



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**DETECCIÓN MOLECULAR DE ADENOVIRUS HUMANOS
(HAdV) EN CUERPOS DE AGUA DEL PACÍFICO Y EL CARIBE
MEXICANO**

Por:

LBG. Grecia López Camacho

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTOS AGRÍCOLAS DE
ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de tesis de la C. Grecia López Camacho, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias.



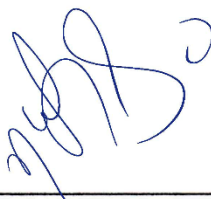
Dr. Cristobal Chaidez Quiroz
Director de tesis



Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Codirectora de tesis



Dr. José Andrés Medrano Félix
Integrante del comité de tesis



Dra. Nohelia Castro del Campo
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Detección Molecular de Adenovirus Humanos (HAdV) en Cuerpos de Agua del Pacífico y el Caribe Mexicano” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Grecia López Camacho, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.**
Coordinación de Programas Académicos


Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme permitido, a través de su beca económica, realizar este proyecto de Maestría.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. coordinación Culiacán por abrirme las puertas de sus instalaciones y permitirme formar parte de ellas, contribuyendo a que mi trabajo se realizara de la mejor manera.

Al Dr. Cristobal Chaidez Quiroz quien siguió demostrándome su confianza y dejó abiertas las puertas de su laboratorio para seguir formando parte de su equipo de trabajo, además de no dejar de apoyarme y comprenderme en todo momento, por ser el ejemplo de científico que un día voy a ser.

A la Dra, Cecilia Hernández Cepeda por aceptar colaborar en este proyecto, abrirme las puertas de su laboratorio y brindarme de su conocimiento para llevar a cabo este proyecto.

Al Dr. José Andrés Medrano Félix por aceptar ser parte de mi comité y siempre dar sus acertadas opiniones, además de sus consejos tanto para mí como para el proyecto.

A la Dra. Nohelia Castro del Campo por aceptar ser parte de mi comité, por su apoyo y las aportaciones que brindó a mi formación.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán, la Unidad de Ciencias del Agua por abrirme las puertas de sus instalaciones y permitirme avanzar en este proyecto.

Al Dr. Juan Ramón Ibarra Rodríguez por todo sus consejos, aportaciones y disposición a apoyarme en aclarar mis dudas.

Al equipo de LANIIA que de una u otra manera aportaron para finalizar este proyecto, así como al laboratorio de fitopatología, principalmente al M.C. Isidro Márquez por su apoyo, disposición y sus consejos técnicos.

Al Laboratorio de Biología Molecular de la Unidad de Ciencias del Agua, especialmente a la M.C. Gabriela Rosiles González por todo su apoyo técnico y aportaciones al proyecto durante mi estancia en CICY.

A la Dra. Nohemí García Magallanes de la Universidad Politécnica de Sinaloa en Mazatlán, Sinaloa y al Dr. Edgar Antonio Rodríguez Negrete del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) en Guasave, Sinaloa, por su apoyo técnico-metodológico

para finalizar mis trabajos experimentales.

A mis amigos Sra. Verónica Ochoa y Gerardo Ávila por hacer más amena mi estancia en Quintana Roo, por hacerme sentir parte de su familia.

A mi Q.F.B. favorita, Alondra Giselle Acosta Rocha por estar para mí siempre, por enseñarme lo que es la amistad y por todos esos momentos de apoyo técnico durante el proceso de la Maestría.

DEDICATORIA

Este trabajo, fruto de mi esfuerzo y persistencia va dedicado a mis padres Cruz Ángel López Gámez y Eva Luz Camacho Padilla, a mis hermanos; Graciela Salazar Camacho, Jesús Ángel López Camacho; y también para ti, Ariadna Guadalupe Labrada Ramírez, y para mis niños Ángel Antonio, Gabriel Emiliano, Eva Vanesa y Frida Sofía. Por ser y estar para mí en todo momento, un escalón más en mi vida junto con su compañía es lo que me hace sentir más plena.

Muchas gracias, los amo por siempre.

Por último...

Esperé a que se apagara el ruido que me ha rodeado todos estos días, antes de dedicarle estas palabras con toda sinceridad y el cariño que siento por usted. Todo este trabajo no fuera posible, si usted no fuera ese brillito de luz que necesité en mi arduo camino, sin su cariño, enseñanza y ejemplo, no hubiera sucedido nada de esto, quizá piensa que estoy dándole mucha importancia, pero “debo darle honor a quien honor merece” y pese al tiempo, siempre le estaré agradecida por marcar mi vida de una manera tan especial y dejarme permanecer a su lado como un miembro más en su familia. Celebro su vida cada día de la mía.

Con todo mi corazón para usted, Celida Isabel Martínez Rodríguez.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	6
CONTENIDO	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE CUADROS	9
LISTA DE ABREVIATURAS	10
RESUMEN	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN	14
2. ANTEDECENTES	17
2.1. Las Costas de México: El Pacífico y El Caribe.....	17
2.2. El Agua: Uno de los Recursos Naturales Más Importantes en El Mundo.....	19
2.3. El Uso de Aguas Residuales.....	21
2.4 Virus En El Agua Residual.....	27
2.5. ¿Qué son los Virus?.....	30
2.5.1. Adenovirus Humano	33
3. HIPÓTESIS	37
4. OBJETIVO	38
4.1 Objetivo General	38
5. MATERIALES Y MÉTODOS	39
5.1. Áreas de Estudio.....	39
5.2 Colecta y Procesamiento de las Muestras	41
5.3 Concentración Viral.....	41
5.4. Extracción de Ácidos Nucleicos.....	43
5.5 Detección Molecular	44
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
7. BIBLIOGRAFÍA	50

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Objetivos de desarrollo del milenio.....	20
2	Composición del agua residual.....	22
3	Porcentaje de los procesos de tratamiento de aguas municipales en 2019.....	23
4	Conformación del virión de adenovirus humano.....	34
5	Representación esquemática de la estrategia experimental.....	39
6	Puntos de estudio.....	41
7	Sistema de ultrafiltración tangencial.....	42

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Plantas de tratamiento municipales por entidad federativa (2019).....	18
2	Parámetros importantes para caracterizar el agua de uso.....	24
3	Principales microorganismos patógenos presentes en aguas residuales.....	26
4	Resumen del estudio epidemiológico de Cifuentes y colaboradores durante 1993-1994.....	29
5	Serotipos de adenovirus humano y enfermedades clínicas asociadas.....	35
6	Sitios de muestreo de las regiones de estudio.....	40
7	Cebadores para gen <i>hexón</i>	45
8	Condiciones de amplificación para PCR.....	45
9	Identificación molecular de los virus en estudio.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
µl	Microlitros
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
CIAD	Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo
CICY	Centro de Investigación Científica de Yucatán
CG/L	Copias de genoma por litro
CONAGUA	Comisión Nacional de Agua
g/L	Gramos por litro
HAdV	Adenovirus humano
h	Horas
Km	Kilómetros
LANIIA	Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria
LMAA	Laboratorio de Microbiología Ambiental y de Alimentos
ml	Mililitros
Min	Minutos
MWCO	Molecular weight cutoff
NaPP	Polisulfato de sodio
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONU-DAES	Organización de las Naciones Unidas - Departamento de Asuntos Económicos y Sociales de las Naciones Unidas
Pb	Pares de base
PBS	Solución Amortiguadora de Fosfatos
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
s	Segundos
SEDETUR	Secretaría de Turismo de Quintana Roo

LISTA DE ABREVIATURAS (continuación)

SEMANAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
SINA	Sistema Nacional de Información del Agua
SUF	Sistema de Ultrafiltración
UNICEF	Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia
UNWTO	Organización Mundial del Turismo
VHA	Virus de Hepatitis A
xg	Por gravedades

RESUMEN

Los adenovirus humanos (HAdV) son virus entéricos carentes de envoltura lipídica y su genoma lo constituye una molécula de ADN bicatenario lineal no segmentado. Son altamente infecciosos para los humanos, principalmente en los infantes, a nivel global se estima un 5-7% de infecciones respiratorias, como la segunda causa de gastroenteritis infantil y hasta un 98% de muestras positivas de aguas residuales. El agente viral es excretado en heces humanas que ingresan a las aguas residuales urbanas que son tratadas antes de ser liberadas a cuerpos de agua. Los tratamientos físicos y/o químicos empleados en plantas de tratamiento de agua residual (PTAR) en gran parte del mundo y específicamente en México no logran eliminar la carga viral, por lo que la mayoría de los virus regresan a los cuerpos de agua para continuar su ciclo biológico al infectar otras personas. Siendo el estudio de la presencia de HAdV en agua residual y/o de uso recreativo un tema de poco análisis en México, el objetivo del presente trabajo fue identificar la presencia o ausencia de adenovirus humanos presentes en agua residual tratada y agua de uso recreativo en el área del Pacífico y el Caribe mexicano. Para desarrollar esta investigación los virus fueron concentrados en 10 L de agua residual tratada y de agua de mar, por el método de ultrafiltración tangencial. A partir de la concentración se realizó la extracción de ADN, y la detección molecular se realizó por PCR anidada para la identificación de la partícula viral. Se obtuvieron un total de 10 muestras de agua (residual y ambiental) del área del Caribe y Pacífico mexicano. Un total de 4/10 fueron positivas, las 4 de la PTAR, en el área del Pacífico, mientras que, en el Caribe, 1/10 en Akumal Punta Norte y 1/10 en la PTAR. La presencia de HAdV en agua residual tratada constata que el tratamiento de dichas plantas no elimina el genoma del virus y que estos genomas o incluso partículas virales infectivas pueden alcanzar aguas de uso recreativo representando un riesgo para la población. El presente trabajo, es el primer estudio que reporta la presencia de los HAdV en el área del Pacífico, mientras que en el Caribe se denota una clara persistencia en los ambientes acuáticos. Los resultados permitieron establecer metodologías comparativas y determinar la línea base de la presencia de HAdV en agua de mar y de los efluentes de plantas tratadoras de agua residual de los estados de Sinaloa y Quintana Roo.

Palabras clave: adenovirus humano, cuerpos de agua, agua residual, planta de tratamiento de agua residual.

ABSTRACT

Human adenoviruses (HAdV) are enteric and non-enveloped viruses; the genome consists in a double-stranded no segmented DNA molecule. They are more infectious for human, mainly for infants, the global estimate is 5-7% for the respiratory infections and it's the second cause of infantile gastroenteritis as well as the 98% of a positive wastewater samples. The viral pathogen is excreted in human faeces then gain entrance into urban wastewater and later treated in wastewater treatment plants (WWTP). Worldwide, specifically in Mexico the viral load it is not eradicated, furthermore, a big part of viruses returns to water bodies to continue their biological cycle and infect the people. Thus, the information studies of HAdV presence in wastewater or recreational water is still scarce, the objective of present work was to identify the presence or absence of HAdV present in treatment wastewater and recreational water in the Mexican Pacific and Caribbean. To develop this investigation, the viruses were concentrated in 10 L of wastewater and seawater with tangential ultrafiltration method. Part from the concentration, the isolated of DNA and molecular detection was for nested PCR for viral particle identification. We obtain a total of 10 water samples (wastewater and environmental) in Mexican Caribbean and Pacific area. A total of 4/10 were positive samples, 4 from WWTP, in the same way, in Caribbean, 1/10 in Akumal Punta Norte and 1/10 in WWTP. The presence of HAdV in treated wastewater means that treatment from this plants does not eradicate the genome virus and this genomes or viral infective particles can go to recreational water that represents a risk for population. The present work, is the first research that report the presence of HAdV in Pacific area, similarly, the Caribbean area have a clear persistence in environmental waters. The results permits established comparative methods and determinate the base line for the presence of HAdV in effluents in wastewater treatment plants and seawater in the estates of Sinaloa and Quintana Roo.

Keywords: human adenovirus, water bodies, wastewater, wastewater treatment plant.

1.INTRODUCCIÓN

El agua sirve como un vehículo de microorganismos potencialmente patógenos como bacterias, protozoarios y virus (Bishop y Kirkwood, 2008; Hernández-Morga y col., 2009; León-Félix y col., 2010; Rosiles-González y col., 2019). La literatura científica reporta que la abundancia de los virus son 10 veces más que las bacterias y los protozoarios (Espinosa-García y col., 2004; NIH, 2022; Peláez y col., 2016). En los humanos los virus son agentes causales de enfermedades como hepatitis, meningitis, encefalitis, afecciones respiratorias y cutáneas, conjuntivitis, gastroenteritis, entre otras (Peláez y col., 2016). Los virus que infectan el tracto gastrointestinal son un grupo muy importante y representativo por su impacto en la salud humana, estos son conocidos como virus entéricos o virus de origen entérico (Bishop y Kirkwood, 2008; Peláez y col., 2016; Rusinol y Girones, 2017). Son liberados en altas concentraciones las heces de los humanos infectados, algunos autores reportan hasta 10^{13} partículas víricas por mL de heces (Gerba y Goyal, 1982; Wong y col., 2012; Rusinol y Girones, 2017; Rosiles-González y col., 2019). Estos virus se han detectado en aguas residuales urbanas y se ha reportado que resisten los tratamientos secundarios convencionales e incluso los procesos de cloración utilizados en PTAR (Gerba y Goyal, 1982; Bosch y Pintó, 2010; Rusinol y Girones, 2017; Bofill-Mas y col., 2013). Los sistemas de tratamiento de aguas residuales en México son diversos y pueden incluir tratamientos primarios, secundarios y terciarios, siendo los más comunes los secundarios (de la Vega, 2012; CONAGUA, 2019), además de la capacidad de mantenerse viables durante y después de los tratamientos mencionados, México carece de normas oficiales mexicanas que regulen su presencia (SEMARNAT, 2018). La normativa para el agua residual en México, tiene como objetivo verificar los procesos que se llevan a cabo en las PTAR utilizando para ello bacterias indicadoras y huevos de helmintos (NOM-001-SEMARNAT-1996; NOM-002-SEMARNAT-1996; NOM-003-SEMARNAT-1997; NOM-004-SEMARNAT-2001; SEMARNAT, 2018). La presencia de bacterias indicadoras en el agua no siempre refleja la presencia de virus, por lo que se han propuesto indicadores virales (colifagos y virus entéricos humanos) como alternativa para complementar los análisis de la calidad del agua y para determinar fuentes de contaminación, a pesar de los estudios los virus indicadores aún se continúan estudiando ya que no se han aplicado con éxito en la vigilancia rutinaria de la calidad del agua (Gerba y col, 1979; Gerba y Goyal, 1982; Hewitt y col.,

2013;EPA; 2015; Updyke y col., 2015; Rosiles-González y col., 2017). Para el año 2017, las descargas de aguas residuales fueron en total de 234,9 m³/s de las cuales 215.2 m³/s fueron recolectadas en alcantarillado y de esas aguas un 135.6 m³/s fueron tratadas (SEMARNAT, 2018), sin embargo, el agua residual con o sin un tratamiento previo puede contener virus, así mismo el agua residual puede ser descargados en sistemas acuáticos ocasionando la contaminación del agua para uso recreativo (Gerba y Goyal, 1982; SEMARNAT, 2018). La diversidad de virus entéricos es un tema arduamente estudiado en años recientes brindando información genética de interés (La Rosa y col., 2015; Barrios y col., 2016; Yoshitomi y col., 2016; Girardi y col., 2018). Uno de los virus entéricos más reportado a nivel mundial es adenovirus humano ya que ocupa el segundo lugar de causa de gastroenteritis en niños menores de 4 años, además de que comúnmente se ha encontrado en sistemas acuáticos (Rodríguez-Lázaro y col., 2011; Barrios y col., 2016; IVAMI, 2018; SIB, 2019). Los HAdV han sido propuestos como un indicador de contaminación viral debido a sus características: 1) las técnicas para la identificación de este virus son accesibles, 2) su abundancia en todas las áreas geográficas, 3) prevalencia en la población y medio ambiente, 4) la periodicidad del virus durante el año, 5) resistencia en el ambiente y 6) la especificidad en el huésped humano (Fong y Lipp, 2005; Rusinol y Girones, 2017), por ejemplo, en España, Colombia, Estados Unidos Suecia, Francia, Grecia, Reino Unido, México y gran parte del continente africano, son países que han realizado estudios enfocándose en que los HAdV sean considerados como indicadores de contaminación, esto debido a que se ha reportado que pueden permanecer activos hasta 60 días a temperaturas de 15°C y 4°C en aguas residuales (Pina y col., 1998; Bofill-Mas y col., 2005; Luna y col., 2013). Los métodos para la identificación y tipificación de virus han sido enfocados al análisis de muestras clínicas (Gerba y Goyal, 1982), sin embargo, en los últimos 20 años han ido en incremento las investigaciones de diferentes virus como HAdV en ambientes acuáticos, por tal motivo, es necesario mejorar el monitoreo y la detección mediante métodos de análisis más específicos y sensibles (Fou y col., 2015; Girardi y col., 2018), como son los métodos basados en filtración que permiten concentrar grandes volúmenes de agua, lo que implica una mayor probabilidad de recuperación de las partículas virales (Hill y col., 2005). Para complementar el uso de las metodologías basadas en concentración de agua, existen métodos ampliamente utilizados basados en la biología molecular, específicamente Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que actualmente se emplea como método de detección de HAdV (Hopwcka y col., 1993; Allard y col., 2001; Yoshitomi y col., 2016; Gerba y Pepper, 2017; Girardi y col., 2018). En México

existen algunos estudios enfocados en la detección de HAdV y otros virus entéricos en cuerpos de agua, tal es el caso de uno de los primeros estudios que se realizaron en el estado de Sinaloa donde León-Félix y col., (2010) llevo a cabo la detección, identificación y estimación de riesgo de norovirus y virus de la hepatitis A (VHA) en agua de mar de la Bahía de Altata, ubicada en el municipio de Culiacán con un 12,5% (4/32) de muestras positivas y un 43,75% (14/32) muestras positivas en el municipio de Mazatlán. Así mismo, Norovirus estuvo presente en un 46,87% (15/32) de las muestras analizadas, mientras que el VHA en un 9,37% (3/32) de las muestras analizadas (León-Félix y col., 2010). Por otra parte, en el estado Quintana Roo, Rosiles-González y col., (2019) realizaron un estudio enfocado al estudio de la diversidad de norovirus y HAdV en el acuífero karstíco de la Península de Yucatán revelando la presencia de los genotipos de norovirus como GI.2, GII.Pe, GII.16 y GII.17, además de reportar a los serotipos F40 y F41 de HAdV (Rosiles-González y col., 2019). Sin embargo, hasta el momento son pocos los estudios enfocados en detectar a los HAdV en ambientes acuáticos y aguas residuales por lo que el presente trabajo nos brindará información de la identificación de HAdV en sistemas de tratamiento de agua residual y ambientes acuáticos donde el agua se utiliza para actividades recreativas de áreas del Pacífico y el Caribe.

2. ANTEDECENTES

2.1. Las Costas de México: El Pacífico y El Caribe

México tiene reconocimiento mundialmente por sus bellos paisajes y es considerado el segundo país en variedad de ecosistemas (CONABIO, 2019), destacando marismas, humedales, bahías, cenotes, estuarios, lagunas, playas de arena, sistemas de manglares y praderas de pastos marinos (SEMARNAP, 2007). Las costas del país limitan al oeste con el Océano Pacífico y al este con el Golfo de México y el mar Caribe (INEGI, 2017). Nuestro país está conformado por 32 estados de los cuales 17 cuentan con límites costeros, 11 colindan para el Océano Pacífico en los que se encuentra el estado de Sinaloa y un estado, Quintana Roo, para el mar Caribe (SEMARNAP, 2007). Sinaloa es un estado conocido principalmente por su actividad agrícola, por lo que se le atribuye el concepto del granero de México, no obstante, cuenta con la segunda flota pesquera más grande del país (CODESIN, 2016). En el estado existen 11 ríos, 11 presas, 12 bahías, 15 esteros y 1 laguna (INEGI, 2019). El turismo también forma parte de las actividades que se realizan en el estado, tan solo en el 2019 se registraron 4,73 millones de turistas de los cuales 81% fueron nacionales y 19% internacionales (Gobierno del estado de Sinaloa, 2020), de julio a septiembre del año 2020 el puerto de Mazatlán ocupaba la primera posición a nivel nacional en llegada de turistas (CODESIN, 2020). Por otro lado, el estado de Quintana Roo es uno de los estados conocido mayormente por su gran afluencia turística (Secretaría de Turismo del Estado de Quintana Roo, 2018), del año 2019 al 2020, Cozumel y Mahahual fueron de los puertos más visitados a nivel nacional (SECTUR, 2020). Gran parte de las actividades recreativas en el mar, tales como snorkel y buceo (Secretaría de turismo, 2012; INEGI, 2014).

La calidad del agua marina en las zonas costeras puede deteriorarse ya sea por contacto con agua contaminada proveniente de ríos y arroyos o las aguas residuales municipales e industriales tratadas y no tratadas que provienen de las poblaciones (González y Chiroles, 2010; SEMARNAT, 2014, 2018). La descarga de aguas residuales en las zonas costeras puede tener efectos negativos en la biodiversidad que habita sus ecosistemas y en la salud de la población, en esta última las afecciones más frecuentes son las enfermedades gastrointestinales, irritación en la piel e infecciones en los

ojos y oídos (Puig y col., 1994; González y Chiroles, 2010; SEMARNAT, 2012, 2014).

Para el año 2019, el Sistema Nacional de Información del Agua (SINA), organización encargada de integrar y procesar los datos del sector del agua creado y trabajando en conjunto con la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), reportó que en el país se contaban con 2,642 PTAR en las que se incluyen las PTAR de las juntas de alcantarillado, así como, las de empresas privadas (CONAGUA, 2019). En ese mismo año se reportaron un total de 279 PTAR en operación en el estado de Sinaloa y 29 PTAR en el estado de Quintana Roo, (Cuadro 1) (CONAGUA, 2019).

Cuadro 1. Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales (2019).

Tipo de tratamiento	Nombre del proceso	Número de plantas	Caudal tratado (m ³ /s)
Primario	Primario	14	0,289
	Primario avanzado	8	4,411
	Tanque inmhoff	50	0,318
Secundario	Aerobio	21	1,836
	Anaerobio	158	0,843
	Biodiscos	23	0,847
	Biológico	23	0,538
	Dual	23	32,072
	Filtros biológicos	39	4,907
	Fosa séptica	100	0,145
	Fosa séptica + filtro biológico	37	0,35
	Fosa séptica + wetland	117	0,210
	Humedal	77	0,978
	Lagunas aireadas	30	6,811
	Lagunas de estabilización	792	14,060
	Lodos activados	761	69,377
	Rafa + filtro biológico	63	0,544
	Rafa + wasb	140	1,201
	Rafa, wasb + humedal	40	0,389
	Reactor enzimático	39	0,090
	Sedimentacion + wetland	23	0,040
	Tanque imhoff + filtro biológico	17	0,152
	Tanque imhoff + wetland	11	0,058
Zanjas de oxidación	14	1,020	

Terciario	Terciario	4	0,043
No especificado	Otros	18	0,266

Fuente: CONAGUA, 2019. Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento.

Debido a la preocupación que genera el efecto de las descargas de aguas residuales en el ambiente, en nuestro país se promulgaron leyes como la “Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente”, publicada el 28 de enero de 1988 y la “Ley de las Aguas Nacionales”, publicada el 1 de diciembre de 1992, donde se establece la necesidad de prevenir y controlar la contaminación del agua y la protección a los recursos hídricos (Peña y col., 2013).

2.2. El Agua: Uno de los Recursos Naturales Más Importantes en El Mundo

El abastecimiento, saneamiento y la gestión de recursos hídricos va en aumento ya que constantemente impulsa el crecimiento económico de los países (González y Chiroles, 2010; OMS, 2019). En el 2000, 189 países, entre ellos México, firmaron un pacto mundial único, conocido como “Los Ocho Objetivos de Desarrollo del Milenio” (ODM) (Figura 1) en el que se establecieron 8 propósitos representados como 8 objetivos con la finalidad de cubrir las principales necesidades que son fundamentales para el desarrollo de los seres humanos (ONU, 2020). Estos objetivos fueron propuestos cumplirse para el año 2015 con el apoyo de la OMS y El Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) (ONU, 2020; OMS 2020). Específicamente en el objetivo 7: garantizar la sostenibilidad del medio ambiente, se desenvolvían diversas metas por cumplir, en la meta 10 se enfocaba en disminuir la población sin acceso sostenible a agua potable en el mundo (González y Chiroles, 2010; OMS, 2019; 2020).



Figura 1. Objetivos de desarrollo del milenio. Fuente: Modificado de ONU México, 2020.

Para el 2015, ONU México reportó en el informe final de los ODM que para el cumplimiento del Objetivo 7 se cumplió la meta establecida ya que 9 de cada 10 personas en el país para ese año ya contaban con agua potable (OMS, 2013; ONU, 2020). Se reconoció que a pesar de los logros que se hicieron, las desigualdades y el progreso entre zonas rurales y urbanas siguen siendo muy distintos (ONU, 2020), por lo que se comprometió a completar los desafíos en el marco de la

Agenda 2030 (ONU, 2020). El informe también englobó el concepto de saneamiento básico referenciado como una tecnología de más bajo costo que elimina de manera higiénica las excretas y agua residual (OMS, 1989; 2013).

2.3. El Uso de Aguas Residuales

El agua residual (AR) son aguas de composición variada que provienen de descargas de usos municipales, domésticos, industriales, de servicios, agrícolas, pecuarios, comerciales y en general de cualquier uso, así como la mezcla de estas que mayormente llegan a las PTAR (Cisneros y Saucedo, 2016). El AR que ingresa en las PTAR son llamados afluentes mientras que el agua que sale es llamada efluente (Troconis, 2010), la composición y concentración de los componentes de las AR son variadas y dependen del origen, la actividad y el uso que se les dio (Figura 2), los componentes pueden ser materia orgánica, organismos patógenos, grasas y aceites, nutrientes, contaminantes tóxicos orgánicos e inorgánicos y minerales disueltos (Cisneros y Saucedo, 2016). Los sistemas de alcantarillado aportan a las comunidades un manejo seguro de las AR que permite reutilizarlas para actividades productivas como la agricultura, acuicultura, ganadería y actividades de servicios al público como el riego de parques, jardines, campos deportivos, plantaciones forestales (Cisneros y Saucedo, 2016; de Anda, 2017). El reúso de AR hace referencia al aprovechamiento de efluentes en actividades diferentes a las que las originaron (de Anda, 2017) y se cree que se originó aproximadamente hace 3,000 años siendo aprovechada en la agricultura, es una práctica que ha surgido debido a la escasez de aguas dulces que se da por el crecimiento demográfico, la urbanización y los cambios climáticos y se ha estudiado e implementado en los países incluyendo a México (Cifuentes y col., 1994; González y Chiroles, 2010; Cisneros y Saucedo, 2016; Gerba y col., 2017; OMS, 2020a).

Las PTAR comprenden de un conjunto de operaciones y procesos unitarios que con la ayuda de métodos físicos, químicos y biológicos tienen la función de eliminar los contaminantes del agua que ha sido utilizada para que esta sea devuelta de manera segura al ambiente (Troconis, 2010; SEDEMA, 2015; CONAGUA, 2019a).

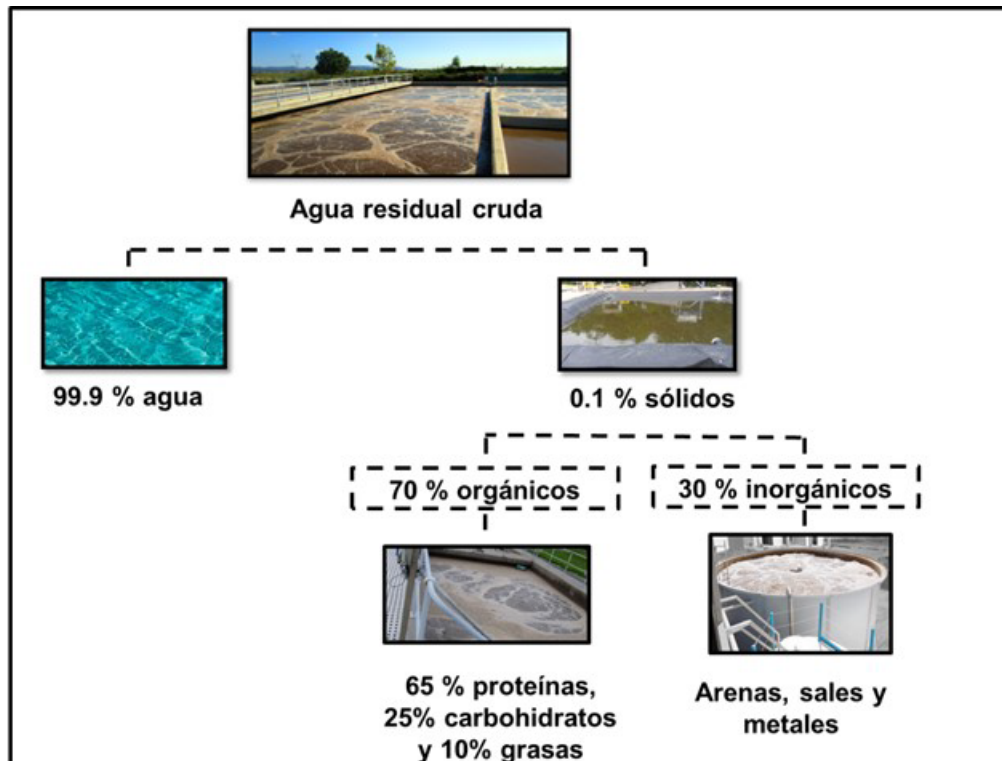


Figura 2. Composición del agua residual. Fuente: modificado de Cisneros y Saucedo, 2016.

Los métodos mencionados anteriormente ayudan en la remoción de contaminantes; los métodos físicos lo hacen por medio de operaciones unitarias sin cambiar la conformación del agua donde remueven arenas, aceites y grasas, por otro lado, en los métodos químicos se añaden reactivos para la eliminación de fosfatos y nitratos, por último, en los métodos biológicos con la ayuda de microorganismos se degradan los contaminantes solubles o que se encuentran de manera coloidal (CONAGUA, 2019a).

Los principales procesos de tratamiento de AR municipales que se llevan a cabo en México se clasifican en tres: 1) proceso primario (clarificador primario) en el que se retira entre el 40 % y 60 % de los sólidos arrastrados en el agua, se ajusta el pH y remueve partículas orgánicas e inorgánicas de un tamaño ≥ 0.1 mm, el tratamiento en este proceso utiliza solamente equipos mecánicos que se basan mayormente en la gravedad, en algunas ocasiones a todo este proceso también se le llama clarificación, 2) proceso secundario (clarificador secundario) que aplica métodos mecánicos y biológicos donde se remueve hasta el 90 % de partículas coloidales y disueltas que recibe las AR del clarificador primario, este es el último paso antes de la desinfección y del regreso a lagos, riachuelos, ríos y océanos, y 3) proceso terciario que emplea procesos biológicos, químicos y

físicos para remover partículas disueltas incluyendo gases, sustancias orgánicas naturales y sintéticas, iones y microorganismos que utiliza la precipitación, la filtración y cloración como parte del proceso, este es el tratamiento más completo para tratar las AR pero también es muy costoso, tan solo en México se cuentan con 4 plantas que realizan este proceso (Trocolis, 2010; SEDEMA, 2015; CONAGUA, 2019a). En nuestro país estos procesos incluyen lodos activados, lagunas de estabilización, tratamiento primario avanzado, lagunas aireadas, filtros biológicos, dual y otros (Figura 3) (CONAGUA, 2019a).

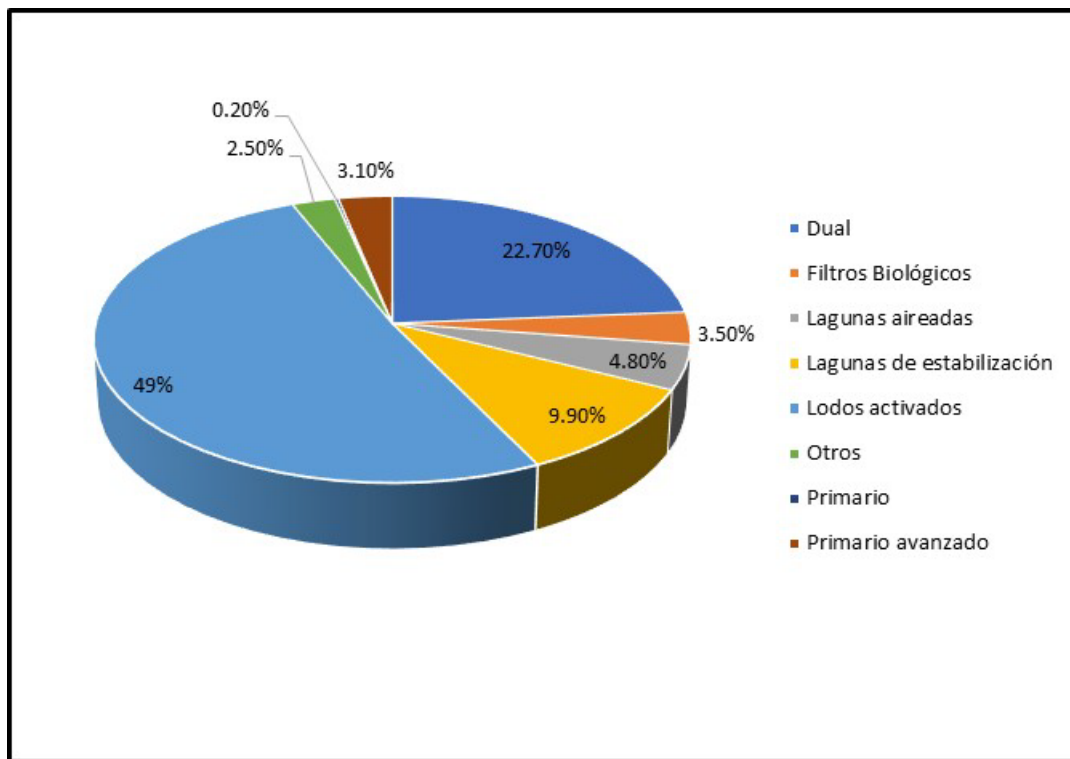


Figura 3. Porcentaje de los procesos de tratamiento de aguas municipales en 2019. Fuente: modificado de CONAGUA, 2019a.

La cobertura de alcantarillado es un servicio básico e importante que permite la recolección de aguas residuales municipales hacia los sistemas de tratamiento, sin embargo, no toda la población tiene acceso a este servicio y las deposiciones fecales no llegan directo a los sistemas de tratamiento, por ejemplo, llegan a fosas sépticas, ríos, mares, lagos, océanos, barrancas o grietas (Peña y col., 2013; OMS, 2013; SEMARNAT, 2014; de Anda, 2017), además que en algunas

regiones aún se realiza la práctica del fecalismo al aire libre donde las heces pueden ser acarreadas por escorrentías o el agua de lluvia (OMS, 2008; Cisneros y Saucedo, 2016). Los efluentes para que puedan ser reutilizados deben pasar por un proceso de “caracterización” que consiste en el monitoreo de parámetros físicos, químicos y biológicos (Cuadro 2) de las muestras de agua que determinan la calidad y la potencialidad de aprovechamiento y para que suceda existen normas oficiales vigentes que especifican los límites máximos permisibles de contaminantes de efluentes así como controlan y regulan la calidad de los mismos (Peña y col, 2013; Cisneros y Saucedo, 2016; de Anda, 2017), las normas oficiales se enlistan a continuación:

1. NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
2. NOM-002-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.
3. NOM-003-SEMARNAT-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para aguas tratadas que se reúsen en servicios al público.
4. NOM-004-SEMARNAT-2002, que establece las especificaciones y límites máximos permisibles
5. de contaminantes en lodos y biosólidos para su aprovechamiento y disposición final.
6. NOM-014-CONAGUA-2003, que establece los requisitos para la recarga artificial de acuíferos con agua residual tratada.
7. NOM-015-CONAGUA-2007, Infiltración artificial de agua a los acuíferos. - Características y especificaciones de las obras y del agua.

Cuadro 2. Parámetros importantes para caracterizar el agua de uso.

Parámetros		
Físicos	Químicos	Biológicos
Turbidez	pH	Coliformes totales
Sólidos totales	Alcalinidad	Coliformes fecales
Sólidos sedimentales	Acidez	Huevos de helmintos
Sólidos disueltos totales	Oxígeno disuelto	Protozoarios
Color	Demanda de oxígeno	Virus
Olor	Nitrógeno total	
Temperatura	Nitrógeno amoniacal	

Nitrógeno de nitritos

Nitrógeno de nitratos

Fósforo

Cloruro

Grasas y aceites

Fuente: Cisneros y Saucedo, 2016.

Por otro lado a partir del año de 1918 la OMS ha generado guías como medidas de protección de la salud pública que se enfocan en el uso seguro de las efluentes en la agricultura y acuicultura, dichas guías se han estado actualizando al paso de los años para adaptarlas a condiciones locales, sociales, económicas y ambientales ya que han servido de apoyo en todos los países, dentro de los que se encuentra nuestro país, el principal objetivo de las guías es fomentar el uso seguro de efluentes y productos derivados de excrementos para la agricultura y acuicultura de manera que se proteja la salud de los trabajadores y los consumidores (OMS, 1989, 2020a). México tiene el segundo lugar a nivel mundial como el país en reutilizar el AR en las actividades agropecuarias y hace más de 100 años que se tiene documentado el inicio del tratamiento y reúso de AR (Cifuentes, 1998; de Anda, 2017; CONAGUA, 2019b; García-Salazar, 2019; Lara y García, 2019), aunque son pocos los documentos oficiales que reportan los volúmenes de aguas tratadas que se reutilizan, CONAGUA reportó que para el año 2017, se reusaban 39,8 m³/s de AR tratadas (antes de la descarga) e indirectamente 78,8 m³/s de AR tratadas (después de la descarga) y tan solo 8,6 m³/s para el AR tratada que sustituye el agua de primer uso (CONAGUA, 2018b). El primer reporte de reúso fue en el estado de Nuevo León en San Nicolás de los Garza con una construcción de un Tanque Imhoff de 10 L/s para riego agrícola (CONAGUA, 2019b), posteriormente en el mismo estado la planta de Celulosa y Derivados S.A. de C.V (CyDSA) utilizó el caudal tratado para reusarlo en diferentes procesos productivos, otro ejemplo, en la Ciudad de México en las plantas de Xochimilco y Ciudad Deportiva reusaron los efluentes para riego de parques, jardines y para la recuperación de niveles de la zona lacustre (CONAGUA, 2019b). Gran parte de los estudios que se han hecho con AR y su reúso han sido en las áreas del Valle de México puesto que es la concentración urbana más grande del país y en el Valle del Mezquital (VM) ubicada en el estado de Hidalgo ya que es el área más grande donde reutilizan el AR para actividades agrícolas (Cifuentes y col., 1993; Cifuentes y col., 1994; Cifuentes, 1998; de Anda, 2017; García-Salazar, 2019; Lara y García, 2019), aunque también existen reportes del reúso del AR en campos agrícolas

en estados como Sonora, Guanajuato y Jalisco (Saldívar-Cabrales y col., 2008; Hernández-Acosta y col., 2014; Cohen y col., 2015; de Anda, 2017; Pulido-Madrigal, 2017). En Sinaloa, durante en 2014 se inauguraron dos PTAR en Mazatlán y Culiacán, “El crestón” y “Culiacán Sur” respectivamente, ambas plantas se hicieron con la finalidad de tratar el 100 % de las AR generadas en esas localidades donde consideraron en la construcción la viabilidad para el buen uso y operación de las mismas para que se cumpla el mínimo de contaminación, por último, el efluente generado en la planta “El Crestón” se destinó a que se desembocara en la Bahía de Mazatlán y la planta de “Culiacán Sur” reutilizaría el agua para aproximadamente 720 hectáreas de cultivo para uso agrícola y agropecuario (Iagua, 2014).

Reutilizar las AR aporta beneficios a las comunidades así como al medio ambiente, las ventajas son las siguientes: 1) ayuda a disminuir la explotación del agua de primer uso (acuíferos, ríos y lagos), 2) el costo por metro cúbico suele ser menor, 3) satisface las demandas de agua en usos que no exigen calidad de agua de primer uso, 4) incrementa el crecimiento del mercado de los efluentes y da sustentabilidad al recurso, 5) incide favorablemente en la producción agrícola, industrial y acuícola con base en el uso eficiente del agua para liberar volúmenes a otros usos, 6) es fuente constante de agua durante todo el año, incluyendo los años más secos y 7) los nutrientes que se encuentran pueden representar un ahorro en gastos de fertilización (de Anda, 2017, CONAGUA, 2018b, 2019b). Por otro lado, también se consideran las desventajas: los riesgos sanitarios, ambientales y el impacto en la salud humana (de Anda, 2017; OMS, 2020a). Entre los riesgos a la salud humana por la reutilización de efluentes existe la transmisión de enfermedades relacionadas por microorganismos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Principales microorganismos patógenos presentes en aguas residuales.

Microorganismo patógeno	Enfermedad asociada en humanos
Helmintos	
<i>Ascaris lumbricoides</i> / <i>Ancylostoma duodenale</i>	Ascariasis
<i>Trichuris trichura</i>	Trichuriasis
<i>Taenia</i> spp.	Teniasis
<i>Echinococcus granulosus</i>	Hidatidosis
Protozoos	
<i>Giardia lamblia</i>	Giardiasis
<i>Entamoeba histolytica</i>	Disentería amebiana
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiasis
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Trastornos intestinales

Bacterias	
<i>Salmonella</i> Typhi	Salmonelosis
<i>Shigella</i> spp.	Shigelosis
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenteritis
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
Virus	
Adenovirus	Infecciones respiratorias/gastroenteritis
Rotavirus	Gastroenteritis
Enterovirus	Gastroenteritis/ meningitis
Virus de la hepatitis A y E	Hepatitis infecciosa

Fuente: Modificado de González y Chiroles, 2010.

La contaminación por microorganismos se da por patógenos como bacterias, helmintos, virus y protozoarios (OMS, 2017; Hewitt y col., 2013). Las enfermedades más comunes que se relacionan con agentes patógenos en el agua son diarrea, disentería, cólera, criptosporidiosis, hepatitis A, fiebre tifoidea y poliomeilitis (OMS, 2008, 2019). Los efectos en la salud pueden ser desde muy leves como una diarrea hasta muy graves como infecciones hepáticas o secuelas que pueden poner en riesgo la vida de las personas (OMS, 2008).

2.4 Virus En El Agua Residual

Una gran parte de los agentes patógenos que se han encontrado en las aguas residuales no crecen en este medio, si no que han llegado ahí por medio de heces humanas o de animales infectados (Espinoza-García y col., 2004). Los virus se han encontrado en mayores concentraciones que las bacterias, promediando valores de 10^{10} partículas/L en aguas superficiales, lo que representa de 5 a 25 veces mayor concentración en comparación con bacterias, asimismo en AR se han reportado más de 140 virus diferentes por lo que es importante reducir los niveles de partículas virales para disminuir el riesgo de infección en las poblaciones (Jiang y Paul, 1998; Wommack y col., 1999; Fuhrman, 1999; Wommack y Colwell, 2000; Espinoza-García y col., 2004; Gerba y col., 2017). Existen factores que influyen en la concentración, supervivencia y tipo de virus en AR como: 1) la incidencia de infección dentro de una comunidad, 2) la situación económica social de la

comunidad, 3) la temporada (temperatura y precipitación), 4) el uso per cápita del agua, 5) la distribución por edades dentro de la comunidad, 7) número de habitantes y hábitos de higiene y 8) las infecciones crónicas (Espinoza-García y col., 2004; Gerba y col., 2017). En países desarrollados se han reportado brotes de alimentos contaminados con virus procedentes de aguas residuales (Sano, 2016), en particular, a finales de 2012 en Alemania se reportó el mayor brote registrado de transmisión alimentaria en ese país por norovirus en fresas congeladas importadas de China, alrededor de 11,000 casos de gastroenteritis se registraron de aproximadamente 390 instituciones, siendo las más predominantes escuelas y guarderías, un año más tarde, los análisis de secuenciación de los norovirus (NoV) identificados demostraron que los genotipos detectados fueron GI.9, GII.6, GII.16, GII.13, además se sugirió que las fresas fueron cultivadas con agua residual no tratada (Mäde y col., 2013; Bernard y col., 2014).

En un sistema de tratamiento de aguas residuales municipales piloto que se hizo en Venezuela, los investigadores comprobaron que el sistema de tratamiento no eliminó virus, encontraron en el 100% de las muestras tomadas, la presencia de Enterovirus, Calicivirus, virus de la Hepatitis A (VHA), virus de la Hepatitis E y HAV también argumentaron que en las leyes venezolanas que regulan la presencia de microorganismos en los efluentes, sólo es aplicable para bacterias indicadoras pero no para parásitos o virus por lo que concluyen que con esta investigación pueden contribuir para mejorar el sistema de la PTAR en ese país (Romero y col., 2014). En otro caso, estudios con del virus del VHA en alimentos (verduras y bayas) han sugerido que las fuentes de contaminación del virus es el agua de riego contaminada con aguas residuales en Italia y Estados Unidos (Crocì y col., 2002; Fiore 2004; Terio y col., 2015). Por otra parte, en Estados Unidos sugieren que para el reúso de AR se debe tener una reducción de virus de -2 a -3 \log_{10} , lo toman como una reducción adicional a las ya establecidas por las guías de uso seguro de efluentes realizadas por la OMS, donde sugieren que el agua reutilizada para irrigación debe tener una reducción de virus de -6 a -7 \log_{10} (Gerba y col., 2017; OMS, 1989, 2006; 2020a), aunque en el mismo país puede variar la reducción dependiendo de cada estado y el para que se vaya a reutilizar el AR, por ejemplo en el estado de California se aplica un reducción de -12 \log_{10} de virus mientras que en estado de Texas se necesitan -8 \log_{10} de reducción de virus (Gerba y col., 2017). En México, son pocos los estudios que se han realizado de virus en el AR, sin embargo, en Quintana Roo se reportaron los genotipos de NoV GI.2, GII Pe, GII.P16 y GII.P17 (Rosiles-González y col., 2019). Además, el equipo de investigadores de Bumenthal y Cifuentes fueron unos de los pioneros en los

estudios del impacto epidemiológico que se tiene del uso del AR en las actividades agrícolas en el VM, sus estudios estuvieron enfocados al análisis de enfermedades parasitarias donde reportaron a *Ascaris lumbricoides*, *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica* (Cuadro 4) (Cifuentes y col., 1993, 1994, 1998, 2000; Bumenthal y Cifuentes, 2001). Entre 1990 y 1992 se realizaron tres encuestas transversales durante temporadas de sequías y de lluvias donde se evaluaron a más de 14,500 individuos de 2,947 viviendas, formaron tres grupos de exposición (alta, media, baja) que a su vez dividieron en tres grupos por edad: 1) grupo de infantes de 0 a 4 años, 2) un grupo de edad de 5 a 14 años y 3) un grupo de personas mayores de 15 años, se aplicaron encuestas estructuradas, se hicieron pruebas parasitológicas y siguieron las indicaciones de la OMS para utilizar a coliformes fecales y huevos viables de helmintos como indicadores de la calidad del agua (Cifuentes y col., 1993, 1994). En ambas temporadas, *A. lumbricoides* fue el más prevalente entre los tres grupos de edades, sin embargo, se comprobó que el riesgo de infección por este patógeno puede ser mayor cuando se hace el uso de AR sin tratamiento durante las temporadas de lluvia, por otro lado *G. lamblia* se encontró mayormente en la población adulta durante las temporadas secas y en el caso de *E. histolytica* fue la menos prevalente si se comparaba con los otros dos parásitos. En el agua residual no tratada se encontraron altas concentraciones de los indicadores: 10^8 / 100 mL de coliformes fecales y 70 huevos de *A. lumbricoides* (Cifuentes y col., 1993, 1994). En años posteriores más estudios se sumaron a los análisis epidemiológicos en el VM donde siguieron reportando en AR no tratadas a *A. lumbricoides* y *G. lamblia* como causantes de enfermedades diarreicas con una mayor prevalencia en niños menores de 5 años durante temporadas de lluvias (Cifuentes, 1998, 2000; Blumenthal y col., 2001).

Cuadro 4. Resumen del estudio epidemiológico de Cifuentes y colaboradores durante 1993-1994

Año/ Población de estudio	Objetivo	Zona de estudio	Grupos de población	Agente patógeno	Resultados
1993 Temporada de sequía 10, 490 individuos de 2,049 viviendas 8,487 muestras de heces	*Evaluar los efectos del uso de AR en la salud de las familias de trabajadores agrícolas * Evaluar los lineamientos propuestos por la OMS para el uso de AR en la agricultura y acuacultura	1.Zona regada con agua no tratada 2.Zona que utiliza AR almacenada y recibe AR sin tratar en su curso hacia las parcelas 3.Zona que se riega con afluente de presas 4.Zona que no recibe AR, depende de las lluvias para la producción agrícola	1.Exposición alta: 855 familias que realizan labores del campo con AR no tratada 2.Exposición media: 965 familias que riegan con AR que salen de una presa 3.Exposición baja (controles): 930 familias que depende de las lluvias 1.Exposición alta: 680 familias que realizan labores del campo con AR no tratada 2.Exposición media: 520 familias que riegan con AR que salen de una presa 3.Exposición baja (controles): 700 familias que depende de las lluvias	<i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Giardia Lamblia</i> y <i>Entamoeba histolytica</i>	La prevalencia de <i>A. lumbricoides</i> en infantes fue mayor en los grupos de alta y mediana exposición. Con <i>G. lamblia</i> no se detectaron diferencias entre los grupos, pero si una alta prevalencia en adultos. La mayor prevalencia de <i>E. histolytica</i> en población de entre 5-14 años, se mantuvo similar en los tres grupos Mayor prevalencia de <i>A. lumbricoides</i> en el grupo de mayor exposición en todas las edades <i>G. lamblia</i> y <i>E. histolytica</i> tuvieron mayor prevalencia en infantes menores a 4 años en los tres grupos de exposición.
1994 Temporada de lluvia 9433 individuos de 1,900 viviendas					

2.5. ¿Qué son los Virus?

Un virus es una partícula de código genético ya sea de ADN o ARN, de cadena doble o sencilla

que necesitan infectar las células de un hospedero para hacer copias de sí mismos y poderse replicar, además, carecen de estructura celular y son más pequeños y abundantes que las bacterias (NIH, 2022; Sánchez, 2002; Morse y Meitznart, 2011). Se clasifican y existen dos tipos de clasificación de los virus: La primera contempla cuatro tipos de acuerdo con la estructura que posean 1: helicoidal, 2: icosaédrica, 3: de envoltura y 4: complejos. La segunda se basa en el tipo de material genético sea de ADN o ARN de cadena doble o sencilla (Morse y Meitznart, 2011). El Comité Internacional de taxonomía de Virus (ICTV, por sus siglas en inglés “International Committee on Taxonomy of Viruses”) reconoce la existencia de 5 ordenes: Caudovirales, Herpesvirales, Mononegavirales, Nidovirales y Picornavirales que cubre un total de 82 familias, 11 subfamilias, 307 géneros, 2,083 especies y 3,000 tipos de virus que aún no han sido clasificados (ICTV, 2019).

Entre los virus que causan enfermedades en el humano, se encuentran familias como *Adenoviridae* (Adenovirus), *Caliciviridae* (Norovirus, Sapovirus), *Picornaviridae* (Enterovirus, virus de la hepatitis A y Echovirus), *Reoviridae* (Reovirus y Rotavirus) y *Astroviridae* (Astrovirus) (Dubois y col., 1997; Muscillo y col., 2001; Rodríguez-Lázaro y col., 2011; Saavedra, Tovar y Betancourt., 2012). Cada familia cuenta con uno o varios virus y variantes que son severos para el humano, además que pueden variar en la persistencia, infectividad y virulencia (Rodríguez-Lázaro y col., 2011).

Uno de los grupos de virus mayormente conocidos son los virus entéricos, conocidos así debido a que infectan las células del epitelio intestinal (Ríos-Tobón, Agudelo-Cadauid y Gutiérrez-Builes; 2017) y son excretados en las heces de las personas que infectan (OMS, 2008). Para los años 1950 y 1960 ya se habían descubierto algunos virus entéricos (Sánchez, 2002) aunque no eran considerados como agentes causantes de gastroenteritis en el humano. El grupo de investigación de Kapikian y col., (1972) fueron los primeros en asociar un virus (virus Norwalk) causante de gastroenteritis en infantes y adultos. Los neonatos y niños son los más susceptibles para adquirir una enfermedad viral, debido a que la proliferación de las células de la cripta y la migración de los enterocitos hacia las vellosidades es relativamente lenta en neonatos (Kapikian y col., 1972). En casos muy severos se puede presentar la muerte debido al desequilibrio electrolítico y la deshidratación que provocan paro cardíaco (Kapikian y col., 1972). La mayoría de los virus infectan diversas partes del intestino, especialmente las células de la cripta (o los enterocitos, células diferenciadas y no proliferativas, con función digestiva y de adsorción) (Kapikian y col., 1972). La gastroenteritis viral puede ser endémica o epidémica, la primera se presenta

principalmente en niños y la segunda se presenta principalmente por brotes por consumo de alimentos y agua contaminada con los mismos (Conner y Raming, 1997). Los virus también pueden ser transmitidos a través de fómites, aire, suelo y agua residual (Rodríguez-Lázaro y col., 2011). La ruta más común de infección es contacto persona-persona a través de vía oral-fecal (Conner y Raming, 1997; Rodríguez-Lázaro y col., 2011).

Se han reportado más de 140 virus patógenos entéricos de transmisión por agua (Ríos- Tobón, 2017) por lo que son potencialmente una fuente de infección (Rodríguez-Lázaro y col., 2011). Los virus entéricos son excretados en altas concentraciones de 10^5 a 10^{11} partículas virales por gramo de heces (Ríos-Tobón, 2017; Saavedra, Tovar y Betancourt., 2012) al ambiente por medio de heces de personas infectadas (Sánchez, 2002; Rodríguez- Lázaro y col., 2011).

Diversas investigaciones han encontrado abundancia de estos virus en aguas residuales debido, en parte, a su resistencia a los métodos que se emplean para un tratamiento de estas aguas (Rodríguez-Lázaro y col., 2011; Sánchez, 2002; Thompson y col., 2003; Van Heerden y col., 2003; Vantakarís y Papapetropoulou, 2003).

La abundancia que exista de los virus en los cuerpos de agua depende del sitio de muestreo, la profundidad y estación del año (Espinoza-García y col., 2004). Por ejemplo, se ha reportado menor cantidad en aguas costeras ricas en nutrientes, en mar abierto pobre en nutrientes, la zona eufótica a profundidades de 500 m y profundidades abismales, en caso contrario se han reportado mayor cantidad de virus en agua intersticial asociada con los sedimentos en comparación con el agua subyacente (Espinoza-García y col., 2004). Otro factor importante es la supervivencia de los virus en el ambiente, está a su vez depende de las condiciones fisicoquímicas o biológicas (Sánchez, 2002), los factores más importantes que son influyentes y controlan la supervivencia y la migración de los virus son el tipo de ambiente (suelo, aire, agua), el tipo viral y el clima (temperatura y precipitación) (Espinoza- García y col., 2004). El número de habitantes, los hábitos de higiene, la prevalencia de infecciones en una población y la temporada del año también son factores que intervienen en la supervivencia de los virus en el ambiente (Espinoza-García y col., 2004). La transmisión y conservación de los patógenos virales puede estar mediada por factores físicos como la temperatura, la luz y la desecación (Sánchez, 2002), la inactivación térmica es un proceso utilizado amplia y principalmente en alimentos para eliminar a estos microorganismos (Sánchez, 2002). La mayoría de los virus se inactivan a temperaturas de 55- 56 °C en menos de una hora ya que la exposición a altas temperaturas daña a las proteínas (Sánchez, 2002).

2.5.1. Adenovirus Humano

El término Adenovirus se debe a que el primer virus fue aislado de amígdalas y glándulas adenoides de un niño además que también tienen el primer lugar como los virus respiratorios en ser aislados en cultivo celular (Smith, 1980; Desheva, 2018; SIB, 2019). Están clasificados en la familia *Adenoviridae* donde se conocen no más de 120 virus que infectan mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces (Kundu y col., 2013; Desheva, 2018; IVAMI, 2018). Pertenece al grupo I de la clasificación de Baltimore, es el único virus de origen entérico que posee ADN de doble cadena lineal (OMS, 2008; Kundu y col., 2013; IVAMI, 2018) el cual es no segmentado de 34-36 kb (Sánchez, 2002; OMS, 2008; Barrios y col., 2016). Las partículas virales son de aproximadamente 70-90 nm que contiene una cápside con fibras que sobresalen de los vértices (Ghebremedhin, 2014; Barrios y col., 2016), no son envueltas y tienen una simetría pseudo icosaédrica T=25 (Figura 4) (la cápside está compuesta por 60 unidades asimétricas hechas de 25 proteínas T=25, obteniendo un total de 1,500 proteínas de la cápside). La cubierta de la cápside contiene 720 unidades de hexón dispuestas como 240 recortadores y 12 capsómeros de la proteína pentón, cada uno con una fibra que sobresale de la superficie (Ghebremedhin, 2014; SIB, 2019), esta proteína tiene un motivo conservado de Arginina- Glicina-Ácido aspártico (RGD) que interactúa con las integrinas celulares y es muy importante en la internalización del virus en la célula huésped (Barrios y col., 2016).

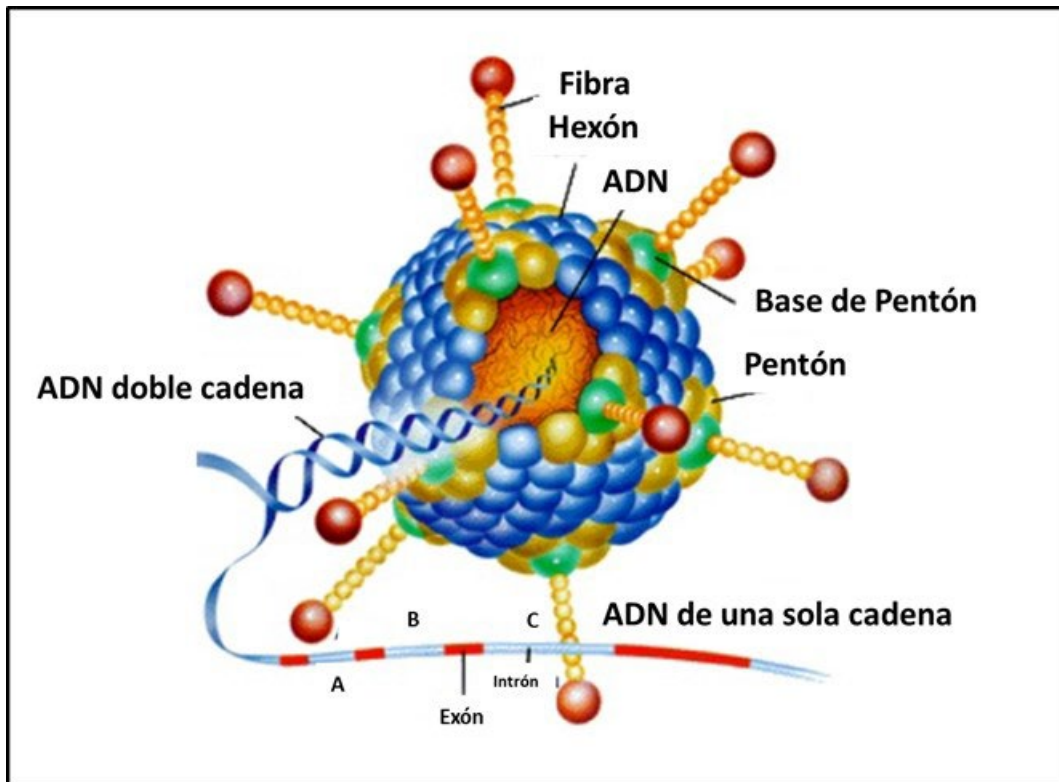


Figura 4. Conformación del virión de adenovirus humano. Fuente: Imagen modificada de Allard y col., 2017.

En cada pentón sobresalen unas prolongaciones proteicas llamadas fibra que están compuestas por tres dominios: un dominio N-terminal (*tail*) que se une a la base pentón, un eje central (*shaft*) que presenta flexibilidad durante la infección, y una porción C-terminal globular (*knob*) que se une al receptor primario en células huésped (Barrios y col., 2016). En la cubierta presenta dos bucles hiper variables, llamados bucle 1 y bucle 2 donde se encuentra el determinante antigénico ϵ contra la cual reaccionan los anticuerpos en una reacción de neutralización (Barrios y col., 2016). El genoma de los adenovirus tiene secuencias terminales redundantes que tienen repeticiones terminales invertidas (ITR). La proteína terminal (TP) está unida covalentemente a cada extremo del genoma (SIB, 2019). La transcripción se da en el núcleo y ocurre en dos fases: 1) temprana (replicación) y 2) tardía (ensamblaje de viriones) (SIB, 2019). La clasificación de las especies depende de ciertas características como: distancia filogenética, organización del genoma, composición de nucleótidos, oncogenicidad en roedores, rango de hospedadores, neutralización cruzada, capacidad de recombinación, número de genes de ARN asociados a virus y hemaglutinación (IVAMI, 2018). En los primeros estudios estos virus se identificaron por medio de diferencias antigénicas (métodos de

serología tradicional) que fueron reconocidos como serotipos, clasificando así a los primeros 51 serotipos (Ghebremedhin, 2014; IVAMI, 2018). Gracias a la secuenciación genómica y el análisis bioinformático se tiene el conocimiento del descubrimiento de los serotipos 52-68 (Ghebremedhin, 2014), no obstante, tan solo 51 serotipos infectan a humanos.

Hasta el momento se han reportado más de 65 serotipos de adenovirus humanos que están divididos en 7 subgrupos nombrados de la A a la G (HAdV-A a HAdV-G) (Rodríguez-Lázaro y col., 2011; Barrios y col., 2016; SIB, 2019). Los subgrupos de la A a la E crecen con facilidad en cultivo celular, sin embargo, en el subgrupo F los serotipos 40 y 41 son exigentes y no crecen bien en cultivo celular (OMS, 2008). Este último subgrupo y serotipos son dos de los serotipos de adenovirus humanos más importantes ya que se reportan que son una de las causas más comunes de gastroenteritis en niños (OMS, 2008; Rodríguez-Lázaro y col., 2011; Ghebremedhin, 2014).

Los serotipos de HAdV (Cuadro 5) ocasionan muchas infecciones que presentan una amplia variedad de manifestaciones clínicas como gastroenteritis (aparato digestivo) provocados principalmente por HAdV-F 40 y 41; queratoconjuntivitis epidémica, conocida también como conjuntivitis de los astilleros, y fiebre faringoconjuntival, conocida también como conjuntivitis de las piscinas (enfermedades oculares) detectados mayormente HAdV-A serotipos 3, 4, 7, 8, 11, 19, 37, 53 y 54 entre otros, que han ocasionado brotes nosocomiales en comunidades, reclutas militares, centro gerontológico e industria; cervicitis, uretritis, cistitis hemorrágica (vías urinarias) donde se tienen escasos reportes de ser asociado a HAdV-D serotipo 56 y mayormente conocidos por ser la causa principal de trastornos respiratorios agudos, neumonía, bronquitis y crup (vías respiratorias) asociados a serotipos 3, 4 7 (Goyal, 2006; OMS, 2008; Artieda y col., 2010; Dong, Kim y Lewis, 2010; Espinola y col., 2012; Idigoras y col., 2014; Ghebremedhin, 2014; Barrios y col., 2016; CDC, 2019; SIB, 2019).

Cuadro 5. Serotipos de adenovirus humano y enfermedades clínicas asociadas.

Subgrupo	Serotipo	Tipo de infección
A	12, 18, 31	gastrointestinal, respiratoria, urinaria
B, tipo 1	3, 7, 16, 21	queratoconjuntivitis, gastrointestinal, respiratoria, urinaria
B, tipo 2	11, 14, 34, 35	gastrointestinal, respiratoria, urinaria
C	1, 2, 5, 6	gastrointestinal incluyendo hepatitis, respiratoria, urinaria
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-	queratoconjuntivitis, gastrointestinal

	30, 32, 33, 36-39, 42-49	
E	4	gastrointestinal, respiratoria
F	40, 41	gastrointestinal
G	52	gastrointestinal

Fuente: Ghebremedhin, 2014

Los HAdV son transmitidos por gotas respiratorias y agua contaminada (Doing, Kim y Lewis, 2011; SIB, 2019). En los cuerpos de agua, los serotipos 4 y 7 son los que predominan (CDC, 2019), simultáneamente han sido detectados en aguas residuales (afluentes, tratamiento secundario, efluente), agua costera, cenotes, ríos, piscinas e incluso en agua potable (Fernández-Chaidez, 2007; Doing, Kim y Lewis, 2010; Rosiles-González y col., 2019).

A nivel mundial tienen el segundo lugar de gastroenteritis infantil en niños menores de 4 años (Goyal, 2006). Hasta el momento sólo se utiliza un antiviral para combatir este virus, brincidofovir (SIB, 2019) en cambio existe una vacuna que previene la infección para los serotipos 4 y 7 aunque solo está disponible en los Estados Unidos de América, no está disponible para el público en general si no para personal militar (CDC, 2020). Los adenovirus son resistentes a efectos de la luz U.V (Rodríguez-Lázaro y col., 2011), a los sistemas de tratamiento de agua residual (Doing, Kim y Lewis, 2010) y presentan sensibilidad a la desinfección química (Rodríguez-Lázaro y col., 2011). El virus evoluciona conforme actúa una presión de selección (Barrios y col., 2016), gran parte de los nuevos tipos de HAdV surgen por recombinación genómica homóloga (IVAMI, 2018), esto se debe a que el genoma de los Adenovirus es muy inestable ya que las co-infecciones pueden dar lugar a la recombinación homóloga que va generando su evolución molecular con la aparición de nuevos tipos, algunos de ellos considerados patógenos emergentes ya que la recombinación genética genera cepas híbridas que pueden ser infectivas o más patogénicas que las parentales (Rodríguez-Lázaro y col., 2011; Barrios y col., 2016; IVAMI, 2018).

3.HIPÓTESIS

El genoma de Adenovirus humano está presente en agua residual y en agua de mar del Pacífico y el Caribe mexicano.

4.OBJETIVO

4.1 Objetivo General

Detectar la presencia o ausencia de adenovirus humano en cuerpos de agua de las zonas del Pacífico y Caribe mexicano

5.MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología para este estudio se muestra en la siguiente estrategia experimental (Figura 5), la cual estuvo basada en tres principales puntos: colecta de muestra, concentración, detección viral.

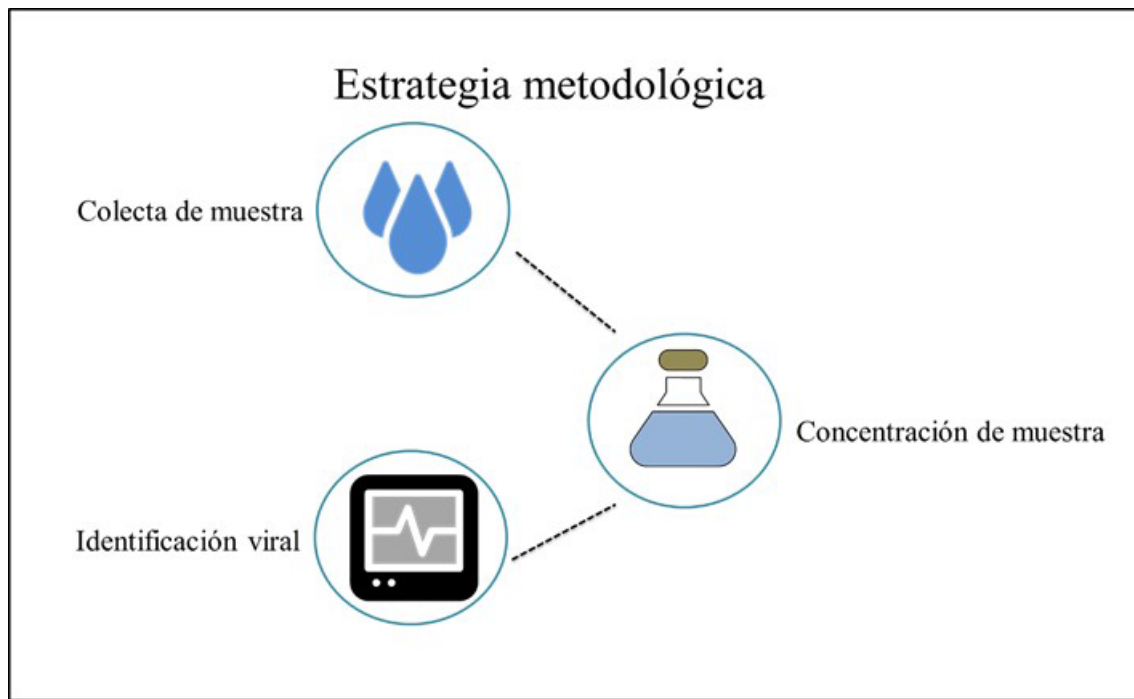


Figura 5. Representación esquemática de la estrategia metodológica

5.1. Áreas de Estudio

Para llevar a cabo este proyecto se tomaron 20 muestras de cuerpos de agua; 10 muestras en el Pacífico y 10 muestras en el Caribe mexicano, en los estados de Sinaloa y Quintana Roo, respectivamente (Cuadro 6). En Sinaloa, se establecieron tres puntos de muestreo: 1) Bahía de Altata situada en el Valle de Culiacán, 2) Estero de Altata y 3) planta tratadora de agua residual Abel Hernández Camacho ubicada en la sindicatura de Costa Rica a las afueras de la ciudad de

Culiacán. En Quintana Roo se establecieron 3 sitios a lo largo de la Riviera Maya: 1) Akumal Punta Norte, 2) Punta Sur y 3) planta tratadora de agua residual de la zona de Akumal.

Cuadro 6. Sitos de muestreo de las regiones de estudio

Sitio	Estado	Coordenadas	Tipo de cuerpo de agua	Descripción del sitio de muestreo
Pacífico	Bahía de Altata, Sinaloa	24° 38' 13,33" N 107° 56' 5,,68" W	Agua salobre	En esta área se realizan actividades turísticas, restauranteras, pesqueras y embarcaciones
	Estero de Altata, Sinaloa	24°37'42,8" N 107°51'31,6" W	Agua salobre	En los alrededores de esta área existe una gran afluencia de turistas, se realizan actividades recreativas y se percibe la descarga de drenaje pluvial
	Planta de tratamiento de agua residual, Sinaloa	24°60'03,22" N 107°41'40,67" W	Efluente de agua residual	Ubicada a las afueras de la ciudad recibe agua tratadas de una parte de la ciudad y de una población
Caribe	Akumal Punta Norte, Quintana Roo	20°52'34.44" N 87°02'37.92" W	Descarga de agua subterránea Agua salobre	Forma parte de la Riviera Maya, Cancún, la principal actividad que se realizan son las relacionadas al turismo (hospedaje en hoteles en el área, turismo residencial o renta de casa habitación) además de actividades como buceo o snorkel en la zona.
	Akumal Punta Sur, Quintana Roo	20°57'12.7" N 87°10'36.6" W	Descarga de agua subterránea Agua salobre	
	Planta de tratamiento de agua residual, Quintana Roo	20°51'38.19" N 97°03'57.31" W	Efluente de planta de agua residual	Planta de tratamiento de agua residual localizada dentro de un hotel que se encuentra en la Riviera Maya, Cancún, recibe agua residual de tres hoteles más de la zona.

5.2 Colecta y Procesamiento de las Muestras

Muestras de 10 L de agua fueron recolectadas por cada sitio seleccionado. Se utilizaron recipientes de plástico (bidones) los cuales fueron previamente ambientados en cada sitio de toma de muestra (Figura 6). En el área del Pacífico, las muestras fueron transportadas al Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA) del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C y en el área del Caribe al Laboratorio de Biología Molecular de la Unidad de Ciencias del Agua del Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. (CICY), las muestras fueron transportadas en hieleras a 4°C para ser procesadas dentro de las primeras 24 h (APHA, 1998).



Figura 6. Puntos de estudio. De izquierda a derecha: 1) planta de tratamiento de agua residual Costa Rica, Pacífico, 2) Estero de Altata, Pacífico; 3) Bahía de Altata, Pacífico; 4) Akumal Punta Norte y 5) Akumal Punta Sur, Caribe. Por confidencialidad no se tomaron fotos del 6^{to} sitio de muestreo correspondiente a la planta de tratamiento de agua residual en el Caribe. Fuente: fotos de Akumal tomado de Muñoz-Cortés, 2018

5.3 Concentración Viral

Después de la toma de muestra, cada una de ellas se concentró mediante el método de ultrafiltración

tangencial (Figura 7) siguiendo la metodología descrita por Hill y col., 2005, realizando una segunda concentración siguiendo la metodología descrita por Hernández- Morga, 2007, para ambas metodologías se hicieron modificaciones. El método se describe en los siguientes pasos:

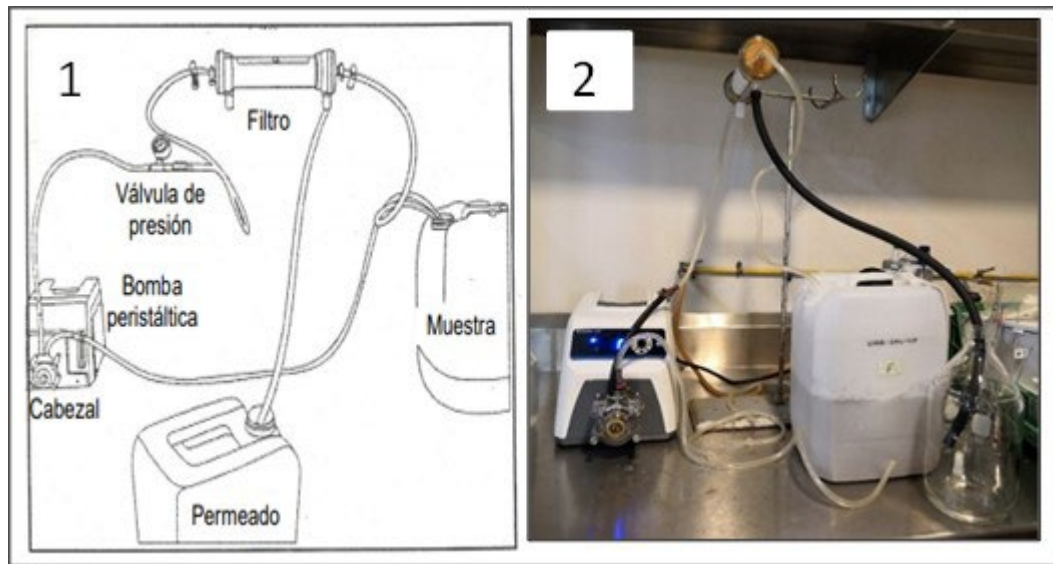


Figura 7. Sistema de ultrafiltración tangencial. 1: tomado de Hernández-Morga, 2007. 2: sistema de ultrafiltración instalado en laboratorio de LANIIA-LMAA, 2019.

1. Elementos del método: el sistema de ultrafiltración constó de los siguientes componentes, a) bomba peristáltica digital de alta velocidad triple tipo L/S, Masterflex; (Cole Parment Instrument 7524-40 Co USA), adherido a ella se encuentra un cabezal en el que se conectan las tuberías de neopreno, Masterflex; Coole Parment Instrument 6404-24 Co USA, por las que fluye el agua, b) válvula de presión, c) soporte para poner el filtro; Optiflux F180NR (USA). Las tuberías de neopreno, pipetas, conexiones, así como las soluciones que se utilizaron para este método fueron esterilizadas a 121°C por 15 min.
2. Pretratamiento del filtro: Primero se agregó polifosfato de sodio (NaPP, Sigma-Aldrich, Alemania) al 0.1% a las muestras de agua (retenido) y se dejaron a temperatura ambiente hasta posterior uso. Una vez conectado el sistema, por el filtro se circularon 500 ml de la solución de bloqueo a un flujo de 1700 mL/min en el filtro con el puerto de permeado cerrado, se recirculo la solución por 10 min. Después se abrió el puerto de permeado hasta que toda la solución fuera descartada del sistema.

3. Ultrafiltración: Se colocó la tubería en el recipiente donde se encontraba el retenido para filtrar sin flujo de permeado, solo para circulación durante 10 min. Posterior se abrió el flujo de permeado para concentrar el retenido concentrando un volumen aproximado de 170 mL, se retiró la tubería y fue puesta en contacto con 150 mL de la solución de retrolavado para recircular por 10 min. El volumen concentrado del retenido se mezcló con el volumen de retrolavado, obteniendo un volumen filtrado de aproximadamente 320 mL.
4. Reconcentración: a la muestra de filtrado final se reconcentró con polietilenglicol 8000 al 12% (PEG 8000 Sigma-Aldrich, Alemania) y cloruro de sodio 0.8 M (NaCl). El reconcentrado se agitó hasta homogeneizar y se dejó precipitar toda la noche a 4°C. Posteriormente, el reconcentrado fue colocado en tubos cónicos y fueron centrifugados a 7000 rpm por 30 min. Se descartó el sobrenadante y la pastilla fue resuspendida en 5 mL de solución amortiguadora de fosfatos (PBS, por sus siglas en inglés phosphate-buffered saline, USA).
5. Purificación de la muestra: la pastilla resuspendida se purificó a un volumen 1:1 cloroformo - butanol (Sigma-Aldrich, Alemania), se agitó 10 veces por inversión. Se centrifugó a 7000 rpm por 15 min, la fase acuosa se tomó y se colocó en tubos estériles y se almacenaron a -20° C hasta su uso. La fase acuosa fue utilizada para la extracción.

5.4. Extracción de Ácidos Nucleicos

La extracción de ADN viral para HAdV fue realizada utilizando el kit de extracción de ADN QIAamp® ADN Mini and Blood Mini Handbook (QUIAGEN, USA) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Para realizar la lisis cada muestra se hizo por separado y se utilizó el doble de volumen de la muestra con las siguientes indicaciones:

1. En un tubo Eppendorf (Eppendorf, Alemania) de 1.5 mL estéril se añadieron 40 µL de proteinasa K y 400 µL de muestra, a esta mezcla también se le agregaron 400 µL de buffer AL2. La mezcla total fue puesta en vortex por 15 s y se puso a incubar en baño seco a 56°C por 10 min.
2. Después se añadió etanol 96-100% y se agitó en vortex.
3. La mezcla fue trasladada a la mini columna de QIAamp y se centrifugó a 8,000 rpm por 1 min, la columna fue colocada en un tubo colector y el producto filtrado fue descartado.

4. A la columna se le añadieron 500 μ L de buffer AW1 y fue centrifugada a 8,000 por 1 min. La columna fue colocada en un tubo colector nuevo y el producto filtrado fue descartado.
5. Se añadieron 500 μ L de buffer AW2 a la mini columna y fue puesto a centrifugar a 13,000 rpm por 3 min.
6. La mini columna fue puesta en un tubo Eppendorf estéril y se descartó el tubo colector con el producto filtrado. El tubo Eppendorf con la mini columna fue puesto a centrifugar a 13,000 rpm por 1 min. Se siguió la recomendación de la guía del kit de extracción donde decía que se debía repetir una segunda centrifugación como un extra con el fin de eliminar algún residuo de buffer AW2 que haya quedado en la membrana.
7. Se cambió el tubo Eppendorf por uno nuevo y se añadieron 30 μ L de buffer AE, se incubó a temperatura ambiente por 4 min. Posterior fue centrifugado a 8,000 rpm por 1 min.
8. Después de la centrifugación se añadieron 20 μ L de buffer AE y se pusieron a incubar a 4 min a temperatura ambiente.
9. Por último, el tubo fue centrifugado a 8,000 rpm por 1 min, la columna con la membrana fue descartada y nos quedamos con el producto filtrado. Fue etiquetado y preservado a -80°C para posterior uso.

5.5 Detección Molecular

Para la detección viral se llevó a cabo mediante la técnica de PCR en su versión anidada y se siguió la metodología descrita por Allard y col., 2011 con algunas modificaciones.

Para PCR anidada se utilizaron dos pares de cebadores para amplificar el fragmento del gen *hexón* de un tamaño de aproximadamente 301 pares de bases (pb) y 171 pb respectivamente (Cuadro 7).

Cuadro7. Cebadores para gen *hexón*.

Cebador	Sentido	Secuencia 5' -> 3'	Tamaño de fragmento (pb)
hex1deg	+	GCCSCARTGGKWCWTACATGCACATC	301
hex2deg	-	CAGCACSCCICGRATGTCAA	
nehex3deg	+	GCCCGYGCMACIGAIACSTACTTC	171
nehex4deg	-	CCYACRGCCAGIGTRWAICGMRCYTTGTA	

Tomado de Allard y col., 2001

Se tomaron 5 µl de ADN viral templado para realizar la primera amplificación y posteriormente del producto de esta se tomaron 2 µL para hacer el segundo paso de amplificación. En el siguiente cuadro se observan las condiciones de amplificación para cada PCR (Cuadro 8).

Cuadro 8. Condiciones de amplificación para PCR

Primera amplificación		Segunda amplificación	
Ciclos	Condición de amplificación	Ciclos	Condición de amplificación
1 ciclo	95°C por 10 min	1 ciclo	94°C por 3 min
45 ciclos	94°C por 30 s	40 ciclos	94°C por 30 s
	55°C por 30 s		55°C por 30 s
	72°C por 1 min		72°C por 1 min
1 ciclo	72°C por 5 min	1 ciclo	72°C por 5 min
1 ciclo	4°C ∞	1 ciclo	4°C ∞

Después del término de cada amplificación, se tomaron 5 µl del producto de PCR y se sometieron a electroforesis en gel de agarosa (LE Analytical, USA) al 2% teñido con gelred (BIOTUM, USA) con solución amortiguadora TAE 1X (Sigma-Aldrich, Alemania) a 90 V por 40 min. Las bandas fueron visualizadas en un transiluminador U.V. (USA).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos a partir de PCR anidado reportaron la ausencia y/o presencia de los virus en estudio (Cuadro 9). Adenovirus humano se detectó en 5/20 (25%) de las muestras: en el Pacífico, en la planta de tratamiento Costa Rica en 3/20 (15%), en el Caribe, en Akumal Punta Norte en 1/20 (5%) y en la planta de tratamiento en un hotel en la zona de Akumal 1/20 (5%).

Cuadro 9. Identificación molecular de los virus de estudio

No. de sitio	Área	Estado	Sitio de muestreo	Adenovirus
1			Bahía de Altata	ND
2	Pacífico	Sinaloa	Estero de Altata	ND
3			PTAR Costa Rica	4/10
4			Akumal Punta Norte	1/10
5	Caribe	Quintana Roo	Akumal Punta Sur	ND
6			PTAR hotel zona Akumal	1/10

PTAR: planta de tratamiento de aguas residuales; ND: No detectado

En este estudio se reporta por primera vez la presencia de adenovirus en cuerpos de agua de origen residual proveniente del afluente y efluente, así como en aguas de uso de recreacional en una playa de la zona del Pacífico, sin embargo, la presencia de otros virus entéricos como norovirus y el virus de la hepatitis A (VHA) ya han sido identificados, encontrando al menos uno de los dos virus en un 92.5% de las muestras tomadas en el sistema costero de mayor extensión y productividad en esta zona, siendo los primeros virus entéricos reportados (Hernández-Morga y col., 2009). Adenovirus también se aisló de muestras de agua ambiental y residual proveniente del Caribe, en mayoría, los estudios realizados en la zona del Caribe reportan la presencia de adenovirus en cuerpos de agua de cenotes, agua subterránea, playas de uso recreativo y agua residual, encontrando concentraciones que van de $2,4 \times 10^1$ CG/L hasta $1,60 \times 10^3$ CG/L (Ávila-Torres, 2017; Hernández-Flores, 2018; Muñoz-Cortés, 2018; Rosilez-González y col., 2019).

Desde el descubrimiento de los adenovirus humanos, estos no han dejado de ser reportados alrededor de todo el mundo, por ejemplo, Japón, España, Estados Unidos, Grecia, Brasil, Italia, Austria, Colombia, Alemania y México no ha sido la excepción (Pina y col., 1998; Espinosa-García

y col., 2004; Sarantis y col., 2004; Bosch y col., 2005; Heerden y col., 2005; Tong y Lu, 2011; Aslan y col., 2011; Rodríguez-Lázaro y col., 2011; Wyn-Jones y col., 2011; Saavedra, Tovar y Betancourt, 2012; Hewitt y col., 2013). Investigaciones basadas en la presencia, la concentración, la supervivencia, la estacionalidad del año en la que estos virus son encontrados y los análisis de riesgos son reportes que actualmente se incluyen en la literatura (Rose y Sobsey, 1993; Aslan y col., 2011; Seitz y col., 2011; Kundu, McBride y Wuertz, 2013; Bradshaw y Jaykus, 2016; Masciopinto y col., 2019) principalmente porque los adenovirus humanos tienen el segundo lugar a nivel mundial como causantes de gastroenteritis en infantes (Ghebremedhin, 2014; OMS, 2008; Rodríguez-Lázaro y col., 2011; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid y Gutiérrez-Builes, 2011), tal es el caso de niños menores de nueve años de edad que fueron hospitalizados por gastroenteritis aguda en Brasil, de marzo de 2012 a abril del 2015 se recolectaron un total de 219 muestras de heces las cuales fueron analizadas por el método de PCR, los resultados de los estudios demostraron que de las 219 muestras tomadas 110 (50.2%) fueron positivas a HAdV, además, de los amplicones positivos se tomaron solo 47 (42.7%) que cumplían los requisitos para ser secuenciados: en 30 (63.9%) muestras se detectó el grupo F, en 2 (4.2%) el grupo A, 3 (6.4%) el grupo B, 8 (17.1%) para el grupo C, 2 (4.2%) en el grupo D al igual que para el grupo E. también demostraron que el genotipo mayormente detectado fue el 41 del grupo F (Moris y col., 2018). Por otro lado, en Tanzania se realizó un estudio muy similar, un estudio control donde se revisó la estacionalidad, prevalencia y características moleculares asociados a características clínicas de HAdV con o sin diarrea en niños menores de 2 años durante dos temporadas, que iban de agosto de 2010 a julio de 2011. La prevalencia del virus no fue significativa entre temporada seca y la temporada de lluvia, sin embargo, HAdV serotipo 40/41 fueron prevalentes en niños con (50%) y sin diarrea (46.2%), otros serotipos detectados fueron 1, 2, 7, 18, 19 y 31 (Moyo y col., 2014). El mismo grupo de investigación de Moyo y col., 2014 retoma la importancia de lo indispensable que es tomar medidas de control y preventivas para comprender la prevalencia del mencionado virus. Principalmente por ser la región de África, donde existe mayores reportes de infantes con diarrea atribuida a HAdV: 3.1·en Tunisia, 10.4% en Egipto, 19.8% en Ghana, 23% al noroeste de Nigeria, 37.4 % en Kenia y con el estudio de Moya y colaboradores en Tanzania (Aminu y col., 2007; Fodha y col., 2010; Kamel y col., 2009; Magwalivha y col., 2010; Moya y col., 2014; Silva y col., 2008). Al contrario de lo que pasó en Tanzania, en Estambul, Turquía, utilizando la metodología de PCR tiempo real revisaron un total de 117 pacientes menores de 10 años donde la prevalencia de HAdV fue

mayormente durante el verano, del total de muestras solo 71 (60 %) infantes tuvieron diarrea, a partir de los 71 pacientes se detectó al virus en 39 (55 %) muestras (Srinivasan y col., 2015). Incluso en Japón, donde también se ha estudiado la prevalencia, estacionalidad e incluso el alto número de infecciones por edad <15 años de HAdV en infantes, esto en 7 regiones de norte a sur del país: Sapporo, Tokio, Maizuru, Osaka, Saga, Kagawa y Kurume; durante julio de 1995 a junio de 2009 se tomaron un total de 7,185 muestras de heces con gastroenteritis aguda (Dey y col., 2015). Los análisis se llevaron a cabo por medio de la técnica de PCR y posteriormente se realizó una caracterización de genotipos por el método de secuenciación (Dey y col., 2015), HAdV se detectó en 565 (7.9%) muestras y las tasas más altas de detección de HAdV ocurrieron durante el mes de diciembre con un 15.6% (88/565) aunque el pico de detección fue en aumento durante 1995 a 2001 de diciembre a marzo (Dey y col., 2015). Finalmente se concluyó que, durante ese tiempo, en los últimos 15 años el serotipo que más había prevalecido era el 41, seguido de los serotipos 40, 5, 1, 3 y 2 (Dey y col., 2015).

En México, en particular las investigaciones enfocadas en la detección de HAdV en pacientes aún no es concreta, puesto que hasta el momento los reportes que se han documentado en la literatura científica han sido establecidos por estudios epidemiológicos (Espinosa-García y col., 2004; Farkas y col., 2000). Durante los años 90s, se notificó que durante los meses de las estaciones de otoño a invierno los pacientes que presentaban diarrea eran relacionados a virus, el principal agente viral reconocido fue rotavirus, quien infectó de un 25 a un 50% de los casos reportados en infantes menores de dos años (Calva, 1998; Le Baron y col., 1990; Villa y col., 1999). También se encontró que el virus Norwalk fue de relevancia casi similar al del rotavirus, ya que en un estudio realizado con la finalidad de estimar la prevalencia de infección que ocurría en niños, desde el nacimiento hasta la edad de 2 años, se encontró que en un 85% predominante de anticuerpos para este agente viral, posteriormente, un subgrupo de los mismos niños que se monitorearon hasta la edad de 5 años se reveló la seroprevalencia a un 100% (Jian y col., 1995). Astrovirus humano (HAstVs) ha sido otro agente causal de enfermedades diarreicas, evaluando niños con este síntoma una parte con un 2 % a 16% quienes requirieron hospitalización y, por otro lado; niños quienes no necesitaron hospitalización de 5 a 17%, incluso, en este último grupo se demostró que había seis tipos de astrovirus en la región: HAstVs-2 (42%), HAstVs- 4 (23%), HAstVs-3 (13%), HAstVs (110%), HAstVs-5 (6%) y HAstVs-7 (6%) (Mendez-Toss y col., 2000; Walter y col., 2001).

Lo anterior, podría representar un riesgo para la salud de los usuarios debido a que una vez que una

persona se infecta con el virus, estos se replican en el tracto gastrointestinal siendo así excretadas en las heces que terminan en el sistema de drenaje (Espinosa- García, 2004). En la mayoría de los casos, los virus no son eliminados por el tratamiento de aguas residuales y algunas partículas infectivas pueden permanecer en las descargas (Vantarakis y Papapetropoulou, 1999; Thompson y col., 2003; Van Heerden y col., 2003; 2005a; Gerba, 2007; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid y Gutiérrez-Builes, 2011).

Se atribuye que la presencia de estos virus entéricos encontrados en las zonas del Pacífico y el Caribe mexicano puede ser en primera instancia; en los cuerpos de agua de origen residual que son generadas en la población urbana constituyen la mayor fuente de contaminación viral (Gerba, 2007) puesto que los virus de origen entérico son excretados por personas portadoras del mismo (sean asintomáticos o no) que la práctica de la deposición fecal al aire libre siga siendo realizada en la actualidad y que la deposición sea arrastrada por medio de escorrentías o por la lluvia a los sistemas de drenaje, o directamente a los cuerpos de agua ambientales y de uso recreativo (Gerba, 2007; Bosh, Abad y Pintó, 2005; Hewitt y col., 2013). También se tiene bien documentado dos características muy importantes de estos patógenos, es que tienen resistencia a los tratamientos de agua residual y la supervivencia sea prolongada en los ambientes acuáticos (Gerba, 2007; Saavedra, Tovar y Betancourt, 2012).

7. BIBLIOGRAFÍA

- Agencia de Protección Ambiental (Estados Unidos). 2019. Estuaries and coastal waters. Recuperado de [https://www.epa.gov/environmental_info/water_quality/programs/estuaries_and_coastal_waters](https://www.epa.gov/environmental-info/water-quality/programs/estuaries_and_coastal_waters).
- Aminu M., Ahmad A., Umoh Ju., De Beer Mc., Esona Md y Steele Ad. 2007. Adenovirus infection in children with diarrhea disease in northwestern nigeria. *Annals of African Medicine* 6(4):168–173.
- Alcoer J., Lugo A., Marín L. y Escobar E. 1998. Hydrochemistry of waters from five cenotes and evaluation of their suitability for drinking-water supplies, northeastern Yucatan, Mexico. *Hydrogeology Journal* 6:293–301 pp.
- Allard A., Albinsson B. y Wadell G. 2001. Rapid typing of human adenoviruses by a general PCR combined with restriction endonuclease analysis. *Journal of Clinical Microbiology* 39(2):498-505 pp.
- Artieda J., Montes M., Vicente D., Martínez C., Piñeiro L. y Mendiola J. 2010. Brote de conjuntivitis folicular por adenovirus en un centro gerontológico. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 28(10):690-693 pp.
- Aslan A., Xagorarakis I., Simmons F., Rose J. y Dorevitch S. 2011. Occurrence of adenovirus and other enteric viruses in limited-contact freshwater recreational areas and bathing waters. *Journal of Applied Microbiology* 111(5): 1250-61 p.
- Asociación Americana de Control de la Salud (APHA). 1998. Compendium of methods for the examination of water and wastewater 4^{ta} edición. Editores Frances Pouch and Downes Keith.
- Ávila-Torres G. 2017. Detección y cuantificación de coliformes, colifagos y adenovirus en el sistema acuífero del norte del estado de Quintana Roo (Tesis de maestría). Centro de investigación Científica de Yucatán A.C. Cancún, Quintana Roo.
- Bishop R. y Kirkwood C. 2008. Enteric viruses. *Encyclopedia of Virology* 116-123 pp. Bradbury K., Borchardt M., Gotkowitz M., Spencer S., Zhu J. y Hunt R. 2013. Source and transport of human enteric viruses in deep municipal water supply wells. *Environmental Science and Technology* 47(9): 4096–103 pp.
- Bradshaw E. y Jaykus L. 2016. Chapter 17. Risk assessment for foodborne viruses. En S.M. Goyal, J.L. Cannon eds. *Viruses in Foods*, Food Microbiology and Food Safety 471- 503 pp.
- Baggi F., Demarta A. y Peduzzi R. 2001. Persistence of viral pathogens and bacteriophages during sewage treatment: lack of correlation with indicator bacteria. *Research Microbiology* 152(8): 743–751 pp.
- Barrios J., Russomando G. y Espínola E. 2016. Diversidad de adenovirus detectados en niños menores de 5 años hospitalizados por infección respiratoria aguda baja en Paraguay, 2010-

2013. *Pediatría (Asunción)* 43:(2).115-122 pp.
- Birnboim H. y Doly J. 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Research* 7(6):1513-1523 pp.
- Bofill-Mas S., Rusiñol M., Fernandez-Cassi X., Carratalá A., Hundesa A. y Girones R. 2013. Quantification of Human and animal viruses to differentiate the origin of the fecal contamination present in environmental samples. *BioMed Research International* 2013: 192089.
- Bosch A., Abad F. y Pintó R. 2005. Human Pathogenic Viruses in the Marine Environment. EN Belkin S., Colwell R. eds *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. Springer, Boston 109-131 pp.
- Calva. 1998. Las enfermedades diarreicas en niños mexicanos. *Asociación mexicana de infectología y microbiología clínica*: 12-17 pp.
- Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC). 2019. Adenoviruses. Outbreaks. Recuperado de <https://www.cdc.gov/adenovirus/outbreaks.html>.
- Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC). 2020. Vaccine information statements (VISs). Adenovirus VIS. Recuperado de <https://www.cdc.gov/vaccines/hcp/vis/vis-statements/adenovirus.html>.
- Cháidez-Fernández Y. 2006. Detección, Identificación y Estimación de Riesgo de Norovirus y Virus de Hepatitis A Presentes en Agua de Mar de Playas de Sinaloa (tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa.
- Cifuentes E., Blumenthal U., Ruiz P., Bennett S., Quigley M., Peasey A. y Romero A. 1993. Problemas de salud asociados al riego agrícola con agua residual en México. *Salud Pública de México* 35(6), 614-619. Recuperado de <http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/5708/6275>
- Cifuentes, E., Blumenthal, U., Ruiz P., Bennett S., y Peasey A. 1994. Escenario epidemiológico del uso agrícola del agua residual: el Valle del Mezquital, México. *Salud Pública de México* 36(1), 3-9. Recuperado de <http://saludpublica.mx/indexphp/spm/article/view/5724/6307>.
- Cifuentes E. 1998. La epidemiología de las infecciones entéricas en comunidades agrícolas expuestas al riego mediante aguas residuales: Perspectivas para el control de riesgos. Cuernavaca, Morelos: cisp.
- Cisneros O., Gonzalez, J. y Fuentes C. 2001. Perspectiva de aprovechamiento de las aguas residuales en la agricultura. Recuperado de <http://cenca.imta.mx/pdf/43978Pri.pdf>.
- Contreras J., Meza R., Siebe C., Rodriguez S., Lope, Y., Castillo G. y Eisenberg J. 2017. Health risks from exposure to untreated wastewater used for irrigation in the Mezquital Valley, Mexico: A 25-year update. *Water Research*, 123, 834-850. DOI: 10.1016/j.watres.2017.06.058
- Consejo para el Desarrollo Económico de Sinaloa (CODESIN). 2020. Llegada de turistas y ocupación hotelera en Sinaloa, a septiembre de 2020. Recuperado de <https://codesin.mx/sinaloaennumeros/llegada-de-turistas-y-ocupacion-hotelera-en-sinaloa-a-septiembre-2020>.

- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2018. Situación del subsector agua potable, drenaje y saneamiento. Recuperado de <https://www.gob.mx/conagua/documentos/situacion-del-subsector-agua-potable-drenaje-y-saneamiento>.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) 2019. Plantas de tratamiento de agua residual 2019. Recuperado de <http://sina.conagua.gob.mx/sina/tema.php?tema=plantasTratamiento&ver=grafica&o=0&n=nacional>.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2019a Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento. Recuperado de <http://sina.conagua.gob.mx/sina/tema.php?tema=plantasTratamiento&ver=mapa&o=0&n=nacional#&ui-state=dialog>.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2019b. situación del sector agua potable y alcantarillado y saneamiento.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) 2019. Catálogo de plantas de tratamiento de aguas residuales en operación de CONAGUA. Recuperado de <https://datos.gob.mx/busca/dataset/catalogo-de-plantas-de-tratamiento-de-aguas-residuales-en-operacion-de-conagua>.
- Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV). 2019. Information. Executive Committee. Recuperado de <https://talk.ictvonline.org/information/>.
- Consejo para el Desarrollo Económico de Sinaloa (CODESIN). 2016. Sinaloa, vamos mucho más allá de la agricultura. Recuperado de <https://codesin.mx/news/sinaloa-mas-alla-de-la-agricultura/>.
- Coronado-Elizalde M. 2018. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de *Cryptosporidium parvum* y *Cyclospora cayettanensis* en agua de uso agrícola en el centro de Sinaloa (tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa.
- Dey S., Hoq I., Okitsu S., Hayakawa S. y Ushijima H. 2012. Prevalence, seasonality, and peak age of infection of enteric adenoviruses in japan, 1995–2009. *Epidemiology and infection*, [s.l.], v. 141, n. 05, p.958-960, 20. Cambridge university press (cup). <Http://dx.doi.org/10.1017/s0950268812001586>.
- Dong Y., Kim J. y Lewis G. 2010. Evaluation of methodology for detection of human adenoviruses in wastewater, drinking water, stream water and recreational waters. *Journal of Applied Microbiology* 108(3):800-9 pp.
- Dubois E., Le Guyader F., Haugarreau L., Kopecka H., Cormier M. y Pommepuy M. 1997. Molecular epidemiological survey of rotaviruses in sewage by reverse transcriptase seminested PCR and restriction fragment length polymorphism assay. *Applied Environmental Microbiology* 63: 1794–1800 pp.
- ELPAÍS. 2018. Seis niños muertos por un brote de adenovirus en un centro sanitario de Nueva Jersey. Recuperado de https://elpais.com/sociedad/2018/10/24/actualidad/1540363833_736681.html.
- Espinosa-García A., Arias-Ortíz C. y Mazari-Hiriart M. 2004. Virus en sistemas acuáticos e implicaciones en salud pública. *Hidrobiológica* 14(2):166-178 pp.

- Farkas T., Jiang M., Guerrero W., Zhong N., Wilton T., Berke D., Matson I., Pickering I y Ruíz-palacios G. 2000. Prevalence and Genetic diversity of human caliciviruses (hucvs) in mexican children. *Journal Medical Virology* 62: 217-223.
- Fuhrman J. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 399(6736):541-548 pp.
- Gantzer C., Maul A., Audic J. y Schwartzbrod L. 1998. Detection of infectious enteroviruses, enterovirus genomes, somatic coliphages, and bacteroides fragilis phages in treated wastewater. *Applied and Environmental Microbiology* 64(11):4307–4312 pp.
- Gerba C., Goyal S., Labelle R., Cech I. y Bodgan G. 1979. Failure of indicator bacteria to reflect the occurrence of enteroviruses in marine waters. *American Journal of Public Health* 69(11): 1116–1119 pp.
- Gerba C. 2007. Viruses occurrence and survival in the environmental waters. En Bosh A. eds *Human Viruses in Water*. Elsevier. Amsterdam, Holanda 91-108 pp.
- Ghebremedhin B. 2014. Human adenovirus: viral pathogen with increasing importance. *European Journal of Microbiology and Immunology* 4(1):26-33 pp.
- Gerba C. y Goyal S. 1982. *Methods in environmental microbiology*. Marcel Dekker Inc. Estados Unidos de América.
- Girardi V., Demoliner M., Rigotto C., Schneider E., Paesi S. y Spiki R. 2018. Assessment of diversity of adenovirus DNA polymerase gene in recreational waters facilitated by ultracentrifugal concentration. *Journal of Water and Health* 16(1): 102-111 pp.
- Gobierno del estado de Sinaloa. 2020. Sinaloa creció un 19% en arribo de turistas en 2019. Recuperado de <https://sinaloa.gob.mx/noticias/sinaloa-crecio-un-19-en-arribo-de-turistas-en-2019#sthash.w5kcd6jg.1V4pjuG1.dpbs>.
- González-González M. y Chiroles S. 2010. Uso seguro y riesgos microbiológicos del agua residual para la agricultura. *Revista Cubana de Salud Pública* 37(1):61-73 pp.
- González-López I. 2017. Regulación metabólica de *Salmonella* spp. como estrategia de adaptación de agua de río (tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa.
- Hernández-Flores C. 2018. Ocurrencia de Norovirus, virus de Hepatitis A y Reovirus en cuerpos de agua del norte de Quintana Roo: predicciones de riesgos para la salud (Tesis de maestría). Centro de investigación Científica de Yucatán A.C. Cancún, Quintana Roo.
- Hernández-Morga J. Concentración por ultrafiltración de virus entéricos en agua del complejo lagunar Huizache Caimanero, Sinaloa (Tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa.
- Hernández-Morga J., León-Félix J., Peraza-Garay F., Gil-Salas B. y Chaidez C. 2009. Detection and characterization of hepatitis A virus and Norovirus in estuarine water samples using ultrafiltration-RT-PCR integrated methods. *Journal of Applied Microbiology* 106(5):1579-90 pp.
- Hewitt J., Greening G., Leonard M. y Lewis G. 2013. Evaluation of human adenovirus and human polyomavirus as indicators of human sewage contamination in the aquatic environment.

Water Research 47(17):6750-61 pp.

- Hill V., Polaczyk A., Hahn D., Narayanan J. Cromeans T., Roberts J. y Amburgey J. 2005. Development of a rapid method for simultaneous recovery of diverse microbes in drinking water by ultrafiltration with sodium polyphosphate and surfactants. *Applied and Environmental Microbiology* 71(11): 6878–6884 pp.
- Iagua, 2014. <https://www.iagua.es/noticias/mexico/14/04/24/culiacan-y-mazatlan-cuentan-yacon-la-infraestructura-para-tratar-al-cien-por-ciento-de-sus-aguas-re-48>.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2018. Anuario estadístico y geográfico de los Estados Unidos Mexicanos 2017. Recuperado de <https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=702825097912>.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2018. Anuario estadístico y geográfico de los Estados Unidos Mexicanos 2017. Recuperado de <https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=702825097912>.
- Idigoras P., Zapico M., Montes M. y Romano C. 2014. Urethritis y conjuntivitis simultánea por adenovirus tipo 56. *Medicina Clínica* 142(12):448-559 pp.
- Jiang C. y Paul J. 1998. Significance of lysogeny in the marine environment: studies with isolates and a model of lysogenic phage production. *Microbial Ecology* 35(3):235-243 pp.
- Jiménez M. 2011. *Salmonella* spp. en Ríos del valle de Culiacán: detección, diseminación, PFGE-tipificación y resistencia a antibióticos (tesis de doctorado). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Culiacán, Sinaloa.
- Kamel Ah., Ali Ma., El-nady Hg., De Rougemont A., Pothier P. y Belliot G. 2009. Predominance and circulation of enteric viruses in the region of greater cairo, Egypt. *Journal of Clinical Microbiology* 47(4):1037–1045.
- Knipe D. y Howley P. eds. 6^{ta} edition, Lippincott Williams y Wilkins, Philadelphia, Estados Unidos de América 582–608 pp.
- Kapikian A., Wyatt R., Dolin R., Thornhill T., Kalica A. y Chanock R. 1972. Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *Journal of Virology* 10:1075-1081 pp.
- Kopecka H., Dubrou S., Prevot J., Marechal J. y López-Pila M. 1993. Detection of naturally occurring enteroviruses in waters by reverse transcription, polymerase chain reaction, and hybridization. *Applied and Environmental Microbiology* 59(4): 1213-1219 pp.
- Kumar S., G. Stecher, K. Tamura (2016) MEGA 7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33:1870-1874.
- Kundu A., McBride G. y Wuertz S. 2013. Adenovirus-associated health risks for recreational activities in a multi-use coastal watershed based on site-specific quantitative microbial risk assessment. *Water Research* 47(16): 6309-6325 pp.
- La Rosa G., Libera D., Petricca S., Iaconelli M., Donia D., Saccuci P., Cenko F., Xhelilaj G. y Diviza M. 2015. Genetic diversity of human adenovirus in children with acute gastroenteritis, Albania, 2013-2015. *BioMed Research International*.
- Le Guyader F., Neil F., Estes M., Monroe S., Ando T. y Atmar R. 1996. Detection and analysis of

- a small round-structured virus satrain in oysters implicated in an outbreak of acute gastroenteritis. *Applied and Environmental Microbiology* 62(11):4268-4272 pp.
- León-Félix J., Cháidez-Fernández Y., Velarde-Félix J.S., Valdez-Torres B. y Chaidez C. 2010. Detection and phylogenetic analysis of hepatitis A virus and norovirus in marine recreational waters of Mexico. *Journal of Water and Health*. 8(2):269-78 pp.
- Magwalivha M., Wolfaardt M., Kiulia N., Van Zyl W., Mwenda J. y Taylor M. 2010. High prevalence of species d human adenoviruses in fecal Specimens from urban kenyan children with diarrhea. *Journal Medical Virology* 82(1):77–84 pp.
- Mendez-Toss M., Romero-Guido E., Munguía E., Méndez C. y Arias. 2000. Molecular analysis of a serotype 8 human astrovirus genome. *Journal of General Virology* 81(12): 2891-2897 pp.
- Morse S. y Meitzner T. 2011. Bases de la microbiología. En: Brooks G., Carroll K., Butel J., Morse S y Meitzner T. eds Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología médica 25ª McGraw Hill Lange edición. México, 2-3 pp.
- Moyo J., Hanevik K., Blomberg B., Kommedal O., Nordbo A., Maselle S. y Langeland N. 2016 Prevalence and molecular characterization of human adenovirus in diarrhoeic children in Tanzania; a case control study. *BMC Infectious Diseases* v. 14. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/666>. Access in: 8 feb 2016.
- Muños-Cortés C. 2018. Detección de colifagos y virus entéricos en descargas de agua subterránea en la zona costera de Akumal (Tesis de maestría). Centro de investigación Científica de Yucatán A.C. Cancún, Quintana Roo.
- Muscillo M., La Rosa G., Marianelli C., Zaniratti S., Capobianchi M. Cantiani L. y Carducci A. 2001. A new RT-PCR method for the identification of reoviruses in seawater samples. *Water Research* 35: 548–556 pp.
- Norma Oficial Mexicana NOM-001-Semarnat- 1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas o bienes nacionales. Publicada el 6 de enero de 1997.
- Norma Oficial Mexicana NOM-003-Semarnat- 1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios públicos. Publicada el 21 de septiembre de 1998.
- Norma Oficial Mexicana NOM-004-Semarnat- 2001, que establece las especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes en lodos y biosólidos para su aprovechamiento y disposición final. Publicada el 15 de agosto de 2003.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 1989. Guidelines for the safe use of wastewater and excreta in agriculture and aquaculture: Measures for public health protection. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wasteuse/en/.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2008. Agua, saneamiento e higiene. Guías para la calidad del agua potable, tercera edición: volumen 1- recomendaciones. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/gdwq3/es/.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2008. Día mundial del agua. Recuperado de https://www.paho.org/per/index.php?option=com_content&view=article&id=577:dia-mundial-agua&Itemid=719.

- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2013. Guías de uso seguro de aguas residuales, excretas y aguas grises. Recuperado de <https://agua.org.mx/biblioteca/guias-para-el-uso-seguro-de-aguas-residuales-excretas-y-aguas-grises/>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2017. 2100 millones de personas carecen de agua potable en el hogar y más del doble no disponen de saneamiento seguro. Recuperado de <https://www.who.int/es/news/item/12-07-2017-2-1-billion-people-lack-safe-drinking-water-at-home-more-than-twice-as-many-lack-safe-sanitation>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2019. Agua. Datos y cifras. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2019. Agua, saneamiento e higiene. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/jmp-wash-in-schools/es/.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2019. Agua, Saneamiento e higiene. Aguas recreativas. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/recreational/es/.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2019. Agua, Saneamiento e higiene. Enfermedades transmitidas por el agua. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/diseases-risks/diseases/es/.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2020a. Agua, saneamiento y salud (ASS). El uso de aguas residuales. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/es/.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2020. Agua, saneamiento y salud (ASS). Agua potable salubre y saneamiento básico en pro de la salud. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/mdg1/es/.
- Organización de las Naciones Unidas México. (ONU). 2020. Objetivos de desarrollo del milenio. Recuperado de <http://www.onu.org.mx/agenda-2030/objetivos-de-desarrollo-del-milenio/>.
- Piug M., Jofre J., Lucena F., Allard A., Wadell G. y Girones R. 1994. Detection of adenoviruses and enteroviruses in polluted waters by nested PCR amplification. *Applied and Environmental Microbiology* 60(8):2963-2970 pp.
- Pina S., Puig M., Lucena F., Jofre J. y Girones R. 1998. Viral Pollution in the Environment and in Shellfish: Human Adenovirus Detection by PCR as an Index of Human Viruses. *Applied and Environmental Microbiology* 64(9): 3376-3382 pp.
- Piñero D. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. En *Capital natural de México* volumen I: *Conocimiento actual de la biodiversidad*. CONABIO, México 415-435 pp.
- Pulido-Madrigal L. 2017. Riego con aguas residuales para depuración de contaminantes. *H₂O Gestión del agua* 14: 12-17 pp. https://issuu.com/helios_comunicacion/docs/h20-14_fin.
- Rodríguez-Lázaro D., Cook N., Ruggeri F., Sellwood J., Nasser A., Nascimento M., D'Agostino M., Santos R., Saiz J., Rzeżutka A., Bosch A., Gironés R., Carducci A., Muscillo M., Kovač K., Diez-Valcarce M., Vantarakis A., von Bonsdorff C., de Roda Husman A., Hernández M. y van der Poel WH. 2012. Virus hazards from food, water and other contaminated environments. *FEMS Microbiology Reviews* 36(4):786-814 pp.

- Ríos-Tobón S., Agudelo-Cadavid R. y Gutiérrez-Builes L. 2017. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional Salud Pública* 35(2):236-247 pp.
- Rose J. y Sobsey M. 1993. Quantitative risk assessment for viral contamination of shellfish and coastal waters. *Journal of Food Protection* 56(12): 1043-1050 pp.
- Rosiles-González G., Ávila-Torres G., Moreno-Valenzuela O., Chaidez-Quiroz C., Hernández-Flores C., Acosta-González G., Brown J., Betancourt W., Gerba C. y Hernández-Zepeda C. 2019. Norovirus and human adenovirus occurrence and diversity in recreational water in a karst aquifer in the Yucatan Peninsula, Mexico.
- Rusinol M. y Girones R. 2017. Summary of excreted and waterborne viruses. Global water pathogen project. Tercera edición. Michigan 20 pp.
- Saavedra M., Tovar C. y Betancourt W. 2012. Virus entéricos en ambientes acuáticos: métodos de concentración y detección. *Redalyc Interciencia* (34) 4:260-265 pp.
- Sambrook J., Russe D. 2001. Molecular cloning: A laboratory manual. 3^{ra} eds Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Saldívar-Cabrales J., Álvarez L., Berrelleza A. y Cervantes F. 2008. “Reúso del agua residual tratada anaeróticamente proveniente de una granja porcina en un cultivo de trigo”. *VII Congreso Internacional, XIII Congreso Nacional, III Congreso Regional de Ciencias Ambientales*. Ciudad Obregón, Sonora, México. Recuperado de web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/congresos/.../TECNOLOGIA.../TBA109.doc
- Sánchez. 2002. Capítulo 12. Virus. En: Torres M. Agentes patógenos transmitidos por alimentos volumen I eds Coordinación Editorial. Guadalajara, Jalisco, México. 321-351 pp.
- Sánchez O. 2019. Ecosistemas acuáticos: diversidad, procesos, problemática y conservación. Recuperado de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/533/ecosistemas.pdf>.
- Sarantis H., Johnson g., Brown M., Petric M. y Tellier R. 2004. Comprehensive Detection and Serotyping of Human Adenoviruses by PCR and Sequencing. *Journal of Clinical Microbiology* 42(9): 3963-3969 pp.
- Sassoubre L., Love D., Silverman A., Nelson K. y Boehm A. 2012. Comparison of enterovirus and adenovirus concentration and enumeration methods in seawater from Southern California, USA and Baja Malibu, Mexico. *Journal of water and health* 10(3):419- 430 pp.
- Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP). 2007. La calidad del agua en los ecosistemas costeros de México. Recuperado de <http://e-mar.sct.gob.mx/fileadmin/biblioteca/ecologia/308.pdf>.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2012. Agua. Calidad. Recuperado de https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_resumen14/06_agua/6_2_3.html#a1_1.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2018. Estadísticas del agua en México Edición 2018. Comisión Nacional del Agua. Recuperado de: www.gob.mx/conagua.
- Secretaría de Turismo (SECTUR). 2012. Retrieved November 11, 2015. Recuperado de <http://www.sectur.gob.mx/>.

- Secretaría de Turismo (SECTUR). 2018. Comunicado de prensa #23. Gobierno de la República. México. Recuperado de <https://www.gob.mx/sectur/prensa/en-2017-mexico-121capto-39-3-millones-de-turistas-internacionales-y-una-derrama-de-21-3-mmdd?idiom=es>.
- Silva H., Garcia-Zapata M. y Anunciacao C. 2011. Why the use of adenoviruses as water quality virologic marker? *Food and Environmental Virology* 3(4):138-140 pp.
- Silva P., Stark K., Mockenhaupt F., Reither K., Weitzel T., Ignatius R., Saad E., Seidu-korkor A., Bienzle U. y Schreier E. 2008. molecular characterization of Enteric viral agents from children in northern region of Ghana. *Journal of Medical Virology* 80(10):1790–1798.
- Srinivasan A., Klepper C., Sunkara A., Kang G., Carr J., Gu Z., Leung W. y Hayden T. 2015. Impact of adenoviral stool load on adenoviremia in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 34(6): 562–565.
- Thompson S., Jackson J., Suva-Castillo M., Yanko W., EL Jack Z., Kuo J., Chen C., Williams F. y Schnurr D. 2003. Detection of infectious human adenoviruses in tertiary-treated and ultraviolet-disinfected wastewater. *Water Environmental Research* 75:163–170 pp.
- Till D., McBride G., Ball A., Taylor K. y Pyle E. 2008. Large-scale freshwater microbiological study: rationale, results and risks. *Journal of Water and Health* 6(4):443-460 pp.
- Tong H. y Lu Y. 2011. Effective detection of human adenovirus in hawaiian waters using enhanced pcr methods. *Virology Journal* 8(57).
- Updyke E., Wang Z., Sun S., Connell C., Kirs M., Wong M. y Lu Y. 2015. Human enteric viruses— Potential indicators for enhanced monitoring of recreational water quality. *Virologica Sinica* 30(5): 344–353 pp.
- Van Heerden J., Ehlers M., Van Zyl W. y Grabow W. 2003. Incidence of adenoviruses in raw and treated water. *Water Research* 37:3704–3708 pp.
- Van Heerden J., Ehlers M., Heim A. y Grabow W. 2005a. Prevalence, quantification and typing of adenoviruses detected in river and treated drinking water in South Africa. *Journal Applied Microbiology* 99(2): 234–242 pp.
- Van Heerden J., Ehlers M., Vivier J. y Grabow W. 2005b. Risk assessment of adenoviruses detected in treated drinking water and recreational water. *Journal of Applied Microbiology* 99(4): 926-933 pp.
- Vantarakis A. y Papapetropoulou M. 1999 Detection of enteroviruses, adenoviruses and hepatitis A viruses in raw sewage and treated effluents by nested-PCR. *Water Air Soil Pollution* 114:85–93 pp.
- Vidovic y col., 2011 Vidovic, S., Aly, M., Flemming, C., Springthorpe, S., & Sattar, S. A. (2011). Genetic analysis of infectious human adenoviruses from wastewaters of two urban communities in Canada shows first evidence of genotypes Ad3a16 and Ad3a18 in North America. *Applied and Environmental Microbiology*, AEM-02795.
- Wommack K., Ravel R., Hill T. y Colwell R. 1999. Hybridization analysis of Chesapeake Bay virioplankton. *Applied and Environmental Microbiology* 65(1):241-250 pp.
- Wommack K. y Colwell R. 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(1):69-114 pp.

- Wu H.M., Fornek M., Schwab K.J., Chapin A.R., Gibson K., Schwab E., Spencer C. y Henning K. 2005. A norovirus outbreak at a long-term-care facility: the role of environmental surface contamination. *Infection Control y Hospital Epidemiology* 26: 802–810 pp.
- Wyn-Jones A., Carducci A., Cook N., D'Agostino M., Divizia M., Fleischer J., Gantzer C., Gawler A., Girones R., Höller C., Husman A., Kay D., Kozyra I., López-Pila J., Muscillo M., Nascimento M., Papageorgiou G., Rutjes S., Sellwood J., Szewzyk R. y Wyer M. 2011. Surveillance of adenoviruses and noroviruses in european recreational waters. *Water Research* 45(3): 1025-38 pp.
- Yoshitomi H., Sera N., Gonzalez G., Hanaoka N. y Fujimoto T. First isolation of a new type of human adenovirus (genotype 79), species Human mastadenovirus B (B2) from sewage water in Japan. *Journal of Medical Virology* 89: 1192-1200 pp.