapa, el cual consiste en describir los efectos (crónicos o agudos) sobre la salud humana, asociados con algún peligro en particular, incluyendo toxicidad, carcinogenicidad, mutagenicidad y neurotoxicidad (Haas *et al.*, 1999).

Los pasos para llevar a cabo la identificación del peligro son los siguientes (Haas *et al.*, 1999):

1. Identificación del microorganismo causante de la enfermedad de prueba, usando los postulados de Koch.
2. Desarrollar herramientas de diagnóstico que permitan identificar los síntomas y la infección.
3. Entender el proceso de la enfermedad desde la exposición hasta la infección.
4. Identificar las posibles rutas de transmisión.
5. Evaluar los factores de virulencia y los componentes del microorganismo.
6. Usar las herramientas de diagnóstico para evaluar la incidencia y la prevalencia de la enfermedad en la población y para investigar los brotes.
7. Desarrollo de modelos (usualmente en animales) para estudiar el proceso de la enfermedad y una aproximación de tratamiento.
8. Evaluación del papel de sistema inmunológico en el combate a la infección.
9. Estudios epidemiológicos asociados con diversas exposiciones.

Es por eso que se requiere de un equipo interdisciplinario que sea capaz de establecer una evaluación de riesgo robusta y aceptable.

2.3.1 *Vibrio cholerae*.

El origen etimológico de la palabra “cólera” ha estado en discusión durante mucho tiempo; sin embargo, se cree que proviene de las palabras griegas *khole* que significa bilis y *rein* que significa flujo, por lo que su significado se interpretaría como “flujo de bilis” (Colwell, 1996). Lo cual puede ser fácilmente asociado a los efectos que causa esta enfermedad en el cuerpo humano pues el cólera es una enfermedad diarreica aguda y muy virulenta causada por la ingestión de alimentos o agua contaminados con el bacilo *Vibrio cholerae*. Los síntomas pueden manifestarse entre doce horas y cinco días tras la ingestión y puede ser mortal en cuestión de horas si no es tratado adecuadamente (OMS, 2017b).

El agente etiológico responsable del cólera fue identificado en 1883 cuando Robert Koch demostró que el cólera es producido por una bacteria que describió como “bacteria en forma de coma” y posteriormente fue nombrada como *Vibrio cholerae* (Reidl y Klose, 2002).

V. cholerae pertenece a la familia Vibrionaceae, es un bacilo Gram-negativo curvo de 0.5 a 1 μm de longitud, cuenta con un flagelo polar que le provee movilidad, es mesófilico (específicamente entre 30 y 37°C), quimiorganótrofo (para su crecimiento requiere de sodio, carbohidratos, glucosa, nitrógeno, azufre o fósforo) y anaerobio facultativo (Borroto, 1997; Thompson *et al.*, 2004; Romero, R., 2007).

En la Figura 2.2 se observa la bacteria *V. cholerae* por microscopía electrónica de transmisión (barra = 1 μm) (Reidl y Klose, 2002).

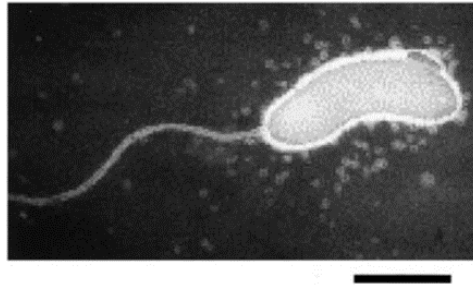


Figura 2.2 Microscopía electrónica de *V. cholerae*. Fuente: Reidl y Klose, 2002.

V. cholerae entra en el cuerpo humano a través de agua o comida contaminada (Thompson *et al.*, 2004). Una vez que la bacteria se encuentra en el huésped coloniza el intestino delgado y produce la enterotoxina CT, responsable de la severa diarrea característica del cólera. Aunque *V. cholerae* se ha analizado muy bien con estudios bioquímicos de ADN, las especies que se han logrado identificar no son homogéneas en cuanto a su potencial patogénico, esto es debido a su nivel de producción de CT y al tipo de antígeno con el que cuentan. La clasificación de los antígenos se divide en dos grupos: el O:1 y el O:139 (también conocido como no – O:1), los cuales actúan como marcadores de potencial epidémico, aunque en realidad el determinante de dicho potencial no se conoce con claridad (Faruque *et al.*, 1998).

Dentro de los serogrupos O:1 y O:139 existen los biotipos Clásico y El Tor respectivamente, esto basado en las propiedades bioquímicas y la susceptibilidad a los bacteriófagos; a su vez cada biotipo se puede subdividir en tres serotipos: Ogawa, Inaba e Hikojima, aunque éste último ha sido reportado en muy raras ocasiones. Al serogrupo O:1 se le han atribuido la mayor parte de las epidemias mundiales, mientras que por su parte al serogrupo O:139 se le ha identificado únicamente como causante de casos esporádicos y pequeños brotes de diarrea e infecciones extraintestinales (Colwell, 1996). En la Figura 2.3 se observa un esquema con la clasificación de *V. cholerae* (Espinoza, 2015).

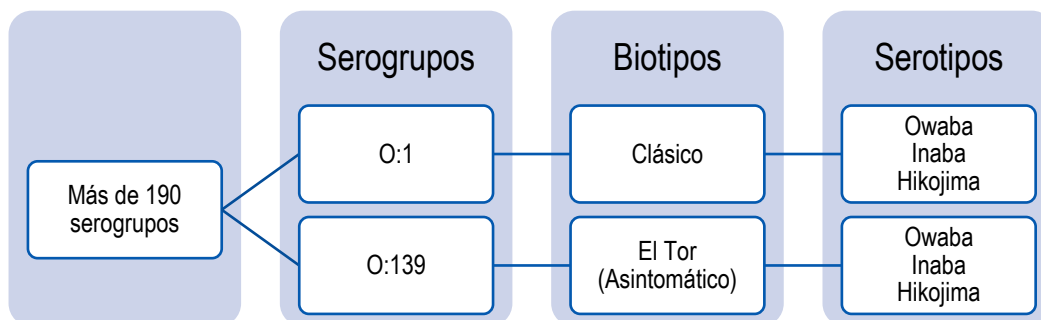


Figura 2.3 Clasificación de *V. cholerae*. Fuente: Espinoza, 2015.

2.3.2 *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una bacteria Gram negativa, que usualmente se encuentra en forma espiral. Dicha bacteria presenta estructuras y características morfológicas como seis flagelos que facilitan su movilidad, producción de ureasa, secreción de fosfolipasa, producción de citotoxinas, así como la habilidad para adherirse a células objetivo; las cuales favorecen su penetración en la mucosa ocasionando colonizaciones en el antro gástrico así como en el duodeno humano (Lopes *et al.*, 2014).

En la Figura 2.4 se observa a la bacteria *H. pylori* por microscopía electrónica (barra = 0.05µm). (Mobley *et al.*, 2001).

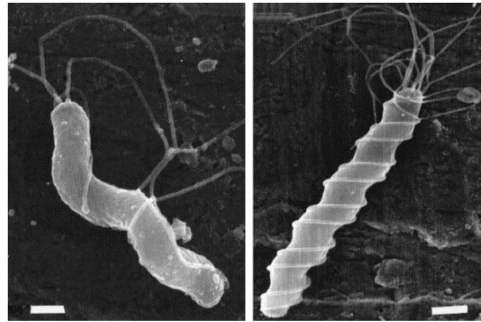


Figura 2.4 Microscopía electrónica de *H. pylori*. Fuente: Mobley *et al.*, 2010.

En el 2005 el premio Nobel en la rama de Medicina fue otorgado a Barry J. Marshall y J. Robin Warren, por el descubrimiento de la bacteria *H. pylori* y su papel en el desarrollo de la inflamación estomacal, mejor conocida como gastritis; así como la ulceración del duodeno, también llamada úlcera péptica. En 1982 el estrés y el estilo de vida eran consideradas las mayores causas del desarrollo de úlceras pépticas, hoy en día existen pruebas fehacientes de que la bacteria *H. pylori* es la causa de más del 90% de las úlceras duodenales y más del 80% de las úlceras gástricas. La relación entre la infección por *H. pylori* y la subsecuente gastritis o úlcera péptica se ha establecido por medio de estudios en personas voluntarias y tratamientos con antibióticos, además de estudios epidemiológicos (The Nobel Prize in Physiology or Medicine, 2005.).

El proceso de infección por *H. pylori* se describe en las siguientes figuras. En la Figura 2.5 se observa cómo la bacteria se implanta en la parte baja del estómago, denominada antro, iniciando así con la infección.

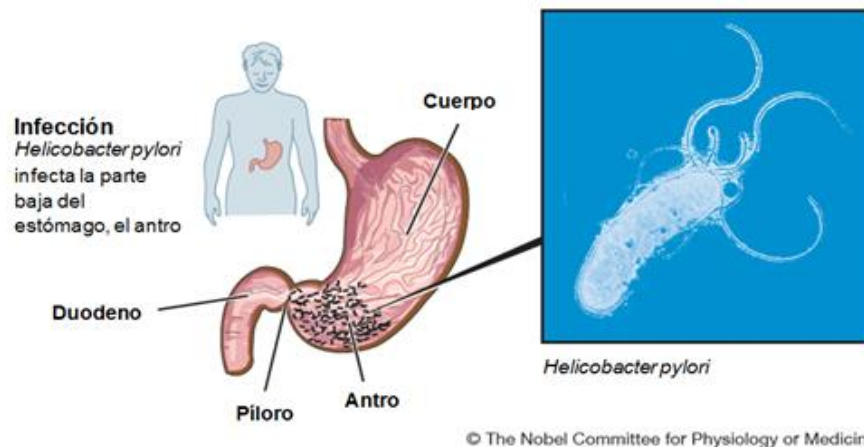


Figura 2.5 Infección estomacal por *H. pylori*. Fuente: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2005.

Mientras que en la Figura 2.6 se observa cómo una vez que la bacteria se ha establecido en el antro, cruza la mucosa protectora del estómago causando la inflamación comúnmente conocida como “gastritis”. La severidad de la inflamación y su localización en el estómago es crucial para detectar el

tipo de enfermedad resultante por infección de *H. pylori*, aunque las úlceras son más comunes en el duodeno que en el estómago mismo.

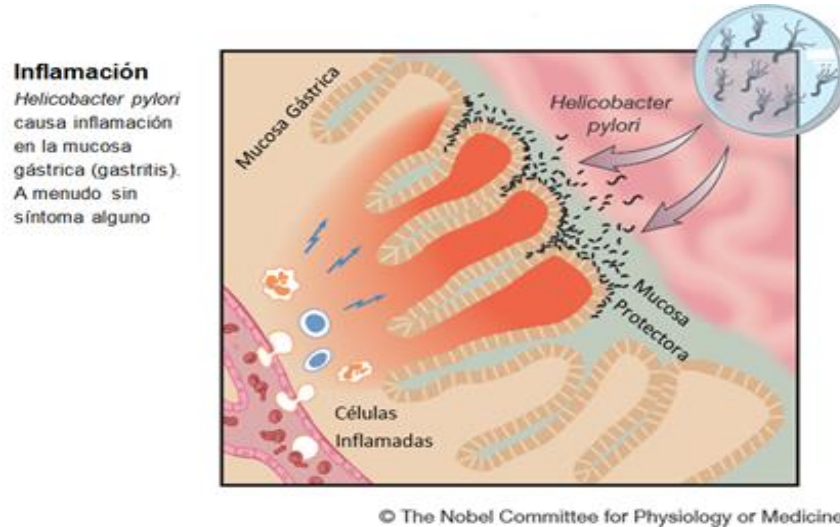


Figura 2.6 Inflamación estomacal por *H. pylori*. Fuente: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2005.

En la Figura 2.7 se observa cómo la inflamación causada por la bacteria es capaz de conducir a daños mucho más severos dentro del estómago o incluso del duodeno, ocasionando ulceraciones y sangrados (The Nobel Prize in Physiology or Medicine, 2005).

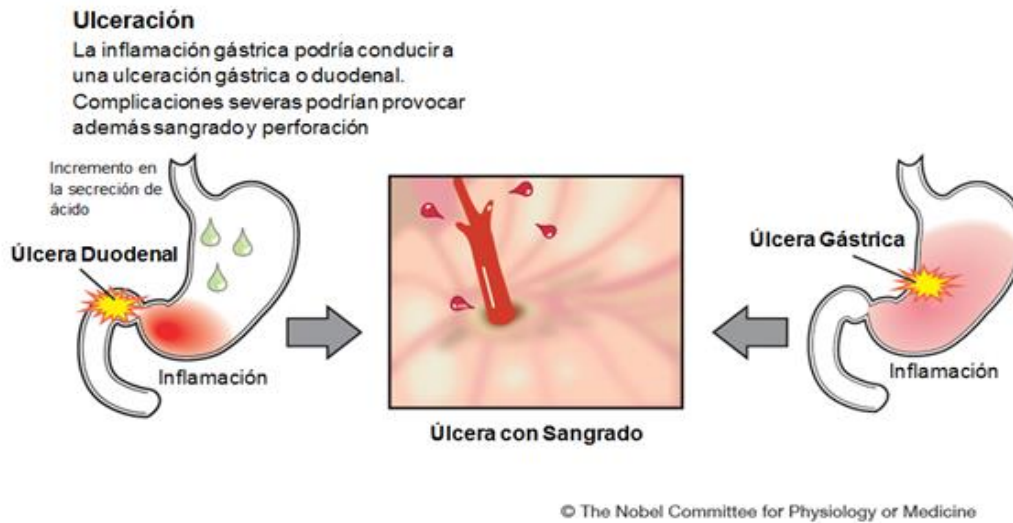


Figura 2.7 Ulceración estomacal por *H. pylori*. Fuente: The Nobel Prize in Physiology or Medicine, 2005.

La inflamación crónica derivada de la infección por la bacteria es la fuente de un carcinoma gástrico, por lo cual la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, IARC por sus siglas en inglés (subdivisión de la OMS), declaró a la bacteria *H. pylori* como un cancerígeno humano del grupo 1, lo que quiere decir que existe evidencia suficiente en humanos para afirmar que existe una relación causal establecida entre el agente, *H. pylori* en este caso, y el cáncer (Cogliano *et al.*, 2010).

2.4 Evaluación de la exposición

El objetivo de este paso es determinar la frecuencia y la magnitud de la exposición a los patógenos o a los eventos peligrosos que previamente fueron definidos en la Identificación del peligro. La evaluación de la exposición involucra dos pasos: los escenarios de exposición y la exposición diaria (Haas *et al.*, 2014).

Escenarios de exposición

Consiste en definir y caracterizar una población de estudio, se establece la concentración de patógenos a la que dicha población se encuentra expuesta, así como la vía de ingestión a través de la cual los patógenos llegan a la población.

Dosis de exposición diaria

Consiste en determinar la exposición diaria dada una concentración de patógenos. Se determina con la Ecuación 2.1 (Teunis *et al.*, 1997):

$$D_d = C * \frac{1}{R} * I * 10^{-DR} * IR \quad [2.1]$$

Dónde:

- D_d = Dosis de exposición diaria
- C = Concentración del organismo patógeno en agua potable
- R = Recuperación del método de detección del organismo patógeno
- I = Fracción de organismos detectados capaces de infectar (viables)
- DR = Eficiencia de remoción o inactivación del proceso de tratamiento
- IR = Tasa diaria de ingestión de agua

La combinación de información sobre los escenarios de exposición y la dosis de exposición diaria permite obtener datos cuantitativos o funciones de distribución estadística.

2.4.1 *Vibrio cholerae*

El cólera se ha propagado por el mundo desde su reservorio original en el Delta del Río Ganges, en la India (OMS, 2017b). La historia moderna del cólera inicia en 1817 con la primera pandemia en el sureste de Asia, a raíz de un brote en la India que se propagó por todo el continente. Posteriormente, a lo largo del siglo XIX ocurrieron seis pandemias de cólera alrededor del mundo, finalizando en 1923 y afectando principalmente a los países ubicados en el hemisferio sur, América del norte y Europa (Reidl y Klose, 2002).

La séptima pandemia es la más amplia de las pandemias de cólera, inició en 1961 en la isla Sulawesi de Indonesia y se extendió hacia otras islas afectando a todo el archipiélago del sudeste asiático; entre 1963 y 1969 se extendió por toda Asia continental llegando a Pakistán, a la Unión Soviética y a la Unión Europea; para 1970 ya había llegado a Medio Oriente y África subsahariana. Esta séptima pandemia llegó incluso a América, iniciando en Perú en enero de 1991 para luego extenderse hacia Ecuador, Colombia y Chile, viajando a lo largo de la costa del Pacífico e ingresando progresivamente en más países del sur y Centroamérica (Faruque *et al.*, 1998).

El cólera puede ser endémico o epidémico; se consideran zonas endémicas las zonas en las que durante los últimos 3 años se han registrado casos confirmados de cólera transmitidos localmente, es

decir que no hayan sido importados de otros sitios; mientras que los brotes o epidemias de cólera se definen por la aparición de al menos un caso confirmado de transmisión local en una zona donde habitualmente no existe cólera (OMS, 2017b).

En las regiones endémicas el cólera se asocia a factores ambientales; en algunas partes de África los brotes se dan durante la época de sequía o después de la época de lluvias; en América los brotes se dan después del fenómeno “El Niño”; mientras que en Bangladesh la temporada de cólera se presenta después de la época de monzones. Además de los cambios climáticos, las variaciones estacionales en la temperatura del agua también han sido asociadas a los brotes de cólera en las diversas regiones endémicas (Codeço, 2001; Colwell, 1996).

Además de los factores ambientales, también existen los factores bióticos y abióticos, los cuales influyen en la viabilidad y transmisibilidad de *V. cholerae*; los factores abióticos son el agua, los nutrientes, la salinidad, la temperatura, la acidez y la luz solar, mientras que los factores bióticos son las plantas acuáticas, el plancton y fauna marina (Borroto, 1997).

En la mayoría de los casos el cólera se introduce en nuevas áreas mediante viajeros infectados. El biotipo El Tor produce una mayor proporción de infecciones leves o subclínicas que el biotipo Clásico y tiene mayor tendencia a persistir en el huésped humano infectado y el medio ambiente, quizás estos factores expliquen en parte su amplia propagación durante la séptima pandemia. En las investigaciones realizadas en las zonas urbanas de la costa de Perú se determinaron los siguientes factores de riesgo para contraer la infección: beber agua sin hervir de los sistemas municipales y pozos superficiales; consumir alimentos y bebidas que expenden vendedores no establecidos, especialmente bebidas con hielo; ingerir alimentos que han estado más de tres horas a temperatura ambiente sin recalentarlos; y beber agua de un recipiente que haya sido tocado por otras personas (Koo *et al.*, 1996).

V. cholerae es una bacteria que habita de manera natural en medios acuáticos como riveras, estuarios y costas; actualmente se reconoce que forma parte del ecosistema microbiano del mar abierto pues las algas, el plancton, los peces, los moluscos y los crustáceos pueden actuar como nicho ecológico (Borroto, 1997; Constantin de Magny *et al.*, 2008).

Recientemente se ha observado que *V. cholerae* puede sobrevivir en ambientes acuáticos por meses o años, en asociación con el zooplancton u otros organismos acuáticos, además de ser capaz de adquirir el estado viable no cultivable siendo indetectable por los medios tradicionales de cultivo. Este descubrimiento sugiere que el medio acuático puede actuar como un reservorio de *V. cholerae* toxigénico (Codeço, 2001).

2.4.2 *Helicobacter pylori*

Dadas las complicaciones que existen para llevar a cabo el aislamiento de la bacteria, se sugiere que el contacto directo persona – persona es el medio más probable de transmisión y aunque el mecanismo exacto de trasmisión de la bacteria no queda aún muy claro, se han propuesto las siguientes rutas: gastro – oral, oral – oral y fecal – oral (Moblely *et al.*, 2001).

En la ruta gastro – oral se sugiere que la presencia de *H. pylori* en el jugo gástrico de los pacientes infectados, tiene la posibilidad de llegar a la cavidad oral por medio del reflujo o vómito, encontrando así un vehículo de transmisión. Aunado a esto se descubrió que en las cercanías de la zona donde un paciente infectado vomitó (0.3m aproximadamente) también existió crecimiento de la bacteria *H. pylori*

incrementando la posibilidad de contagio hacia otros individuos que aún no poseen la infección (Mobley *et al.*, 2001).

Por otra parte, en la ruta oral – oral se ha logrado aislar la bacteria *H. pylori* en placa dental y saliva; sin embargo, los pacientes que mostraron estos resultados son muy pocos teniendo en cuenta que ya poseen la infección en el estómago; es decir, no hay una relación directa entre el hecho de que posean la infección estomacal con el hecho de que también exista la bacteria dentro de la cavidad oral (Mobley *et al.*, 2001).

Mientras tanto en la información relativa a la ruta fecal – oral se han encontrado discrepancias pues, aunque existen evidencias del paso de *H. pylori* a través del intestino, no se tiene comprobada la capacidad de adaptación de la bacteria para lograrlo. Los primeros cultivos exitosos de la bacteria se registraron en 1994 provenientes de heces fecales; sin embargo, debido a diversas condiciones en los pacientes, como la desnutrición que presentaban, los resultados no fueron aceptables. Por lo que se llegó a la conclusión de que los pacientes que presentaban la infección no necesariamente presentaban *H. pylori* viable en sus heces (Mobley *et al.*, 2001).

Por otra parte, la posibilidad de que *H. pylori* pueda ser considerada como una zoonosis (cualquier enfermedad o infección capaz de transmitirse naturalmente desde los animales vertebrados hacia los humanos y viceversa), surgió a raíz de la publicación de estudios epidemiológicos, que mostraron la prevalencia de la infección en trabajadores que se encontraban en contacto directo con carne, en comparación con aquellos que no se encuentran implicados en el manejo de animales o productos derivados de ellos. Desde entonces se han realizado diversos estudios en los cuales se ha concluido que existen diversos animales infectados con la bacteria *H. pylori*, actuando como reservorios de la infección, entre los cuales se encuentran las ovejas, los perros ovejeros (que se encuentran en contacto con ovejas infectadas), los cerdos, los monos Rhesus y los gatos (OMS, 2015c; Mobley *et al.*, 2001).

Otro factor de importancia es la epidemiología de la bacteria *H. pylori*, pues muestra un comportamiento distinto en los países desarrollados en comparación con los países que se encuentran en vías de desarrollo (Mobley *et al.*, 2001). El hacinamiento, el bajo nivel educativo y el bajo nivel socioeconómico son factores de riesgo para la infección; sin embargo, el factor más importante es la edad pues la infección es contraída durante la infancia y prevalece durante la adultez. En los países que se encuentran en vías de desarrollo alrededor del 50% de la población infantil la presenta mientras que en los países desarrollados la tasa llega a tan solo el 10%. En México se estima que el 20% de la población infantil de 1 año de edad, el 50% de la población infantil de 10 años de edad y más del 80% de la población adulta de 25 años de edad, han contraído la infección (Torres *et al.*, 1998).

Aún existen pocos estudios que reportan las condiciones bajo las cuales sobrevive la bacteria; por ejemplo, se ha observado que *H. pylori* es capaz de sobrevivir en agua destilada, agua salina y agua de mar artificial por un período de 1 a 16 días; en medios con pH de entre 5.8 y 6.9; en condiciones microaerofílicas; así como en temperaturas de 37°C. En medios acuosos la bacteria con morfología espiral, inclusive mutilada, puede sobrevivir por un año o más (West *et al.*, 1990).

Se ha encontrado *H. pylori* en el 65% del agua subterránea de Estados Unidos, también ha sido encontrada en pozos de agua, agua municipal y agua tratada de Suecia, además de haber sido localizada en dos comunidades de Canadá (Hegarty *et al.*, 1999; Hultén *et al.*, 1998; McKeown *et al.*, 1999). En México se han realizado estudios en los diversos cuerpos de agua que se encargan de

abastecer a la Ciudad de México de dicho servicio y los resultados muestran que la bacteria *H. pylori* es capaz de sobrevivir tanto en agua residual como en agua superficial (Mazari-Hiriart *et al.*, 2001)

Según los estudios llevados a cabo por Mazari-Hiriart y colaboradores (2001) la bacteria ha sido localizada en algunos de los canales que conducen agua superficial hacia la planta potabilizadora “Los Berros”, la cual forma parte del Sistema Cutzamala; así como en varios canales de Xochimilco, los cuales forman parte de los pozos de la red Sur; además de canales de agua residual como el Río de los Remedios y el Gran Canal.

Aunque dichos estudios no permitieron conocer la cantidad de *H. pylori* presente en los canales y pozos, la sola presencia de la bacteria en estos cuerpos de agua es una situación de gran importancia, pues el agua de los canales contaminados es empleada para irrigación en campos de cultivo, que se encargan de abastecer a la Ciudad de México de vegetales. En canales como los de Xochimilco que es una zona altamente turística, el riesgo es mayor pues las personas se encuentran en contacto directo con el agua contaminada (Mazari-Hiriart *et al.*, 2001).

Otro aspecto importante relacionado con la bacteria *H. pylori* son los estudios que demuestran que puede ser clasificada en dos categorías: una es la forma cultivable (presenta crecimiento y un estado mucho más infeccioso) y la otra es la viable no cultivable o cocoide (presenta un cambio en la morfología y un nulo crecimiento en placa) (Azevedo *et al.*, 2007).

2.5 Evaluación de los efectos a la salud

Es la evaluación cuantitativa de los efectos nocivos a la salud, por medio de modelos dosis – respuesta (funciones matemáticas) cuyo objetivo es determinar la relación entre el nivel de exposición a los patógenos y la probabilidad de que ocurra una consecuencia adversa. Normalmente la evaluación dosis – respuesta se enfoca en los efectos adversos de la infección, que es el proceso más temprano de un patógeno sobre el huésped (Haas *et al.*, 1999).

Aunque los humanos continuamente estamos expuestos a diversos microorganismos en el ambiente, sólo una pequeña parte de ellos son capaces de causar enfermedades o infecciones. Una infección es el proceso a través del cual un microorganismo crece o se multiplica sobre un huésped, y no necesariamente resulta en enfermedad. Cuando una persona está infectada pero no desarrolla signos clínicos de enfermedad, ésta se denomina asintomática; sin embargo, aunque esta persona no esté enferma puede expulsar una gran cantidad de patógenos al ambiente. Por su parte, la habilidad de un organismo para producir una enfermedad sintomática se relaciona con diversos factores, generalmente son el tipo y la fuerza del microorganismo, la edad del huésped y los factores de virulencia. Los patógenos pueden clasificarse como directos u oportunistas, el primero es un microorganismo capaz de producir enfermedad tanto en personas sanas como inmunocomprometidas, mientras que un patógeno oportunista es capaz de producir infección sólo en personas cuya salud se encuentra comprometida. Todos los patógenos requieren un tiempo de incubación, esto es el tiempo que transcurre entre la infección y el desarrollo de los signos clínicos y síntomas (Haas *et al.*, 1999).

El proceso de infección sucede en dos pasos consecutivos: primero el huésped debe ingerir organismos capaces de producir enfermedad, posteriormente algunos de estos organismos mueren mientras que otros se multiplican dentro del huésped; la infección ocurre cuando un número crítico de organismos logra sobrevivir. Las infecciones asociadas con la exposición a patógenos son un riesgo

establecido hace tiempo; sin embargo, está reemergiendo con la resistencia a los antibióticos y los nuevos patógenos que se han identificado.

Existen diversos modelos dosis – respuesta, los cuales involucran los siguientes factores (Haas *et al.*, 1999):

- $D_d =$ dosis diaria
- $P(D_d) =$ predicción de la respuesta a la dosis diaria
- $r =$ parámetro del modelo exponencial
- $N_{50} =$ dosis infecciosa media
- $\beta =$ parámetro beta de los modelos Beta – Poisson
- $\alpha =$ parámetro alfa de los modelos Beta – Poisson
- $F_1 =$ función confluyente hipergeométrica de Kummer
- $q_1, q_2 =$ parámetros de los modelos de Weibull, Logístico y Probit

Modelo exponencial

Supone que la distribución de los organismos en las dosis es aleatoria y que cada organismo tiene la misma probabilidad de sobrevivir. La ecuación que lo describe es la siguiente (Ec. 2.2):

$$P(D_d) = 1 - e^{(-r*d)} \quad [2.2]$$

Además, también toma en cuenta la dosis infectiva media y la describe con la siguiente ecuación (Ec. 2.3):

$$N_{50} = \frac{\ln(0.5)}{-r} \quad [2.3]$$

Modelo Beta – Poisson

A diferencia del modelo exponencial, el modelo Beta – Poisson supone que pueden existir variaciones en la probabilidad de supervivencia del organismo dentro del huésped. La ecuación que describe este modelo es la siguiente (Ec. 2.4):

$$P(D_d) = 1 - \left(1 + \frac{d}{\beta}\right)^{-\alpha} \quad [2.4]$$

Al igual que en el modelo exponencial, también se define una dosis infectiva media dada por la siguiente ecuación (Ec. 2.5):

$$N_{50} = \frac{\beta}{2^{\frac{1}{\alpha}} - 1} \quad [2.5]$$

Integrando la dosis infectiva media en la ecuación que describe el modelo Beta – Poisson se obtiene una nueva ecuación (Ec. 2.6):

$$P(D_d) = 1 - \left[1 + \frac{D_d}{N_{50}} (2^{\frac{1}{\alpha}} - 1)\right]^{-\alpha} \quad [2.6]$$

Modelos empíricos

Tanto el modelo exponencial como el modelo Beta – Poisson fueron desarrollados a partir de consideraciones en los mecanismos biológicos, por lo que también es posible deducir modelos empíricos.

Los modelos empíricos presuponen que la población de huéspedes susceptibles posee una tolerancia intrínseca a los agentes adversos, por lo que la evaluación de la dosis – respuesta es simultáneamente la evaluación de la distribución de la tolerancia en la población susceptible. A su vez la distribución de la tolerancia es probablemente función de la dosis de organismos suministrados.

Existen tres modelos empíricos para determinar la relación dosis – respuesta:

1. Log – Logístico (Ec. 2.7):

$$P(D_d) = \frac{1}{1 + \exp[q_1 - q_2 \ln(D_d)]} \quad [2.7]$$

2. Log – Probit (Ec 2.8):

$$P(D_d) = \Phi\left(\frac{1}{q_2} \ln \frac{D_d}{q_1}\right) \text{ donde: } \Phi(y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^y \exp\left(-\frac{x^2}{2}\right) dx \quad [2.8]$$

3. Weibull (Ec 2.9):

$$P(D_d) = 1 - e(-q_1 D_d^{q_2}) \quad [2.9]$$

2.5.1 *Vibrio cholerae*

Con relación a *V. cholerae*, se han llevado a cabo únicamente dos estudios para determinar el efecto de la infección y de la enfermedad sobre los seres humanos, uno por Hornick *et al.* (1971) y otro por Cash *et al.* (1974), aunque posteriormente Teunis *et al.*, 1996 realizó una recopilación de datos sobre diversas pruebas de dosis – respuesta con patógenos gastrointestinales, reporta los datos obtenidos por Cash *et al.* (1974).

Según Hornick *et al.* (1971) el modelo dosis – respuesta más adecuado para *V. cholerae* fue el modelo Beta – Poisson y determinó que los parámetros N_{50} y α tienen un valor de 6.36×10^8 y 0.198, respectivamente, mientras que la dosis necesaria para enfermar de cólera es de 6.36×10^8 organismos.

En ambos estudios sólo se evaluó la respuesta fisiológica humana a los inóculos, en ningún caso se llevó a cabo algún análisis cuantitativo.

2.5.2 *Helicobacter pylori*

Se han llevado a cabo dos estudios para determinar la dosis infectiva de *H. pylori*, uno en humanos y otro en monos Rhesus.

En el estudio llevado a cabo con monos Rhesus se determinó que el modelo dosis – respuesta más adecuado es el Exponencial con un valor en el parámetro r de 4.27×10^{-5} , mientras que la dosis mínima infectiva de *H. pylori* es una concentración de 10^4 bacterias. Los métodos de detección realizados en este estudio fueron morfología colonial, microscopía y bioquímica (Ryan *et al.*, 2014).

Por su parte el estudio llevado a cabo en humanos determinó que el modelo dosis – respuesta más adecuado, al igual que para los monos Rhesus, es el modelo Exponencial, con un valor en el parámetro r de 3.892×10^{-6} , mientras que la dosis mínima infectiva es de 10^5 bacterias. Los métodos de detección realizados en este estudio fueron evaluación histológica, cultivos microbiológicos y prueba bioquímica de ELISA (Ryan *et al.*, 2014).

En la presente investigación se emplearon los resultados del estudio realizado en monos Rhesus, debido a que estos valores presentan un mejor ajuste estadístico en comparación con los datos obtenidos a partir de las pruebas en humanos.

En ninguno de los dos estudios se llevaron a cabo análisis cuantitativos, únicamente pruebas cualitativas.

2.6 Caracterización del riesgo

Este paso integra la información de la exposición y el modelo dosis – respuesta para estimar la magnitud del problema de salud pública y evaluar la variabilidad e incertidumbre (Haas *et al.*, 1999); sin embargo, se debe tener en cuenta que un QMRA no nos permite conocer la cantidad de muertes, sino que nos brinda la oportunidad de saber si puede ocurrir una muerte asociada a la ingesta de agua contaminada.

Se debe estimar el riesgo de infección anual (RIA) con la siguiente ecuación (2.10):

$$RIA = 1 - [1 - P(D_d)]^{\frac{x}{año}} \quad [2.10]$$

Donde:

- $RIA =$ riesgo de infección anual
- $D_d =$ Dosis diaria
- $P(D_d) =$ Probabilidad de infección diaria
- $\frac{x}{año} =$ días de exposición anuales

Existen dos tipos de caracterizaciones de riesgo: Riesgo Puntual (Figura 2.8) o Riesgo Probabilístico (Figura 2.9). Para obtener un valor de riesgo puntual (constante) se emplean valores discretos, mientras que para obtener un riesgo probabilístico (función estadística) se emplean funciones de probabilidad, ya sea con el parámetro de la concentración de patógenos en el agua o con el parámetro de ingestión diaria de agua.



Figura 2.8 Riesgo puntual

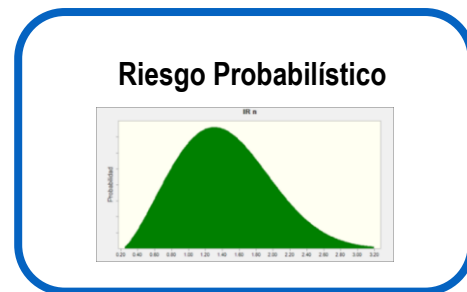


Figura 2.9 Riesgo Probabilístico

2.6.1 *Vibrio cholerae*

A pesar de que el cólera es una enfermedad común en algunas regiones del mundo y de la alta tasa de mortalidad que presenta durante sus brotes epidémicos, la información disponible se limita únicamente a datos cualitativos. Uno de los pocos estudios de riesgo relacionados a *V. cholerae* es el desarrollado por Bowers *et al.* (2005), quien llevó a cabo una evaluación de riesgo en camarones comerciados internacionalmente.

Bowers *et al.* (2005) establecieron que *V. cholerae* O1 y O139 son los únicos agentes causantes de cólera con potencial epidémico e incluso pandémico; que los estudios previos no mencionan datos sobre el número de células de *V. cholerae* presentes en los camarones; sin embargo, para la estimación cuantitativa emplearon una dosis infectiva de 10^6 células; que la enfermedad gastrointestinal típica del cólera (diarrea acuosa) es el punto final de su evaluación de riesgo y que el modelo dosis – respuesta empleado es un Beta – Poisson obtenido de estudios sobre voluntarios; llegando a la conclusión de que el riesgo medio de adquirir cólera por ingestión de camarones puede ir de 0.009 a 0.9 casos anuales dependiendo del país, la evaluación de riesgo también indica que el riesgo medio se encuentra entre 2 y 9 enfermedades por cada mil millones (10^9) de porciones de camarón.

2.6.2 *Helicobacter pylori*

La infección por *H. pylori* se manifiesta mediante gastritis o inflamación estomacal y aunque la bacteria ha sido declarada por la IARC como cancerígeno de grado 1, lo que significa que existen evidencias suficientes en humanos para afirmar que existe una relación causal entre *H. pylori* y el cáncer estomacal, en realidad no existen estudios dosis – respuesta que determinen la relación cuantitativa entre la dosis ingerida de *H. pylori* y el posterior desarrollo de cáncer.

El único estudio existente de evaluación de riesgo de *H. pylori* es el llevado a cabo por Ryan *et al.* (2014), en el cual determina la probabilidad de desarrollar cáncer en personas que ya presentan la infección; sin embargo, dicha probabilidad es calculada con base en estudios epidemiológicos de la población de Estados Unidos y Japón.

En México la vigilancia epidemiológica que realiza la Secretaría de Salud únicamente se enfoca en gastritis y en infecciones intestinales, no existen reportes epidemiológicos sobre el seguimiento de la gastritis y el consecuente desarrollo de cáncer gástrico o incluso únicamente de los casos de cáncer gástrico.

2.7 Tecnologías de Desinfección

La desinfección es la eliminación o inactivación de bacterias, virus y parásitos; es uno de los principales objetivos de los organismos operadores responsables del suministro de agua para consumo humano (Langlais *et al.*, 1991). Ésta es una operación de importancia incuestionable para el suministro de agua potable y constituye una barrera eficaz para numerosos patógenos (EPAI, 2013).

Es importante que las plantas potabilizadoras encargadas del tratamiento de agua se encuentren equipadas con sistemas de desinfección adecuados, pues el principal objetivo final del tratamiento de agua es la remoción o inactivación de los agentes patógenos que se puedan encontrar en el agua a tratar. El proceso de remoción se lleva a cabo por medio de coagulantes químicos, sedimentadores y

membranas de filtración. Mientras que el proceso de inactivación se lleva a cabo por medio de la aplicación de desinfectantes, los cuales actúan de manera distinta tratándose de virus (evitan la formación de placas), bacterias (evitan que se reproduzcan y formen colonias) o protozoos (evitan su multiplicación) (EPAI, 2013).

Se pueden emplear diferentes tecnologías de desinfección para lograr un buen equilibrio entre las demandas de inactivación de patógenos y la generación de subproductos. Existen algunos factores clave que pueden ayudar a determinar el sistema de desinfección idóneo para el proceso de tratamiento, dichos factores son los siguientes (EPAI, 2013):

- La efectividad del desinfectante en la destrucción de los agentes patógenos de interés.
- La calidad del agua a tratar.
- La formación de subproductos indeseables como resultado de la desinfección.
- La capacidad de verificar fácilmente el funcionamiento del sistema de desinfección.
- Los procesos de tratamiento precedentes.
- El costo global.

Las tecnologías de desinfección más empleadas son la cloración, la cloraminación, la ozonización, la radiación ultravioleta y la aplicación de dióxido de cloro. En la Tabla 2.2 se muestra una comparación entre las características y las limitaciones de dichas tecnologías (EPAI, 2013).

Tabla 2.1 Tabla comparativa de tecnologías de desinfección.

Proceso	Ventajas	Limitaciones
Cloración	Capacidad de desinfección definida. Tecnología de dosificación establecida	Genera subproductos indeseables. El sabor y olor pueden afectar su aceptabilidad
Dióxido de cloro	En comparación con el cloro puede ser más efectivo a un pH elevado. Tiene menores problemas de sabor, olor y subproductos.	Es un oxidante más débil que el cloro o el ozono. La dosis está limitada debido a subproductos inorgánicos (cloratos y cloritos)
Cloraminación	No hay generación significativa de subproductos. Presenta menos problemas con el sabor u olor en comparación con el cloro	Comparado con la cloración es considerablemente menos efectivo. Usualmente no es empleado como desinfectante primario.
Radiación ultravioleta	Generalmente es efectivo contra protozoarios, bacterias y la mayoría de virus. No hay implicaciones significativas en generación de subproductos	Menor efectividad contra virus en comparación con el cloro. No genera una residual para la distribución.
Ozonización	Es un fuerte oxidante y un desinfectante altamente efectivo comparado con el cloro. Destruye micro-contaminantes orgánicos	El incremento de carbono orgánico como subproducto puede impactar en la generación de bacterias en la red de distribución. El equipo requerido es complejo, de alto consumo energético y de mayor costo en comparación con la cloración. El residual no es suficiente para la distribución.

Fuente: Adaptado de Water Treatment Manual: Desinfection. EPAI, 2013

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA por sus siglas en inglés) con la finalidad de hacer comparable la efectividad de los desinfectantes, desarrolló un método para determinar la inactivación microbiana y la eficacia del sistema de desinfección en un sistema de agua. Dicho método consiste en el cálculo de un valor denominado “C·t”, donde C corresponde a la concentración del desinfectante (en miligramos por litro), mientras que t corresponde al tiempo de contacto (en minutos). El C·t y por lo tanto el nivel de inactivación se puede extender mediante la aplicación de mayores dosis de desinfectante o el incremento en el tiempo de contacto (EPAI, 2013).

El nivel de desinfección obtenido con el C·t aplicado, generalmente se expresa en términos de “inactivación log” y la inactivación log es una medida del porcentaje de microorganismos que son inactivados durante el proceso de desinfección, la inactivación se mide en una escala logarítmica debido a la reducción en las órdenes de magnitud, por lo que la inactivación log y el porcentaje de desinfección se relacionan como se observa en la Tabla 2.3 (EPAI, 2013). Por ejemplo, para lograr una desinfección del 99.9% se requiere de una inactivación 3 – log.

Tabla 2.2 Relación de inactivación logarítmica y el porcentaje de desinfección

Inactivación log	% de Desinfección
0.0	00.000
1.0	90.000
2.0	99.000
3.0	99.900
4.0	99.990
5.0	99.999

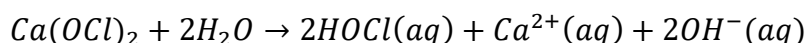
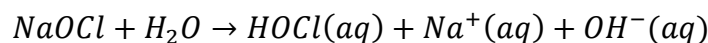
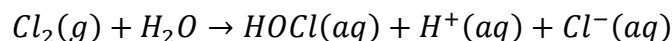
2.7.1 Cloración

Cloración es un término genérico que se le da a las especies activas del hipoclorito de sodio (cloro elemental, sodio e hipoclorito de calcio) que son capaces de actuar como desinfectantes cuando son dosificadas en agua (EPAI, 2013).

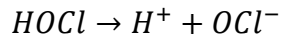
Existen diversas sustancias para llevar a cabo la desinfección con cloro en agua de suministro:

- Gas cloro
- Hipoclorito de sodio
- Hipoclorito de calcio

Independientemente del desinfectante añadido, al entrar en contacto con el agua se disocia y produce compuestos de ácido hipocloroso HOCl (EPAI, 2013).



A su vez el ácido hipocloroso también se disocia para producir el ion hipoclorito, mejor conocido como cloro libre disponible:



El grado de disociación del ácido hipocloroso se encuentra en función del pH y la temperatura. A un pH ácido (bajo) predomina la especie HOCl, mientras que a pH básico (alto) predomina la especie OCl⁻. El ácido hipocloroso es un oxidante más fuerte que el ion hipoclorito, por lo tanto la desinfección es más efectiva en un pH de neutro a ácido (EPAI, 2013).

La desinfección ocurre desde la dosificación inicial y la dispersión del cloro en el flujo. La demanda inicial es la reducción en la concentración de cloro que ocurre instantáneamente debido a la reacción entre el cloro y los contaminantes presentes en el agua, mientras que el cloro libre residual provee de una concentración de cloro que puede ser monitoreada y además es recomendada con propósitos de control (EPAI, 2013).

Como resultado de la desinfección con cloro surgen diversos subproductos, los cuales se dividen en dos grupos:

- a) Compuestos organoclorados: son resultado de la reacción entre el desinfectante y la materia orgánica presente en el agua tratada; los compuestos más conocidos y regulados en agua potable reciben el nombre de trihalometanos (THM's); los THM's son el bromoformo (tribromometano), el dibromoclorometano, el bromodiclorometano y el cloroformo (triclorometano) y su producción depende de diversos factores como el pH, la temperatura, la concentración de cloro libre, el tiempo de contacto así como de la concentración y naturaleza de la materia orgánica oxidable presente en el agua.
- b) Compuestos inorgánicos: son generados durante la producción y almacenamiento del hipoclorito de sodio; estos subproductos son el clorato y el clorito, así como los bromatos. Los cloratos y cloritos se producen debido al decaimiento de las soluciones de hipoclorito, mientras que los bromatos pueden encontrarse en la producción comercial del hipoclorito de sodio o en la sal empleada para la electrólisis en la producción del hipoclorito.

La OMS recomienda diversos valores de C·t para la inactivación del 99% de microorganismos de referencia, como bacterias (0.08 mg·min·L⁻¹ a <2°C y pH 7), virus (12 mg·min·L⁻¹ a <5°C y pH 7-7.5) y quistes de *Giardia* (230 mg·min·L⁻¹ a 0.5°C y pH 7-7.5) (EPAI, 2013).

Para la inactivación de *H. pylori* con cloro se encuentra reportado que se requiere de un C·t_{99.9} de 17 mg·min·L⁻¹ (Baker *et al.*, 2002). Mientras que para la inactivación de *V. cholerae* con cloro se encuentra reportado que se requiere de un C·t₉₉ de 75 mg·min·L⁻¹ (Orta *et al.*, 1996).

2.7.2 Ozonización

El ozono (O₃) es un gas tóxico con un marcado olor irritante. La exposición a concentraciones de entre 0.1 y 1.0 ppm, es capaz de generar dolor de cabeza, ardor en los ojos e irritación de las vías respiratorias. El O₃ es un componente importante de las capas altas de la atmósfera, donde impide el paso de la radiación ultravioleta. El ozono es un agente oxidante más fuerte que la molécula de oxígeno por sí sola, de hecho, oxida todos los metales comunes. En la Figura 2.10 se muestra la estructura y características físicas de la molécula de O₃ (Brown *et al.*, 2004).

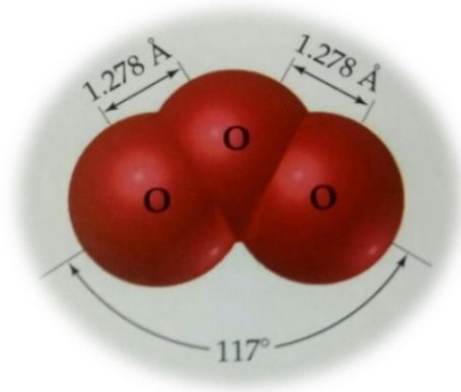


Figura 2.10 Molécula de ozono. Fuente: Brown *et al.*, 2004

La producción de ozono a nivel industrial se lleva a cabo por medio de descargas eléctricas, en un proceso conocido como “Descarga Corona”, capaz de producir altas concentraciones de ozono a un bajo costo. El efecto corona se basa en la producción de una descarga eléctrica en un campo eléctrico de alta energía con oxígeno o bien aire seco; la reacción se inicia cuando los electrones libres de la corona, disocian a las moléculas de oxígeno formando iones; el choque de uno de estos iones con otra molécula de oxígeno forma una molécula de ozono (Román, 2013). En la Figura 2.11 se puede observar un esquema general de la formación de ozono por medio de la descarga corona.

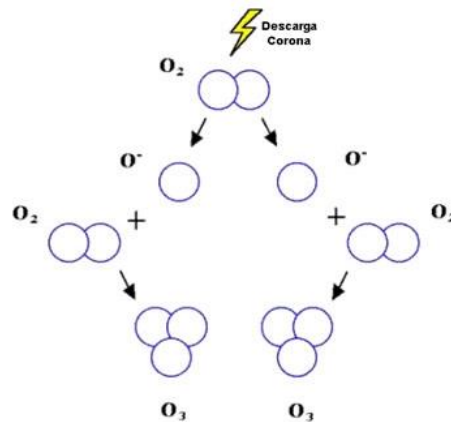


Figura 2.11 Descarga corona para la formación de ozono. Fuente adaptado de:
<https://higieneambiental.com/productos-biocidas-y-equipos/ozono>

A la temperatura y presión del ambiente, el ozono es un gas inestable que se descompone rápidamente para formar nuevamente moléculas de oxígeno; es debido a esta característica que se vuelve imposible almacenarlo o envasarlo, por lo que debe generarse in situ y emplearse al momento (Román, 2013). Por otra parte, la estabilidad del ozono disuelto se ve afectada por diversos parámetros como el pH, la luz ultravioleta, la propia concentración del ozono, así como la concentración de radicales libres (Langlais *et al.*, 1991).

El ozono es capaz de reaccionar con la materia orgánica y producir un rango de subproductos como aldehídos, cetonas y quinonas pues la mineralización completa del material orgánico requiere de altas

dosis y no suelen aplicarse comúnmente; por otra parte, la formación de trihalometanos en el caso del ozono es inexistente. La acción del ozono en la materia orgánica incrementa la fracción biodegradable, la cual puede ser medida como carbono orgánico asimilable (COA) o carbono orgánico biodegradable disuelto (COBD). Además de actuar sobre la materia orgánica, el ozono también actúa sobre los bromuros que se encuentren en el efluente, oxidándolos y produciendo bromatos, los cuales no deben encontrarse en cantidades mayores a $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ según la NOM – 201 – SSA1 – 2015 (Langlais *et al.*, 1991).

El ozono es un oxidante y agente germicida muy fuerte, pues posee varios mecanismos de desinfección, como por ejemplo la destrucción directa de la pared celular. La eficacia de la desinfección depende de la susceptibilidad de los microorganismos a ser tratados, del tiempo de contacto y de la concentración de ozono (EPA, 1999).

La norma europea UNE – EN 1278 establece dosis de ozono para el tratamiento de diversos efluentes, por ejemplo para la desinfección (incluyendo virus y parásitos) recomienda una concentración residual de $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y un tiempo de contacto de 4 a 6 minutos; para la desinfección de aguas tratadas recomienda una dosificación de entre 2 y $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que para la iniciación del tratamiento biológico se recomienda una dosificación de entre 0.2 y 0.3 mg de ozono por miligramo de carbono orgánico total, entre otros procesos.

Por otra parte, la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés) ha establecido algunos valores de $C\cdot t$ para un 99% de inactivación a 20°C de diversos microorganismos de referencia como los quistes de *Giardia* ($0.48 \text{ mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$), los virus ($0.25 \text{ mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$) o los quistes de *Cryptosporidium* ($7.8 \text{ mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$) (EPAI, 2013).

Para la inactivación de *H. pylori* con ozono se encuentra reportado que se requiere de un $C\cdot t_{99}$ de $0.24 \text{ mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ (Baker *et al.*, 2002). Mientras que para la inactivación de *V. cholerae* con ozono se encuentra reportado que se requiere de un $C\cdot t_{99.9}$ de $17 \text{ mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ (Orta *et al.*, 1996).

2.8 Epidemias de *Vibrio cholerae* en México

Como se mencionó en la sección 2.4.1, la séptima pandemia de cólera llegó a América proveniente de Indonesia en 1991 y más específicamente a México en junio de ese mismo año, registrando más de 2500 casos de cólera tan sólo en el año de su llegada. Desde entonces la epidemia prevaleció hasta el 2001 cuando se registró solamente un caso en todo el país, siendo 1995 el año con el mayor número de casos en la república llegando a más de 16000 personas infectadas.

Después del 2001 no se reportó ningún caso de cólera en México; sin embargo, para el 2010 resurgió con un nuevo caso en Sinaloa, continuando con un caso más para el 2011 y dos para el 2012 en ese mismo estado. En el 2013 el número de casos se incrementó llegando hasta 187 en toda la república: tres en la Ciudad de México, 160 en Hidalgo, dos en San Luis Potosí y 13 en Veracruz. En el 2014 el nuevo brote fue controlado registrando una disminución a sólo 14 casos en todo el país: 13 en Hidalgo y uno en Querétaro. Aunque en el 2015 no se registró ningún caso de cólera en México, en el 2016 se confirmó un nuevo caso en el estado de Hidalgo.

Estos datos fueron obtenidos de los Boletines Epidemiológicos emitidos por la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud, en la Tabla 2.4 se muestra la relación de casos anuales por entidad federativa, desde 1991 hasta 2001 y desde 2010 hasta 2016.

Tabla 2.3. Relación de casos anuales por entidad federativa desde 1991 a 2001 y de 2010 a 2016.

	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2010	2011	2012	2013	2014	2016
Aguascalientes	0	0	0	0	5	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Baja California	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Baja California Sur	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Campeche	23	1282	96	82	1719	39	9	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Chiapas	314	449	871	753	1486	355	117	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Chihuahua	0	8	9	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cd. de México	78	238	1137	241	1064	12	194	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Coahuila	0	24	0	0	28	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Colima	10	5	62	8	125	0	70	9	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Durango	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Edo. de México	56	261	1222	319	844	43	315	4	0	0	0	0	0	0	9	0	0
Guanajuato	0	150	312	20	408	0	201	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Guerrero	123	1539	539	201	755	8	72	24	3	1	0	0	0	0	0	0	0
Hidalgo	491	235	113	167	314	0	145	0	0	0	0	0	0	0	160	13	0
Jalisco	1	31	200	20	522	0	50	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Michoacán	89	390	446	63	273	0	90	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Morelos	54	268	625	115	416	1	189	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Nayarit	0	0	0	0	8	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Nuevo León	0	28	105	18	144	1	34	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Oaxaca	67	242	536	131	537	32	9	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Puebla	291	324	1603	131	813	2	302	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Querétaro	0	33	37	66	149	2	49	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Quintana Roo	0	12	53	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
San Luis Potosí	0	130	56	120	104	0	70	3	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Sinaloa	0	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0
Sonora	1	5	3	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tabasco	589	346	153	311	1361	356	13	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tamaulipas	0	459	468	114	549	4	239	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0
Tlaxcala	0	58	210	69	322	3	65	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Veracruz	298	797	1529	1109	1803	41	104	6	0	0	0	0	0	0	13	0	0
Yucatán	202	846	14	0	2263	182	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zacatecas	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	2690	8166	10401	4059	16015	1086	2351	71	9	5	1	1	1	2	187	14	1

Fuente: Boletines Epidemiológicos Anuales SSA de 1991 a 2001 y de 2010 a 2016.

A partir del total de los casos de cólera en México reportados en la Tabla 2.4 se presenta la Figura 2.12, en la cual se muestra la tendencia en la presencia de casos de cólera en el país de 1991 a 2001 y de 2010 a 2016.

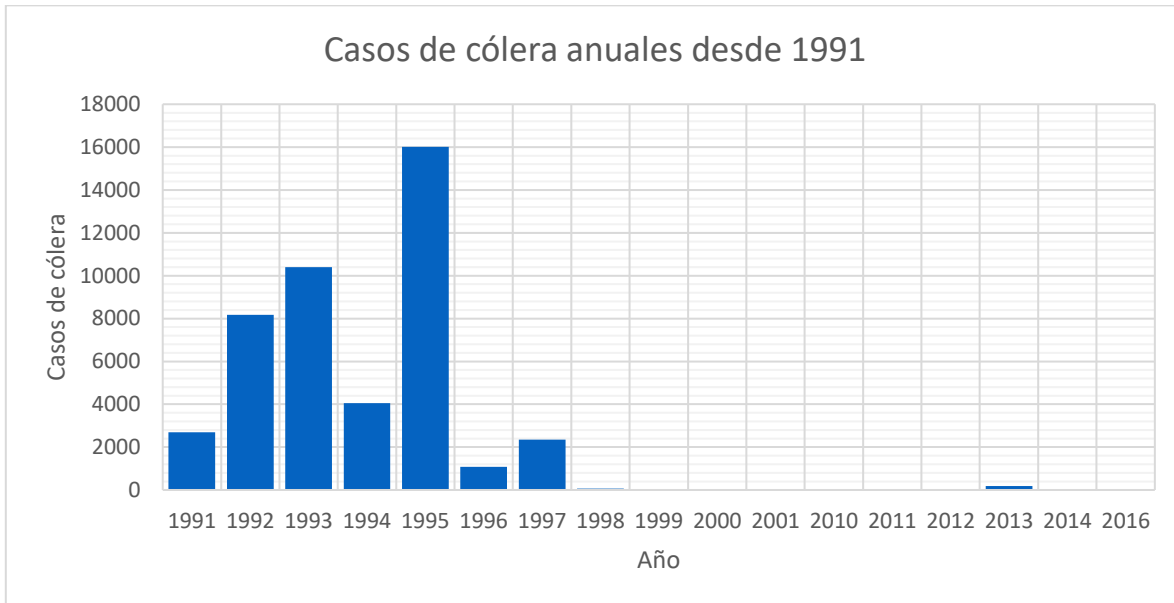


Figura 2.12. Casos anuales de cólera desde 1991 a 2001 y de 2010 a 2016. Fuente: Boletines Epidemiológicos Anuales SSA de 1991 a 2001 y de 2010 a 2016.

Durante el brote de cólera en México de 1991 al 2001 la mayor cantidad de casos se reportaron en Veracruz, mientras que la menor cantidad fueron en Durango (dos casos), Baja California fue el único estado que no reportó ni un solo caso de cólera durante este brote. En la Figura 2.13 se muestran las entidades federativas de la República Mexicana que presentaron más de un 1% de casos durante el brote de 1991 a 2001.

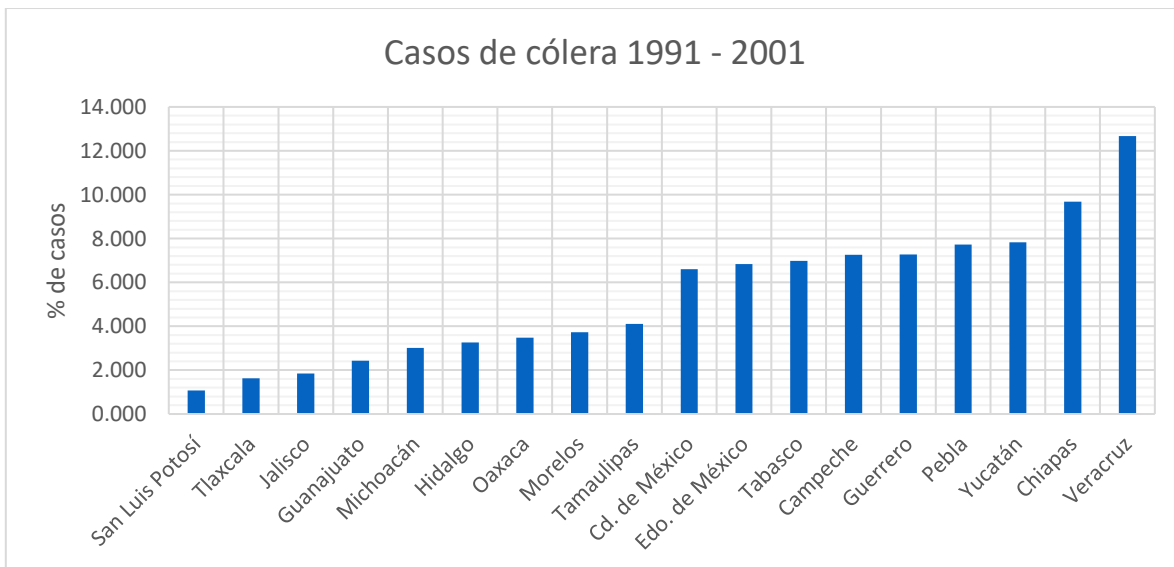


Figura 2.13. Entidades federativas con más de 1% de casos de cólera en el brote de 1991 al 2001. Fuente: Boletines Epidemiológicos Anuales SSA de 1991 a 2001.

Por otra parte, los casos de cólera que se presentaron en el período de 2010 al 2016 se concentraron en el estado de Hidalgo, el cual contó con casi el 85% de los casos ocurridos.

La OMS realizó estudios genéticos en los casos de cólera que se presentaron en México en el 2013 y encontró que las bacterias aisladas en pacientes mexicanos son similares en un 95% a la cepa que se encontraba circulando en Cuba, Haití y República Dominicana durante la epidemia del 2011, y diferentes de la cepa que circuló durante la epidemia de 1991 al 2001 en nuestro país (OMS, 2013).

En Haití, hasta el 30 de noviembre del 2011 el número de casos notificados era de 515,699, de los cuales 279,077 (el 54%) fueron hospitalizados y 6,942 fallecieron. En el 2010 cuando el brote inició, se tenía reportada una tasa de mortalidad del 10% para luego bajar al 7.7% y en el 2011 llegar al 5.1% (El Mundo, 2010; OPS, 2011b).

El Grupo Especial Mundial para el Control del Cólera (GEMCC) fue creado por la Organización Mundial de la Salud y es una red de más de 50 asociados que intervienen en el control mundial de la enfermedad, entre estos se encuentran instituciones académicas, organizaciones no gubernamentales y organizaciones de las naciones unidas. A través de este grupo la OMS divulga directrices técnicas y manuales operativos; apoya la formulación y aplicación de estrategias mundiales que contribuyen a prevenir y controlar el cólera en todo el mundo; proporciona un foro de intercambio técnico, coordinación y cooperación en actividades contra el cólera; entre otras actividades (OMS, 2017b).

El GEMCC editó un manual llamado “Brotos de Cólera. Evaluación de la respuesta a los brotes y mejora de la preparación”, en el cual se establecen diversas dosis de productos clorados dependiendo del uso. Por ejemplo, para desinfectar manos y piel, suelos, vestimenta, equipo y ropa de cama, se recomienda emplear una solución con 0.05% de cloro disponible (100mL de lejía y 9.9L de agua; 1L de lejía al 5% y 9L de agua) (OMS, 2004).

3. METODOLOGÍA

La presente investigación pertenece a un proyecto global denominado “Desinfección eficaz de agua con presencia de bacterias emergentes resistentes (*V. cholerae*, *H. pylori* y *M. avium*) evaluando las formas viables no cultivables mediante técnicas moleculares”, la cual ha sido desarrollada en conjunto con diversos investigadores y estudiantes; y con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), del Instituto de Ingeniería de la UNAM y del Instituto de Nutrición y Ciencias Médicas “Salvador Zubirán” (INCMSZ).

Esta investigación se enfoca en la evaluación de dos riesgos diferentes: en bacterias viables no cultivables (VNC) detectadas a través de métodos microbiológicos moleculares y en bacterias viables detectadas a través de métodos microbiológicos convencionales. Esto debido a que se pretende determinar el riesgo no vigilado (correspondiente a bacterias en estado VNC) y el riesgo vigilado (correspondiente a bacterias en estado viable) (Figura 3.1), con base en los métodos de detección disponibles y los recomendados por la NOM – 127 – SSA – 1994 para determinar la calidad microbiológica del agua potable.

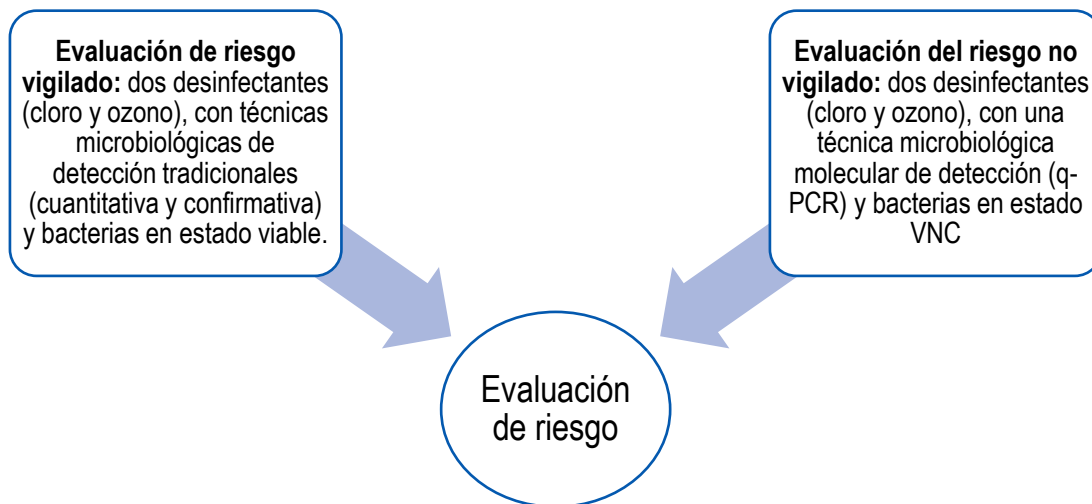


Figura 3.1 Enfoque de la metodología de evaluación de riesgo del estudio.

Para llevar a cabo la evaluación de riesgo no vigilado se disponen de datos de desinfección y detección obtenidos previamente por otro miembro del equipo de investigación del proyecto global. Mientras que,

para llevar a cabo la evaluación de riesgo vigilado, en esta investigación se desarrollará un diseño experimental que permita obtener los datos necesarios tanto de detección como de desinfección.

3.1 Desinfección de bacterias en estado VNC

Los datos utilizados en este estudio fueron obtenidos por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez con cultivos de bacterias *V. cholerae* y *H. pylori* en estado VNC, con dos procesos de desinfección: cloración y ozonización, y el método de detección molecular PCR en tiempo real (Quantitative Polymerase Chain Reaction o q – PCR).

PCR es una técnica de Biología Molecular, que permite sintetizar o amplificar segmentos específicos de ADN una y otra vez, para producir desde cientos hasta millones de copias de esa misma secuencia. Para llevar a cabo PCR se requieren de reactivos especiales: polimerasa termoestable de ADN, nucleótido trifosfato y primers (dos oligonucleótidos con secuencias diferentes pero complementarias al molde original de ADN que se desea amplificar) (Life technologies, 2012). La metodología de PCR se desarrolla en ciclos, a su vez cada ciclo se conforma de tres pasos: Desnaturalización, Alineación y Extensión; en el caso de PCR en tiempo real se emplean colorantes que permiten llevar a cabo el conteo de amplicones (moléculas producto) en cada ciclo (Gilbride, 2013). En la Figura 3.2 se observa un esquema con los pasos que conforman un ciclo de PCR y el crecimiento de los amplicones en cada ciclo.

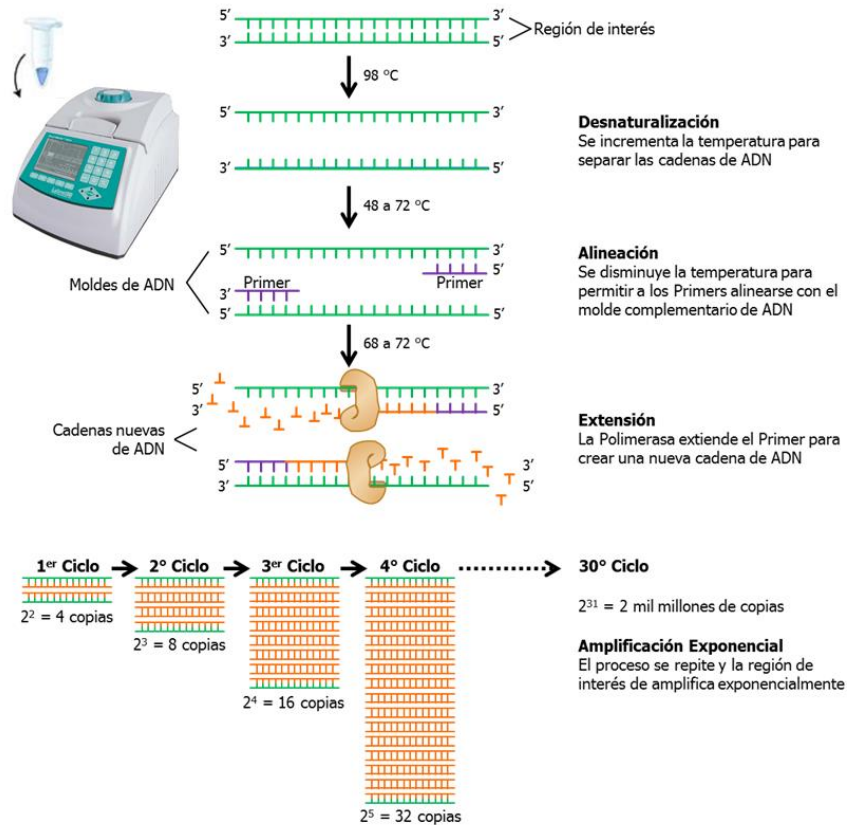


Figura 3.2. Esquema de PCR. Adaptado de:

<http://www.bifi.es/~jsancho/estructuramacromoleculas/21sintesisproteinasyDNA/21sinpepyDNA>

3.1.1 *Vibrio cholerae*

En la Tabla 3.1 se presentan los datos de desinfección con hipoclorito de sodio y detección con q – PCR de la bacteria *V. cholerae* en el estado VNC.

Tabla 3.1 Datos de desinfección con hipoclorito de sodio y detección con q – PCR de *V. cholerae*.

C·t (mg·min·L ⁻¹)	Unidades bacterianas	Coefficiente de variación %CV	Log (N ₀ /N)	% Inactivación
0	1.09E+05	5.58E-03	0.00	0.00
1.5	7.22E+03	1.12E-01	1.18	93.40
3.5	6.27E+02	6.14E-01	2.24	99.43
10	6.45E+02	5.96E-01	2.23	99.41
15	4.86E+01	2.35E+00	3.35	99.96
30	2.47E+01	5.53E+00	3.60	99.97

Fuente: Casasola Rodríguez, 2017

En la Tabla 3.2 se presentan los datos de desinfección con ozono y detección con q – PCR de la bacteria *V. cholerae* en estado VNC.

Tabla 3.2 Datos de desinfección con ozono y detección con q – PCR de *V. cholerae*.

C·t (mg·min·L ⁻¹)	Unidades bacterianas	Coefficiente de variación %CV	Log (N ₀ /N)	% Inactivación
0	7.35E+04	0.63	0.00	0.00
0.5	1.37E+04	0.18	0.73	81.36
1	8.78E+02	0.45	1.92	98.80
1.5	3.45E+02	0.67	2.33	99.53
7.5	1.14E+02	1.16	2.81	99.84
18	3.50E+01	2.94	3.32	99.95

Fuente: Casasola Rodríguez, 2017

3.1.2 *Helicobacter pylori*

En la Tabla 3.3 se presentan los datos de desinfección con hipoclorito de sodio y detección con q – PCR de la bacteria *H. pylori* en estado VNC.

Tabla 3.3 Datos de desinfección con hipoclorito de sodio y detección con q – PCR de *H. pylori*.

C·t (mg·min·L ⁻¹)	Unidades bacterianas	Coefficiente de variación %CV	Log (N ₀ /N)	% Inactivación
0	7.22E+07	1.52	0.00	0.00
0.5	1.57E+06	15.1	1.66	97.82
1	1.55E+06	14.5	1.67	97.86
1.5	1.13E+06	16.7	1.81	98.44
3	1.07E+04	3.38	3.83	99.98

Fuente: Casasola Rodríguez, 2017

En la Tabla 3.4 se presentan los datos de desinfección con ozono y detección con q – PCR de la bacteria *H. pylori* en estado VNC.

Tabla 3.4 Datos de desinfección con ozono y detección con q – PCR de *H. pylori*.

C·t (mg·min·L ⁻¹)	Unidades bacterianas	Coefficiente de variación %CV	Log (N ₀ /N)	% Inactivación
0	9.22E+07	1.80	0.00	0.00
0.2	3.67E+06	3.87	1.40	96.02
0.4	1.45E+05	2.04	2.80	99.84
0.6	1.15E+05	2.33	2.91	99.88
3.2	4.95E+04	1.17	3.27	99.95

Fuente: Casasola Rodríguez, 2017

3.2 Desinfección de bacterias en estado viable

El diseño experimental para la determinación de los datos necesarios en el desarrollo de la evaluación de riesgo vigilado se compone de dos bacterias diferentes: *V. cholerae* y *H. pylori* en estado viable, dos desinfectantes: hipoclorito de sodio y ozono, un medio de agua sintética, detección con un método

cuantitativo (conteo en placa), diferentes métodos confirmativos y diversas réplicas de cada experimento. En la Figura 3.3 se muestra un esquema de las diferentes variables del diseño experimental.

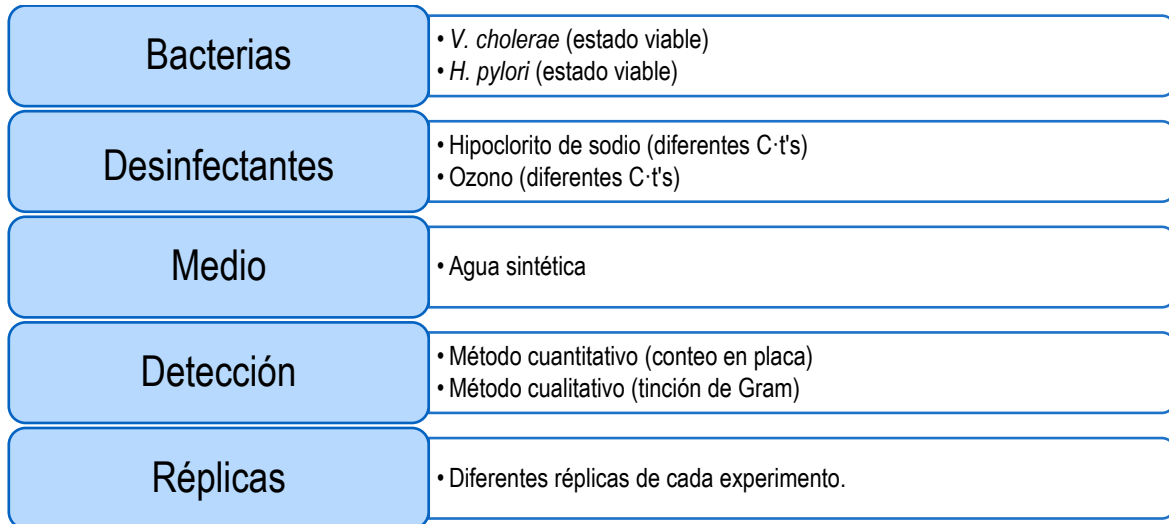


Figura 3.3 Variables del diseño experimental

A diferencia de las pruebas realizadas por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez con un conteo directo de las bacterias en estado VNC por medio de la técnica q – PCR, en este caso el conteo de las bacterias en estado viable se llevó a cabo en placa por medio del método de filtración de membrana; por lo que se requirieron adaptaciones tanto de concentración bacteriana como de concentración de desinfectante.

Para llevar a cabo dichas adaptaciones se realizaron una serie de pruebas en ambas bacterias, que permitieron establecer un rango de condiciones para desarrollar los ensayos completos de desinfección y así obtener los datos necesarios para la evaluación de riesgo, en la Figura 3.4 se observan la serie de pruebas llevadas a cabo.

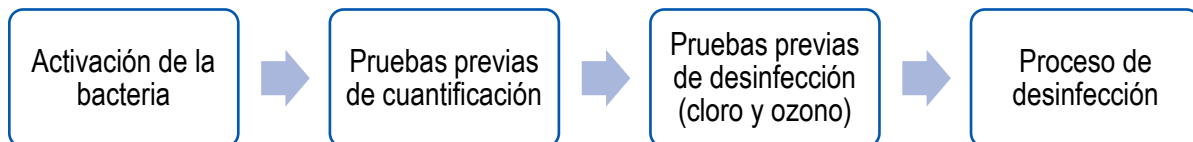


Figura 3.4 Proceso de desinfección

El primer paso fue la activación de la bacteria para asegurarnos de trabajar con la bacteria en un estado completamente viable; el segundo paso fueron las pruebas previas de cuantificación para determinar la dilución para la cual existe un conteo en placa suficiente pero no escaso; el tercer paso fueron las pruebas previas de desinfección para determinar una concentración de desinfectante que permitiera obtener aún conteos en placa; por último, el cuarto paso fue el desarrollo del proceso de desinfección, en el cual se aplicaron diferentes C·t's a la solución bacteriana.

3.2.1 *Vibrio cholerae*

Activación de la bacteria

La cepa de la bacteria *V. cholerae* fue proporcionada por el INCMSZ y por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez. La activación de la cepa se llevó a cabo en diferentes medios de cultivo, con un tiempo de incubación de 48 horas cada uno. Inicialmente se realizó una siembra en caldo de cultivo Luria, a partir de esta siembra se realizó una nueva siembra en agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa) para verificar que la morfología de las colonias fuera la correspondiente a la morfología típica de *V. cholerae* (colonias amarillas de 2 a 3 mm de diámetro, de borde traslúcido), y una vez que se verificó la identidad de *V. cholerae* se procedió a la siembra masiva de la bacteria en agar TSA (Soya Trypticasa). El proceso de activación de la bacteria *V. cholerae* se muestra en la Figura 3.5.

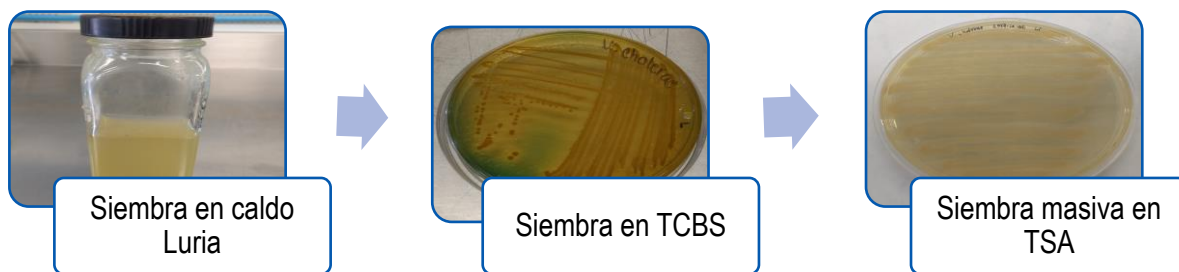


Figura 3.5 Proceso de activación de *V. cholerae*

Pruebas previas de cuantificación

Al tratarse de bacterias en estado viable, el proceso de conteo se llevó a cabo a través del método de filtración de membrana, el cual establece que se deben filtrar 100mL de la solución bacteriana a través de una membrana con un tamaño de poro de 0.45µm en un equipo de filtración al vacío, para después colocar la membrana sobre un medio de cultivo adecuado e incubar el tiempo necesario para el crecimiento de *V. cholerae* (TSA como medio de cultivo y 48h de incubación). En la Figura 3.6 se muestra una prueba de filtración de *V. cholerae* obtenida con una dilución de 10^{-8} .



Figura 3.6 Filtración de dilución 10^{-8} de *V. cholerae*

El conteo arrojó que la dilución 10^{-8} de *V. cholerae* cuenta con 2.5 UFC·mL⁻¹ aproximadamente.

Prueba previa de desinfección

Para llevar a cabo la prueba previa de desinfección se aplicó sobre 99mL de solución bacteriana 10^{10} de *V. cholerae*, 1mL de solución de hipoclorito de sodio con una concentración de $0.22 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cloro libre durante diferentes tiempos de contacto para posteriormente llevar a cabo la filtración de membrana e incubar. En la Figura 3.7 se observa la placa a la que se le aplicó un tiempo de contacto de 1 minuto y se puede observar que no existió ningún crecimiento de *V. cholerae* posterior a la desinfección.

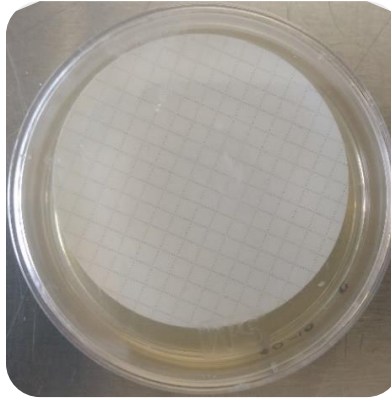


Figura 3.7 Filtración de prueba previa de desinfección de *V. cholerae*

Ensayo de desinfección

Apartir de los resultados de las pruebas previas de cuantificación y desinfección, así como de los parámetros aplicados en la desinfección de bacterias en estado VNC, los nuevos parámetros aplicados a los ensayos de *V. cholerae* en estado viable serán una concentración aproximada de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de hipoclorito de sodio y el ajuste del tiempo adecuado para alcanzar $C\cdot t$'s de 0, 5, 10, 20, 30 y $40 \text{ mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$.

Por su parte, para las pruebas de desinfección con ozono en solución se empleará una concentración de aproximadamente $3.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y el ajuste de tiempo adecuado para alcanzar $C\cdot t$'s de 0, 3.2, 6.6 y $16.9 \text{ mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$.

La desinfección se llevará a cabo, al igual que en la desinfección de bacterias en estado VNC, en diluciones bacterianas 10^{-8} partiendo de una solución bacteriana en escala 3 de McFarland ($9 \times 10^8 \text{ células}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Una vez que se prepara la solución bacteriana de *V. cholerae* se agrega la solución de desinfectante y se deja actuar durante el tiempo establecido para cada $C\cdot t$, transcurrido este tiempo se lleva a cabo la filtración en membrana, para posteriormente incubar dicha membrana en agar TSA a 37°C .

3.2.2 *Helicobacter pylori*

Activación de la bacteria

La cepa de la bacteria *H. pylori* fue proporcionada por el INCMSZ y por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez. La bacteria se encontraba en condiciones de ultra congelación (-80°C).

Para llevar a cabo la descongelación de la bacteria se colocó el tubo Eppendorf con la muestra de *H. pylori* en un baño de agua caliente a 37°C. La reactivación de la bacteria se realizó con una siembra en caldo nutritivo al 50% y se colocó en incubación a 37°C bajo condiciones microaerofílicas (nivel de oxígeno menor al presente en el aire ambiente obtenidas en una cámara de anaerobiosis BD GasPak™ EZ), a continuación se realizaron resiembras e incubación bajo dichas condiciones cada 4 días por 4 veces más; posteriormente a partir del último cultivo de la bacteria en caldo nutritivo se realizó siembra en placa de agar nutritivo, que igualmente se colocó en incubación a 37°C bajo condiciones microaerofílicas, también se realizaron resiembras e incubación a las mismas condiciones cada 4 días por 2 veces más. Por último, a partir del último cultivo de la bacteria en agar nutritivo se realizó siembra en placa de agar BHI (Infusión Cerebro – Corazón) enriquecido con sangre de equino al 5% y con antibiótico (55286 VRE Agar Supplement, Sigma – Aldrich®) (Figura 3.8).

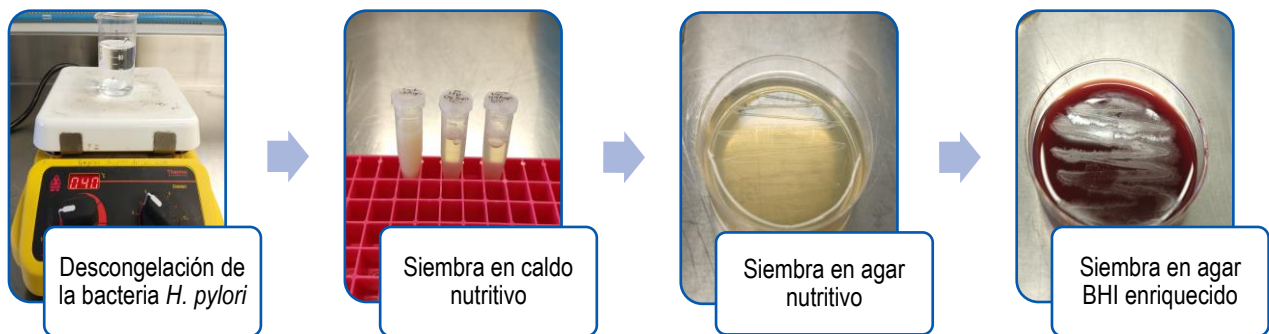


Figura 3.8 Proceso de activación de la bacteria *H. pylori*

Pruebas previas de cuantificación

Al tratarse de bacterias en estado viable, el proceso de conteo se llevó a cabo a través del método de filtración de membrana, el cual establece que se deben filtrar 100mL de la solución bacteriana a través de una membrana con un tamaño de poro de 0.45µm en un equipo de filtración al vacío, para después colocar la membrana sobre un medio de cultivo adecuado e incubar el tiempo necesario para el crecimiento de *H. pylori* (medio de cultivo BHI enriquecido con 5% de sangre de equino y antibióticos y 15h de incubación). En la Figura 3.9 se muestra una prueba de filtración de *H. pylori* realizada con diluciones desde la solución 3 de McFarland hasta 10⁻¹⁰.



Figura 3.9 Filtración en membrana de serie de diluciones de *H. pylori*

El conteo arrojó que la dilución 10^{-8} de *H. pylori* cuenta con $19.4 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ aproximadamente.

Prueba previa de desinfección

Como pruebas previas de desinfección se aplicaron los C-t's empleados por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez para *H. pylori* en estado VNC, es decir se aplicaron C-t's de 0, 0.2, 0.4, 0.6 y $3.2 \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$; sin embargo, no se obtuvo conteo alguno en las placas por lo que estos C-t's fueron reajustados para obtener colonias visibles y contables.

Ensayo de desinfección

A partir de los resultados de las pruebas previas de cuantificación y desinfección, los nuevos parámetros aplicados a los ensayos de *H. pylori* en estado viable se realizarán con una concentración aproximada de $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de hipoclorito de sodio y el ajuste del tiempo adecuado para alcanzar C-t's de 0, 0.5, 1, 1.5 y $3 \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$.

Por su parte para las pruebas de desinfección con ozono en solución se empleará una concentración de aproximadamente $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y el ajuste de tiempo adecuado para alcanzar C-t's de 0, 0.2, 0.4, 0.6 y $3.2 \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$.

La desinfección se llevará a cabo en diluciones bacterianas 10^{-8} partiendo de una solución bacteriana en escala 3 de McFarland ($9 \times 10^8 \text{ células} \cdot \text{mL}^{-1}$), al igual que en la desinfección de bacterias en estado VNC.

Una vez que se prepara solución bacteriana de *H. pylori* se agregará la solución de desinfectante y se deja actuar durante el tiempo establecido para cada C-t, transcurrido este tiempo se lleva a cabo la filtración en membrana, para posteriormente incubar la membrana en agar BHI enriquecido a 37°C .

3.3 Evaluación de riesgo

El análisis de riesgo requiere de la determinación de escenarios de exposición, los cuales indican las características de la población y las condiciones bajo las cuales dicha población entra en contacto con el agente de peligro.

Un valor de riesgo aceptable es aquel que presenta una probabilidad de 10^{-4} , lo que significa que puede ocurrir un caso en 10,000 habitantes (Sinclair *et al.*, 2015).

En esta investigación se define el escenario de exposición de la población del estado de Hidalgo a las bacterias *V. cholerae* y *H. pylori*.

3.3.1 Población de interés

Se determinó la población del estado de Hidalgo como parte del escenario de exposición debido a sus condiciones socioeconómicas, a que fue donde se presentó el último brote de *V. cholerae* en el año 2013 y a que es uno de los estados que cuenta con mayor detalle en la información epidemiológica de ese brote. El total de la población se divide en dos grupos: niños (menores de 15 años) y adultos.

3.3.2 Condiciones socio ambientales de exposición

El estado de Hidalgo ocupa el sexto lugar nacional en marginación con un índice de 48.79%, que corresponde a un nivel de marginación alto; cuenta con 2,665,018 habitantes, de los cuales el 6.03% habita en viviendas sin drenaje ni excusado, el 9.10% habita en viviendas sin agua entubada, el 37.68% habita en viviendas con algún nivel de hacinamiento, el 7.22% habita en viviendas con piso de tierra y el 49.29% registra ingresos menores a dos salarios mínimos (CONAPO, 2010).

En el Anexo 6.1 se presenta un mapa con las regiones del estado y su nivel de marginación, así como una tabla con la información correspondiente a las condiciones socio-ambientales de cada uno de los municipios que conforman el estado de Hidalgo, obtenida del Índice de Marginación por Entidad Federativa y Municipio, elaborado por el Consejo Nacional de Población (CONAPO) en el 2010.

El estudio de riesgo se enfoca en los 16 municipios de Hidalgo en donde se presentaron los brotes de cólera reportados durante la epidemia del 2013; dichos municipios son: Ajacuba, Huejutla de Reyes, Metztitlán, Mineral del Chico, Molango de Escamilla, Pachuca de Soto, San Agustín Metzquititlán, San Agustín Tlaxiaca, San Bartolo Tutotepec, Tianguistengo, Tlanchinol, Tula de Allende, Xochiatipan, Xochicuatlán, Yahualica y Zacualtipán de Ángeles.

En la Tabla 3.5 se muestran el número de casos de cólera reportados por municipio, así como la región a la que pertenecen y el grado de marginación con el que cuentan, como se puede observar la mayoría de los municipios cuentan con un grado de marginación de medio a muy alto.

Tabla 3.5. Municipios de Hidalgo con casos de cólera en la epidemia del año 2013

Casos	Municipio	Región	% Marginación	Grado de marginación
160	Huejutla de Reyes	Huasteca	29.757	Medio
6	Tlanchinol	Sierra Alta	34.977	Alto
6	Xochiatipan	Huasteca	45.172	Muy Alto
4	Tula de Allende	Valle del Mezquital Sur	12.348	Muy Bajo
4	San Bartolo Tutotepec	Sierra Tepehua	47.390	Muy Alto
3	Yahualica	Huasteca	41.921	Muy Alto
3	Tianguistengo	Sierra Alta	36.070	Alto
3	Pachuca de Soto	Altiplano	1.603	Muy Bajo

Casos	Municipio	Región	% Marginación	Grado de marginación
2	Xochicoatlán	Sierra Alta	37.873	Medio
2	Molango de Escamilla	Sierra Alta	29.535	Medio
2	Metztitlán	Sierra Alta	33.008	Alto
1	Zacualtipán de Ángeles	Sierra Alta	20.138	Medio
1	San Agustín Metzquititlán	Sierra Alta	19.238	Medio
1	Mineral del Chico	Sierra Baja	28.793	Medio
1	San Agustín Tlaxiaca	Valle del Mezquital Norte	19.238	Bajo
1	Ajacuba	Valle del Mezquital Sur	17.744	Bajo

Fuente: Espinoza Olguín, 2015 y CONAPO, 2010.

A partir de la tabla del Anexo 7.1 y de la Tabla 3.5, en la Tabla 3.6 se presenta un extracto con los datos socioambientales relevantes correspondientes a los municipios de Hidalgo que presentaron casos de cólera en la epidemia del 2013. Dentro de estos municipios una cantidad considerable de población no cuenta con drenaje ni excusado o con servicio de agua entubada, alrededor de la mitad de ellos viven en condiciones de hacinamiento y perciben menos de dos salarios mínimos, además de que en la mayoría de estos municipios la población se encuentra distribuida en comunidades muy pequeñas, con menos de 5000 habitantes cada una.

Tabla 3.6 Características socioambientales de los municipios del estado de Hidalgo con brotes de cólera en el año 2013

Clave del mpio	Municipio	Población total	% Ocupantes de viviendas sin drenaje ni excusado	% Ocupantes de viviendas sin agua entubada	% Viviendas con algún nivel de hacinamiento	% Ocupantes de viviendas con piso de tierra	% Población en localidades con <5000 habitantes	% Población ocupada con ingresos ≤ 2 SM
5	Ajacuba	17055	6.04	0.34	31.77	4.37	57.52	48.23
28	Huejutla de Reyes	122905	7.65	17.38	47.53	22.63	67.44	55.2
36	San Agustín Metzquititlán	9364	9.75	1.88	39.92	11.96	100	75.62
37	Metztitlán	21623	12.32	15.99	39.77	20.63	100	76.18
38	Mineral del Chico	7968	18.6	14.9	43.4	11.28	100	50.47
42	Molango de Escamilla	11209	3.83	18.23	42.65	14.43	100	65.97
48	Pachuca de Soto	267862	0.37	2.86	23.66	2.5	4.21	32.02

Clave del mpio	Municipio	Población total	% Ocupantes de viviendas sin drenaje ni excusado	% Ocupantes de viviendas sin agua entubada	% Viviendas con algún nivel de hacinamiento	% Ocupantes de viviendas con piso de tierra	% Población en localidades con <5000 habitantes	% Población ocupada con ingresos ≤ 2 SM
52	San Agustín Tlaxiaca	32.057	10.75	5.74	41.34	4.52	67.26	42.67
53	San Bartolo Tutotepec	18137	11.97	33.74	56.85	28.05	100	67.87
68	Tianguistengo	14037	3.43	24.53	52.19	5.83	100	78.46
73	Tlanchinol	36382	1.53	16.24	57.35	26.78	85.71	73.58
76	Tula de Allende	103.919	4.43	9.04	28.6	2.02	38.51	35.87
78	Xochiatipan	19067	12.66	48.95	61.45	19.39	100	85.17
79	Xochicoatlán	7320	2.45	6.75	43.59	12.79	100	86.24
80	Yahualica	23607	4.14	42.91	56.44	9.8	100	85.56
81	Zacualtipán de Ángeles	32437	2.03	5.35	45.45	9.44	28.71	53.42

Fuente: CONAPO, 2010.

3.3.3 Ingesta de agua

La ingesta de agua se determina para dos grupos de población: niños y adultos; a su vez para cada grupo se determinan dos tipos de ingestión: puntual y probabilística. Se cuenta con una base de datos de ingesta de agua, obtenida por medio de la aplicación de encuestas directamente a población rural (Navarro *et al.*, 2011). El valor promedio de la ingesta de agua para niños es de $1.4L \cdot d^{-1}$ y la distribución que mejor se aproxima a los datos reportados es una distribución Gamma (Figura 3.10); mientras que el valor promedio de la ingesta de agua para adultos es de $1.89L \cdot d^{-1}$ y la distribución que mejor se aproxima a los datos reportados es una distribución Normal (Figura 3.11).

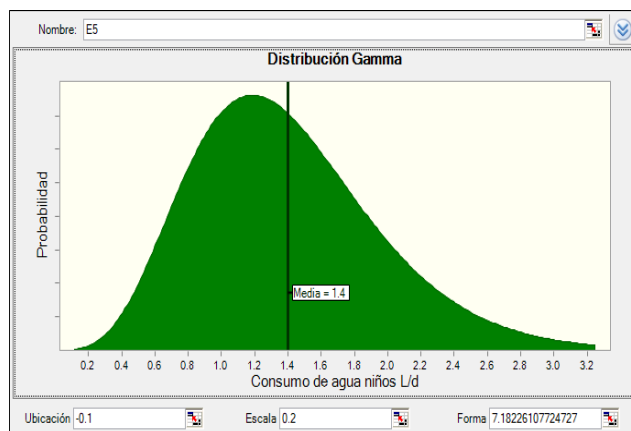


Figura 3.10 Distribución de consumo diario de agua para niños

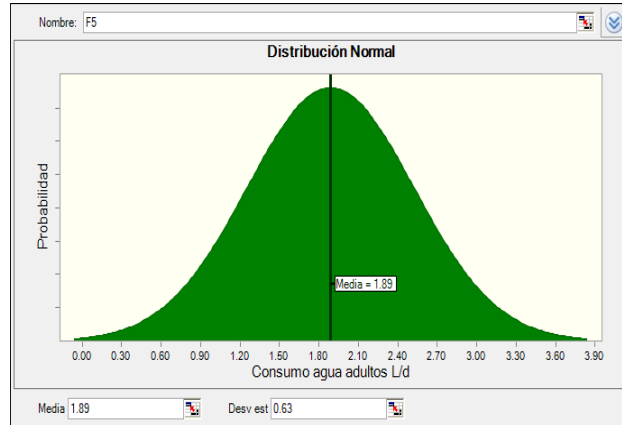


Figura 3.11 Distribución de consumo diario de agua para adultos

3.3.4 Evaluación de la exposición

La dosis de exposición diaria (D_d), en los modelos dosis – respuesta, está dada por la concentración de patógenos y el consumo de agua, entre otros parámetros y se determina mediante la Ecuación 2.1 (Teunis *et al.*, 1997):

$$D_d = C * \frac{1}{R} * I * 10^{-DR} * IR \quad [2.1]$$

Donde:

- D_d = Dosis de exposición diaria ($UFC * d^{-1}$)
- C = Concentración del organismo patógeno en agua potable ($UFC * mL^{-1}$)
- R = Recuperación del método de detección del organismo patógeno
- I = Fracción de organismos infectivos detectados (viables)
- DR = Eficiencia de inactivación del proceso de tratamiento
- IR = Tasa diaria de ingestión de agua ($L * d^{-1}$)

Los valores de infectividad para las bacterias *V. cholerae* y *H. pylori* tanto en estado viable como VNC se presentan en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7 Infectividad de las bacterias en sus dos estados metabólicos

Bacteria	Dosis infectiva	Infectividad	Referencia
<i>V. cholerae</i> viable	10^{11}	50%	Hornick <i>et al.</i> , 1971
<i>V. cholerae</i> VNC	-	0%	Colwell <i>et al.</i> , 1996
<i>H. pylori</i> viable	10^4	33%	Solnick <i>et al.</i> , 2001
<i>H. pylori</i> VNC	-	40%	Cellini <i>et al.</i> , 1994

La dosis de exposición diaria se aplica a los modelos dosis respuesta que serán diferentes en cada caso: para *V. cholerae* se emplea el modelo Beta – Poisson, mientras que para *H. pylori* se emplea el modelo Exponencial; los cuales se describen a continuación.

El modelo dosis – respuesta para *V. cholerae* es el Modelo Beta – Poisson, descrito por la Ecuación 2.6:

$$P(D_d) = 1 - \left[1 + \left(\frac{D_d}{N_{50}} \right) (2^{1/\alpha} - 1) \right]^{-\alpha} \quad [2.6]$$

Donde:

- $D_d =$ Dosis diaria
- $N_{50} =$ Dosis infectiva media
- $\alpha =$ Parámetro alfa del Modelo Beta – Poisson
- $P(D_d) =$ Probabilidad de infección

La probabilidad de contraer cólera según el modelo Beta – Poisson se determina mediante los parámetros N_{50} y α , los cuales según Hornick *et al.* (1971) tienen un valor de 6.36×10^8 y 0.198, respectivamente.

Por su parte el modelo dosis – respuesta para *H. pylori* es el Modelo Exponencial descrito por la Ecuación 2.2:

$$P(D_d) = 1 - e^{-r \cdot D_d} \quad [2.2]$$

Donde:

- $D_d =$ Dosis diaria
- $r =$ Parámetro del Modelo Exponencial
- $P(D_d) =$ Probabilidad de infección

El valor del parámetro r para la infección (gastritis) de *H. pylori* es 3.892×10^{-6} (Ryan *et al.*, 2014).

3.3.5 Riesgo relacionado a la desinfección

La evaluación de riesgo, al igual que los datos requeridos, se llevará a cabo de manera puntual y probabilística. Para el desarrollo de la evaluación de riesgo probabilístico se empleará el software “Crystal Ball”, el cual se basa en hojas de datos para elaborar modelos predictivos y de simulación, que permiten obtener la probabilidad de riesgo, expresada como una función de distribución de probabilidad, así como identificar los factores críticos que afectan el riesgo con un análisis de sensibilidad.

En la Tabla 3.8 se presenta un resumen de los parámetros de los modelos dosis – respuesta a emplear en el análisis de riesgo.

Tabla 3.8 Parámetros de modelos dosis – respuesta para análisis de riesgo.

Modelo D-R	Efectos	Distribución	r	α	N_{50}	Media	DE	Valor p	Referencia
<i>H. pylori</i> en humanos	Gastritis	Exponencial	3.89E-06	-	-	-	3.4	0.98	Ryan <i>et al.</i> , 2014
<i>H. pylori</i> en monos	Gastritis	Exponencial	4.27E-05	-	-	-	0.34	0.99	Ryan <i>et al.</i> , 2014
<i>V. cholerae</i> en humanos	Infección	Beta - Poisson	-	0.508	2.19E+08	-	-	-	Teunis <i>et al.</i> , 1996
<i>V. cholerae</i> en humanos	Enfermedad	Beta - Poisson	-	0.198	6.36E+08	-	-	-	Hornick <i>et al.</i> , 1971

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados experimentales obtenidos a partir de la aplicación de la metodología descrita en la sección 3.2, así como las evaluaciones de riesgo vigilado y no vigilado para las bacterias *V. cholerae* y *H. pylori* en estado viable y VNC mediante la ejecución del software Crystal Ball.

4.1 Resultados de *Vibrio cholerae*

4.1.1 Evaluación de riesgo no vigilado

En el caso de la evaluación de riesgo no vigilado de la bacteria *V. cholerae* en estado VNC, los datos de desinfección fueron proporcionados por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez y se encuentran reportados en la Sección 3.1.1.

Con los escenarios de exposición definidos en función del índice de marginación con el que cuentan cada uno de los municipios del estado de Hidalgo que presentaron casos de cólera en el año 2013, se determinó la probabilidad diaria promedio de cólera, en la Tabla 4.1 se muestran los resultados de dicha probabilidad y se puede observar que el valor de riesgo aceptable (10^{-4}) únicamente se alcanza para la población con un índice de marginación “muy bajo y bajo” cuando se encuentra expuesta a concentraciones bacterianas menores a $5.64E+02$ unidades- mL^{-1} , lo que significa que la población ubicada en niveles de marginación media, alta y muy alta se encuentran en niveles de riesgo inaceptables si el agua no es tratada y desinfectada apropiadamente.

Tabla 4.1 Probabilidad de riesgo puntual por exposición a *V. cholerae* en estado VNC

<i>V. cholerae</i> VNC (unidades·mL ⁻¹)	Probabilidad diaria promedio de cólera				
	Marginación muy baja y baja	Marginación media	Marginación media (niños)	Marginación alta	Marginación muy alta
5.47E+05	7.82E-02	3.85E-01	3.64E-01	4.98E-01	5.42E-01
3.67E+05	5.64E-02	3.40E-01	3.18E-01	4.58E-01	5.06E-01
6.86E+04	1.22E-02	1.55E-01	1.37E-01	2.72E-01	3.27E-01
3.61E+04	6.51E-03	1.00E-01	8.68E-02	2.00E-01	2.53E-01
4.37E+03	8.02E-04	1.61E-02	1.34E-02	4.35E-02	6.53E-02
3.23E+03	5.93E-04	1.20E-02	1.00E-02	3.32E-02	5.06E-02
3.13E+03	5.76E-04	1.17E-02	9.71E-03	3.23E-02	4.94E-02
1.71E+03	3.15E-04	6.49E-03	5.38E-03	1.85E-02	2.88E-02
5.64E+02	1.04E-04	2.17E-03	1.79E-03	6.32E-03	1.01E-02
2.43E+02	4.47E-05	9.37E-04	7.74E-04	2.75E-03	4.41E-03
1.70E+02	3.13E-05	6.56E-04	5.42E-04	1.93E-03	3.10E-03
1.37E+02	2.52E-05	5.29E-04	4.37E-04	1.56E-03	2.50E-03

Para evaluar el efecto de los procesos de desinfección con cloro y ozono sobre la probabilidad diaria de contraer cólera, se emplearon los datos de eficiencia de inactivación de la bacteria para cada uno de los valores de C·t (proporcionados por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez y reportados en la sección 3.1) aplicados en la población del estado de Hidalgo con un índice de marginación medio. En la Figura 4.1 se observa la diferencia entre la inactivación alcanzada por el hipoclorito de sodio y el ozono, claramente se puede notar que el ozono es mucho más efectivo que el hipoclorito de sodio al alcanzar mayores inactivaciones a menores valores de C·t.

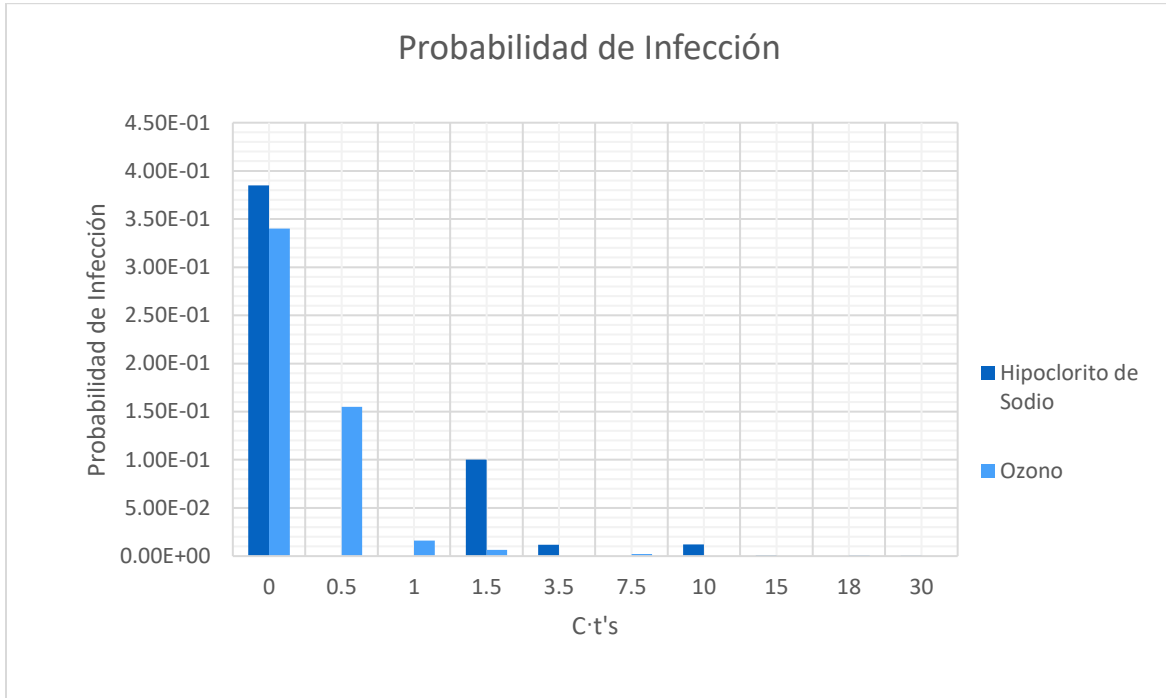


Figura 4.1 Probabilidad de cólera por *V. cholerae* vs inactivación con hipoclorito de sodio y ozono.

Colwell *et al.* (1996) reporta que la bacteria *V. cholerae* en estado VNC no posee infectividad alguna, es decir que no causa cólera; sino que emplea al huésped para recuperar su viabilidad y posteriormente volver al ambiente a través de las heces de dicho huésped. Sin embargo, es importante determinar el riesgo de la infección asociada al consumo de la bacteria *V. cholerae* por lo que se llevó a cabo un análisis de riesgo tomando en cuenta una infectividad del 100% que corresponde al escenario más desfavorable de exposición. Para determinar el riesgo probabilístico de *V. cholerae* se emplearon todos los valores y funciones mostrados en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2 Parámetros para el desarrollo de evaluación de riesgo de cólera por *V. cholerae*

Tasa promedio de ingestión de agua:	Niños: 1.4L Adultos: 1.84L
Distribución de ingestión de agua:	Niños: Gamma Adultos: Normal
Modelo dosis – respuesta:	Beta – Poisson $P(D_d) = 1 - \left[1 + \frac{D_d}{N_{50}} (2^{\frac{1}{\alpha}} - 1)\right]^{-\alpha}$
Parámetro alfa (α):	0.198
Dosis infectiva media (N_{50}):	6.36E+08
Nivel de marginación:	Media (0.21)

Los cálculos de riesgo con el software Crystal Ball se llevaron a cabo para tres diferentes dosis de exposición bacteriana: baja ($5E+01 - 4E+02$), media ($4E+02 - 8E+02$) y alta ($8E+02 - 1.5E+03$), para un grado de marginación media en la población, así como para dos grupos de personas: niños y adultos (diferente consumo de agua), además de que el software trabajó con 10,000 iteraciones y con un 95% de confianza. Cabe mencionar que el nivel de riesgo aceptable es de $1E-04$ lo que equivale a un caso de cólera en 10,000 habitantes.

Cuando un niño se encuentra expuesto a un rango bajo de bacterias con una cantidad de hasta $4E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $1.52E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $1.44E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presente al menos un caso de cólera en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presente al menos un caso de cólera en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.2 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo para una exposición baja en la población infantil con un grado de marginación medio.

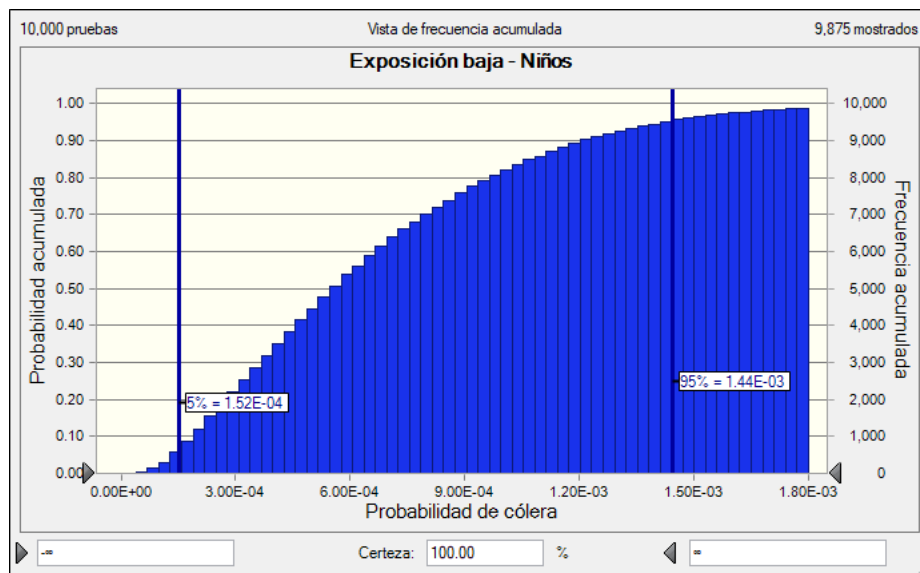


Figura 4.2 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo con exposición baja en la población infantil.

Mientras que cuando la población infantil se encuentra expuesta a un rango medio de bacterias con una cantidad de hasta $8E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $6.94E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $3.23E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos 6 casos de cólera en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos 3 casos de cólera en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.3 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo para una exposición media en la población infantil con un grado de marginación medio.

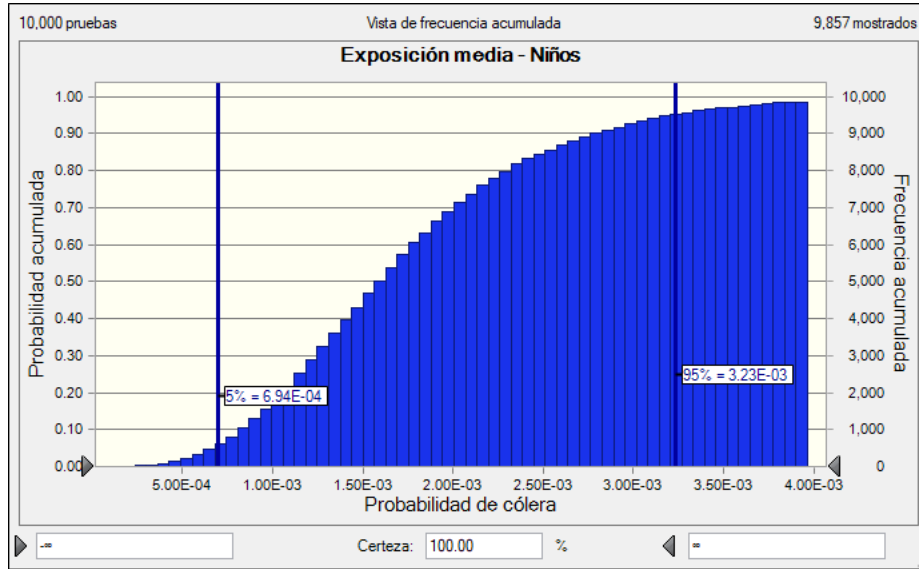


Figura 4.3 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo con exposición media en la población infantil.

En el caso de la población infantil expuesta a un rango alto de bacterias con una cantidad de hasta 1.5×10^3 UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de 1.35×10^{-3} y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de 6.15×10^{-3} . Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presente al menos un caso de cólera en una población de 1,000 infantes; así como una probabilidad del 95% que se presenten al menos seis casos de cólera en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.4 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo para una exposición media en la población infantil con un grado de marginación medio.

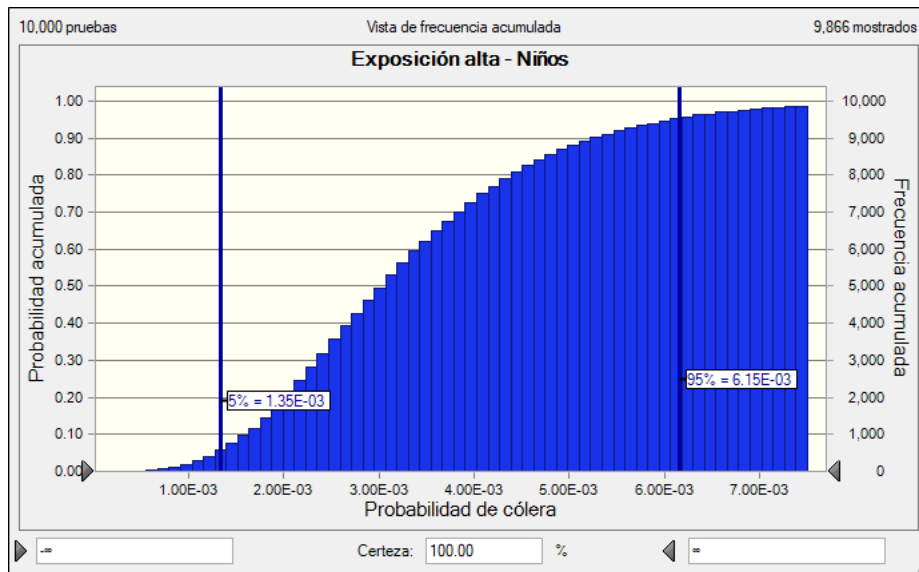


Figura 4.4 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo con exposición alta en la población infantil.

Por otra parte, cuando un adulto se encuentra expuesto a un rango bajo de bacterias con una cantidad de hasta $4E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $2.13E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $1.88E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos dos casos de cólera en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presente al menos un caso de cólera en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.5 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo para una exposición baja en la población adulta con un grado de marginación medio.

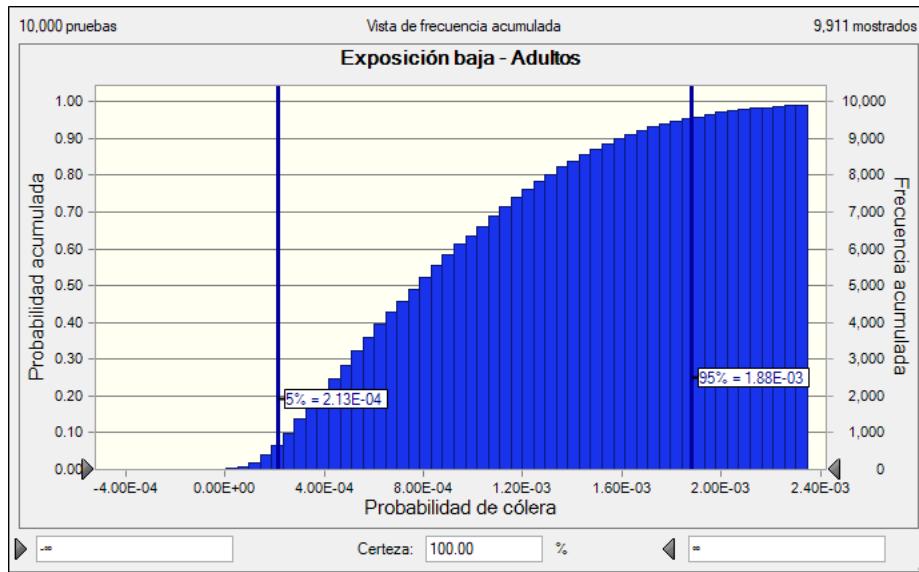


Figura 4.5 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo con exposición baja en la población adulta.

Mientras que cuando la población adulta se encuentra expuesta a un rango medio de bacterias con una cantidad de hasta $8E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $9.85E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $4.01E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos nueve casos de cólera en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos cuatro casos de cólera en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.6 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infectivo para una exposición media en la población adulta con un grado de marginación medio.

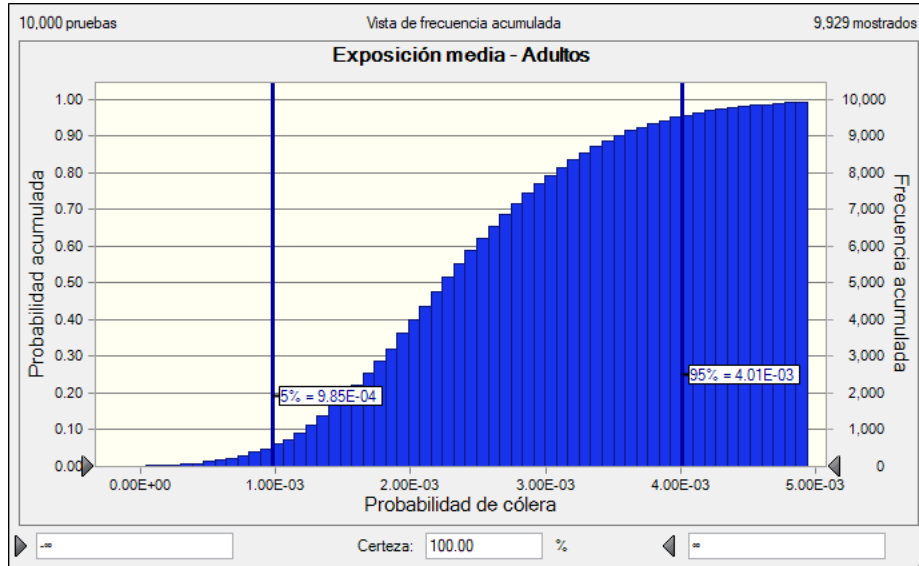


Figura 4.6 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infeccioso con exposición media en la población adulta.

En el caso de la población adulta expuesta a un rango alto de bacterias con una cantidad de hasta $1.5E+03$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $1.88E-03$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $7.49E-03$. Esto significa que existe el 5% de probabilidades de que se presente al menos un caso de cólera en una población de 1,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos siete casos de cólera en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.7 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5 y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infeccioso para una exposición media en la población adulta con un grado de marginación medio.

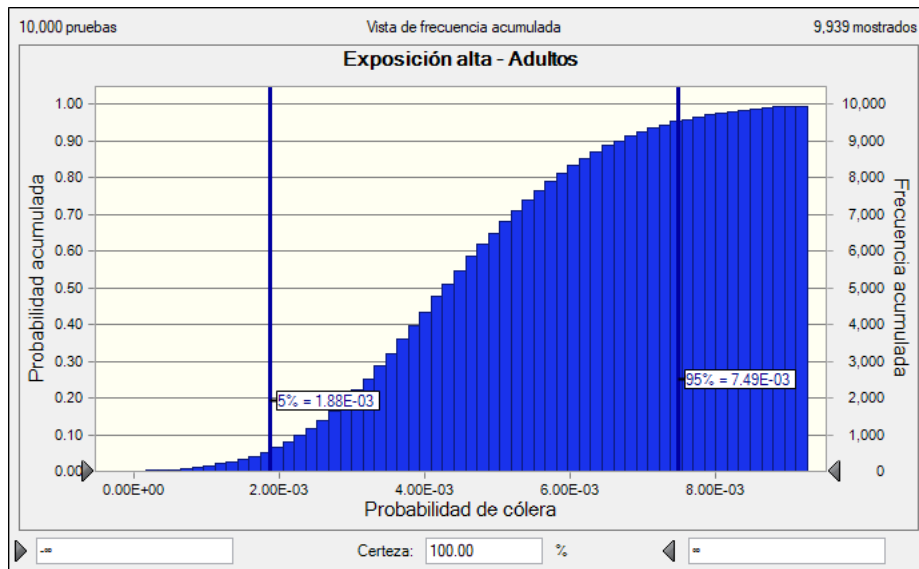


Figura 4.7 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 100% infeccioso con exposición alta en la población adulta.

En la Tabla 4.3 se observa un resumen de los resultados de la evaluación de riesgo no vigilado probabilístico de *V. cholerae* 100% infeccioso para la población de niños y adultos, de acuerdo con el nivel de exposición bacteriano, para dos percentiles y presentando el resultado como el número de casos en una cantidad de habitantes.

Tabla 4.3 Resultados de evaluación de riesgo no vigilado probabilístico para *V. cholerae*

Nivel de exposición bacteriano (UFC·mL ⁻¹)	Casos en población infantil		Casos en población adulta	
	5 ^{to} percentil	95 ^{vo} percentil	5 ^{to} percentil	95 ^{vo} percentil
Bajo (50 – 400)	1 en 10,000	1 en 1,000	2 en 10,000	1 en 1,000
Medio (400 – 800)	6 en 10,000	3 en 1,000	9 en 10,000	4 en 1,000
Alto (800 – 1500)	1 en 1,000	6 en 1,000	1 en 1,000	7 en 1,000

Como se observa en la Tabla 4.3 el único escenario que presenta un nivel de riesgo aceptable es el de la población infantil con un grado de marginación medio expuesta a un nivel bacteriano bajo, pues existe una probabilidad del 5% de que se presente un caso en 10,000 infantes; los demás escenarios presentados se encuentran fuera del nivel de riesgo aceptable con más de un caso por cada 10,000 habitantes.

4.1.2 Evaluación de riesgo vigilado

En el caso de la evaluación de riesgo vigilado de la bacteria *V. cholerae* en estado viable, los datos de desinfección fueron obtenidos mediante la aplicación de la metodología descrita en la Sección 3.2, por lo que la aplicación del proceso de desinfección de la bacteria *V. cholerae* se realizó después de la activación de la bacteria y de las pruebas previas de cuantificación y desinfección.

Para verificar la identidad de la bacteria se llevaron a cabo siembras en el medio selectivo TCBS como se describe en la Sección 3.2.1 y adicionalmente se empleó la tinción de Gram y la observación en el microscopio como método de confirmación, en la Figura 4.8 se observan bacterias con la morfología “de coma” típica de *V. cholerae*.



Figura 4.8 Tinción de Gram de *V. cholerae*

Hipoclorito de sodio

Para llevar a cabo el proceso de desinfección de *V. cholerae* en estado viable con hipoclorito de sodio, los valores de C·t empleados fueron 0, 5, 10, 20, 30 y 40 $\text{mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$

En la Tabla 4.4 se presentan los resultados de los conteos de los duplicados de las placas, así como el valor promedio para el proceso de desinfección de la bacteria *V. cholerae* en estado viable.

Tabla 4.4 Resultados de la desinfección de *V. cholerae* en estado viable con hipoclorito de sodio.

C·t ($\text{mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$)	P ₁ (UFC·mL ⁻¹)	P ₂ (UFC·mL ⁻¹)	P _m (UFC·mL ⁻¹)	Log (N ₀ /N)
0	4.20E+07	4.20E+07	4.20E+07	0.000
5	2.50E+07	2.60E+07	2.55E+07	0.217
10	2.30E+07	2.40E+07	2.35E+07	0.252
20	1.70E+07	1.40E+07	1.55E+07	0.433
30	1.20E+07	1.20E+07	1.20E+07	0.544
40	2.00E+06	3.00E+06	2.50E+06	1.225

En la Figura 4.9 se muestran una serie de placas con los resultados del proceso de desinfección con hipoclorito de sodio de *V. cholerae* en estado viable, para los C·t's reportados en la Tabla 4.3.

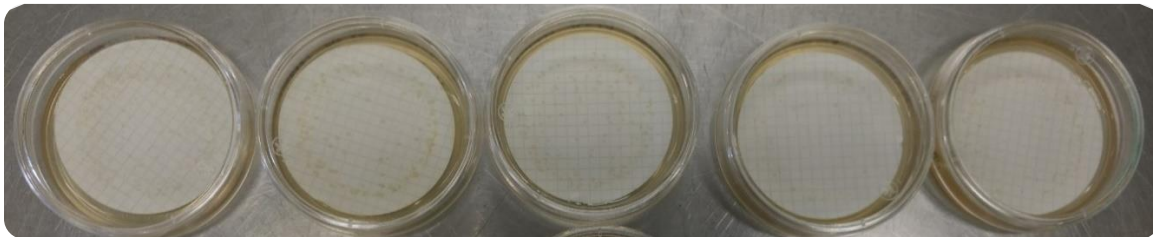


Figura 4.9 Placas de *V. cholerae* desinfectadas con cloro.

Ozono

En el proceso de desinfección de *V. cholerae* con ozono los valores de C·t empleados fueron 0, 3.2, 6.6 y 16.9 $\text{mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$.

En la Tabla 4.5 se presentan los resultados de los duplicados y de los valores promedio de los conteos del proceso de desinfección de *V. cholerae* en estado viable cultivable.

Tabla 4.5 Resultados de la desinfección de *V. cholerae* en estado viable con ozono.

C·t (mg·min·L ⁻¹)	P₁ (UFC·mL ⁻¹)	P₂ (UFC·mL ⁻¹)	P_m (UFC·mL ⁻¹)	Log (N₀/N)
0	4.70E+07	7.30E+07	6.00E+07	0.000
3.2	7.00E+03	2.10E+04	1.40E+04	3.632
6.6	6.00E+03	1.00E+04	8.00E+03	3.875
16.9	2.00E+03	6.00E+03	4.00E+03	4.176

Hornick *et al.* (1971) reporta que la bacteria *V. cholerae* en estado viable cuenta con una infectividad del 50% para una dosis infectiva de 10¹¹ organismos en 30mL. Este valor de infectividad se empleó para los cálculos de riesgo con el software Crystal Ball, también se llevaron a cabo para tres diferentes dosis de exposición bacteriana: baja (5E+01 – 4E+02), media (4E+02 – 8E+02) y alta (8E+02 – 1.5E+03), para un grado de marginación media en la población, así como para dos grupos de personas: niños y adultos (diferente consumo de agua), además de que el software trabajó con 10,000 iteraciones y con un 95% de confianza. Al igual que en la evaluación del riesgo no vigilado, en este caso para determinar el riesgo vigilado de *V. cholerae* también se emplearon los valores mostrados en la Tabla 4.2

Cuando un niño se encuentra expuesto a un rango bajo de bacterias con una cantidad de hasta 4E+02 UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de 7.25E-05 y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de 7.36E-04. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos 7 casos de cólera en una población de 100,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos siete casos de cólera en una población de 10,000 infantes. En la Figura 4.10 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo para una exposición baja en la población infantil con un grado de marginación medio.

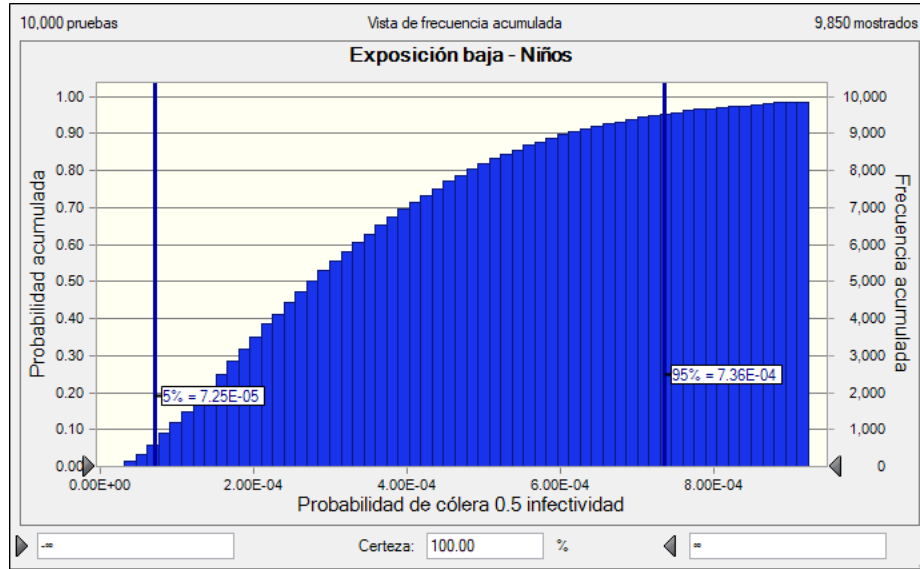


Figura 4.10 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo con exposición baja en la población infantil.

Mientras que cuando la población infantil se encuentra expuesta a un rango medio de bacterias con una cantidad de hasta $8E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $3.44E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $1.63E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos tres casos de cólera en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presente al menos un caso de cólera en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.11 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo para una exposición media en la población infantil con un grado de marginación medio.

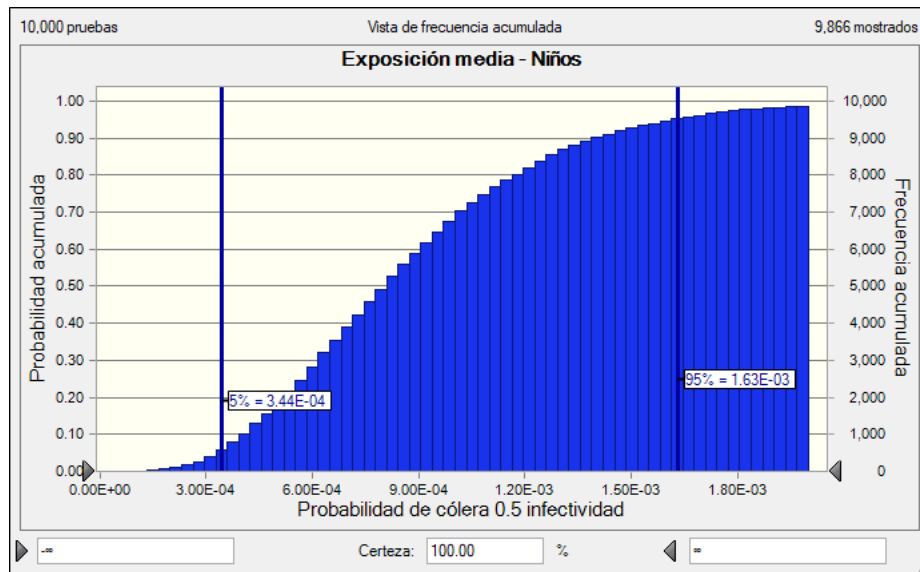


Figura 4.11 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo con exposición media en la población infantil.

En el caso de la población infantil expuesta a un rango alto de bacterias con una cantidad de hasta $1.5E+03$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $6.72E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $3.05E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos 6 casos de cólera en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos 3 casos de cólera en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.12 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo para una exposición media en la población infantil con un grado de marginación medio.

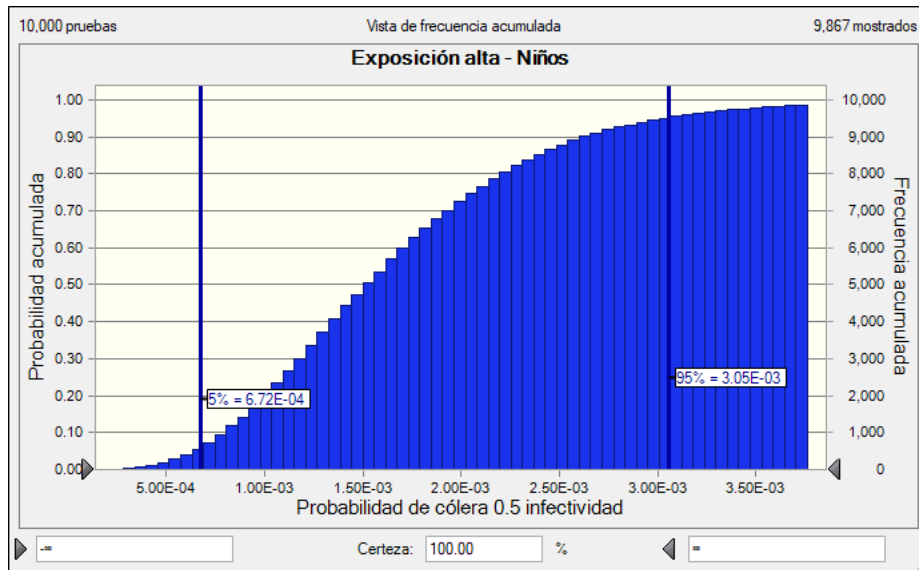


Figura 4.12 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo con exposición alta en la población infantil.

Por otra parte, cuando un adulto se encuentra expuesto a un rango bajo de bacterias con una cantidad de hasta $4E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $1.06E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $9.30E-04$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presente al menos un caso de cólera en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos nueve casos de cólera en una población de 10,000 adultos. En la Figura 4.13 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo para una exposición baja en la población adulta con un grado de marginación medio.

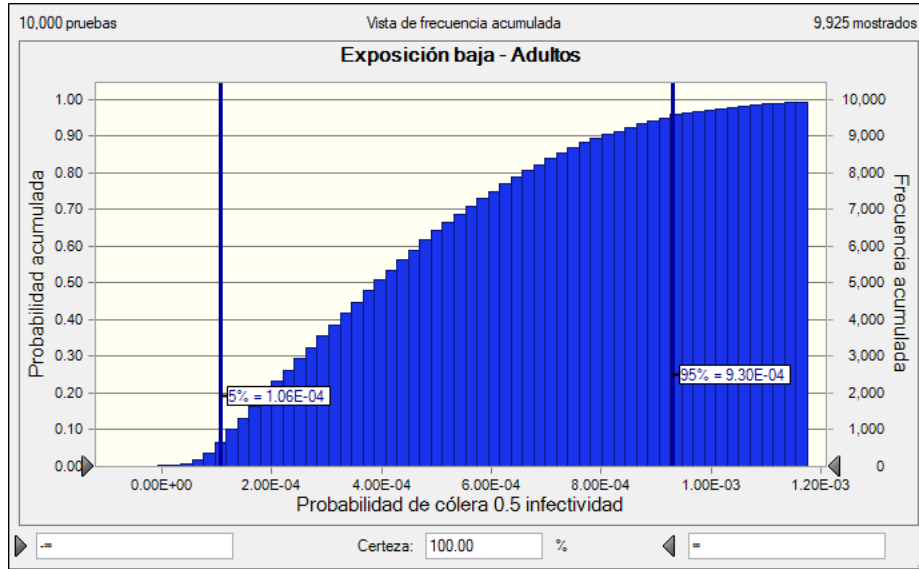


Figura 4.13 Probabilidad de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infeccioso con exposición baja en la población adulta.

Mientras que cuando la población adulta se encuentra expuesta a un rango medio de bacterias con una cantidad de hasta 8×10^2 UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de 4.80×10^{-4} y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de 2.01×10^{-3} . Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos cuatro casos de cólera en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos dos casos de cólera en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.14 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infeccioso para una exposición media en la población adulta con un grado de marginación medio.

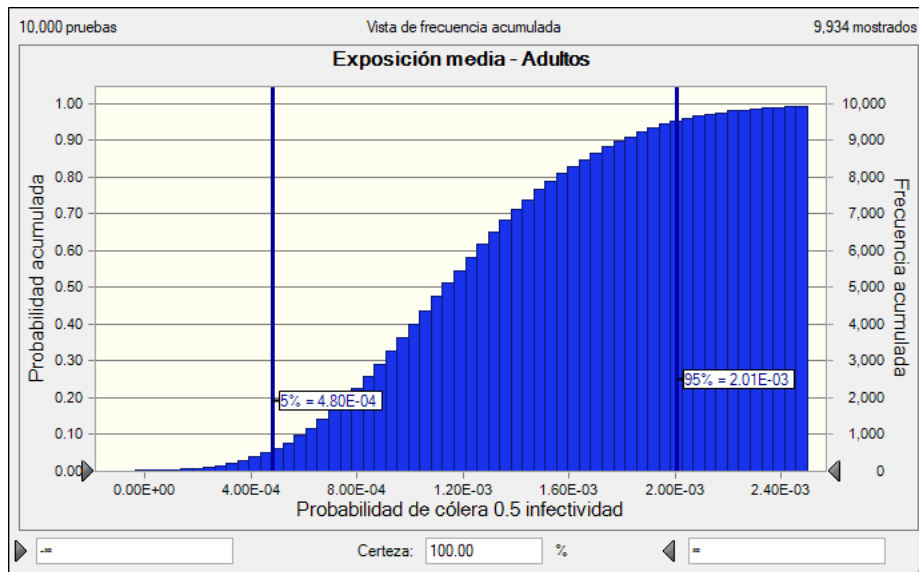


Figura 4.14 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infeccioso con exposición media en la población adulta.

En el caso de la población adulta expuesta a un rango alto de bacterias con una cantidad de hasta $1.5E+03$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de cólera sea de $9.41E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de cólera sea de $3.78E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos nueve casos de cólera en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos tres casos de cólera en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.15 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo para una exposición media en la población adulta con un grado de marginación medio.

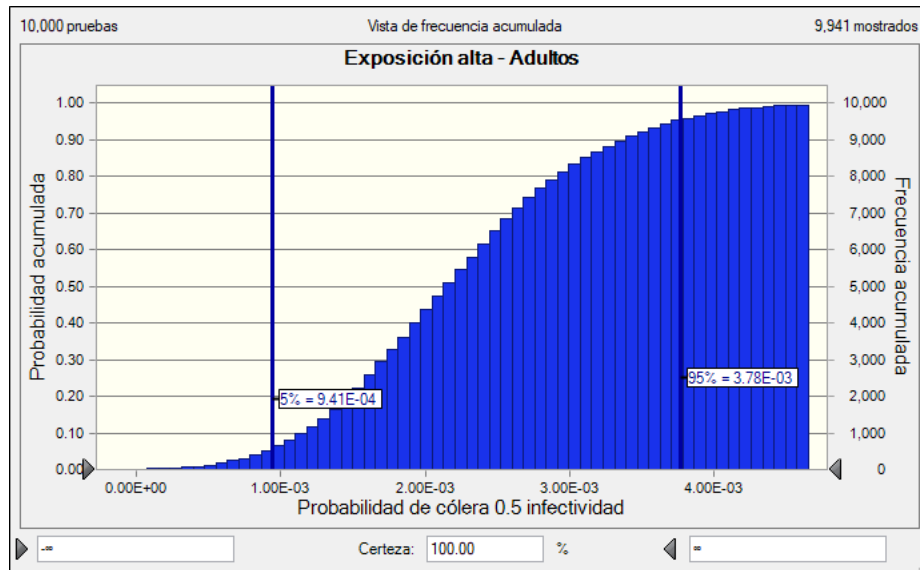


Figura 4.15 Probabilidades de contraer cólera por *V. cholerae* 50% infectivo con exposición alta en la población adulta.

En la Tabla 4.6 se observa un resumen de los resultados de la evaluación de riesgo vigilado probabilístico de *V. cholerae* 50% infectivo para la población de niños y adultos, de acuerdo con el nivel de exposición bacteriano, para dos percentiles y presentando el resultado como el número de casos en una cantidad de habitantes.

Tabla 4.6 Resultados de evaluación de riesgo no vigilado probabilístico para *V. cholerae*

Nivel de exposición bacteriano (UFC·mL ⁻¹)	Casos en población infantil		Casos en población adulta	
	5 ^{to} percentil	95 ^{vo} percentil	5 ^{to} percentil	95 ^{vo} percentil
Bajo (50 – 400)	7 en 100,000	7 en 10,000	1 en 10,000	9 en 10,000
Medio (400 – 800)	3 en 10,000	1 en 1,000	4 en 10,000	2 en 1,000
Alto (800 – 1500)	6 en 10,000	3 en 1,000	9 en 10,000	3 en 1,000

Como se observa en la Tabla 4.6 dos de los escenarios planteados presentan un nivel de riesgo aceptable, estos dos escenarios son la población infantil y la población adulta, ambas con un grado

de marginación media y sometidas a niveles de exposición bacteriano bajo, pues en ambos casos existe una probabilidad del 5% de que se presente un caso en 10,000 habitantes; los demás escenarios presentados se encuentran fuera del nivel de riesgo aceptable con más de un caso por cada 10,000 habitantes. A pesar de que en este caso se empleó un valor de infectividad del 50%, de que la dosis infectiva media N_{50} es de $6.36E+08$ y de que se emplearon rangos de exposición menores a esta dosis infectiva media, los escenarios que ese encuentran en un nivel de riesgo aceptable son muy pocos.

Adicionalmente se realizó un ejercicio en el que se empleó la población del municipio de Huejutla de Reyes (122,905 habitantes), la proporción de población infantil (40%) y la probabilidad diaria de cólera ($1.48E-02$) para determinar la cantidad de niños que podrían haber enfermado de cólera durante el brote de 2013 y los resultados arrojaron que para un nivel de exposición bacteriana baja existe un 5% de probabilidades de que se presentaran 8 casos de cólera y un 95% de probabilidades de que se presentaran 72 casos de cólera en la población infantil (Figura 4.16); por su parte para un nivel de exposición bacteriana media existe un 5% de probabilidades de que se presentaran 34 casos y un 95% de probabilidades de que se presentaran 159 casos (Figura 4.17); mientras que para un nivel de exposición bacteriana alta existe un 5% de probabilidades de que se presentaran 65 casos y un 95% de probabilidades de que se presentaran 295 casos (Figura 4.18). Estos resultados parecen indicar que en el año 2013 el brote de cólera pudo obedecer a la exposición a bajas concentraciones de la bacteria ya que casi el 50% de los casos reportados corresponderían a niños, 72, de un total de 160 reportados oficialmente; esta deducción se considera viable dado que la epidemia duró sólo un par de meses en este municipio donde realmente se observó la intensidad del brote. Si se contaran con datos por tipo de población afectada y concentración de la bacteria durante el brote, se podrían verificar estas estimaciones.

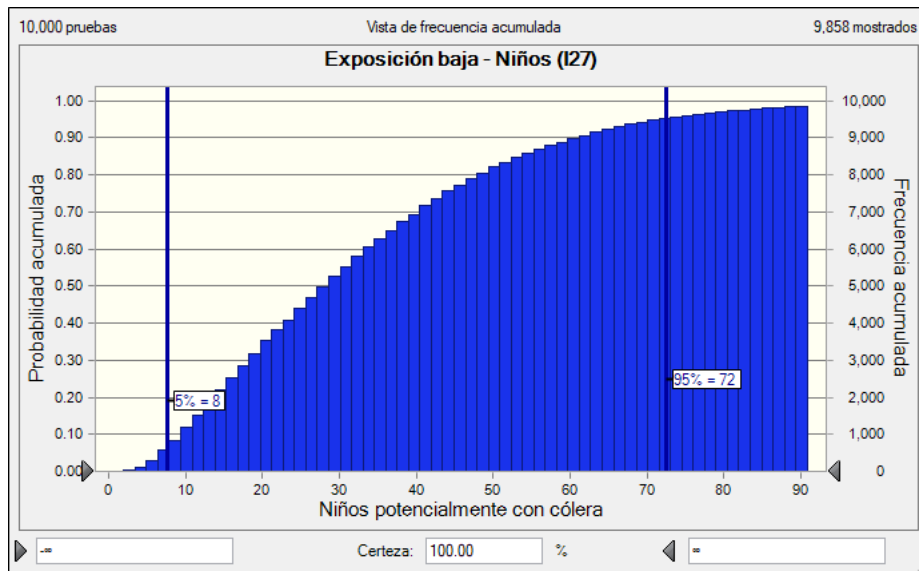


Figura 4.16 Casos potenciales de cólera en niños cometidos a exposición bacteriana baja.

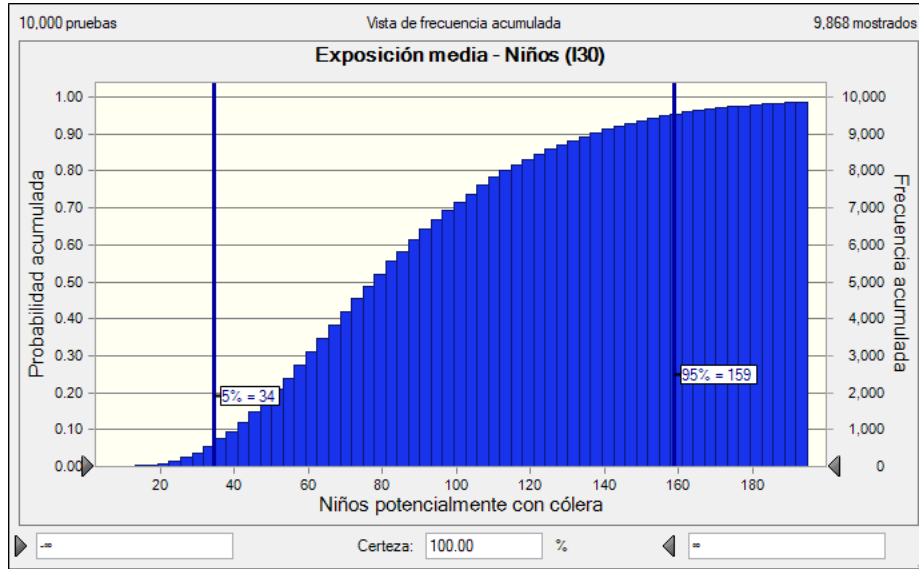


Figura 4.17 Casos potenciales de cólera en niños sometidos a exposición bacteriana media.

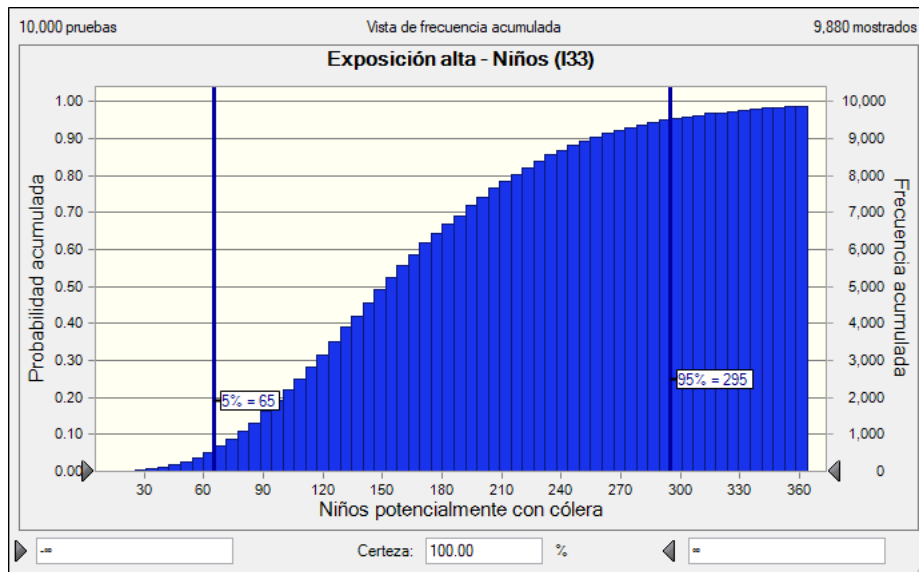


Figura 4.18 Casos potenciales de cólera en niños sometidos a exposición bacteriana alta.

4.2 Resultados de *Helicobacter pylori*

4.2.1 Evaluación de riesgo no vigilado

En el caso de la evaluación de riesgo no vigilado de la bacteria *H. pylori* en estado VNC, los datos de desinfección fueron proporcionados por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez y se encuentran reportados en la Sección 3.1.2

En el caso de *H. pylori* se probaron concentraciones bacterianas de entre $9.22E+07$ y $1.07E+04$ unidades·mL⁻¹; sin embargo, en todos los escenarios la evaluación de riesgo arrojaba una probabilidad

de 1E+0 de contraer la infección; lo que significa que, sin importar la concentración de bacteria o el nivel de marginación, absolutamente toda la población será infectada con la bacteria *H. pylori* si el agua no es tratada y desinfectada apropiadamente.

A partir de los resultados se vio la conveniencia de analizar la probabilidad de infección para un intervalo de concentraciones bacterianas menor, como el propuesto por Ryan *et al.* (2014). Para ello se generaron 30 números aleatorios entre 3E-02 y 5E+03 unidades·mL⁻¹ para representar las concentraciones de *H. pylori* en estado VNC en el análisis de riesgo.

En la Tabla 4.7 se muestran los resultados de la probabilidad de riesgo diario estimada con los nuevos datos para la exposición a la bacteria *H. pylori* en el estado VNC bajo diferentes condiciones de marginación.

Tabla 4.7 Probabilidad de riesgo por exposición a *H. pylori* en estado VNC.

<i>H. pylori</i> VNC (unidades·mL ⁻¹)	Probabilidad diaria promedio de infección		
	Marginación muy baja y baja	Marginación media	Marginación alta
0.03 – 0.66	2.1E-06 - 4.7E-05	4.5E-05 - 9.9E-04	1.3E-04 - 2.9E-03
0.73 – 70.0	5.2E-05 - 5.0E-03	1.1E-03 - 9.9E-02	3.24E-03 - 2.6E-01
70.0 – 5,000	5.0E-03 - 3.0E-01	9.9E-02 - 9.9E-01	2.6E-01 - 1.0E+00

La probabilidad de riesgo de infección por *H. pylori* considerada aceptable se encuentra en concentraciones de entre 0.03 y 0.66 unidades·mL⁻¹ para la población que se ubica en un nivel de marginación media; mientras que el riesgo es aceptable para concentraciones de entre 0.03 y 70.0 unidades·mL⁻¹ para la población que se ubica en un nivel de marginación baja y muy baja. Lo que significa que la población en niveles de marginación media, baja y muy baja expuesta a altas concentraciones bacterianas se encuentra en niveles de riesgo inaceptables; situación de riesgo que el modelo también predice como inadmisibles para la población en nivel de marginación alta para cualquiera de las concentraciones evaluadas.

Ya que las concentraciones bacterianas empleadas por la M. en I. Beatriz Casasola Rodríguez arrojan un valor de probabilidad de riesgo de 1E+0 no es posible comparar el nivel de riesgo ni la efectividad de los procesos de desinfección aplicados a la bacteria *H. pylori*.

En el caso de *H. pylori* en estado VNC Cellini *et al.* (1994) reporta una infectividad del 40% por lo que este valor se empleó en la estimación de riesgo con el software Crystal Ball, al igual que en *V. cholerae* también se tomaron en cuenta tres diferentes dosis de exposición bacteriana: baja (5E+01 – 4E+02), media (4E+02 – 8E+02) y alta (8E+02 – 1.5E+03), para un grado de marginación media en la población, así como para dos grupos de personas: niños y adultos (diferente consumo de agua), además de que el software trabajó con 10,000 iteraciones y con un 95% de confianza.

Para determinar el riesgo probabilístico de *H. pylori* se emplearon todos los valores y funciones mostrados en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8 Parámetros para el desarrollo de evaluación de riesgo de infección por *H. pylori*.

Tasa promedio de ingestión de agua:	Niños: 1.4L Adultos: 1.84L
Distribución de ingestión de agua:	Niños: Gamma Adultos: Normal
Modelo dosis – respuesta:	Exponencial $P(D_d) = 1 - e^{(-r*d)}$
Parámetro r:	3.892E-06
Nivel de marginación:	Media (0.21)

Cuando un niño se encuentra expuesto a un rango bajo de bacterias con una cantidad de hasta 4E+02 UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de 8.12E-05 y una probabilidad del 95% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de 4.09E-04. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos ocho casos de infección por *H. pylori* en una población de 100,000 infantes; así como el 95% de probabilidades de que se presenten al menos cuatro casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 infantes. En la Figura 4.19 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 40% infectivo para una exposición baja en la población infantil con un grado de marginación medio.

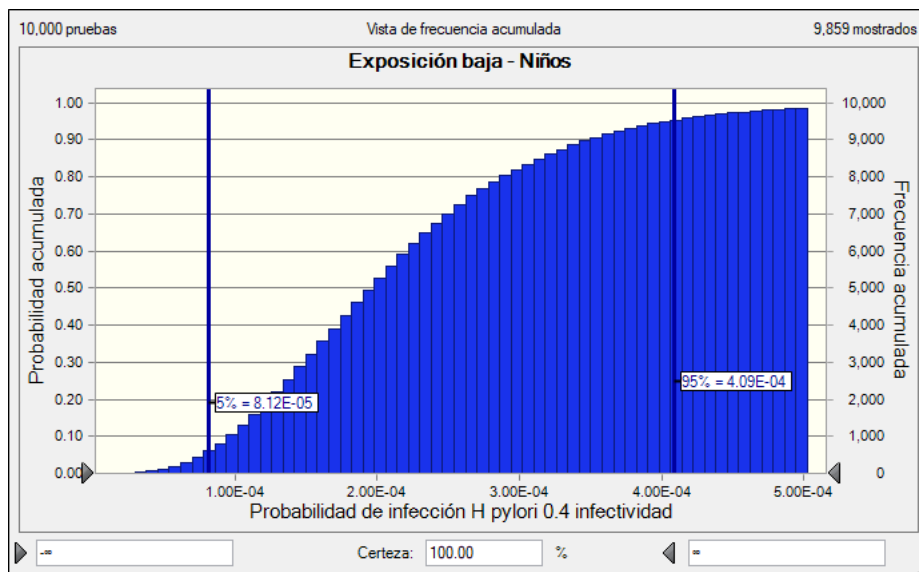


Figura 4.19 Probabilidades de infección por *H. pylori* 40% infectivo con exposición baja en la población infantil.

Mientras que cuando la población infantil se encuentra expuesta a un rango medio de bacterias con una cantidad de hasta $8E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $1.56E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $6.72E-04$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presente al menos un caso de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos seis casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 infantes. En la Figura 4.20 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 40% infectivo para una exposición media en la población infantil con un grado de marginación medio.

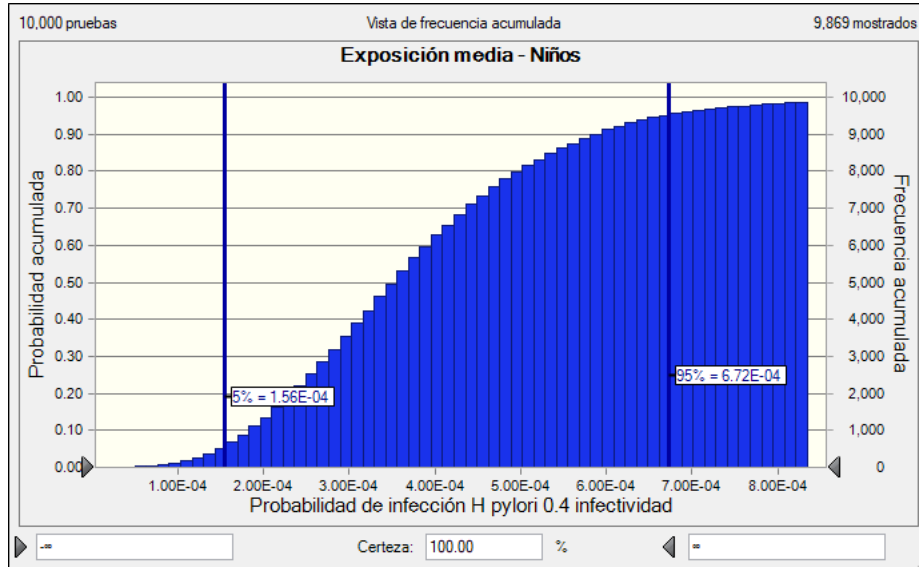


Figura 4.20 Probabilidades de infección por *H. pylori* 40% infectivo con exposición media en la población infantil.

En el caso de la población infantil expuesta a un rango alto de bacterias con una cantidad de hasta $1.5E+03$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $3.29E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $2.07E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos tres casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos dos casos de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.21 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 40% infectivo para una exposición alta en la población infantil con un grado de marginación medio.

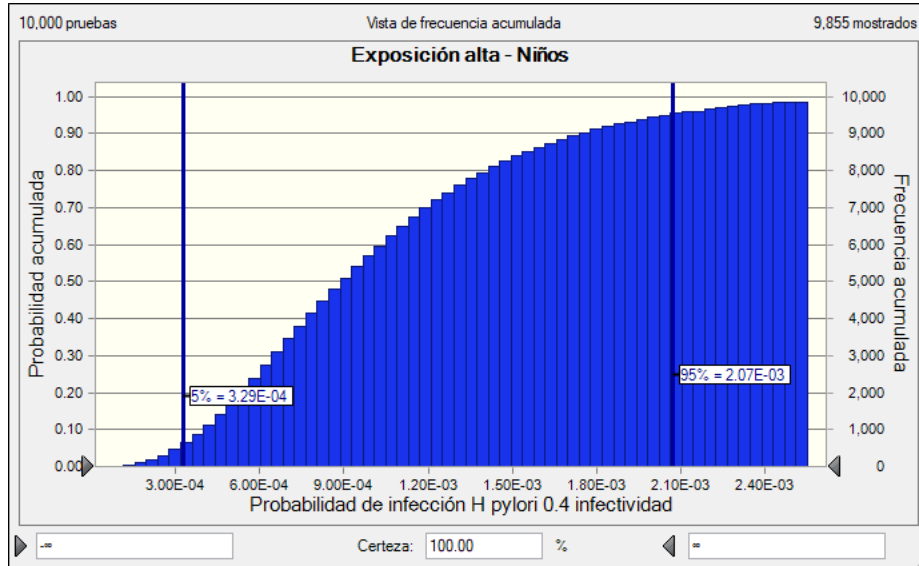


Figura 4.21 Probabilidad de infección por *H. pylori* 40% infectivo con exposición alta en la población infantil.

Por otra parte, cuando un adulto se encuentra expuesto a un rango bajo de bacterias con una cantidad de hasta $4E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $1.17E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $5.09E-04$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presente al menos un caso de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos cinco casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 adultos. En la Figura 4.22 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 40% infectivo para una exposición baja en la población adulta con un grado de marginación medio.

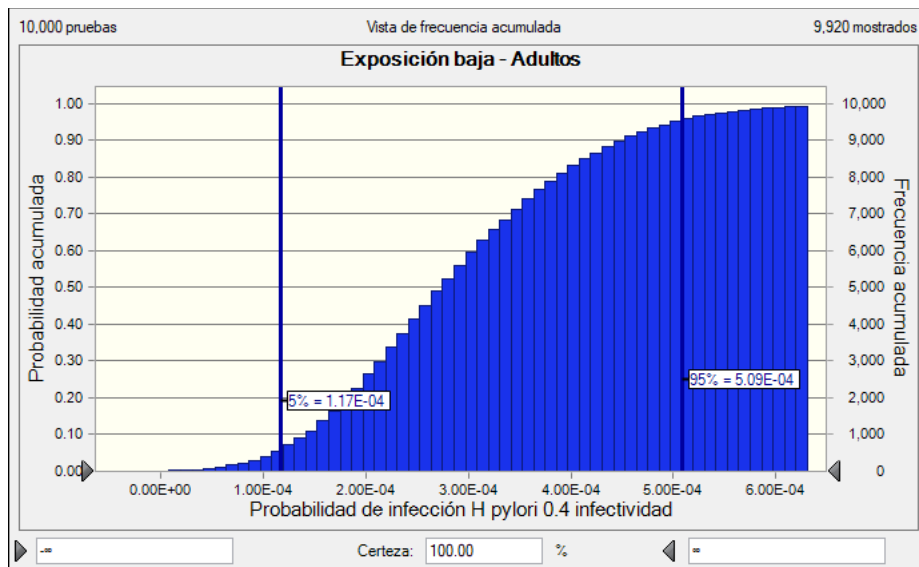


Figura 4.22 Probabilidades de infección por *H. pylori* 40% infectivo con exposición baja en la población adulta.

Mientras que cuando la población adulta se encuentra expuesta a un rango medio de bacterias con una cantidad de hasta $8E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $2.21E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $8.20E-04$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos dos casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos ocho casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 adultos. En la Figura 4.23 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 40% infectivo para una exposición media en la población adulta con un grado de marginación medio.

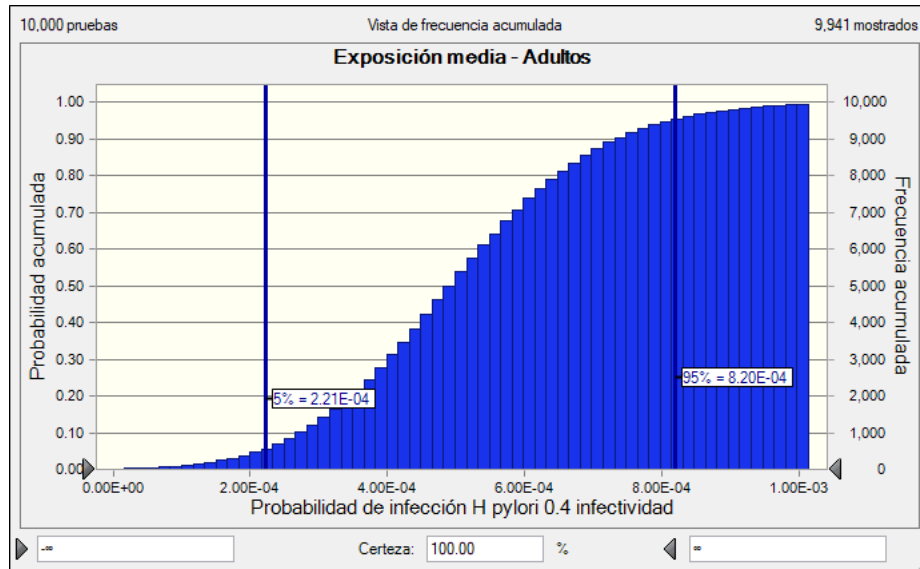


Figura 4.23 Probabilidades de infección por *H. pylori* 40% infectivo con exposición media en la población adulta.

En el caso de la población adulta expuesta a un rango alto de bacterias con una cantidad de hasta $1.5E+03$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $4.61E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $2.57E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos cuatro casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos dos casos de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.24 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 40% infectivo para una exposición alta en la población adulta con un grado de marginación medio.

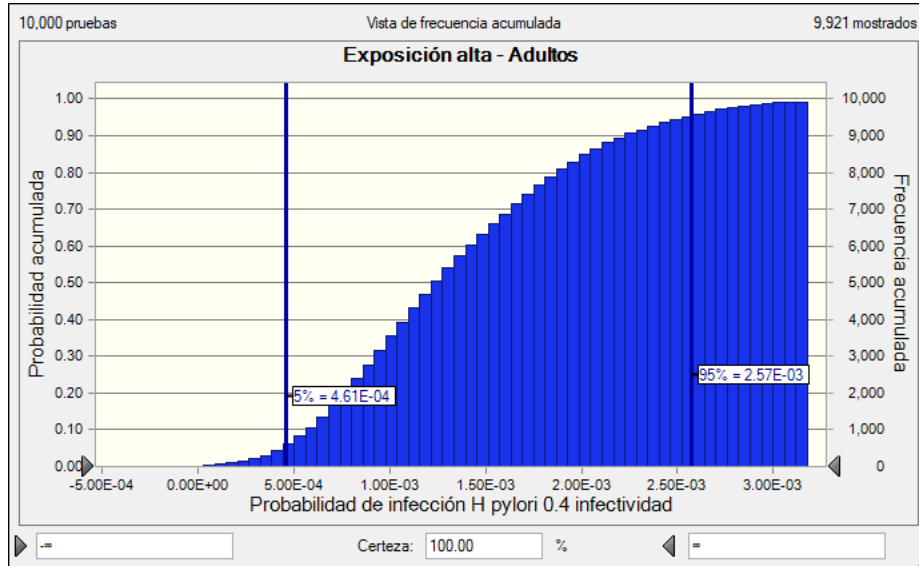


Figura 4.24 Probabilidades de infección por *H. pylori* 40% infectivo con exposición alta en la población adulta.

En la Tabla 4.9 se observa un resumen de los resultados de la evaluación de riesgo no vigilado probabilístico de *H. pylori* 40% infectivo para la población de niños y adultos, de acuerdo con el nivel de exposición bacteriano, para dos percentiles y presentando el resultado como el número de casos en una cantidad de habitantes.

Tabla 4.9 Resultados de evaluación de riesgo no vigilado probabilístico para *H. pylori*.

Nivel de exposición bacteriano (UFC·mL ⁻¹)	Casos en población infantil		Casos en población adulta	
	5 ^{to} percentil	95 ^{vo} percentil	5 ^{to} percentil	95 ^{vo} percentil
Bajo (50 – 400)	8 en 100,000	4 en 10,000	1 en 10,000	5 en 10,000
Medio (400 – 800)	1 en 10,000	6 en 10,000	2 en 10,000	8 en 10,000
Alto (800 – 1500)	3 en 10,000	2 en 1,000	4 en 10,000	2 en 1,000

Como se observa en la Tabla 4.9 tres de los escenarios planteados presentan un nivel de riesgo aceptable; dos escenarios son la población infantil sometida a niveles de exposición bacteriano bajo y medio, cada uno con un 5% de probabilidad de que se presenten ocho casos en 100,000 habitantes y un caso en 10,000 habitantes respectivamente; además del escenario de la población adulta sometida a un nivel de exposición bacteriano bajo, con un 5% de probabilidad de que se presente un caso en 10,000 habitantes. En este caso se empleó un valor de infectividad del 40% y un valor de *r* de 3.892E-06 y se obtuvieron tres de seis escenarios en un nivel de riesgo aceptable.

4.2.2 Evaluación de riesgo vigilado

En el caso de la evaluación de riesgo vigilado de la bacteria *H. pylori* en estado viable, los datos de desinfección fueron obtenidos mediante la aplicación de la metodología descrita en la Sección 3.2, por lo que la aplicación del proceso de desinfección de la bacteria *H. pylori* se realizó después de la activación de la bacteria y de las pruebas previas de cuantificación y desinfección.

Como método de confirmación se empleó la tinción de Gram y la observación en el microscopio de la morfología bacteriana, en la Figura 4.25 se observan bacterias bacilares de *H. pylori*.

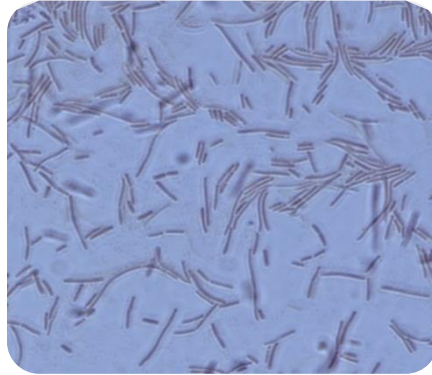


Figura 4.25 Tinción de Gram de *H. pylori*

Hipoclorito de sodio

Para llevar a cabo el proceso de desinfección de *H. pylori* en estado viable con hipoclorito de sodio, los valores de C·t empleados fueron 0, 0.5, 1, 1.5 y 3 mg·min·L⁻¹.

En la Tabla 4.10 se presentan los resultados de los conteos de un duplicado perteneciente a una réplica del proceso de desinfección con hipoclorito de sodio de *H. pylori* en estado viable.

Tabla 4.10 Resultados de una réplica de desinfección de *H. pylori* en estado viable con hipoclorito de sodio.

C·t (mg·min·L ⁻¹)	P _{1,1} (UFC·mL ⁻¹)	Log (N ₀ /N)
0	1.82E+08	-
0.5	1.80E+07	1.00
1	2.00E+06	1.96
1.5	1.00E+06	2.26
3	0.00E+00	-

En la Figura 4.26 se muestra la serie de placas correspondiente al proceso de desinfección que se presentó en la Tabla 4.9



Figura 4.26 Placas de *H. pylori* desinfectadas con hipoclorito de sodio

A pesar de que se llevaron a cabo 5 réplicas del proceso de desinfección con hipoclorito de sodio de la bacteria *H. pylori* en estado viable y cada una con su respectivo duplicado, los resultados mostrados en la Tabla 4.8 fueron los únicos que presentaron valores con una tendencia clara, pues en diversas réplicas no existió conteo alguno o se obtenían colonias con morfología que impedían el adecuado conteo.

Ozono

En el proceso de desinfección con ozono de *H. pylori* en estado viable cultivable los valores de C·t empleados en el proceso de desinfección con ozono de la bacteria *H. pylori* en estado viable fueron 0, 0.01, 0.03, 0.06 y 0.1 mg·min·L⁻¹.

En la Tabla 4.11 se presentan los resultados de los conteos de un duplicado perteneciente a una réplica del proceso de desinfección con ozono de *H. pylori* en estado viable.

Tabla 4.11 Resultados de una réplica de desinfección de *H. pylori* en estado viable con ozono

C·t (mg·min·L ⁻¹)	P _{1,1} (UFC·mL ⁻¹)	Log (N ₀ /N)
0	2.76E+08	-
0.01	9.50E+07	0.46
0.03	3.00E+06	1.96
0.06	0.00E+00	-
0.1	0.00E+00	-

En la Figura 4.27 se muestra la serie de placas correspondiente al proceso de desinfección que se presentó en la Tabla 4.11



Figura 4.27 Placas de *H. pylori* desinfectadas con hipoclorito de sodio

Se llevaron a cabo cuatro réplicas con su respectivo duplicado para el proceso de desinfección con ozono de la bacteria *H. pylori*; sin embargo, los resultados mostrados en la Tabla 4.8 fueron los únicos que presentaron valores con una tendencia clara, pues en diversas réplicas no existió conteo alguno o se obtenían colonias con morfología que impedían el adecuado conteo. En la Figura 4.28 se pueden observar las colonias con la morfología que impedía su adecuado conteo.

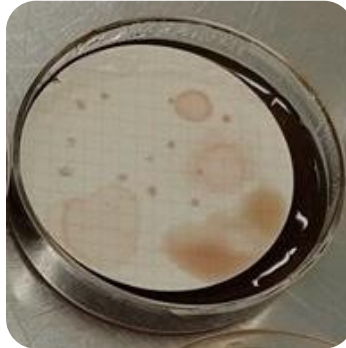


Figura 4.28 Morfología colonial atípica de *H. pylori*

Existen muy pocos estudios sobre la inactivación de la bacteria *H. pylori* con ozono, por lo que no es posible comparar los resultados obtenidos en este estudio con otros reportes bibliográficos; sin embargo, en la Tabla 4.12 se presentan valores de C·t's para la inactivación de otros patógenos similares, como se puede observar la variabilidad es muy amplia y no existe una tendencia clara o un valor similar para la inactivación de cada patógeno; por ejemplo, para la bacteria *E. coli* existen diversos C·t's reportados y ninguno es similar al otro.

Tabla 4.12 C·t's de inactivación con ozono para diversos patógenos de referencia

Bacteria	Densidad bacteriana	Reduc log	C·t (mg·min·L ⁻¹)	Referencia
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁴ - 10 ⁵	2 Log	0.09	Baker <i>et al.</i> , 2002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27583	10 ⁴ – 10 ⁷	3 Log	0.69	Lezcano <i>et al.</i> , 1999
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 ⁴ – 10 ⁷	4.1 Log	0.38	Lezcano <i>et al.</i> , 1999
<i>Salmonella typhimurium</i>	10 ⁴ – 10 ⁷	5.1 Log	1.65	Lezcano <i>et al.</i> , 1999
<i>Shigella sonnei</i>	10 ⁴ – 10 ⁷	4 Log	1.07	Lezcano <i>et al.</i> , 1999
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁴ – 10 ⁷	4 Log	0.56	Lezcano <i>et al.</i> , 1999
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁴ – 10 ⁷	5 Log	1.19	Lezcano <i>et al.</i> , 1999
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1.3E+08 – 2.5E+08	0.9 Log	0.1	Kim & Yousef, 2000

Bacteria	Densidad bacteriana	Reduc log	C·t (mg·min·L ⁻¹)	Referencia
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1.3E+08 – 2.5E+08	1.3 Log	0.15	Kim & Yousef, 2000
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1.3E+08 – 2.5E+08	1.3 Log	0.1	Kim & Yousef, 2000
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.3E+08 – 2.5E+08	4.6 Log	0.2	Kim & Yousef, 2000
<i>Escherichia coli</i>	6E+05	3 Log	0.002	Taylor <i>et al.</i> , 2000
<i>Mycobacterium avium</i> 5502	6E+05	3 Log	0.1	Taylor <i>et al.</i> , 2000
<i>Mycobacterium avium</i> 5002	6E+05	3 Log	0.12	Taylor <i>et al.</i> , 2000
<i>Mycobacterium avium</i> 1060	6E+05	3 Log	0.17	Taylor <i>et al.</i> , 2000

Aunque Solnick *et al.* (2001) reporta una infectividad del 33% para la bacteria *H. pylori* en estado viable es importante determinar el riesgo para la bacteria considerando el escenario más desfavorable, ya que en el estado VNC se consideró una infectividad del 40%, por lo que en la evaluación de riesgo desarrollada con Crystal Ball se consideró una infectividad del 100%, tres diferentes rangos de exposición bacteriana: baja (5E+01 – 4E+02), media (4E+02 – 8E+02) y alta (8E+02 – 1.5E+03), para un grado de marginación media en la población, así como para dos grupos de personas: niños y adultos (diferente consumo de agua), con 10,000 iteraciones y un 95% de confianza arrojó los siguientes resultados.

Al igual que en la evaluación del riesgo no vigilado, en este caso para determinar el riesgo vigilado de *H. pylori* también se emplearon los valores mostrados en la Tabla 4.8.

Cuando un niño se encuentra expuesto a un rango bajo de bacterias con una cantidad de hasta 4E+02 UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de 2.00E-04 y una probabilidad del 95% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de 1.03E-3. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos dos casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presente al menos un caso de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.29 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 100% efectivo para una exposición baja en la población infantil con un grado de marginación medio.

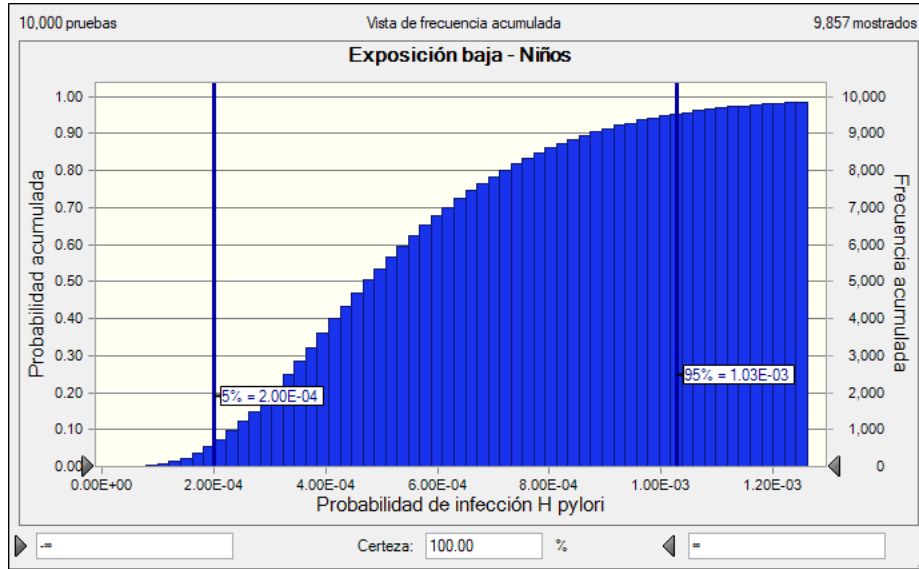


Figura 4.29 Probabilidades de infección por *H. pylori* 100% infeccioso con exposición baja en la población infantil.

Mientras que cuando la población infantil se encuentra expuesta a un rango medio de bacterias con una cantidad de hasta $8E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $3.92E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de contraer la infección de *H. pylori* sea de $1.66E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos tres casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presente al menos un caso de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.30 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 100% infeccioso para una exposición media en la población infantil con un grado de marginación medio.

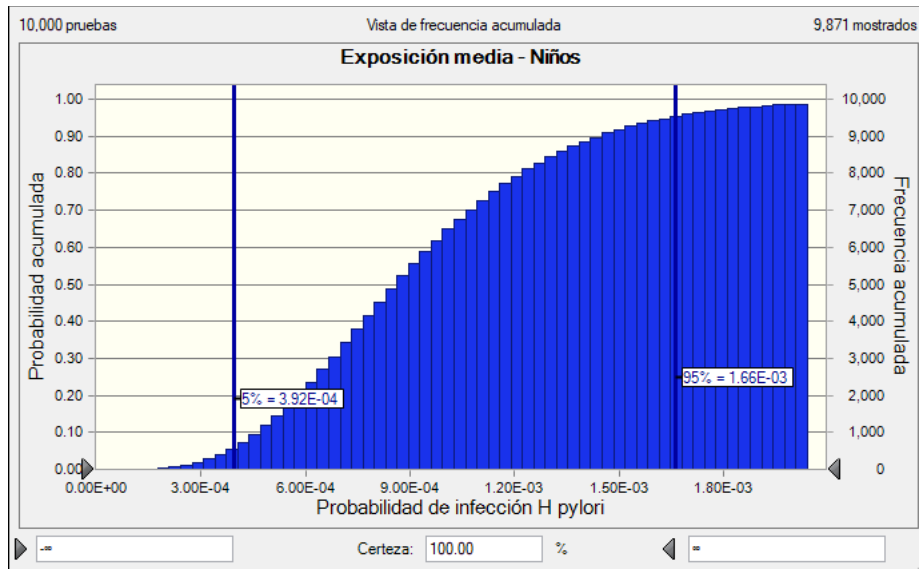


Figura 4.30 Probabilidades de contraer *H. pylori* 100% infeccioso con exposición media en la población infantil.

En el caso de la población infantil expuesta a un rango alto de bacterias con una cantidad de hasta $1.5E+03$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de infección por *H. pylori* sea de $8.38E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de infección por *H. pylori* sea de $5.09E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos ocho casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 infantes; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos cinco casos de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 infantes. En la Figura 4.31 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 100% infectivo para una exposición alta en la población infantil con un grado de marginación medio.

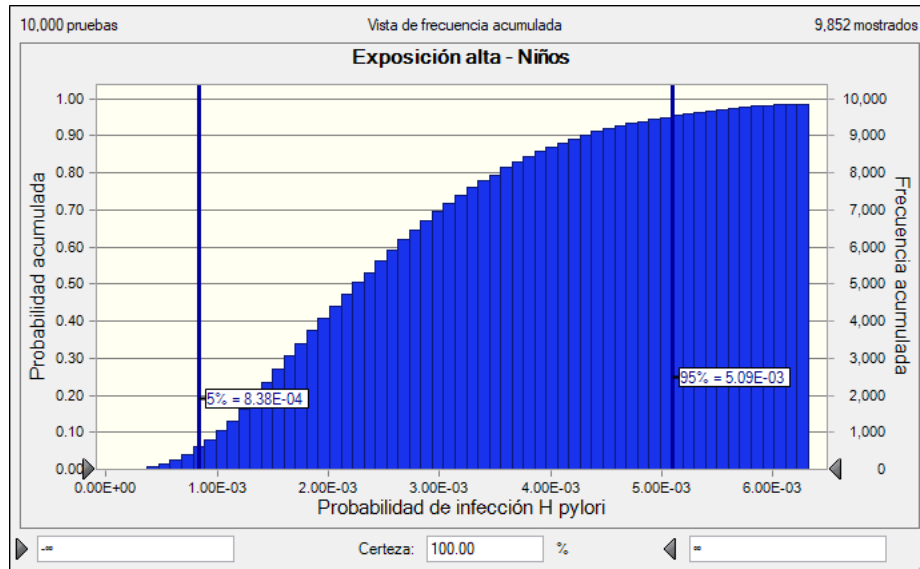


Figura 4.31 Probabilidades de infección por *H. pylori* 100% infectivo con exposición alta en la población infantil.

Por otra parte, cuando un adulto se encuentra expuesto a un rango bajo de bacterias con una cantidad de hasta $4E+02$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de infección por *H. pylori* sea de $2.86E-04$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de infección por *H. pylori* sea de $1.28E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos dos casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presente al menos un caso de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.32 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 100% infectivo para una exposición baja en la población adulta con un grado de marginación medio.

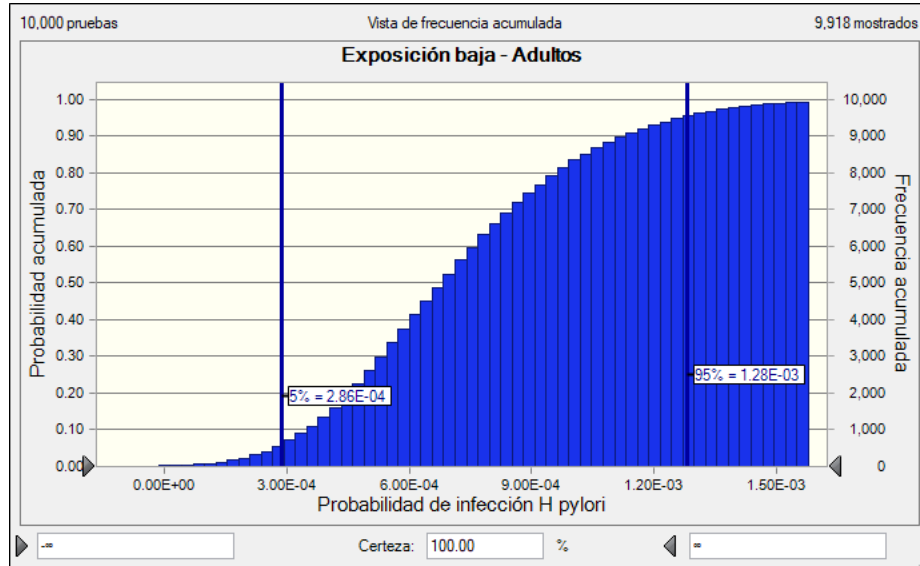


Figura 4.32 Probabilidades de infección por *H. pylori* 100% infeccioso con exposición baja en la población adulta.

Mientras que cuando la población adulta se encuentra expuesta a un rango medio de bacterias con una cantidad de hasta 8×10^2 UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de infección por *H. pylori* sea de 5.26×10^{-4} y una probabilidad del 95% de que el riesgo de infección por *H. pylori* sea de 2.06×10^{-3} . Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presenten al menos cinco casos de infección por *H. pylori* en una población de 10,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos dos casos de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.33 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 100% infeccioso para una exposición media en la población adulta con un grado de marginación medio.

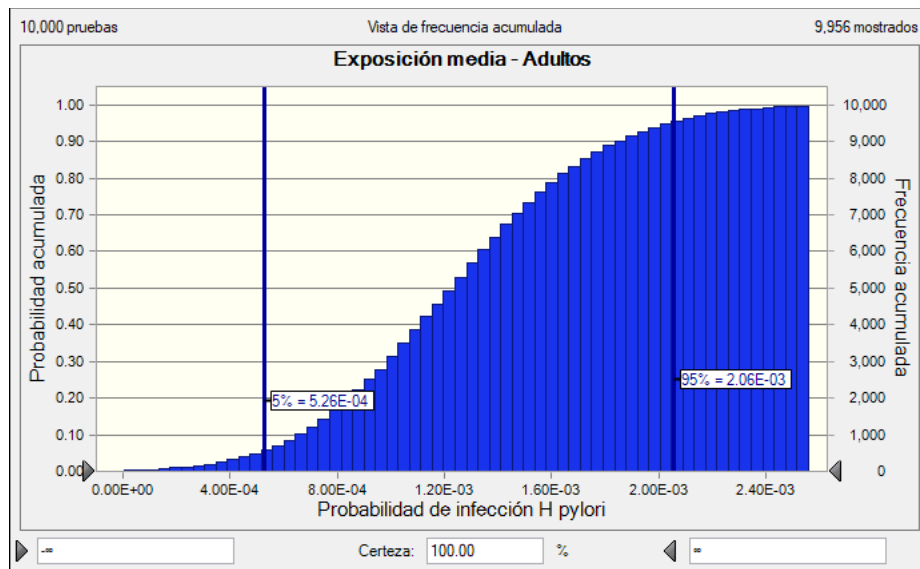


Figura 4.33 Probabilidades de infección por *H. pylori* 100% infeccioso con exposición media en la población adulta.

En el caso de la población adulta expuesta a un rango alto de bacterias con una cantidad de hasta $1.5E+03$ UFC·mL⁻¹, existe una probabilidad del 5% de que el riesgo de infección por *H. pylori* sea de $1.18E-03$ y una probabilidad del 95% de que el riesgo de infección por *H. pylori* sea de $6.43E-03$. Esto significa que existe una probabilidad del 5% de que se presente al menos un caso de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 adultos; así como una probabilidad del 95% de que se presenten al menos seis casos de infección por *H. pylori* en una población de 1,000 adultos. En la Figura 4.34 se muestra la gráfica con las probabilidades del 5% y del 95% de contraer la infección de *H. pylori* 100% infectivo para una exposición alta en la población adulta con un grado de marginación medio.

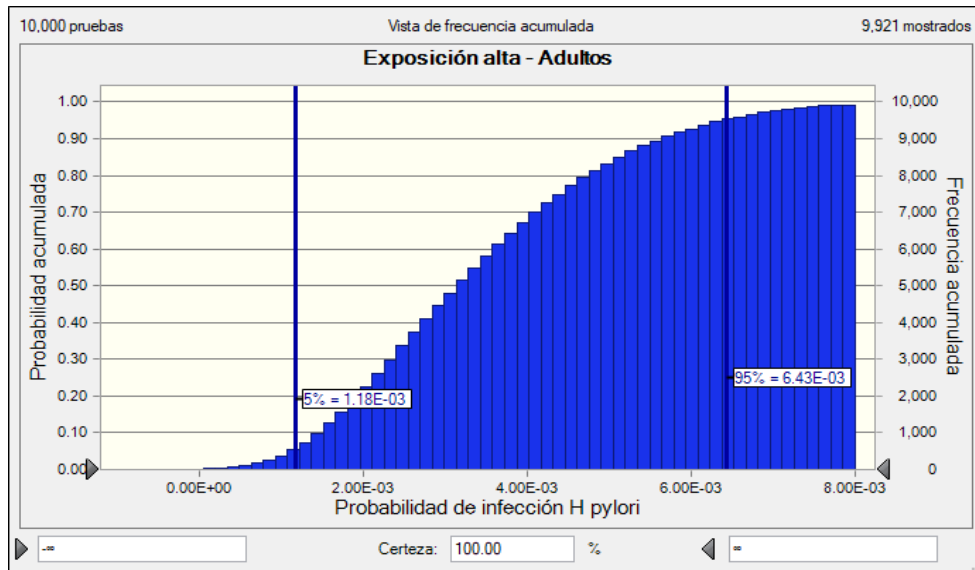


Figura 4.34 Probabilidades de infección por *H. pylori* 100% infectivo con exposición alta en la población adulta.

En la Tabla 4.13 se observa un resumen de los resultados de la evaluación de riesgo no vigilado probabilístico de *H. pylori* 100% infectivo para la población de niños y adultos, de acuerdo con el nivel de exposición bacteriano, para dos percentiles y presentando el resultado como el número de casos en una cantidad de habitantes.

Tabla 4.13 Resultados de evaluación de riesgo vigilado probabilístico para *H. pylori*.

Nivel de exposición bacteriano (UFC·mL ⁻¹)	Casos en población infantil		Casos en población adulta	
	5 ^{to} percentil	95 ^{vo} percentil	5 ^{to} percentil	95 ^{vo} percentil
Bajo (50 – 400)	2 en 10,000	1 en 1,000	2 en 10,000	1 en 1,000
Medio (400 – 800)	3 en 10,000	1 en 1,000	5 en 10,000	2 en 1,000
Alto (800 – 1500)	8 en 10,000	5 en 1,000	1 en 1,000	6 en 1,000

En la Tabla 4.13 se observa que ninguno de los escenarios se encuentra en un nivel de riesgo aceptable pues ninguno de ellos presenta un máximo un caso por cada 10,000 habitantes, esto podría deberse al alto valor de infectividad empleado, a pesar del alto valor de r empleado ($3.892E-06$).

4.3 Discusión de resultados

A lo largo del tiempo se han desarrollado diversos estudios para determinar la dosis infectiva de las bacterias; sin embargo, cada estudio plantea diversas condiciones de ingestión lo que propicia una variabilidad en los resultados obtenidos.

En el caso de *V. cholerae* cuando se presentan las epidemias de cólera alrededor del mundo la prioridad siempre ha sido detener el contagio y asegurar a la población el abasto de agua y alimentos no contaminados con el patógeno, pero en ningún momento se ha procurado determinar la cantidad de patógenos presentes en las fuentes de contagio y así determinar la dosis de patógenos que causó la enfermedad.

Por otra parte en el caso de *H. pylori* la situación es un poco más delicada, pues a diferencia de *V. cholerae*, contraer la infección por *H. pylori* no manifestará ningún síntoma inmediato en el paciente como lo haría el cólera; así los padecimientos como la gastritis severa, las úlceras o incluso el cáncer gástrico se presentan tiempo después de haber contraído la infección, situación que se ve agravada por el hecho de asociar dichos padecimientos al estilo de vida del paciente y no a la presencia de la bacteria *H. pylori* en el organismo, evitando así el tratamiento apropiado; por ello no hay datos disponibles de la magnitud de la exposición a la bacteria en agua potable. Además, se encontró que en México los casos de gastritis, úlceras y duodenitis son reportados en el boletín epidemiológico de la Secretaría de Salud, mientras que los casos de tumores malignos en órganos digestivos son reportados por el INEGI (Instituto Nacional de Geografía y Estadística), sin correlacionar ambos datos. A pesar de que existen diversos estudios dedicados a la búsqueda de la bacteria en diferentes fuentes, estos estudios únicamente se enfocan en la detección y no en la cuantificación, por lo que al igual que con *V. cholerae*, también se ignora la dosis de bacterias a la que la población se encuentra expuesta; esto aunado al hecho de que se han identificado diversos vectores de transmisión de esta bacteria como los alimentos y los animales, además del agua potable.

Aunque actualmente existen diferentes técnicas analíticas con alta especificidad para la determinación de la bacteria objeto de estudio e incluso con capacidad de conteo de las bacterias presentes en la muestra (PCR y qPCR respectivamente) no se emplean para determinar las dosis de exposición en la población; ni siquiera se emplean las pruebas de conteo tradicionales para obtener una aproximación de la cantidad de UFC's presentes en el ambiente. Esto es algo que se debe llevar a cabo para obtener información verídica de la densidad bacteriana a la que la población se encuentra expuesta durante cada epidemia, ya que esta y cualquier otra investigación sobre *V. cholerae* y *H. pylori* se enfrenta a la ausencia de datos de la real dosis infectiva y de la cantidad de bacterias a las que la población estuvo expuesta.

En relación a la desinfección los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que el ozono es más efectivo en comparación con el hipoclorito de sodio pues alcanza mayores valores de inactivación con menores valores de $C \cdot t$ para ambas bacterias.

En el caso de *H. pylori* no existe una guía práctica para determinar la disminución de la incidencia en la infección con el uso de la cloración o la ozonización, sólo existen algunas referencias que indican

valores de inactivación obtenidos in vitro con pruebas de desinfección. Por lo tanto, es importante impulsar estudios de inactivación de *H. pylori* con diferentes desinfectantes.

Con respecto a la evaluación de riesgo, actualmente no existe en la bibliografía reportes para *V. cholerae* y para *H. pylori* que apliquen la metodología sugerida por la OMS.

El análisis de riesgo disponible para *V. cholerae* desarrollado por Connor *et al.* (2011) se realizó durante la epidemia de cólera en Haití durante el 2010, pero únicamente presenta los factores de riesgo asociados al contagio, evaluando dos grupos: uno con personas que contrajeron la enfermedad y otro con personas que se mantuvieron sanas; presenta una asociación entre la mala calidad de las fuentes de agua, el mal manejo de los desecho humanos y el inadecuado tratamiento del agua potable entre otros factores, con la incidencia de la enfermedad, pero no cuantifica el riesgo.

En el presente trabajo además de los parámetros mostrados en la Tabla 4.2 empleados para determinar el riesgo de *V. cholerae*, también se analizaron otros valores reportados en la literatura. Por ejemplo, se emplearon los valores de $\alpha = 0.131$ y $N_{50} = 2.91E+09$ reportados por Cash *et al.* (1974), y no se encontraron diferencias significativas entre este modelo y el de Hornick *et al.* (1971) empleado en este estudio. Incluso también se probaron los valores de $\alpha = 0.169$ y $N_{50} = 3.365E+03$ reportados por Stott *et al.* (1974), pero en este caso los resultados fueron totalmente diferentes pues el mejor resultado obtenido para el 5^{to} percentil fue un valor de riesgo de $6.12E-01$, completamente alejado del valor aceptable, eso debido a la gran diferencia que existe entre el valor de N_{50} de Stott *et al.* (1974) con Hornick *et al.* (1971) y Cash *et al.* (1974).

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que el nivel de infectividad de la bacteria *V. cholerae* influye en el nivel de riesgo esperado, esto se hizo patente al observar que, para el escenario de exposición baja, tanto los niños como los adultos presentan una probabilidad de riesgo aceptable. También muestran que el riesgo de contraer cólera es ligeramente mayor para los adultos en comparación con los niños.

Con respecto al análisis de riesgo para *H. pylori* sólo existe un artículo, elaborado por Ryan *et al.* (2014), donde proponen por primera vez un modelo dosis-respuesta para la evaluación de riesgo apropiada en agua: de hecho proponen dos modelos de dosis – respuesta: uno para humanos y uno para monos Rhesus. A pesar de que Ryan *et al.* (2014) reportan que el modelo de monos presenta mejores características estadísticas, en el presente trabajo se comprobó que los valores de riesgo obtenidos con el modelo para humanos pueden alcanzar, en el mejor de los casos, un valor de riesgo de $8.12E-05$ en el escenario de niños en nivel de marginación media, expuestos a dosis bacterianas bajas con una infectividad del 40%; mientras que el modelo de monos arroja un valor de $2.19E-03$ el cual es muy lejano del aceptable.

Al igual que en el caso de *V. cholerae*, el potencial de infectividad de bacteria *H. pylori* influye directamente en el potencial de riesgo y el riesgo por infección es ligeramente mayor para la población adulta.

De esta investigación se desprende que es importante trabajar con la bacteria *H. pylori* activa en el estado viable y evitar la ultracongelación. Esto se deriva de que durante el desarrollo de la experimentación con esta bacteria se presentaron diversos inconvenientes pues su recuperación duró varias semanas, el crecimiento fue irregular y con morfología atípica que impidió su adecuado conteo, por lo que se llevaron a cabo diferentes réplicas del proceso de desinfección hasta obtener resultados contables.

La incertidumbre asociada a la presente investigación se debió a diversos factores como son la falta de información real sobre la relación entre la cantidad de patógenos y la subsecuente enfermedad o infección; la cual a su vez se encuentra ligada con la infectividad de los patógenos porque, aunque existen reportados en la literatura valores de infectividad para diversas dosis bacterianas, no se sabe con exactitud el número de patógenos necesarios para causar la enfermedad o la infección. Esto también se encuentra relacionado con la investigación sobre las bacterias y su inactivación, ya que las pruebas in vitro suelen llevarse a cabo con concentraciones bacterianas hipotéticas altas, y al no conocer la cantidad de patógenos a la que la población se encuentra expuesta, no existe una manera de comparar las dosis bacterianas reales con los procesos de desinfección y su eficacia. Además, los modelos de riesgo se encuentran diseñados para la bacteria en un estado viable cultivable y no contemplan el estado VNC. Las concentraciones bacterianas empleadas en la presente investigación también fueron altas en concordancia con diversos estudios de dosis respuesta que sitúan dosis infectivas en incluso 10^{10} células.

Con el ejemplo de la determinación de los posibles casos presentados en la población infantil de Huejutla de Reyes podemos notar que a pesar de no contar con información documental que nos diga los casos reales ocurridos en infantes, los resultados obtenidos son factibles, ya sean con el 5% o con el 95% de probabilidades; lo cual significa que los modelos de evaluación de riesgo son capaces de describir las situaciones reales en las que las dosis de exposición bacterianas son bajas. Al no existir otras evaluaciones de riesgo microbiológico que apliquen la metodología propuesta por la OMS, ésta es una investigación pionera, la cual, a pesar de enfrentar diversos retos como la escasez de información documental entre otras cosas, ha mostrado ser suficientemente confiable y arrojar resultados coherentes.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

La evaluación de riesgo microbiológico de esta investigación se realizó de acuerdo con las cuatro etapas sugeridas por la OMS, integradas por:

- Determinación del problema: Enfermar de cólera debido a la bacteria *V. cholerae* y contraer la infección de *H. pylori*, el cual está catalogado como cancerígeno de grado 1.
- Evaluación de la exposición: Los escenarios de exposición se determinaron como la población del estado de Hidalgo donde se reportó el último brote de cólera, la ingestión de agua se definió como la vía de exposición y se obtuvo a partir del consumo de agua para niños (menores de 15 años) y del consumo de agua para adultos (mayores de 15 años), se evaluó a la población en condiciones de marginación media.
- Evaluación de los efectos a la salud: Se emplearon dos diferentes modelos dosis – respuesta para determinar los efectos a la salud de *V. cholerae* y de *H. pylori*. El modelo empleado para *V. cholerae* fue el Beta – Poisson, mientras que el modelo empleado para *H. pylori* fue el Exponencial. Se probaron dos diferentes infectividades para cada una de las bacterias, para *V. cholerae* se probaron las infectividades de 100% y de 50%, mientras que para *H. pylori* se probaron las infectividades de 100% y de 40%.
- Caracterización del riesgo: Para cada una de las bacterias se determinó el riesgo no vigilado (bacterias en estado VNC) y el riesgo vigilado (bacterias en estado viable cultivable); en el caso del riesgo vigilado se realizó la evaluación de riesgo probabilístico, mientras que en el caso del riesgo no vigilado se realizó la evaluación de riesgo puntual y probabilístico.

En el caso de la bacteria *V. cholerae* en estado VNC, el riesgo no vigilado puntual arrojó que únicamente la población con un grado de marginación bajo y muy bajo se encuentra en un nivel de riesgo aceptable cuando es expuesta a concentraciones de $5.64E+02$ unidades·ml⁻¹; mientras que el riesgo no vigilado probabilístico con infectividad del 100% arrojó que el único escenario que se encuentra en un nivel de riesgo aceptable es el de la población infantil con un nivel de marginación media, sometida a una exposición bacteriana baja, con el 5% de probabilidades de que ocurra un caso en 10,000 habitantes. Por su parte la bacteria *V. cholerae* en estado viable el riesgo vigilado probabilístico con infectividad del 50% arrojó que existen dos escenarios que se encuentran en un nivel de riesgo aceptable: el de la población infantil y la población adulta, ambas con nivel de marginación media y sometidos a una exposición bacteriana baja, con el 5% de probabilidades de que se presenten 7 casos en 100,000 infantes y un caso en 10,000 adultos. El peor escenario se presenta

con el riesgo no vigilado de *V. cholerae* viable 100% infectivo en la población adulta sometida a niveles de exposición bacteriano alto, con un 95% de probabilidades de que se presenten 7 casos en 1,000 habitantes.

En el caso de la bacteria *H. pylori* en estado VNC el riesgo no vigilado puntual arrojó que la población en condiciones de marginación baja y muy baja se encuentra en un nivel de riesgo aceptable de entre $5.2E-05$ y $5.0E-03$ cuando es expuesta a máximo $7E+01$ unidades·ml⁻¹, mientras que el riesgo no vigilado probabilístico con infectividad del 40% arrojó que existen tres escenarios que se encuentran en un nivel de riesgo aceptable: el de la población infantil con un nivel de marginación media y sometida a una exposición bacteriana baja y media con el 5% de probabilidades de que se presenten 8 casos en 100,000 habitantes y un caso en 10,000 habitantes respectivamente; así como el de la población adulta con un nivel de marginación media y sometida a una exposición bacteriana baja con un 5% de probabilidades de que se presente un caso en 10,000 habitantes. Por su parte la bacteria *H. pylori* en estado viable el riesgo vigilado probabilístico 100% infectivo arrojó que ninguno de los escenarios planteados alcanza un nivel de riesgo aceptable. El peor escenario se presenta con el riesgo vigilado de *H. pylori* viable 100% infectivo en la población adulta sometida a niveles de exposición bacteriano alto, con un 95% de probabilidades de que se presenten 6 casos en 1,000 habitantes.

Comparando la efectividad de los dos procesos de desinfección, el proceso de ozonización mostró ser más efectivo para disminuir la probabilidad de infección con menores valores de $C \cdot t$ en comparación con el hipoclorito de sodio.

5.2 Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos, en el análisis de ellos y en las conclusiones se recomienda:

1. Determinar las dosis bacterianas a las que la población se encuentra expuesta cuando surge algún brote de cólera; así como llevar a cabo una investigación para contabilizar las bacterias de *H. pylori* en los diferentes vectores a través de los cuales dicha bacteria ha sido encontrada y podría ser distribuida.
2. Aplicar el proceso de desinfección por ozonización en el agua destinada a uso y consumo humano, pues esta tecnología ha mostrado ser efectiva en la eliminación de *V. cholerae* y *H. pylori*.
3. Emplear una técnica de detección y conteo, como es PCR o q-PCR, que permita identificar con mayor precisión la presencia y cantidad de agentes microbianos potencialmente infecciosos como *V. cholerae* y *H. pylori*.
4. Es necesaria la aplicación de los modelos dosis – respuesta empleados en esta investigación en un mayor número de casos, con valores documentados de dosis de exposición y niveles de infectividad de las bacterias, esto para potenciar su utilidad en el control de los riesgos microbiológicos.

6. REFERENCIAS

6.1 Libros

- Brown, T., LeMay, E., Bursten, B., and Burdge, J. (2004). "Química La ciencia central" Novena edición Pearson Education.
- Haas, N. C., Rose, B. J., & Gerba, P. C. (1999). Quantitative Microbial Risk Assessment Ed. John Wiley & Sons, Inc. United States of America. ISBN: 0-471-18397-0
- Langlais, B., Reckhow, D. and Brink, D. (1991). Ozone in water treatment Application and Engineering. American Water Research Lewis Publishers.
- Mobley, H., Mendz, G. and Hazell S. (2001). Helicobacter pylori Physiology and Genetics ASM Press, Washington DC.
- Norma Europea UNE – EN 1278 (2010) Productos químicos utilizados en el tratamiento del agua destinada al consumo humano. Ozono.
- Norma Oficial Mexicana NOM – 127 – SSA – 1994 "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano – Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización".
- Román, P. (2013). Efecto sobre la estructura celular de Helicobacter pylori presente en agua por acción de cloro y ozono. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química UNAM.
- Romero, R. (2007) Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª Edición Editorial Médica Panamericana. México.

6.2 Páginas de Internet

- Consejo Nacional de Población CONAPO (2010) Índice de Marginación por Entidad Federativa y Municipio 2010. [En línea] Disponible en: http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Indices_de_Marginacion_2010_por_entidad_federativa_y_municipio Consultado en: Octubre, 2017.
- Espinoza Olguín, Luis Emmanuel. (2015) Cólera: Análisis patológico y acciones de enfermería. Colegio de Estudios Científicos y Tecnológicos del Estado de Hidalgo. [En línea] Disponible en: <https://es.slideshare.net/luisemmaespin/historia-natural-clera> Consultado en: Septiembre, 2017.
- La tasa de mortalidad por la epidemia de cólera en Haití empieza a disminuir (28 de Octubre de 2010) El País [En línea] Disponible en: <http://www.elmundo.es/america/2010/10/28/noticias/1288255545.html> Consultado en: Septiembre, 2017.

- Organización Mundial de la Salud (2004) Brotes de cólera: Evaluación de la respuesta a los brotes y mejora de la preparación. Grupo especial Mundial de lucha contra el cólera. [En línea] Disponible en: http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/colera_respuesta_preparacion-spa.pdf Consultado en: Octubre, 2017.
- Organización Mundial de la Salud (2013). Alerta y Respuesta Mundiales: Cólera en México, Brotes Epidémicos. [En línea]. Disponible en: http://www.who.int/csr/don/2013_11_13/es/ Consultado en: Septiembre, 2017.
- Organización Mundial de la Salud (2016a). Centro de prensa: Cada año mueren 12.6 millones de personas a causa de la insalubridad del medio ambiente [En línea] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/deaths-attributable-to-unhealthy-environments/es/> Consultado en: Septiembre, 2017.
- Organización Mundial de la Salud (2017a). Centro de prensa: Agua. [En línea]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs391/es/> Consultado en: Septiembre, 2017.
- Organización Mundial de la Salud (2017b). Centro de prensa: Cólera. [En línea] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs107/es/> Consultado en: Septiembre, 2017.
- Organización Mundial de la Salud (2017c). Inocuidad de los Alimentos: Zoonosis y Medio Ambiente. [En línea] Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/areas_work/zoonose/es/ Consultado en: Octubre, 2017.
- Organización Panamericana de la Salud OPS (2011a) Boletín del grupo de acción sanitaria [En línea] Disponible en: http://www.paho.org/disasters/index.php?option=com_content&view=article&id=1423&Itemid=1 Consultado en: Septiembre, 2017.
- Organización Panamericana de la Salud OPS (2011b) Alerta Epidemiológica: cólera. [En línea] Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=23166&Itemid=270 Consultado en: Octubre, 2017.
- The Nobel Prize in Physiology or Medicine (2005). The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2005. [En línea] Disponible en: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2005/index.html Consultado en: Octubre, 2017.
- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization UNESCO (2003) Agua para todos, agua para la vida. [En línea] Disponible en: <http://unesdoc.unesco.org/images/0014/001494/149406s.pdf> Consultado en: Septiembre, 2017.

6.3 Artículos Académicos

- Azevedo, N. F., Almeida, C., Cerqueira, L., Dias, S., Keevil, C. W., & Vieira, M. J. (2007). Coccoid form of *Helicobacter pylori* as a morphological manifestation of cell adaptation to the environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(10), 3423–3427. <https://doi.org/10.1128/AEM.00047-07>
- Baker, K. H., Hegarty, J. P., Redmond, B., Reed, N. a., & Herson, D. S. (2002). Effect of Oxidizing Disinfectants (Chlorine, Monochloramine, and Ozone) on *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 981–984. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.981-984.2002>
- Borrotto, R. J. (1997). La ecología de *Vibrio cholerae* serogrupo 01 en ambientes acuáticos. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 1(1), 3–8. <https://doi.org/10.1590/S1020-49891997001100005>
- Bowers, J., Dalsgaard, A., DePaola, A., Karunasagar, I., McMeekin, T., Nishibuchi, M., Osaka, K., Summer, J., Walderhaug, M. (2005). Risk Assessment of cholerae *Vibrio cholerae* O1 and O139 in warm-water shrimp in international trade. *Microbiological Risk Assessment Series* (Vol. 9).
- Cash, R. A., Music, S. I., Libonati, J. P., Snyder, M. J., Wenzel, R. P., & Hornick, R. B. (1974). Response of Man to Infection with *Vibrio cholerae*. I. Clinical, Serologic, and Bacteriologic Responses to a Known Inoculum. *Journal of Infectious Diseases*, 129(1), 45–52. <https://doi.org/10.1093/infdis/129.1.45>
- Castejón E. (2007). Evaluación de riesgos. In *Instrumentos de la FAO sobre la bioseguridad* (pp. 223–233).
- Cellini, L., Allocati, N., & Campli, D. (1994). Coccoid *Helicobacter pylori* Not Culturable In Vitro Reverts in Mice. *Microbiology*

and *Immunology*, 38, 843–850.

- Codeço, C. T. (2001). Endemic and epidemic dynamics of cholera: the role of the aquatic reservoir. *BMC Infectious Diseases*, 1(1), 1471–2334. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-1-1>
- Cogliano, V. J., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Lauby-Secretan, B., Ghissassi, F. El, Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Freeman, C., Galichet, L., Wild, C. P. (2010). Preventable exposures associated with human cancers. *Journal of the National Cancer Institute*, 103(24), 1827–1839. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr483>
- Colwell, R. R. (1996). Global climate and infectious disease: the cholera paradigm. *Science (New York, N.Y.)*, 274(5295), 2025–2031. <https://doi.org/10.1126/science.274.5295.2025>
- Colwell, R. R., Brayton, P., Herrington, D., Tall, B., Huq, A., & Levine, M. M. (1996). Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* O1 revert to a cultivable state in the human intestine. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 12(1), 28–31. <https://doi.org/10.1007/BF00327795>
- Connor, K. a O., Cartwright, E., Loharikar, A., Routh, J., Gaines, J., Fouché, M. B., Jean-louis, R., Ayers, T., Johnson, D., Tappero, J., Roels, T., Archer, W., Dahourou, G., Mintz, E., Quick, R., Mahon, B. E. (2011). Risk Factors Early in the 2010 Cholera Epidemic, Haiti. *Emerging Infectious Diseases*, 17(11), 2010–2012.
- Constantin de Magny, G., Murtugudde, R., Sapiano, M. R. P., Nizam, A., Brown, C. W., Busalacchi, A. J., Yunus, M., Nair, G., Gil, A., Lanata, C., Calkins, J., Manna, B., Rajendran, K., Bhattacharya, M., Huq, A., Sack, R., Colwell, R. R. (2008). Environmental signatures associated with cholera epidemics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(46), 17676–17681. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809654105>
- Faruque, S. M., Albert, M. J., & Mekalanos, J. J. (1998). Epidemiology, genetics, and ecology of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 62(4), 1301–1314. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>
- Gilbride, K. (2013). Molecular Methods for the Detection of Waterborne Pathogens. In *Waterborne Pathogens: Detection Methods and Applications* (pp. 231–290). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59543-0.00008-6>
- Haas, N. C., Rose, B. J., & Gerba, P. C. (2014). Quantitative Microbial Risk Assessment: *Application for Water Safety Management*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Hegarty, J. P., Dowd, M. T., & Baker, K. H. (1999). Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. *Journal of Applied Microbiology*, 87(5), 697–701. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00912.x>
- Hornick, R. B., Music, S. I., Wenzel, R., Cash, R., Libonati, J. P., Snyder, M. J., & Woodward, T. E. (1971). The Broad Street pump revisited: response of volunteers to ingested cholera vibrios. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 47(10), 1181–1191.
- Hultén, K., Enroth, H., Nyström, T., & Engstrand, L. (1998). Presence of *Helicobacter* species DNA in Swedish water. *Journal of Applied Microbiology*, 85(2), 282–286. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00500.x>
- Ireland Environmental Protection Agency. (2013). *Water Treatment Manual : Disinfection*.
- Kim, J. G., & Yousef, A. E. (2000). Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone. *Journal of Food Science*, 65(3), 521–528. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16040.x>
- Koo, D., Traverso, H., Libel, M., Drasbek, C., Tauxe, R., & Brandling-Bennett, D. (1996). Epidemic cholera in Latin America, 1991-1993: implications of case definitions used for public health surveillance. *Bull Pan Am Health Organ* (Vol. 30). Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8704754>
- Lezcano, I., Rey, R. P., Baluja, C., & Sánchez, E. (1999). Ozone Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* and *Salmonella typhimurium* in Water. *Ozone Science & Engineering*, 21, 293–300. <https://doi.org/10.1080/01919519908547242>
- Life technologies. (2012). *Real-time PCR handbook*.
- Lopes, D., Nunes, C., Martins, M. C. L., Sarmiento, B., & Reis, S. (2014). Eradication of *Helicobacter pylori*: Past, present and future. *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society*, 189, 169–186. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.06.020>
- Mazari-Hiriart, M., López-Vidal, Y., & Calva, J. J. (2001). *Helicobacter pylori* in water systems for human use in Mexico City.

- Water Science and Technology : A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 43(12), 93–98.
- McKeown, I., Orr, P., Macdonald, S., Kabani, A., Brown, R., Coghlan, G., Dawood, M., Embil, J., Sargent, M., Smart, G., Bernstein, C. N. (1999). *Helicobacter pylori* in the Canadian arctic: Seroprevalence and detection in community water samples. *American Journal of Gastroenterology*, 94(7), 1823–1829. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.1999.01212.x>
- Orta, M. T., Díaz, V., & Aparicio, G. (1996). Desinfección de agua potable contaminada con *Vibrio cholerae* adaptada al cloro. *Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, 276–282.
- Reidl, J., & Klose, K. E. (2002). *Vibrio cholerae* and cholera: Out of the water and into the host. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(2), 125–139. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(02\)00091-8](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(02)00091-8)
- Riverón Corteguera, R. L. (2002). Enfermedades emergentes y reemergentes: un reto al siglo XXI. *Revista Cubana de Pediatría*, 74(1), 7–22. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312002000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=pt
- Ryan, M., Hamilton, K., Hamilton, M., & Haas, C. N. (2014). Evaluating the Potential for a *Helicobacter pylori* Drinking Water Guideline. *Risk Analysis*, 34(9), 1651–1662. <https://doi.org/10.1111/risa.12190>
- Sinclair, M., O'Toole, J., Gibney, K., & Leder, K. (2015). Evolution of regulatory targets for drinking water quality. *Journal of Water and Health*, 13(2), 413–426. <https://doi.org/10.2166/wh.2014.242>
- Solnick, J. A. Y. V, Hansen, L. M., & Canfield, D. R. O. N. R. (2001). Determination of the Infectious Dose of *Helicobacter pylori* during Primary and Secondary Infection in Rhesus Monkeys (*Macaca mulatta*) Determination of the Infectious Dose of *Helicobacter pylori* during Primary and Secondary Infection in Rhesus Monkeys (. *Infection and Immunity*, 69(11), 6887–6892. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.11.6887>
- Taylor, R. H., Flakinham III, J. O., Norton, C. D., & Lechevallier, M. W. (2000). Ozone Susceptibility of *Mycobacterium avium* Chlorine , Chloramine , Chlorine Dioxide , and Ozone Susceptibility of *Mycobacterium avium*, 66(4), 1702–1705. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.4.1702-1705.2000> Updated
- Teunis, P. F. M., Medema, G. J., Kruidenier, L., & Havelaar, A. H. (1997). Assessment of the Risk of Infection By *Cryptosporidium* or *Giardia* in Drinking Water From a Surface Water Source. *Water Research*, 31(6), 1333–1346. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00387-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00387-9)
- Teunis, P. F. M., Van der Heijden, O. G., Van der Giessen, J. W. ., & Havelaar, A. H. (1996). The dose-response relation in himan volunteers for gastro-intestinal pathogens. *Rijksinstituut Voor Volksgezondheid En Milieu RIVM*, 97.
- Thompson, F., Iida, T., & Swings, J. (2004). Biodiversity of Vibrios. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 68(3), 403–431. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.3.403>
- Torres, J., Leal-Herrera, Y., Perez-Perez, G., Gomez, a, Camorlinga-Ponce, M., Cedillo-Rivera, R., Tapia-Conyer, R., Muñoz, O. (1998). A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in Mexico. *The Journal of Infectious Diseases*, 178(4), 1089–1094. <https://doi.org/10.1086/515663>
- USEPA, U. S. E. P. A. (1999). Folleto informativo de tecnología de aguas residuales *Desinfección con ozono*.
- West, A. P., Millar, M. R., & Tompkins, D. S. (1990). Survival of *Helicobacter pylori* in water and saline. *Journal of Clinical Pathology*, 43(7), 609. <https://doi.org/10.1023/A:1025196414067>

7. ANEXOS

7.1 Datos socioeconómicos por municipio del estado de Hidalgo

El estado de Hidalgo fue dividido en nueve regiones que agrupan varios municipios (CONAPO, 2010), las regiones que comprenden este estado son: Huasteca, Sierra Alta, Sierra Baja, Sierra Gorda, Sierra Tepehua, Valle de Tulancingo, Valle del Mezquital Norte, Valle del Mezquital Sur y Altiplano (Figura 6.1).

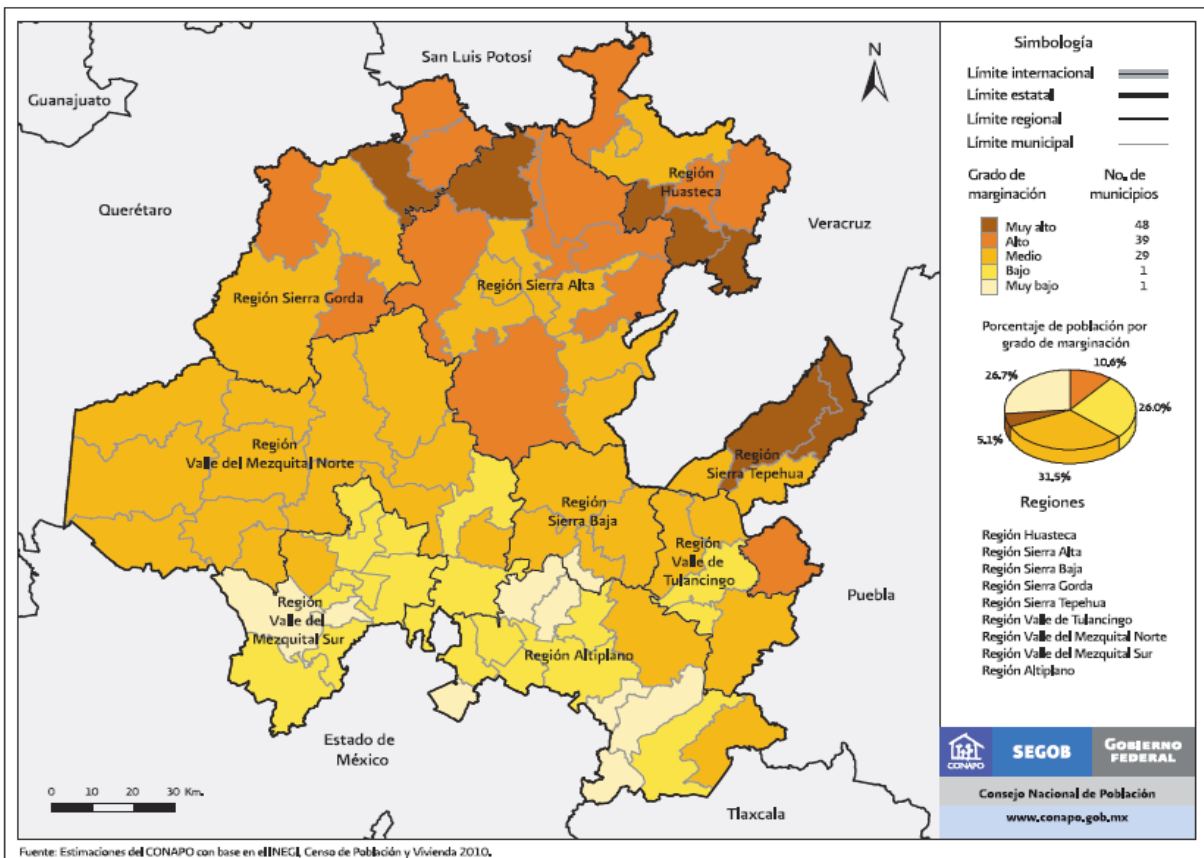


Figura 7.1 Grado de marginación por región de Hidalgo. Fuente: CONAPO, 2010

En la Tabla 6.1 se presenta la información desglosada por municipio sobre las condiciones socioeconómicas y ambientales de la población del estado de Hidalgo, los datos reportados son:

1. Clave del municipio
2. Municipio
3. Población del municipio
4. Porcentaje de población de 15 años o más, analfabeta
5. Población de 15 años o más sin primaria completa
6. Porcentaje de ocupantes de viviendas sin drenaje ni excusado
7. Porcentaje de ocupantes de viviendas sin energía eléctrica
8. Porcentaje de ocupantes de viviendas sin agua entubada
9. Porcentaje de viviendas con algún nivel de hacinamiento
10. Porcentaje de ocupantes de viviendas con piso de tierra
11. Porcentaje de población en localidades con menos de 5000 habitantes
12. Porcentaje de población ocupada con ingresos de hasta dos salarios mínimos
13. Grado de marginación
14. Índice de marginación escala 0 a 100
15. Lugar que ocupa en el contexto estatal

El estado de Hidalgo cuenta con 118 municipios, de los cuales 48 presentan un grado de marginación “muy alto” y 39 un grado de marginación “alto”, esto significa que en el 2010 casi el 75% del estado se encontraba en los niveles más altos de marginación que se pueden presentar.

Tabla 7.1 Condiciones socioeconómicas y ambientales de la población del estado de Hidalgo

Clave del mpio.	Municipio	Población total	% Población de 15 años o más analfabeta	% Población de 15 años o más sin primaria completa	% Ocupantes de viviendas sin drenaje ni excusado	% Ocupantes de viviendas sin energía eléctrica	% Ocupantes de viviendas sin agua entubada	% Viviendas con algún nivel de hacinamiento	% Ocupantes de viviendas con piso de tierra	% Población en localidades con menos de 5000 hab.	% Población ocupada con ingresos de hasta 2 salarios mínimos	Grado de marginación	Índice de marginación escala 0 a 100	Lugar que ocupa en el contexto estatal
	Hidalgo	2665018	10.3	22.67	6.03	2.5	9.1	37.68	7.22	58.71	49.29			
1	Acatlán	20077	15.57	37.38	19	4.96	19.91	44.27	4.49	100	50.96	Medio	29.537	29
2	Acaxochitlán	40583	23.86	40.6	12.4	5.72	31.13	63.19	12.42	100	60.7	Alto	31.135	9
3	Actopan	54299	5.71	16.11	5.37	3.35	2.73	35.05	5.21	46.18	50.38	Bajo	16.534	62
4	Agua Blanca de Iturbide	8994	17.44	36.32	5.33	9.69	9.28	46.67	10.36	100	64.29	Medio	30.981	25
5	Ajacuba	17055	8.48	24.75	6.04	1.32	0.34	31.77	4.37	57.52	48.23	Bajo	17.744	60
6	Alfajayucan	18879	13.38	30.43	24.15	3.44	2.09	38.07	6.28	100	73.95	Medio	28.579	33
7	Almoloya	11294	10.32	23.82	7.15	1.84	1.42	47.57	6.55	100	65.41	Medio	24.743	47
8	Apan	42563	6.99	18.68	2.54	1.91	0.75	37.56	4.21	37.41	54.12	Bajo	16.647	61
9	El Arenal	17374	6.91	19.36	10.95	2.72	13.14	42.63	6.8	100	44.61	Medio	21.886	50
10	Atitalaquia	26904	3.94	14.5	2.05	0.83	1.21	29.99	2.24	42.71	33.99	Muy bajo	11.657	80
11	Atlapexco	19452	26.83	37.06	8.59	3.1	34.91	48.59	3.99	100	68.19	Alto	33.973	18
12	Atotonilco el Grande	26940	11.71	30.65	16.34	4.48	10.03	40.98	6.06	73.05	57.93	Medio	25.565	42
13	Atotonilco de Tula	31078	4.47	16.69	4.94	0.91	5.99	32.71	1.3	73.76	29.58	Bajo	10.103	73
14	Calnali	16962	23.75	44.26	2	5.98	4.53	45.23	18.46	100	85.15	Alto	35.337	14
15	Cardonal	18427	15.62	27.85	13.88	2.96	7.14	38.48	14.5	100	65.53	Medio	28.011	34

Clave del mpio.	Municipio	Población total	% Población de 15 años o más analfabeta	% Población de 15 años o más sin primaria completa	% Ocupantes de viviendas sin drenaje ni excusado	% Ocupantes de viviendas sin energía eléctrica	% Ocupantes de viviendas sin agua entubada	% Viviendas con algún nivel de hacinamiento	% Ocupantes de viviendas con piso de tierra	% Población en localidades con menos de 5000 hab.	% Población ocupada con ingresos de hasta 2 salarios mínimos	Grado de marginación	Índice de marginación escala 0 a 100	Lugar que ocupa en el contexto estatal
16	Cuatepec de Hinojosa	54500	11.86	28.68	14.32	3.65	4.13	46.55	7.37	65.44	58.97	Medio	25.1	44
17	Chapantongo	12271	11.13	31.66	28.77	4.2	1.65	38.58	4.99	100	71.92	Medio	28.65	32
18	Chapulhuacán	22402	20.48	39.18	3.26	5.93	20.2	48.28	17.37	100	75.98	Alto	34.425	17
19	Chilcuautila	17436	11.09	24.26	15.25	1.74	1.95	37.91	8.61	100	74.59	Medio	25.909	41
20	Eloxochitlán	2800	16.03	37.69	4.84	3.06	6.68	35.29	11.58	100	82.77	Medio	29.663	28
21	Emiliano Zapata	13357	5.1	15.92	0.6	0.33	0.1	36.48	2	34.7	43.97	Muy bajo	13.394	77
22	Epazoyucan	13830	6.76	20.57	8.08	2.55	1.87	37.64	3.47	100	44.42	Bajo	19.548	57
23	Francisco I Madero	33901	7.13	18.15	3.24	1.49	0.26	33.29	4.24	49.81	48.91	Bajo	15.928	67
24	Huasca de ocampo	17182	9.56	31.21	21.22	5.93	2.86	44.56	6.53	100	46.86	Medio	26.136	40
25	Huautla	22621	23.22	39	1.17	2.01	43.91	38.46	27.44	100	79.76	Alto	36.215	11
26	Huazalingo	12779	24.81	39.5	8.52	3.88	22.91	55.88	32.94	100	82.74	Muy alto	39.892	6
27	Huehuetla	23653	33.5	50.81	8.56	10.04	47.33	58	8.52	100	78.98	Muy alto	43.574	3
28	Huejutla de Reyes	122905	21.55	32.2	7.65	1.97	17.38	47.53	22.63	67.44	55.2	Medio	29.757	27
29	Huichapan	44253	8.01	23.99	14.52	1.84	1.11	37.04	3.25	79.55	55.57	Medio	21.131	52
30	Ixmiquilpan	86363	79.88	21.01	6.65	1.23	5.88	37.22	7.61	59.69	53.78	Medio	19.874	56
31	Jacala de Ledezma	12804	16.7	37.35	6.45	4.49	26.28	33.1	9.79	100	69.8	Medio	29.879	26
32	Jaltocán	10933	30.19	40.23	4.41	2.86	9.46	48.41	8.1	43.28	76.11	Medio	31.465	24
33	Juárez de Hidalgo	3193	16.54	37.99	3.23	1.79	2.04	36.14	6.27	100	76.39	Medio	27.632	36

Clave del mpio.	Municipio	Población total	% Población de 15 años o más analfabeta	% Población de 15 años o más sin primaria completa	% Ocupantes de viviendas sin drenaje ni excusado	% Ocupantes de viviendas sin energía eléctrica	% Ocupantes de viviendas sin agua entubada	% Viviendas con algún nivel de hacinamiento	% Ocupantes de viviendas con piso de tierra	% Población en localidades con menos de 5000 hab.	% Población ocupada con ingresos de hasta 2 salarios mínimos	Grado de marginación	Índice de marginación escala 0 a 100	Lugar que ocupa en el contexto estatal
34	Lolotla	9843	20.45	36.32	1.75	3.41	19.02	49.55	17.41	100	67.69	Alto	32.356	21
35	Metepec	11429	11.66	28.82	6.59	4.3	3.97	48.45	5.22	100	49.97	Medio	24.849	46
36	San Agustín Metzquititlán	9364	8.33	25.85	9.75	5.69	1.88	39.92	11.96	100	75.62	Medio	26.306	39
37	Metztlitlán	21623	15.52	36.36	12.32	6.57	15.99	39.77	20.63	100	76.18	Alto	33.008	19
38	Mineral del Chico	7968	13.33	31.64	18.6	6.68	14.9	43.4	11.28	100	50.47	Medio	28.793	31
39	Mineral del Monte	13894	4.21	14.07	4.17	0.49	9.13	39	3.41	20.55	38.64	Muy bajo	13.41	76
40	La Misión	10452	24.74	49.55	8.15	2.9	64.8	42.42	3.62	100	88.48	Muy alto	39.203	7
41	Mixquiahuala de Juárez	42834	6.51	18.39	3.29	1.59	1.45	33.51	4.31	40.44	50.68	Bajo	15.759	69
42	Molango de Escamilla	11209	13.7	32.59	3.83	6.65	18.23	42.65	14.43	100	65.97	Medio	29.535	30
43	Nicolás Flores	6614	15.21	30.94	11.49	5.31	23.74	42.97	15.92	100	79.29	Alto	32.376	20
44	Nopala de Villagrán	15666	9.57	31.87	25.74	3.84	4.09	37.09	3.7	100	62.85	Medio	26.689	38
45	Omitlán de Juárez	8963	9.53	24.01	17.01	2.45	3.78	45.14	7.9	100	57.53	Medio	25.113	43
46	San Felipe Orizatlán	39181	26.86	42.89	6.7	1.66	13.69	46.39	28.9	82.94	76.66	Alto	36.067	13
47	Pacula	5049	21.06	45.76	25.51	6.03	55.62	38.85	5.81	1000	71.07	Alto	37.725	8
48	Pachuca de Soto	267862	2.87	9.32	0.37	0.8	2.86	23.66	2.5	4.21	32.02	Muy bajo	1.603	84
49	Pisaflores	18.244	22.03	41.06	7.37	4.48	30.36	52.19	6.53	100	88.76	Alto	36.49	10
50	Progreso de Obregón	22217	5.52	15.89	1.99	2.12	0.57	32.39	4.51	21.29	48.86	Bajo	13.792	75

Clave del mpio.	Municipio	Población total	% Población de 15 años o más analfabeta	% Población de 15 años o más sin primaria completa	% Ocupantes de viviendas sin drenaje ni excusado	% Ocupantes de viviendas sin energía eléctrica	% Ocupantes de viviendas sin agua entubada	% Viviendas con algún nivel de hacinamiento	% Ocupantes de viviendas con piso de tierra	% Población en localidades con menos de 5000 hab.	% Población ocupada con ingresos de hasta 2 salarios mínimos	Grado de marginación	Índice de marginación escala 0 a 100	Lugar que ocupa en el contexto estatal
51	Mineral de la Reforma	127404	1.89	6.75	0.43	0.29	1.11	22.76	1.61	68.72	27.96	Muy bajo	8.96	83
52	San Agustín Tlaxiaca	32.057	7.03	21.24	10.75	2.1	5.74	41.34	4.52	67.26	42.67	Bajo	19.238	58
53	San Bartolo Tutotepec	18137	34.28	51.62	11.97	22.08	33.74	56.85	28.05	100	67.87	Muy alto	47.39	1
54	San Salvador	32773	7.49	17.65	9.04	1.39	0.89	36.94	6.7	100	54.85	Medio	20.489	54
55	Santiago de Anaya	16014	9.29	21.67	10.7	2.53	0.57	38.63	5.69	100	62.04	Medio	22.897	48
56	Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero	33495	6.82	19.05	2.77	1.55	6.95	38.55	3.2	52	41.38	Bajo	16.39	64
57	Singuilucan	14851	12.09	30.73	12.81	3.79	5.71	47.13	4.19	100	60.43	Medio	26.854	37
58	Tasquillo	16865	11.62	26.75	18.23	2.31	2.23	34.08	9.04	100	60.23	Medio	24.917	45
59	Tecozautla	35067	14.06	28.72	20.36	2.71	3.98	44.79	8.73	83.33	68.81	Medio	27.954	35
60	Tenengo de Doria	17206	23.38	41.51	5.26	4.39	13.97	48.87	5.01	100	65.74	Medio	32.062	22
61	Tepeapulco	51664	4.75	13.88	1.85	0.68	0.9	28.05	2.04	15.22	37.36	Muy bajo	10.447	82
62	Tepehuacán de Guerrero	29125	29.77	47.17	2.22	12.24	49.5	60.19	10.99	100	83.79	Muy alto	43.214	4
63	Tepeji del Río Ocampo	80612	5.26	17.42	6.9	1.53	8.17	36.9	2.78	57.64	38.22	Bajo	15.977	66
64	Tepetitlán	9940	5.85	22.26	10.8	4.3	1.01	33.16	5.71	100	60.43	Medio	21.72	51
65	Tetepango	11112	8.22	21.34	5.39	2.01	0.07	34.46	5.14	21.66	44.85	Bajo	15.64	70
66	Villa de Tezontepec	11654	6	18.4	2.39	1.74	1	46.26	4.02	55.26	48.62	Bajo	17.774	59

Clave del mpio.	Municipio	Población total	% Población de 15 años o más analfabeta	% Población de 15 años o más sin primaria completa	% Ocupantes de viviendas sin drenaje ni excusado	% Ocupantes de viviendas sin energía eléctrica	% Ocupantes de viviendas sin agua entubada	% Viviendas con algún nivel de hacinamiento	% Ocupantes de viviendas con piso de tierra	% Población en localidades con menos de 5000 hab.	% Población ocupada con ingresos de hasta 2 salarios mínimos	Grado de marginación	Índice de marginación escala 0 a 100	Lugar que ocupa en el contexto estatal
67	Tezontepec de Aldama	48025	7.4	21.14	7.17	1.97	1	40.9	5.25	74.32	61.93	Medio	20.928	53
68	Tianguistengo	14037	27.67	45.71	3.43	3.15	24.53	52.19	5.83	100	78.46	Alto	36.07	12
69	Tizayuca	97461	2.56	10.49	0.24	0.49	0.63	38.67	2.25	16.97	35.25	Muy bajo	10.52	81
70	Tlahuelilpan	17153	5.15	18.63	1.79	1.1	1.14	39.92	2.87	50.46	51.29	Bajo	16.41	63
71	Tlahuiltepa	9753	19.71	45.84	3.79	16.04	23.1	38.52	5.12	100	79.25	Alto	35.218	15
72	Tlanalapa	10248	5.38	12.81	2.28	1.79	0.91	28.77	1.92	26.64	45.55	Muy bajo	12.22	79
73	Tlanchinol	36382	21.08	36.73	1.53	4.36	16.24	57.35	26.78	85.71	73.58	Alto	34.977	16
74	Tlaxcoapan	26758	5.51	18.57	1.77	0.93	0.29	39.7	3.19	20.37	48.48	Bajo	14.695	72
75	Tolcayuca	13.228	5.74	17.52	1.13	0.53	0.24	41.12	3.01	48.32	44.76	Bajo	15.455	71
76	Tula de Allende	103.919	3.75	14.56	4.43	0.92	9.04	28.6	2.02	38.51	35.87	Muy bajo	12.348	78
77	Tulancingo de Bravo	151584	7.22	18.01	1.62	1.35	4.3	36.29	3.83	16.28	40.48	Bajo	13.933	74
78	Xochiatipan	19067	31.54	47.8	12.66	6.56	48.95	61.45	19.39	100	85.17	Muy alto	45.172	2
79	Xochicoatlán	7320	17.46	36.95	2.45	5.48	6.75	43.59	12.79	100	86.24	Medio	37.873	23
80	Yahualica	23607	35.01	48.73	4.14	3.85	42.91	56.44	9.8	100	85.56	Muy alto	41.921	5
81	Zacualtipán de Ángeles	32437	9.94	24.844	2.03	2.24	5.35	45.45	9.44	28.71	53.42	Medio	20.138	55
82	Zapotitlán de Juárez	18036	5.39	17.7	2.03	0.92	2.26	38.32	2.7	53.04	50.25	Bajo	16.138	65
83	Zempoala	39143	5.88	15.83	3.81	1.53	2.41	34.24	3.13	69.33	44.46	Bajo	15.894	68
84	Zimapán	38516	9.6	25.48	12.47	2.62	23.32	36.89	7.27	65.62	48.16	Medio	22.567	49

Fuente: Índice de Marginación por Entidad Federativa y Municipio, CONAPO, 2010

