



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL, RESISTENCIA A
ANTIBIÓTICOS Y PATÓGENOS EN AGUA DEL VALLE DEL MEZQUITAL,
HIDALGO**

**TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:
NALLELY VÁZQUEZ SALVADOR**

**TUTORA PRINCIPAL:
DRA. MARISA MAZARI HIRIART
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR:
DR. IVÁN MORENO ANDRADE
INSTITUTO DE INGENIERIA, UNIDAD JURQUILLA, UNAM
DR. GERARDO SUZÁN AZPIRI
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., FEBRERO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL, RESISTENCIA A
ANTIBIÓTICOS Y PATÓGENOS EN AGUA DEL VALLE DEL MEZQUITAL,
HIDALGO**

**TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:
NALLELY VÁZQUEZ SALVADOR**

**TUTORA PRINCIPAL:
DRA. MARISA MAZARI HIRIART
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR:
DR. IVÁN MORENO ANDRADE
INSTITUTO DE INGENIERIA, UNIDAD JURQUILLA, UNAM
DR. GERARDO SUZÁN AZPIRI
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., FEBRERO 2022

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA

OFICIO CPCB/1159/2021

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva y Ecología, del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su **reunión ordinaria del día 06 de septiembre de 2021** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la estudiante: **VÁZQUEZ SALVADOR NALLELY**, con número de cuenta **303142874**, con la tesis titulada: **“EVALUACIÓN DE INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL, RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y PATÓGENOS EN AGUA DEL VALLE DEL MEZQUITAL, HIDALGO”**, bajo la dirección del **DRA. MARISA MAZARI HIRIAR**, Tutor Principal, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. HORACIO RIOJAS RODRÍGUEZ
Vocal: DR. RODOLFO OMAR ARELLANO AGUILAR
Vocal: DRA. ALMA CONCEPCIÓN CHÁVEZ MEJÍA
Vocal: DRA. CLAUDIA ALEJANDRA PONCE DE LEÓN HILL
Secretario: DR. IVÁN MORENO ANDRADE

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

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 30 de noviembre de 2021

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos institucionales

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas-UNAM por brindarme la oportunidad de formarme en su programa de alto rendimiento, me siento muy honrada al finalizar mis estudios en un posgrado tan enriquecedor.

Agradezco los apoyos económicos que se me otorgaron para la realización de mis estudios. La beca de manutención otorgada por CONACYT con número 449352 y los apoyos PAEP que recibí para un curso y una visita de investigación en la Universidad de Washington y de Michigan respectivamente, así como un congreso internacional en Chile.

Agradezco profundamente a mi tutora principal, la Dra. Marisa Mazari Hiriart por su aprecio, confianza y por el apoyo que me ha brindado a lo largo de mi formación académica. Por sus aportes y comentarios en cada evaluación tutorial, por la formalidad para la revisión de los manuscritos y por ayudarme a ampliar mis vínculos académicos. Agradezco a los miembros de mi comité tutorial, al Dr. Iván Moreno Andrade porque siempre fue muy propositivo conmigo, agradezco su disposición y sus comentarios que ayudaron a mejorar la tesis enormemente. Al Dr. Gerardo Suzán Azpiri por su tiempo y apoyo durante cada semestre, por sus sugerencias tan asertivas e interesantes. Gracias a los tres por su amabilidad y por fortalecer mi crecimiento académico.

Agradecimientos a título personal

Agradezco a la UNAM, es un orgullo llevar los colores azul y oro en mi ser. Desde mi incorporación a la UNAM como alumna de bachillerato hasta este nivel ha sido un honor formar parte de esta máxima casa de estudios.

Agradezco a la institución en la que desarrollé mi tesis, el Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, la mejor oficina que cualquiera pudiera tener. A su vez, doy gracias al Instituto de Ecología por sus espacios tan confortables, por su personal tan atento y agradable, he disfrutado al máximo este gran lugar. Agradezco el financiamiento del proyecto CONACYT PDCPN2014-14-247779 “Prevalencia de enfermedades gastrointestinales y presencia de multidrogoresistencia en comunidades expuestas al reúso de agua residual en el Valle del Mezquital, Hidalgo”, gracias a los participantes de las diferentes instituciones.

A los miembros del examen de candidatura, la Dra. Rosa Elena Sarmiento Silva, el Dr. Carlos Díaz Ávalos, el Dr. Javier Carmona Jiménez y el Dr. Gerardo Suzán.

A los sinodales, la Dra. Alma Concepción Chávez Mejía, la Dra. Claudia Alejandra Ponce de León Hill, el Dr. Horacio Riojas Rodríguez, el Dr. Rodolfo Omar Arellano Aguilar y el Dr. Iván Moreno Andrade. Agradezco su retroalimentación, su tiempo, su disposición y su cortesía. Las aportaciones de cada uno fueron muy valiosas para que la tesis fuera más clara. Me siento muy satisfecha al coincidir con ustedes.

Agradezco a Marisa por su sencillez, por su apertura, por darme la oportunidad de crecer en el ámbito académico y personal. A la Dra. Ana Cecilia Espinosa García por sus consejos en el trabajo experimental y porque desde mis inicios ha sido una mentora más. Agradezco a la Quím. Blanca Estela Hernández Bautista por el apoyo técnico en el laboratorio y por ser tan atenta conmigo. A las tres les tengo mucho afecto y les debo tanto, propician un ambiente de trabajo muy agradable.

Agradezco a todas las personas que contribuyeron en el desarrollo de la tesis, en especial a Erick Hjort por su apoyo en campo, a Jennifer Islas por encabezar el análisis de protozoarios, a Caro Sánchez Badini por su apoyo al inicio del proyecto, a la M. en C. Leticia Martínez Romero por los controles positivos proporcionados, por el apoyo en la estandarización de la PCR multiplex y por la compañía emocional. A Manuel Mora por la detección de patotipos y por ser mi primer alumno oficial, fue una experiencia muy enriquecedora.

Agradezco a mi familia, mis papás, mis hermanos y sobrinos, valoro y admiro mucho el empeño que ponen a diario desde sus nichos. Gracias Carmina, Jahir y Ángel porque me toleran y me acompañan, porque de alguna manera siempre estamos juntos. Deseo que cosechen muchos éxitos y alegrías, que la vida les premie cada esfuerzo. No pueden faltar las mascotas de la casa, en particular Miausa que nos enseñó que la nobleza y la comprensión no se expresan con palabras, siempre te llevaré en mi corazón.

A Víctor Arguez por ser el soporte más importante en mi vida, por tantos años compartidos, por cada una de las etapas y las experiencias, por su presencia y su amor único, por su apoyo total y por la complicidad ¡Gracias por tanto!

Agradezco a Pável, Rubén, José, Oso, Sacbel, Martha, Paulina, Alejandro y Nadia, los considero mi familia. Gracias por la amistad, sé que cuento con ustedes en las buenas y en las malas. Víctor te agradezco nuevamente porque ante todo eres y serás mi mejor amigo.

¡Los quiero mucho a todos!

A Miguel y Toño, quienes fueron fundamentales en esta tesis, sin ellos nada de esto se hubiera conseguido, quiero agradecer por la amistad, los momentos y las risas, además de su apoyo incondicional en campo y en el laboratorio.

A mis amigas del laboratorio Jannice, Bertha y Abi, gracias por la vida social, el apoyo emocional y por cada instante. A Hugo que se fue sumando a mi lista de amigos, a Shiara, Omar, Chucho, Paty y Steph porque nos seguimos divirtiendo a pesar de los caminos de cada uno.

Agradezco a mis compañeros del montañismo con quienes ha sido un placer coincidir y compartir esa pasión y aquellas experiencias que son irrepetibles e indescriptibles. Doy gracias a aquellas personas que han formado parte de mi historia y que por diferentes razones nos hemos distanciado.

Gracias a todos, esto es como un rompecabezas y cada pieza es fundamental para continuar. No importa si llegamos a la cima, cada paso es una razón para seguir y disfrutar la vida.

**"Cerrar los ojos a la naturaleza solo nos
hace ciegos en un paraíso de tontos."**

Jacques Cousteau

Índice

Resumen	1
Abstract.....	3
1. Introducción	5
1.1. Situación del agua.....	5
1.2. Agua y salud	6
1.2.1. Contaminantes biológicos.....	7
1.2.2. Resistencia a antibióticos.....	10
1.3. Calidad del agua y monitoreo	11
1.4. Análisis de riesgo.....	14
1.5. Agua residual del Valle de México	15
1.6. Antecedentes.....	16
1.7. Diseño experimental	18
2. Objetivos.....	19
3. Hipótesis y predicción generales	20
4. Estructura de la tesis	21
5. Metodología general	23
6. Calidad del agua en hogares del Valle del Mezquital, México, zona irrigada con agua residual.	34

7. Resistencia a antibióticos de <i>Escherichia coli</i> presente en agua del Valle del Mezquital, México.	48
8. Proyección de riesgo asociados con contaminación de patógenos en agua de uso doméstico e irrigación del Valle del Mezquital, una zona de reúso de agua en México Central.	70
9. Discusión general.....	102
10. Conclusiones.....	116
11. Recomendaciones	118

Resumen

La presencia de agentes biológicos en el agua desencadena problemáticas como la transmisión de enfermedades y la propagación de la resistencia a antibióticos. En el monitoreo del agua no se considera a los patógenos causantes de estas situaciones, ni se estima el riesgo asociado. Solo se basa en la medición de bacterias indicadoras de contaminación fecal, las cuales no siempre se correlacionan con patógenos. Esta tesis forma parte de un proyecto que se desarrolló en el Valle del Mezquital, Hidalgo. La incidencia de diarrea en niños menores de cinco años, la presencia de bacterias multirresistentes y patógenos en heces, suelo y agua fueron determinados. El Valle del Mezquital es un sistema degradado por el agua residual sin tratar que recibe de la Ciudad de México y que es reutilizada para el riego agrícola desde hace un siglo. Particularmente, el agua residual se ha infiltrado al acuífero y ha permitido el abastecimiento de agua para los habitantes de la zona. En diversos estudios se ha determinado la calidad del agua del Valle del Mezquital, pero la medición de microorganismos no se ha realizado en el punto de uso y la estimación de los riesgos que esto implica son escasos. Debido a que las evaluaciones de riesgo son limitadas, la identificación de peligros microbiológicos es una contribución fundamental. Esta investigación responde si el agua de tomas domiciliarias del Valle del Mezquital presenta contaminación fecal, así como bacterias resistentes a antibióticos, y a su vez, qué riesgo representa el uso del agua por actividades domésticas y por el riego. Para ello, se realizaron cuatro muestreos entre mayo de 2015 y diciembre de 2017 en tres áreas agrícolas, Tula y Tlahuelilpan en donde se riega con agua residual y Tecozautla regada con agua subterránea. Se recolectó un total de 109 muestras de agua de tomas domiciliarias, 19 muestras de agua residual para riego en Tula y Tlahuelilpan, y 14 de agua subterránea para riego en Tecozautla. Se enumeraron tres bacterias indicadoras de contaminación fecal, incluida *Escherichia coli* mediante el método de filtración a través de

membrana y se determinó su perfil de resistencia por MicroScan. Además, se estimó la probabilidad de infección de *E. coli* patógena, enterovirus, norovirus, *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* mediante una evaluación de riesgo (*Quantitative Microbial Risk Assessment*, QMRA por sus siglas en inglés). La densidad bacteriana fue similar en el agua de tomas domiciliarias de Tlahuelilpan y de Tecozautla (2.4 UFC/100 mL, $p=0.99$), en donde se riega con agua residual y con agua subterránea respectivamente. En las tres áreas se observó que el almacenamiento del agua y la falta de cloración favorecen la presencia de bacterias indicadoras ($p<0.05$). La densidad bacteriana en el agua residual fue del orden de 10^6 UFC/100 mL, en contraste, la detección fue casi nula en agua subterránea. *E. coli* presentó resistencia a 14 antibióticos de amplio espectro y un patrón de resistencia similar se observó entre el agua residual y el agua de tomas domiciliarias ($p>0.05$). Respecto al riesgo, para el agua de tomas domiciliarias, la cual es una fuente de agua para uso y consumo humano, se calcularon probabilidades anuales de contraer alguna infección gastrointestinal por alguno de los tres grupos de patógenos del 50%. Para el agua residual, la probabilidad calculada fue casi 100%. El riesgo anual asociado al riego con agua subterránea fue de 57% para los virus. Los resultados se compararon con las normas oficiales mexicanas: NOM-127-SSA1-1994 y NOM-001-SEMARNAT-1996, que establecen los límites permisibles para agua de uso humano y aguas residuales respectivamente. La mayoría de las bacterias indicadoras estuvieron por encima de lo permitido (ausencia y 10^3 UFC/100mL respectivamente). En cuanto a riesgo se refiere, se sobrepasa la recomendación de 10^{-4} de USEPA, que equivale a 1 infección por cada 10,000 personas por año. Puesto que la mayoría de las mediciones exceden los criterios aceptables se requiere mejorar la calidad del agua mediante la desinfección, las condiciones de higiene, así como procurar un servicio de abastecimiento de agua constante para evitar o disminuir las infecciones gastrointestinales.

Abstract

The presence of biological agents in water causes problems like the transmission of diseases or the antibiotic resistance spread. Water monitoring does not consider the responsible pathogens for these situations or estimate the associated risk; instead, it is based on the measure of fecal indicator bacteria (FIB), which do not always correlate with pathogens. This work belongs to a project developed in the Mezquital Valley, Hidalgo, in which, the diarrhea incidence in children below five, the presence of multi-resistant bacteria and pathogens were determined in feces, soil and water. The Mezquital Valley is an impaired system due to wastewater that receives from Mexico City Metropolitan Area and has been reused for agricultural irrigation for more than a century. Particularly, wastewater has infiltrated to aquifer and has allowed the water supply to the inhabitants. In several studies the water quality in the Mezquital Valley have been determined, but no measure in the point of use and the risks associated are scarce. Because the risk assessments are limited, the identification of microbiological hazards is fundamental. In this thesis it was investigated if the household water presents fecal contamination, if the bacteria present antibiotic resistance, and which is the risk for the use of water in domestic and irrigation practices. Four sampling campaigns were performed between May 2015 and December 2017 in three agricultural areas, Tula, Tlahuelilpan, where irrigation is performed with wastewater and Tecozautla irrigated with groundwater. In the three areas, 109 household samples were collected, 19 wastewater-irrigation samples in Tula and Tlahuelilpan and 14 groundwater-irrigation samples in Tecozautla. Through the membrane filtration method, three FIB were enumerated, including *Escherichia coli*, and their resistance profile was determined by MicroScan. Additionally, the infection probability of *E. coli* pathogenic, enterovirus, norovirus, *Cryptosporidium parvum*, and *Giardia lamblia* was estimated by a Quantitative Microbial Risk Assessment (QMRA).

The bacterial density was similar in household water from Tlahuelilpan and Tecozautla (2.4 UFC/100 mL, $p=0.99$) where it is irrigated with wastewater and groundwater respectively. In the three areas it was observed that the water storage and lack of chlorination favor the FIB presence ($p<0.05$). The bacterial density was 10^6 UFC/100 mL in wastewater, confirming the high levels. In contrast, in groundwater, the detection was almost null. *E. coli* presented resistance to 14 extended-spectrum antibiotics. A similar resistance pattern was observed in wastewater and household water ($p> 0.05$). Regarding the risk, for household water, a source of water for human use and consumption, annual probabilities of 50% were calculated. For wastewater, the probability of acquiring an infection was almost 100% by any of the three groups of pathogens. The annual risk associated with groundwater irrigation was 57% for viruses. The results were compared with the Official Mexican Standards: NOM-127-SSA1-1994 and NOM-001-SEMARNAT-1996, which establish the permissible limits for drinking water and wastewater, respectively. Most FIB were above allowed (absence and 10^3 CFU/100mL, respectively). Regarding risk, the cases were above the recommendation of 10^{-4} of USEPA, which is equivalent to 1 infection per 10,000 people per year. Since, acceptable criteria are exceeded, it is necessary to improve water quality through disinfection and hygiene conditions, as well as to ensure a constant water supply service to avoid or reduce gastrointestinal infections.

1. Introducción

1.1. Situación del agua

El crecimiento demográfico y la urbanización han modificado los paisajes naturales como los cuerpos de agua, promoviendo su degradación y alterando su ciclo. La mala calidad del agua y su reducida disponibilidad son consecuencias inminentes del deterioro de los sistemas acuáticos (Peña-Guzmán et al., 2019). Incluso el ciclo del agua se convertido en un ciclo urbano que asocia los procesos del agua con las actividades humanas (Marsalek et al., 2006).

A pesar de ser clasificado como renovable, el agua es uno de los recursos más escasos del siglo XXI; a nivel mundial el 20% de los acuíferos se encuentra sobreexplotado y durante el último siglo, la demanda de agua crece dos veces más rápido que la tasa de incremento poblacional (Dhote et al., 2012; Gleeson et al., 2012; FAO, 2012). De esta manera, la cantidad de agua empleada en actividades humanas incrementa 1% cada año (UNESCO y UN-Water, 2020).

Actualmente 2,200 millones de personas carecen de agua y 4,200 millones no cuentan con servicios de saneamiento seguros (UNESCO y UN-Water, 2020). Para el año 2050 la población humana alcanzará los 9,800 millones de habitantes, con el 66% viviendo en áreas urbanas y el 52% bajo estrés hídrico (Jensen y Wu, 2018; UNESCO y UN-Water, 2020). Lo anterior representa un desafío en términos de distribución de agua e infraestructura, principalmente para los países en desarrollo y megaciudades como la Ciudad de México (Dhote et al., 2012). Por esta razón, el suministro de agua segura y mejorar el saneamiento es parte de los 17 Objetivos del Desarrollo Sostenible, los cuales son planteados para la Agenda 2030 (UNESCO y UN-Water, 2020).

1.2. Agua y salud

El agua puede contener una amplia variedad de compuestos y en particular el agua residual representa una mezcla compleja de contaminantes de tipo físico, químico y biológico (Qu, 2019). En términos de salud, las características físicas como el color, la turbiedad, la temperatura, los sólidos suspendidos y las sustancias activas al azul de metileno no resultan ser tan relevantes, pero alteran la apariencia del agua y la vida acuática. Por otro lado, los compuestos químicos son reconocidos por su toxicidad y por los efectos potenciales a la salud que pueden ser a largo plazo. Estos contaminantes suelen ser de tipo inorgánico como los metales pesados u orgánico como los fenoles, productos del petróleo o plaguicidas (Englande et al., 2015). Por su parte, se consideran contaminantes biológicos a los microorganismos presentes en el agua causantes de enfermedades gastrointestinales principalmente (Qu, 2019).

Otros compuestos orgánicos considerados recientemente y que se encuentran ampliamente distribuidos en el ciclo urbano del agua son aquellos que se utilizan diariamente como los productos de higiene personal, disruptores endocrinos, hormonas, fármacos, entre otros (Pal et al., 2014). Éstos son conocidos como contaminantes emergentes (Peña-Guzmán et al., 2019). En estudios recientes se indica que los disruptores endocrinos afectan el desarrollo de especies acuáticas (Arlos et al., 2018; Alves da Silva et al., 2018), mientras que el uso de productos farmacéuticos ha propiciado la resistencia a antibióticos y la descarga de microorganismos resistentes al ambiente (Peña-Guzmán et al., 2019).

1.2.1. Contaminantes biológicos

Este trabajo está enfocado al estudio de agentes biológicos en el agua, los cuales han tenido impactos en la salud pública desde tiempos remotos. De acuerdo con Colwell (1996) se tiene registro de infecciones semejantes al cólera desde los años 500-400 a.C. En países como Estados Unidos las enfermedades transmitidas por agua fueron reportadas antes de 1920 (CDC, 2019a). Tan solo entre 1971 y 2008 se registraron 953 brotes asociados con agua contaminada (Craun et al., 2012). Uno de los más importantes, ocurrido en Milwaukee, Wisconsin dejó 400,000 casos de criptosporidiosis en 1993 debido a la filtración inadecuada del agua suministrada a la población (Mac Kenzie et al., 1994). Actualmente, los brotes de enfermedades gastrointestinales son menos frecuentes en países desarrollados debido al mejoramiento en infraestructura, saneamiento e higiene (Craun et al., 1992); sin embargo, no ocurre lo mismo en los países en desarrollo considerados como economías emergentes.

Las enfermedades gastrointestinales ocasionan diarrea, náuseas, vómito, fiebre y dolor abdominal, y afectan principalmente a menores de 5 años, viajeros, personas de la tercera edad y personas inmunodeprimidas (Pandey et al., 2014; Forstinus et al., 2016). Estas infecciones son transmitidas por la ruta fecal-oral, en la que ocurre la ingestión de agua o alimentos que contienen heces de humanos y de otros animales (Forstinus et al., 2016). En la materia fecal se pueden detectar niveles de hasta 10^{10} patógenos entéricos por cada gramo de heces, los cuales pertenecen a cuatro grupos: virus, bacterias, protozoarios y helmintos (Saxena et al., 2015). La gama de enfermedades gastrointestinales que causan se enlista en la Tabla 1, entre las más comunes se encuentran la diarrea, cólera, disentería (diarrea sanguinolenta), salmonelosis, tifoidea, giardiasis, hepatitis y poliomielitis (parálisis y meningitis). Cabe destacar que ésta última se declaró erradicada en el 99% del mundo por la OMS en 2019.

Tabla 1. Patógenos transmitidos por agua y sus afectaciones en países considerados economías emergentes (Adaptado de Ashbolt, 2004 y Saxena et al., 2015).

Grupo	Patógeno	Infección
Virus	Norovirus	Diarrea, vómito, fiebre
	Rotavirus	Diarrea, vómito
	Hepatitis A	Hepatitis (afectación del hígado)
	Hepatitis E	Hepatitis
	Enterovirus	Meningitis, miocarditis, diarrea, fiebre, enfermedad respiratoria
	Adenovirus	Enfermedad respiratoria, conjuntivitis, gastroenteritis
Bacterias	<i>Escherichia coli</i> patógena	Diarrea
	<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
	<i>Shigella</i> spp.	Disentería bacilar (shigelosis)
	<i>Salmonella</i> spp.	Tifoidea, paratifoidea, salmonelosis
	<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis
Protozoarios	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiosis (diarrea)
	<i>Giardia lamblia</i>	Giardiasis (diarrea)
	<i>Entamoeba histolytica</i>	Disentería amebiana (amebiasis)
Helmintos	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascariasis

En términos generales, los virus son los patógenos de menor tamaño (0.02-0.75 μm) y están compuestos de material genético y proteínas. Algunos pueden presentar una envoltura lipídica y todos requieren de una célula hospedera para su replicación. Las bacterias miden de 1 a 5 μm , son microorganismos unicelulares y en ocasiones pueden replicarse fuera de un huésped bajo condiciones favorables (Mraz et al., 2021). Los protozoarios también son microorganismos unicelulares, pero de mayor tamaño (10-55 μm), con estructura y ciclos de vida complejos, presentan quistes o estructuras de resistencia (Yaeger, 1996). Finalmente, los helmintos son organismos multicelulares referidos como gusanos intestinales, su transmisión está más asociada al contacto con suelo que contiene heces. Sus ciclos de vida comprenden huevos, larvas y estado adulto, sus tamaños varían entre 15 y 35 cm (Forstinus et al., 2016; Mraz et al., 2021).

Cada patógeno presenta características que definen su persistencia en el ambiente, así como su resistencia a los tratamientos a los que se somete el agua. Por ejemplo, la cloración es el método más común para la desinfección del agua debido a su bajo costo; sin embargo, los virus y los protozoarios son más tolerantes que las bacterias a este método. Resulta más eficiente la desinfección con luz ultravioleta para la eliminación de quistes y partículas virales, e incluso entre los virus se presenta una diferencia, siendo adenovirus uno de los más resistentes a la luz UV (Ashbolt, 2004).

1.2.2. Resistencia a antibióticos

Dado que las infecciones que causan las bacterias resistentes a antibióticos se asocian con una mayor morbilidad y mortalidad, así como estancias más largas en los hospitales, la resistencia a antibióticos es una preocupación a nivel mundial (Cosgrove, 2006). Los antibióticos, los genes de resistencia y las bacterias resistentes, son considerados contaminantes emergentes. Su diseminación en el ambiente ocurre por diferentes medios, uno ampliamente reconocido es a través del agua residual (Sanganyado y Gwenzi, 2019).

Las aguas residuales sin tratamiento tienen efectos negativos en los ecosistemas y en las poblaciones humanas. Las Plantas de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) disminuyen dichos riesgos; sin embargo, se han reconocido como sitios en los que se desarrolla la resistencia (Hong et al., 2018). Esto ocurre por la interacción entre las diferentes especies bacterianas presentes en el agua residual y los residuos de antibióticos no metabolizados en concentraciones no letales que se eliminan en la orina y las heces (Adesoji et al., 2017). Por ello, surge la necesidad de mejorar o desarrollar nuevas tecnologías con la capacidad para remover estos contaminantes emergentes (Hong et al., 2018).

La resistencia a antibióticos ha sido estudiada en las bacterias que son comúnmente utilizadas en el monitoreo de la calidad del agua (Berendonk et al., 2015); por ejemplo, en *Escherichia coli*, una bacteria gram-negativa que se encuentra de forma natural en el tracto intestinal de animales y al mismo tiempo posee diferentes formas patógenas. En estudios previos ha sido sumamente útil como indicador de la resistencia (Sayah et al., 2005; Kappell et al., 2015; Larson et al., 2019). Por su parte, Tadesse et al. (2012) demostró que *E. coli* es resistente a ampicilina, estreptomicina, tetraciclina, fluoroquinonas y a cefalosporinas.

Existe un incremento de bacterias gram-negativas que han desarrollado resistencia a estos compuestos, ya que son de amplio espectro o de espectro extendido, es decir que son comúnmente utilizados en el tratamiento para combatir infecciones (Shaikh et al., 2015).

El mecanismo que les confiere la habilidad de desarrollar resistencia es la producción de enzimas beta-lactamasas que actúan sobre los antibióticos que pertenecen a los grupos de las penicilinas y cefalosporinas, haciéndolos ineficaces (Paterson y Bonomo 2005). De esta forma, las bacterias productoras de beta-lactamasas son reconocidas como amenazas y representan un tema de interés a nivel mundial (CDC, 2019b).

1.3. Calidad del agua y monitoreo

El reúso del agua residual en la agricultura tiene sus orígenes en la civilización griega desde hace 5,000 años atrás, pero fue durante el siglo XX cuando se reconoció el potencial del agua residual para el riego (Angelakis y Zheng, 2015). Los estados de Arizona, California, Colorado y Florida de Estados Unidos e Israel fueron pioneros en el desarrollo de regulaciones y de sistemas de reúso de aguas residuales durante 1920 y 1970 (Asano y Levine, 1996). En la regulación actual se consideran diferentes criterios que al ser cumplidos propician el reúso de agua de manera segura, pues se protegen tanto la salud pública como la ambiental.

En cuestiones microbiológicas, las regulaciones se basan en el uso de indicadores de contaminación fecal, los cuales permiten el monitoreo de la calidad del agua de manera rápida, fácil y barata, ya que sugieren la presencia de patógenos potenciales. Los microorganismos que se miden comúnmente son bacterias coliformes como *E. coli* (De Gisi et al., 2017).

De acuerdo con Wen et al. (2020), un organismo indicador debe reunir las siguientes características:

- i) Estar presente en el cuerpo de agua de interés.
- ii) Ser descargado en altas concentraciones a través de las heces de humanos y/o de otros animales.
- iii) No crecer en el ambiente, ni en sistemas de distribución de agua.

- iv) Detección más fácil que la de los agentes patógenos a través de métodos sencillos.
- v) Que sus niveles de remoción en los tratamientos de agua sean comparables con la remoción de los patógenos.

Cabe destacar que el crecimiento de bacterias indicadoras de contaminación fecal en ambientes naturales ha sido reportado (Teixeira et al., 2020) y se ha demostrado la ausencia de correlación con agentes patógenos (Zhang et al., 2016). Por lo tanto, ninguna de las bacterias utilizadas hoy en día cumple con todos los requisitos de un buen indicador (Wen et al., 2020).

En un estudio reciente se comparó la regulación mundial en materia de agua residual para el riego agrícola y se confirma que las bacterias son los indicadores microbiológicos mayormente utilizados. A pesar de las deficiencias de las bacterias indicadoras, los virus y protozoarios están poco representados en la regulación mundial (Shoushtarian y Negahban-Azar, 2020; Tabla 2). A nivel nacional solo existen dos Normas Oficiales Mexicanas (NOM) vigentes que consideran la calidad microbiológica del agua para el riego: la NOM-001-SEMARNAT-2021 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, y la NOM-003-SEMARNAT-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público.

Ambas consideran a las bacterias coliformes como indicadores microbiológicos y la segunda incluye a huevos de helmintos. Ésta norma hace énfasis en el contacto directo e indirecto, el primero, incluye el llenado de lagos y canales en los que se realizan actividades deportivas o recreativas, llenado de fuentes de ornato, riego de parques y jardines; mientras que el contacto indirecto considera el riego de camellones, campos de golf e hidrantes contra incendios (DOF, 2021; DOF, 1998; Tabla 2).

Tabla 2. Indicadores microbiológicos utilizados a nivel internacional y nacional en el monitoreo del agua residual destinada para el riego agrícola.

Indicador (Unidad)	Máximo permisible	NOM-001	NOM-003
Bacterias (UFC/100mL)			
Coliformes totales	23	-	-
Coliformes termo-tolerantes	10	-	-
Coliformes fecales	14	1000	240 ^a 1000 ^b
<i>Escherichia coli</i>	1	-	-
Enterococos fecales	17	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	1	-	-
<hr/>			
Nematodos intestinales	1	-	1 ^a
(huevos/L)			5 ^b
<hr/>			
Virus (UFP/mL)			
Colifagos	1	-	-
Bacteriófagos F-RNA	1	-	-

Máximo permisible internacional de acuerdo con información obtenida de Shoushtarian y Negahban-Azar, 2020; ^a Contacto directo; ^b Contacto indirecto; UFC: Unidades Formadoras de Colonia; UFP: Unidades Formadoras de Placa.

1.4. Análisis de riesgo

Los agentes patógenos son liberados al agua residual sin tratar a través de heces y orina, por tanto, esta matriz es una vía importante en la transmisión de patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales (Leonel y Tonetti, 2021). Su remoción incompleta a través de los sistemas de tratamiento del agua, la falta de infraestructura, saneamiento e higiene en diferentes regiones del mundo contribuyen a que más de medio millón de los casos de diarrea resulten fatales (Fenwick, 2006). De acuerdo con Benedict et al. (2017) en Estados Unidos entre 2013 y 2014 los casos de gastroenteritis asociados con agua fueron ocasionados en un 5% por diferentes bacterias, 7% por virus, el 13% por la bacteria *Legionella* y 29% por protozoarios. Adicionalmente, en un estudio reciente se reportó que *Campylobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli* patógena, hepatitis A, norovirus, rotavirus, enterovirus y los protozoarios *G. lamblia* y *C. parvum* son los principales agentes responsables de brotes globales entre 1948 y 2015 (Murphy et al., 2017).

Derivado de los impactos negativos que el agua puede tener en la salud pública se han implementado herramientas que permiten conocer el riesgo por la exposición a agentes patógenos presentes en el agua. La Evaluación Cuantitativa de Riesgo Microbiológico (*Quantitative Microbial Risk Assessment*, QMRA por sus siglas en inglés) ha sido utilizada en diferentes estudios. A través de este método se identifican primordialmente amenazas o peligros microbiológicos, cuantificando diversos patógenos en agua. Con base en la concentración en la que se encuentran los patógenos identificados, en la cantidad de agua ingerida y en las posibles rutas de exposición, se calcula la probabilidad de contraer una infección por los patógenos de interés (Hong et al., 2018).

1.5. Agua residual del Valle de México

A pesar del potencial que posee el agua residual, el reúso no se planea adecuadamente en todas las naciones (Foster y Chilton, 2004). Incluso en muchas partes del mundo el agua residual no se trata antes verterla al ambiente, ni antes de reutilizarla en el riego agrícola (UNESCO, 2017). Después de China, México es el segundo país en el que se reutiliza más agua residual cruda para la agricultura (Jiménez, 2006). México se caracteriza por tratar de manera poco eficiente sus aguas residuales, en el 2017 sólo se trató el 63% (CONAGUA, 2018) y en la Agenda Ambiental 2018 de la UNAM se argumenta que a nivel nacional más del 50% de las Plantas de Tratamiento de Agua Residual operan inadecuadamente.

Particularmente, en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) sólo se trata el 13% del agua residual generada, la cual es aprovechada para el riego agrícola o en el riego de jardines o parques, así como para la recarga de lagos y canales artificiales (Burns, 2009). El agua que no se trata se envía hacia el norte, al Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo (Lesser-Carrillo et al., 2011). Actualmente, se pretende que el 60% del agua residual proveniente de la ZMCM (23,000 L/s) se trate en la Planta de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) más grande de Latinoamérica, la PTAR de Atotonilco de Tula. En 2010, la planta comenzó a construirse e inició operaciones con más de tres años de retraso a finales del año 2017 (Chamizo-Checa et al., 2020).

El agua residual sin tratamiento que llega al Valle del Mezquital se aprovecha para el riego de cultivos y es enviada a los campos agrícolas a través de 850 km de canales principales y secundarios (Lesser et al., 2018). De acuerdo con Lesser-Carrillo et al. (2011), el 81% corresponde a canales no revestidos, propiciando una recarga incidental del agua residual hacia el acuífero. En el riego por inundación, el cual es el modo de irrigación, el agua residual entra a los campos de cultivo mediante compuertas manuales y a medida que el agua ingresa, se forman láminas de riego de 1.5-2 m/ha/año (Jiménez y Chávez, 2004).

En este método se añade más agua de la que realmente necesitan los cultivos y usualmente la infiltración ocurre a través del suelo (Siebe, 2018). De esta forma, la tasa de infiltración del acuífero ha ido en ascenso desde que empezó a recibir agua en 1912. A la fecha se estima que la tasa ha aumentado 13 veces (Jiménez y Chávez, 2004; Chávez et al., 2011).

El Valle del Mezquital abarca aproximadamente 90,000 hectáreas, tomando en cuenta dicha extensión, es considerada el área más grande del mundo regada con agua residual. El clima es semiárido y debido a esta condición desértica el suministro de agua residual es un recurso importante pues provee nutrientes, aumenta la productividad y reduce la inversión en fertilizantes y en agua de primer uso para el riego (De Gisi et al., 2017). En el Valle del Mezquital se producen principalmente maíz, alfalfa y forrajes (Chávez et al., 2011). En el área está prohibido el cultivo de alimentos que se consumen crudos, pero a pesar de las restricciones se produce lechuga, espinaca y cilantro (Durán-Álvarez et al., 2021).

1.6. Antecedentes

El Valle del Mezquital es un sistema agrícola en el que se han realizado extensas investigaciones, enseguida se hace referencia a los estudios de los últimos años enfocados a la contaminación microbiológica del agua. Espinosa-Ortiz (2009) detectó indicadores de virus, bacterias, protozoarios y helmintos en pozos, manantiales y norias, fuentes de abastecimiento del Valle del Mezquital. Las dos últimos con mayor proporción de microorganismos; por lo que la autora sugiere que los cuerpos de agua superficiales tienen mayor aporte del agua residual a diferencia del agua subterránea. Chávez et al. (2011) también determinó los cuatro grupos de patógenos en agua residual y fuentes de abastecimiento del Valle, el mismo patrón anterior fue observado. Fonseca-Salazar et al. (2016) realizó un seguimiento del agua de hospitales desde la Ciudad de México hacia el Valle del Mezquital, tanto en agua residual como en agua de pozos se determinó la presencia de bacterias indicadoras, *Pseudomonas aeruginosa*

y quistes de *C. parvum* y *G. lamblia*, pero en mayor proporción en agua residual. En el estudio de Contreras et al. (2017) se reportan bacterias indicadoras, bacterias resistentes a antibióticos y quistes de protozoarios en agua residual, agua subterránea y en agua de tomas domiciliarias.

Respecto al riesgo, se ha determinado que la prevalencia de giardiasis es de 11 y 8% para los agricultores que realizan el riego con agua tratada y agua de lluvia respectivamente (Cifuentes et al., 2000). Blumenthal y colaboradores (2001) estimaron que los niños del Valle del Mezquital tienen mayor riesgo de contraer ascariasis que aquellos que viven en zonas agrícolas no regadas con aguas residuales. Asimismo, Contreras et al. (2017) determinó que la incidencia de enfermedades gastrointestinales diarreicas es 5% mayor respecto a zonas que son regadas con agua o subterránea. Por estas evidencias se considera al Valle del Mezquital una zona de riesgo a la salud pública.

En resumen, los estudios citados han permitido conocer el estado microbiológico de las fuentes de abastecimiento y de las aguas residuales, así como los efectos que han tenido las prácticas agrícolas en la zona. En esta tesis se propone la evaluación del agua que es suministrada a la población del Valle del Mezquital ante dos escenarios de riego: utilizando agua residual y agua subterránea. El agua para uso y consumo puede ser una vía de transmisión de microorganismos, por lo que la detección de posibles amenazas y riesgos en la comunidad es una contribución importante en el área del monitoreo ambiental.

1.7. Diseño experimental

En esta investigación se consideran los posibles efectos del riego sobre la calidad del agua para uso y consumo humano en el Valle del Mezquital, Hidalgo. El estudio inició en el año de 2015 y concluyó en 2017, estuvo financiado por el proyecto “Prevalencia de enfermedades gastrointestinales y presencia de multidrogoresistencia en comunidades expuestas al reúso de agua residual en el Valle del Mezquital, Hidalgo” con clave PDCPN2014-14-247779, del cual forma parte. En este gran proyecto se estudió la incidencia de diarrea en niños menores de cinco años y la presencia de bacterias multirresistentes, así como patógenos en heces, suelo y agua del Valle del Mezquital. El diseño de muestreo se basó en el inicio de operaciones de la PTAR de Atotonilco de Tula, pretendiendo comparar los parámetros mencionados antes y después de la operación de la PTAR. La planta no operó hasta finales de 2017, justo cuando el trabajo de campo había finalizado, por tal razón no se presenta tal comparación.

El trabajo de campo se realizó en tres áreas agrícolas, Tula y Tlahuelilpan, regadas con agua residual, y como punto de comparación, Tecozautla regada con agua subterránea, localizada 70 km al norte de las dos primeras. En principio Tula se riega con agua proveniente del efluente de la PTAR; sin embargo, no contamos con muestras de la transición. El agua residual que se envía al Valle del Mezquital ha recargado los acuíferos e incluso han surgido manantiales que son utilizados como fuentes de abastecimiento. De esta forma, este trabajo se enfocó en comparar la calidad del agua que se recibe en domicilios de las tres zonas mencionadas, así como en la calidad del agua para riego, tanto residual como subterránea.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

2.1.1 Evaluar la calidad del agua de tomas domiciliarias y del agua para riego (residual y subterránea) de tres comunidades agrícolas del Valle del Mezquital; a través de la detección de bacterias indicadoras y de agentes patógenos para establecer posibles efectos del riego con aguas residuales en la salud pública local.

2.2. Objetivos particulares

2.2.1. Cuantificar bacterias indicadoras de contaminación fecal (coliformes, enterococos fecales y *Escherichia coli*) en el agua de tomas domiciliarias y en el agua para riego mediante filtración a través de membrana, con el fin de comparar la densidad bacteriana entre áreas y determinar si el agua suministrada en el Valle del Mezquital está contaminada.

2.2.2. Establecer el perfil de resistencia de *E. coli* productora de beta-lactamasas en los diferentes tipos de agua mediante el uso de paneles comerciales, para determinar la circulación de bacterias resistentes en el ambiente.

2.2.3. Cuantificar la probabilidad de infección de *E. coli* patógena, virus y protozoarios presentes en el agua bajo el enfoque QMRA, para conocer los riesgos a los que se enfrentan los habitantes del Valle del Mezquital cuando practican actividades agrícolas y domésticas.

3. Hipótesis y predicción generales

3.1. La calidad microbiológica del agua de tomas domiciliarias está mayormente afectada en las áreas de Tula y Tlahuelilpan ya que son áreas regadas con agua residual.

3.2. Se esperan niveles inferiores de bacterias indicadoras y resistentes, así como menores riesgos asociados por la presencia de patógenos en el agua de tomas domiciliarias y en el agua para riego de Tecozautla, dado que el riego se realiza con agua subterránea.

4. Estructura de la tesis

La tesis está organizada en capítulos estructurados en forma de artículos en los que se desarrollan cada uno de los objetivos particulares y sus resultados correspondientes. Cabe aclarar que los datos de esta investigación se generaron antes de la operación de la Planta de Tratamiento de Atotonilco de Tula por lo que, puede ser considerada como un estudio basal y como punto de comparación de la calidad del agua que circula en el Valle del Mezquital.

En el primer artículo se presenta la contaminación por bacterias fecales en el agua de tomas domiciliarias. Se investigó si Tula, Tlahuelilpan y Tecozautla, áreas agrícolas bajo estudio reciben agua de diferente calidad, de acuerdo con el tipo de agua utilizada para el riego. Se trabajó bajo la hipótesis de que el agua residual infiltrada en el acuífero del Valle del Mezquital ha contaminado las fuentes de abastecimiento y en consecuencia sus habitantes reciben agua de dudosa calidad. Se esperaba la ausencia o en su defecto, conteos menores de bacterias indicadoras de contaminación fecal en el agua de Tecozautla, la cual es regada con agua subterránea.

En el segundo capítulo se trabajó con la resistencia a antibióticos bajo la pregunta si las *E. coli* presentes en el agua son productoras de beta-lactamasas, por lo tanto, resistentes a antibióticos de espectro extendido. Se ha reportado que en el agua residual se propagan los genes y las bacterias resistentes, de esta forma, se trabajó bajo la premisa de que en el agua residual del Valle del Mezquital las *E. coli* son resistentes a más de grupo de antibióticos y que su perfil de resistencia es similar en el agua domiciliaria. De manera similar a la primera predicción se esperaba un menor número de *E. coli* resistentes en el agua de tomas domiciliarias de Tecozautla, así como en el agua subterránea destinada para el riego.

Aunado a la contaminación fecal y a la presencia de bacterias resistentes, se cuantificaron patógenos en los diferentes tipos de agua, debido a que las bacterias indicadoras no necesariamente indican su presencia. En el tercer y último artículo se estimó el riesgo que representan las *E. coli* patógenas, enterovirus, norovirus, *C. parvum* y *G. lambia* para los individuos que están en contacto con el agua a través de actividades domésticas y por el riego agrícola. La hipótesis que se planteó fue un mayor riesgo para las personas que trabajan en la agricultura dado que utilizan agua residual para el riego, seguido por las actividades domésticas ubicadas en las cercanías de las áreas regadas con agua residual.

Finalmente, se presenta una discusión general y las consideraciones finales derivadas de los tres capítulos anteriormente descritos.

5. Metodología general

Para la obtención de los resultados de cada uno de los capítulos se llevaron a cabo los métodos que se enlistan a continuación:

Artículo 1: La enumeración de bacterias indicadoras se realizó con el procedimiento estándar de filtración a través de membrana (APHA, 2005). Además, se aislaron colonias de *E. coli* que posteriormente fueron confirmadas por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (*Polimerase Chain Reaction*, PCR por sus siglas en inglés).

Artículo 2: Primero se utilizó filtración a través de membrana para enumerar *E. coli* productoras de beta-lactamasas, seguido del aislamiento de colonias para la determinación del perfil de resistencia a antibióticos e identificación mediante paneles comerciales de MicroScan.

Artículo 3: Se determinó la presencia y ausencia de cuatro patotipos de *E. coli* por PCR multiplex. Por su parte, la cuantificación de genomas virales se llevó a cabo mediante RT-qPCR; y el conteo de quistes de protozoarios entéricos se realizó a través de microscopia de inmunofluorescencia.

Bibliografía

- Adesoji, T. O., Egyir, B., & Shittu, A. O. (2020). Antibiotic-resistant staphylococci from the wastewater treatment plant and grey-water samples in Obafemi Awolowo University, Ile-Ife, Nigeria. *Journal of Water and Health*, 1–11. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.119>
- Agenda Ambiental 2018 Diagnóstico y propuestas (2018). L. M. Pérez & A. V. Montes (eds.). Seminario Universitario en Sociedad Medio Ambiente e Instituciones.
- Alves da Silva, A. P., de Oliveira, C. D. L., Siqueira Quirino, A. M., da Silva, F. D. M., de Aquino Saraiva, R., & Silva-Cavalcanti, J. S. (2018). Endocrine disruptors in aquatic environment: Effects and consequences on the biodiversity of fish and amphibian species. *Aquatic Science and Technology*, 6(1), 35. <https://doi.org/10.5296/ast.v6i1.12565>
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), W. E. F. (WEF). (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater (21a ed., pp. 9–63). Centennial Edition.
- Angelakis, A., & Zheng, X. (2015). Evolution of water supply, sanitation, wastewater, and stormwater technologies globally. *Water*, 7(12), 455–463. <https://doi.org/10.3390/w7020455>
- Arlos, M. J., Parker, W. J., Bicudo, J. R., Law, P., Hicks, K. A., Fuzzen, M. L. M., Andrews, S. A., & Servos, M. R. (2018). Modeling the exposure of wild fish to endocrine active chemicals: Potential linkages of total estrogenicity to field-observed intersex. *Water Research*, 139, 187–197. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.005>

- Asano, T., & Levine, A. D. (1996). Wastewater reclamation, recycling and reuse: Past, present, and future. *Water Science and Technology*, 33(10–11), 1–14. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00401-5](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00401-5)
- Ashbolt, N. J. (2004). Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions. *Toxicology*, 198(1), 229–238. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.01.030>
- Benedict, K. M., Reses, H., Vigar, M., Roth, D. M., Roberts, V. A., Mattioli, M., Cooley, L. A., Hilborn, E. D., Wade, T. J., Fullerton, K. E., Yoder, J. S., & Hill, V. R. (2017). Surveillance for waterborne disease outbreaks associated with drinking water-United States, 2013–2014. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 66(44), 1216–1221. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6644a3>
- Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., Bürgmann, H., Sørum, H., Norström, M., Pons, M. N., Kreuzinger, N., Huovinen, P., Stefani, S., Schwartz, T., Kisand, V., Baquero, F., & Martinez, J. L. (2015). Tackling antibiotic resistance: The environmental framework. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 310–317. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>
- Blumenthal, U. J., Cifuentes, E., Bennett, S., Quigley, M., & Ruiz-Palacios, G. (2001). The risk of enteric infections associated with wastewater reuse: The effect of season and degree of storage of wastewater. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(2), 131–137. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(01\)90136-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0035-9203(01)90136-1)
- Burns, E. (2009). Tratar y reusar las aguas residuales. En *Repensar la cuenca: La gestión de ciclos del agua en el Valle de México*. (pp. 38–48).

Centers for Disease Control and Prevention, CDC. (2019a). AR threats report.

<https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>.

Consultado: 2/2/20.

CDC. (2019b). Milestones - Waterborne disease and outbreak surveillance.

<https://www.cdc.gov/healthywater/surveillance/history-timeline.html>. Consultado:

12/07/20.

Chamizo-Checa, S., Otazo-Sánchez, E., Gordillo-Martínez, A., Suárez-Sánchez, J., González-Ramírez, C., & Muñoz-Nava, H. (2020). Megacity wastewater poured into a nearby basin: Looking for sustainable scenarios in a case study. *Water*, 12(3), 824.

<https://doi.org/10.3390/w12030824>

Chávez, A., Maya, C., Gibson, R., & Jiménez, B. (2011). The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution*, 159(5), 1354–1362.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.01.008>

Cifuentes, E., Gomez, M., Blumenthal, U., Tellez-Rojo, M. M., Romieu, I., Ruiz-Palacios, G., & Ruiz-Velazco, S. (2000). Risk factors for *Giardia intestinalis* infection in agricultural villages practicing wastewater irrigation in Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62(3), 388–392. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2000.62.388>

Colwell, R. R. (1996). Global climate and infectious disease: The cholera paradigm. *Science*, 274(5295), 2025–2031. <https://doi.org/10.1126/science.274.5295.2025>

CONAGUA. (2018). Infraestructura hidráulica. <https://www.gob.mx/conagua/acciones-y-programas/infraestructura-hidroagricola>. Consultado: 12/12/20.

Contreras, J. D., Meza, R., Siebe, C., Rodríguez-Dozal, S., López-Vidal, Y. A., Castillo-Rojas, G., Amieva, R. I., Solano-Gálvez, S. G., Mazari-Hiriart, M., Silva-Magaña, M. A., Vázquez-Salvador, N., Rosas Pérez, I., Martínez Romero, L., Salinas Cortez, E., Riojas-

- Rodríguez, H., & Eisenberg, J. N. S. (2017). Health risks from exposure to untreated wastewater used for irrigation in the Mezquital Valley, Mexico: A 25-year update. *Water Research*, 123. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.058>
- Cosgrove, S. E. (2006). The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: Mortality, length of hospital Stay, and health care costs. *Clinical Infectious Diseases*, 42(2), S82–S89. <https://doi.org/10.1086/499406>
- Craun, G. F. (2012). The importance of waterborne disease outbreak surveillance in the United States. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanità*, 48(4), 447–459. https://doi.org/10.4415/ANN_12_04_11
- De Gisi, S., Casella, P., Cellamare, C. M., Ferraris, M., Petta, L., & Notarnicola, M. (2017). Wastewater reuse. *Encyclopedia of Sustainable Technologies*, 2008, 53–68. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10528-7>
- Dhote, J., Ingole, S. P., & Chavhan, A. (2012). Review on wastewater treatment technologies. *International Journal of Engineering Research and Technology*, 1(5), 1-10.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2021). NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- DOF. (1998). Nom-003-SEMARNAT-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público.
- Durán-Álvarez, J. C., Jiménez, B., Rodríguez-Varela, M., & Prado, B. (2021). The Mezquital Valley from the perspective of the new Dryland Development Paradigm (DDP): present and future challenges to achieve sustainable development. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 48, 139–150. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2021.01.005>

- Englande, A. J., Krenkel, P., & Shamas, J. (2015). Wastewater treatment & water reclamation. En *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.09508-7>
- Espinosa Ortiz, E. J. (2009). Contaminación biológica de las fuentes de suministro del Valle de Tula. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- FAO. (2012). Coping with water scarcity. An action framework for agriculture and food security. FAO. <http://www.fao.org/3/a-i3015e.pdf>. Consultado: 28/11/20.
- Fenwick, A. (2006). Waterborne infectious diseases-could they be consigned to history? *Science*, 313(5790), 1077–1081. <https://doi.org/10.1126/science.1127184>
- Fonseca-Salazar, M. A., Díaz-Ávalos, C., Castañón-Martínez, M. T., Tapia-Palacios, M. A., & Mazari-Hiriart, M. (2016). Microbial indicators, opportunistic bacteria, and pathogenic protozoa for monitoring urban wastewater reused for irrigation in the proximity of a megacity. *EcoHealth*, 13(4), 672–686. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1172-2>
- Forstinus, N., Ikechukwu, N., Emenike, M., & Christiana, A. (2016). Water and waterborne diseases: A review. *International Journal of Tropical Disease & Health*, 12(4), 1–14. <https://doi.org/10.9734/IJTDH/2016/21895>
- Foster, S. S. D., & Chilton, P. J. (2004). Downstream of downtown: urban wastewater as groundwater recharge. *Hydrogeology Journal*, 12(1), 115–120. <https://doi.org/10.1007/s10040-003-0296-y>
- Gleeson, T., Wada, Y., Bierkens, M. F. P., & Van Beek, L. P. H. (2012). Water balance of global aquifers revealed by groundwater footprint. *Nature*, 488(7410), 197–200. <https://doi.org/10.1038/nature11295>
- Hong, P. Y., Julian, T. R., Pype, M. L., Jiang, S. C., Nelson, K. L., Graham, D., Pruden, A., & Manaia, C. M. (2018). Reusing treated wastewater: Consideration of the safety aspects

- associated with antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Water*, 10(3).
<https://doi.org/10.3390/w10030244>
- Jensen, O., & Wu, H. (2018). Urban water security indicators: Development and pilot. *Environmental Science & Policy*, 83, 33–45.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envsci.2018.02.003>
- Jiménez, B. (2006). Irrigation in developing countries using wastewater. *International Review for Environmental Strategies*, 6(2), 229–250.
- Jiménez, B., & Chávez, A. (2004). Quality assessment of an aquifer recharged with wastewater for its potential use as drinking source: “El Mezquital Valley” case. *Water Science and Technology*, 50(2), 269–276.
- Kappell, A. D., DeNies, M. S., Ahuja, N. H., Ledebor, N. A., Newton, R. J., & Hristova, K. R. (2015). Detection of multi-drug resistant *Escherichia coli* in the urban waterways of Milwaukee, WI. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00336>
- Larson, A., Hartinger, S. M., Riveros, M., Salmon-Mulanovich, G., Hattendorf, J., Verastegui, H., Huaylinos, M. L., & Mäusezahl, D. (2019). Antibiotic-resistant *Escherichia coli* in drinking water samples from rural andean households in Cajamarca, Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(6), 1363–1368.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0776>
- Leonel, L. P., & Tonetti, A. L. (2021). Wastewater reuse for crop irrigation: Crop yield, soil and human health implications based on giardiasis epidemiology. *Science of The Total Environment*, 775, 145833.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145833>

- Lesser-Carrillo, L. E., Lesser-Illades, J. M., Arellano-Islas, S., & González-Posadas, D. (2011). Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del Valle del Mezquital, México Central. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 28(3), 323–336.
- Lesser, L. E., Mora, A., Moreau, C., Mahlknecht, J., Hernández-Antonio, A., Ramírez, A. I., & Barrios-Piña, H. (2018). Survey of 218 organic contaminants in groundwater derived from the world's largest untreated wastewater irrigation system: Mezquital Valley, Mexico. *Chemosphere*, 198, 510–521. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.154>
- Mac Kenzie, W. R., Hoxie, N. J., Proctor, M. E., Gradus, M. S., Blair, K. A., Peterson, D. E., Kazmierczak, J. J., Addiss, D. G., Fox, K. R., Rose, J. B., & Davis, J. P. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *New England Journal of Medicine*, 331(3), 161–167. <https://doi.org/10.1056/NEJM199407213310304>
- Marsalek, J., Jiménez Cisneros, B. E., Malmquist, P. A., Karamouz, M., Goldenfum, J., & Chocat, B. (2006). Urban water cycle processes and Interactions. En *Urban Water Cycle Processes and Interactions*. UNESCO/IHP. <https://www.taylorfrancis.com/books/9781482288544>
- Mraz, A. L., Tumwebaze, I. K., McLoughlin, S. R., McCarthy, M. E., Verbyla, M. E., Hofstra, N., Rose, J. B., & Murphy, H. M. (2021). Why pathogens matter for meeting the united nations' sustainable development goal 6 on safely managed water and sanitation. *Water Research*, 189, 116591. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116591>
- Murphy, H. M., Prioleau, M. D., Borchardt, M. A., & Hynds, P. D. (2017). Review: Epidemiological evidence of groundwater contribution to global enteric disease, 1948–2015. *Hydrogeology Journal*, 25(4), 981–1001. <https://doi.org/10.1007/s10040-017-1543-y>

- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2019). Poliomyelitis. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/poliomyelitis>. Consultado: 14/11/2020.
- Pal, A., He, Y., Jekel, M., Reinhard, M., & Gin, K. Y.-H. (2014). Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environment International*, 71, 46–62. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.025>
- Pandey, P. K., Kass, P. H., Soupir, M. L., Biswas, S., & Singh, V. P. (2014). Contamination of water resources by pathogenic bacteria. *AMB Express*, 4(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0051-x>
- Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005). Extended-Spectrum β -Lactamases: A clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657–686. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>
- Peña-Guzmán, C., Ulloa-Sánchez, S., Mora, K., Helena-Bustos, R., Lopez-Barrera, E., Alvarez, J., & Rodriguez-Pinzón, M. (2019). Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. *Journal of Environmental Management*, 237, 408–423. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.100>
- Qu, G. (2019). A critical review of conventional and emergency domestic sewage treatment technology. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 237(2). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/237/2/022037>
- Sanganyado, E., & Gwenzi, W. (2019). Antibiotic resistance in drinking water systems: Occurrence, removal, and human health risks. *Science of The Total Environment*, 669, 785–797. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.162>

- Saxena, G., Bharagava, R. N., Kaithwas, G., & Raj, A. (2015). Microbial indicators, pathogens and methods for their monitoring in water environment. *Journal of Water and Health*, 13(2), 319–339. <https://doi.org/10.2166/wh.2014.275>
- Sayah, R. S., Kaneene, J. B., Johnson, Y., & Miller, R. (2005). Patterns of antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* isolates obtained from domestic- and wild-animal fecal samples, human septage, and surface water. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3), 1394–1404. <https://doi.org/10.1128/aem.71.3.1394-1404.2005>
- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D., & Kamal, M. A. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(1), 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.002>
- Shoushtarian, F., & Negahban-Azar, M. (2020). Worldwide regulations and guidelines for agricultural water reuse: A critical review. *Water*, 12(4), 971. <https://doi.org/10.3390/w12040971>
- Siebe, C. (2018). Human impact on geospheric processes in the critical zone exemplified by the regional water exchange between the Mexico City Metropolitan Area and the Mezquital Valley. *Humanities Futures*.
- Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. J., & McDermott, P. F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerging Infectious Diseases*, 18(5), 741–749. <https://doi.org/10.3201/eid1805.111153>
- Teixeira, P., Dias, D., Costa, S., Brown, B., Silva, S., & Valério, E. (2020). *Bacteroides* spp. and traditional fecal indicator bacteria in water quality assessment – An integrated approach for hydric resources management in urban centers. *Journal of Environmental Management*, 271. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110989>

- UNESCO. (2017). Informe mundial sobre el desarrollo de los recursos hídricos de las Naciones Unidas 2017: Aguas residuales, el recurso desaprovechado. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247647>. Consultado: 4/01/2021
- UNESCO & UN-Water. (2020). United Nations world water development report 2020: Water and climate change. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000372985.locale=en>. Consultado: 4/01/2021
- Wen, X., Chen, F., Lin, Y., Zhu, H., Yuan, F., Kuang, D., Jia, Z., & Yuan, Z. (2020). Microbial indicators and their use for monitoring drinking water quality—A review. *Sustainability*, 12(6), 2249. <https://doi.org/10.3390/su12062249>
- Yaeger, R. G. (1996). Protozoa: Structure, classification, growth, and development. En S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (4a ed.). Galveston. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8325/>
- Zhang, Q., Eichmiller, J. J., Staley, C., Sadowsky, M. J., & Ishii, S. (2016). Correlations between pathogen concentration and fecal indicator marker genes in beach environments. *Science of The Total Environment*, 573, 826–830. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.122>

6. Calidad del agua en hogares del Valle del Mezquital, México, zona irrigada con agua residual.

Artículo de titulación publicado en *Journal of Water and Health* en 2020.

Vázquez-Salvador, N., Silva-Magaña, M. A., Tapia-Palacios, M. A., Mora-López, M., Félix-Arellano, E., Rodríguez-Dozál, S., Riojas-Rodríguez, H., & Mazari-Hiriart, M. (2020). Household water quality in areas irrigated with wastewater in the Mezquital Valley, Mexico. *Journal of Water and Health*, 18(6), 1098–1109. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.095>

Resumen

En países con economías emergentes, el agua residual para el riego contribuye a la recarga de acuíferos. En el Valle del Mezquital, el área más grande del mundo regada con agua residual, la tasa de infiltración ha aumentado 13 veces, por lo tanto, se asume que el agua residual ha contaminado las fuentes de abastecimiento cercanas. Bacterias indicadoras de contaminación fecal fueron enumeradas en agua de tomas domiciliarias de dos áreas regadas con agua residual, Tula y Tlahuelilpan y un área regada con agua subterránea, Tecozautla. Durante 2016-2017 agua de tomas domiciliarias, agua residual y agua subterránea fue colectada y mediante filtración a través de membrana se determinaron coliformes fecales y enterococos fecales, así como *Escherichia coli* que fue confirmada por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa. Casi el 50% del agua de tomas domiciliarias presentó contaminación fecal con densidades de hasta 4.62×10^4 UFC/100 mL.

Se observaron diferencias significativas en los conteos de las bacterias indicadoras del agua de tomas domiciliarias de Tula y Tecozautla mediante las pruebas de Kruskal-Wallis y de Dunnett; el agua de tomas domiciliarias de Tula presentó los conteos más elevados. Por su parte, el agua residual de Tula y Tlahuelilpan presentaron conteos de seis ordenes de magnitud. Los conteos fueron mayores cuando el cloro residual estuvo por debajo de 0.2 mg/L y bajo condiciones de almacenamiento. Esta investigación contribuye como un estudio base para observar un mejoramiento con la nueva planta de tratamiento de Atotonilco de Tula. Es fundamental que el riego con agua residual sea seguro y se lleve a cabo bajo estricta vigilancia considerando la salud humana como una prioridad.

Household water quality in areas irrigated with wastewater in the Mezquital Valley, Mexico

Nallely Vázquez-Salvador, Miguel Atl Silva-Magaña,
Marco Antonio Tapia-Palacios, Manuel Mora-López,
Eunice Félix-Arellano, Sandra Rodríguez-Dozál,
Horacio Riojas-Rodríguez and Marisa Mazari-Hiriart

ABSTRACT

Wastewater for irrigation in low- and middle-income countries can recharge aquifers and potentially contaminate supply sources. The infiltration rate has increased 13-fold in Mexico's Mezquital Valley, the largest agricultural area wastewater-irrigated worldwide, thus we assume that wastewater had contaminated supply sources. Fecal indicator bacteria (FIB) counts were enumerated in household water of two wastewater-irrigated areas, Tula and Tlahuelilpan, and a groundwater irrigated area, Tecozautla. During 2016–2017, household water, wastewater, and groundwater were sampled, analyzing fecal coliforms, fecal enterococci, and *Escherichia coli*, following membrane filtration procedures, and confirming the presence of *E. coli* by polymerase chain reaction. Nearly 50% of household water contained fecal contamination of up to 4.62×10^4 CFU/100 mL. Significant differences between FIB counts in household water from Tula and Tecozautla were observed by Kruskal–Wallis and Dunnett tests. Household water samples from Tula contained highest FIB counts. Wastewater from Tula and Tlahuelilpan contained counts of six orders-of-magnitude of FIB. Counts were high when residual chlorine was $<0.2 \text{ mg L}^{-1}$ and underwater storage. This research serves as a baseline to observe improvement with a newly installed wastewater treatment plant. Safe irrigation wastewater reuse should be performed under strict surveillance, considering human safety a priority.

Key words | chlorination, fecal indicator bacteria (FIB), household water, Mezquital Valley, storage, wastewater

HIGHLIGHTS

- Case study of the conditions that prevail in middle-income countries in rural areas where water reuse is a common practice.
- Water for human use and consumption contained fecal indicator bacteria and potentially pathogenic *E. coli* in wastewater-irrigated areas.
- Lack of chlorination and water storage contribute to FIB counts.
- Wastewater treatment can aid in the improvement of water quality for irrigation and positively influence water quality for human use and consumption.
- Processes taking place in the Mezquital Valley are relevant to support modification of the WHO Guidelines for the use of wastewater excreta and greywater.

Nallely Vázquez-Salvador
Marco Antonio Tapia-Palacios
Posgrado en Ciencias Biológicas,
Universidad Nacional Autónoma de México
(UNAM). Unidad de Posgrado, Circuito de
Posgrados, Ciudad Universitaria,
Coyoacán, 04510, Ciudad de México,
México

Nallely Vázquez-Salvador
Marco Antonio Tapia-Palacios
Marisa Mazari-Hiriart (corresponding author)
Laboratorio Nacional de Ciencias de la
Sostenibilidad (LANCIS),
Instituto de Ecología, Tercer Circuito Exterior
Ciudad Universitaria,
anexo al Jardín Botánico Exterior, Coyoacán 04510
Ciudad de México,
México
E-mail: mazari@unam.mx

Miguel Atl Silva-Magaña
Manuel Mora-López
Facultad de Ciencias, UNAM. Circuito Exterior,
Ciudad Universitaria,
Coyoacán 04510, Ciudad de México,
México

Eunice Félix-Arellano
Sandra Rodríguez-Dozál
Horacio Riojas-Rodríguez
Instituto Nacional de Salud Pública,
Av. Universidad 655, Colonia Santa María
Ahuacatitlán, 62100 Cuernavaca, Morelos,
México

INTRODUCTION

Wastewater is an alternative source for agricultural irrigation and a sustainable solution for water scarcity (Asano 2005; Reznik *et al.* 2019). Agriculture uses 70% of the planet's available drinking water, and the wastewater reuse would aid in reducing water extraction (Nas *et al.* 2020). Since sewage contains different chemical contaminants and microorganisms, it should receive treatment for safe reuse (Asano 2005). In high-income countries, water quality for reuse has been improving, and irrigation is now a controlled practice (Salgot & Folch 2018). However, countries such as China, Mexico, Chile, and Peru still utilize wastewater for agricultural irrigation. In low- and middle-income countries, reuse is not planned, and wastewater can infiltrate through the soil and incidentally contribute to the recharge of aquifers (Foster & Chilton 2004).

There is evidence of wastewater infiltration into aquifers in countries such as Syria, Peru, and Thailand; Mexico is no exception, wastewater contributes to the recharge of aquifers from León, Guanajuato, and the Mezquital Valley, Hidalgo, north of Mexico City (Foster & Chilton 2004; Lesser-Carrillo *et al.* 2011). The Mezquital Valley is the largest agricultural area irrigated with wastewater worldwide. For more than 100 years, nearly 90,000 ha have been irrigated with wastewater from the Mexico City Metropolitan Area (MCMA). Irrigation is performed by flooding, and the infiltration rate has increased 13-fold higher than the natural infiltration (Chávez *et al.* 2011). Wastewater can be incidentally treated during the infiltration process, but the purification capacity of the aquifers is unknown (Jiménez *et al.* 2004). It varies according to geologic materials and the specific conditions *per site* (Lesser-Carrillo *et al.* 2011).

In the Mezquital Valley, the microorganism load in wastewater is very high: up to 10 orders-of-magnitude have been reported (Chávez *et al.* 2011; Fonseca-Salazar *et al.* 2016). Therefore, infiltrated wastewater can potentially contaminate aquifers, which may be used for public supply. Humans can ingest microorganisms and chemicals through the use and consumption of contaminated tap water, and this may become a health problem (Foster & Chilton 2004).

At present, waterborne diseases continue to be a public health concern (Hales 2019), especially in developing countries. Over 59 million cases of gastrointestinal diseases worldwide are caused by groundwater extracted for public use (Murphy *et al.* 2017). In Mexico's Hidalgo State, nearly 29,500 cases of gastrointestinal diseases were reported by the Epidemiological Bulletin between 2015 and mid-2018 (Dirección General de Epidemiología 2018). In the Mezquital Valley, Contreras *et al.* (2017) found that the prevalence of diarrhea in children residing in communities exposed to wastewater was 10%, two-fold higher than in non-exposed communities.

Unfortunately, there is evidence of supply sources contaminated with fecal coliforms (FC), pathogenic bacteria, and parasites, in addition to the contribution of chemical contaminants in the Mezquital Valley (Downs *et al.* 1999; Lesser-Carrillo *et al.* 2011; Fonseca-Salazar *et al.* 2016). Given this evidence, we investigated whether the inhabitants of the Mezquital Valley receive contaminated water, with fecal indicator bacteria (FIB) due to affected supply sources. It is hypothesized that household water from irrigated with wastewater-irrigated areas contains more FIB counts in comparison to areas irrigated with water of better quality. The aim of this research was to quantify FIB in household water in two areas irrigated with wastewater in the Mezquital Valley, Tula and Tlahuelilpan and an area irrigated with groundwater, Tecozautla.

METHODS

Study site

The Mezquital Valley in Hidalgo is located 100 km north of the MCMA, three irrigation districts compose the Valley: 003 Tula, 100 Alfajayucan y 112 Ajacuba (Chávez *et al.* 2011). Tula, Tlahuelilpan, and Tecozautla were the municipalities (counties) involved in this study. In 2017, operations began in the Atotonilco-Wastewater Treatment Plant (Atotonilco-WWTP), built to treat approximately 23,000 L s⁻¹ (60%) of MCMA wastewater to provide treated wastewater

to part of the irrigation districts of the Mezquital Valley (SEMARNAT 2007). The sampling design was based on the Atotonilco-WWTP initiating its operation in 2016; nevertheless, this did not occur until December 2017. Despite this, we distinguished the areas that would receive treated wastewater from those that will not. Tula was irrigated with wastewater at the sampling time and was supposed to receive treated wastewater for irrigation from the Atotonilco-WWTP. Tlahuelilpan municipality was irrigated with wastewater and will not receive water from the Atotonilco-WWTP. Finally, in Tecozautla, groundwater from extraction wells is used for irrigation, located 200 km from the MCMA (Figure 1).

Household selection

We obtained the approvals of the Ethics, Research, and Bio-safety Committee of the National Institute of Public Health-Mexico (INSP-México), as well as from the health authority of the State of Hidalgo. This research forms part of a larger epidemiology-based project in which a survey was applied in 880 households, gathering information in the incidence of diarrhea in children under 5 years of age in the Mezquital Valley, where our sampling was based. Households where at least one child under 5 years was recorded with diarrhea and was referred as a case. For each case, a household was identified in the neighboring blocks with a child under 5

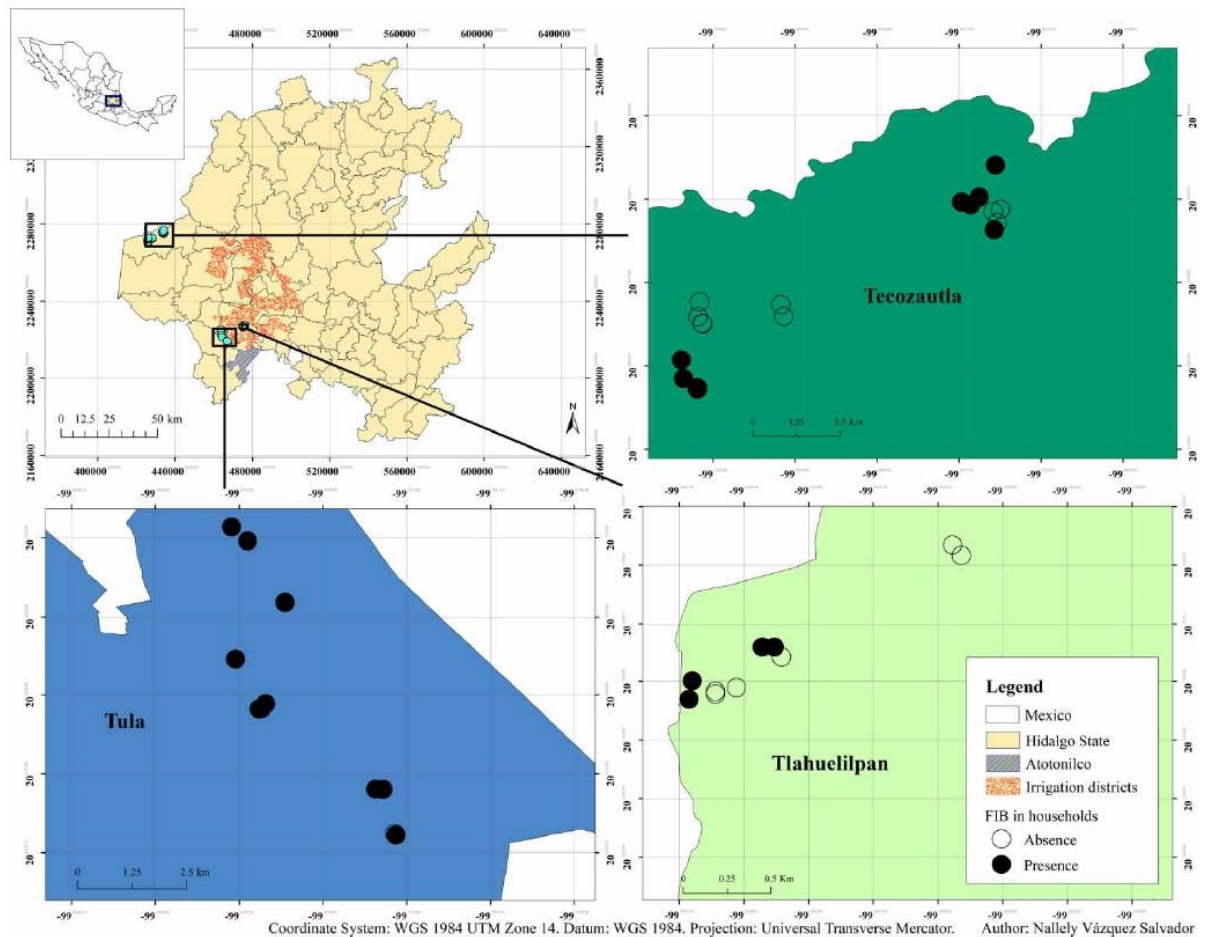


Figure 1 | Counties involved in this study, Tula and Tlahuelilpan irrigated with wastewater and Tecozautla irrigated with groundwater, located in the State of Hidalgo, Mexico.

years of age without diarrhea, this referred to as control. We randomly select a subsample of these households regarding the same number of cases and controls.

Household and irrigation water sampling

Monitoring consisted of three sampling campaigns from November 2016–May 2017, June–July 2017, and October–December 2017. In both Tula and Tlahuelilpan, 10 household water samples were collected during each sampling campaign. Due to a lower proportion of diarrhea in Tecozautla, four household water samples were collected during the first and second campaigns. In the third sampling campaign, we analyzed 15 additional households to increase the sample number. A total of 85 household water samples were taken at the three sampling locations. Irrigation water was collected simultaneously during each sampling

event. We monitored wastewater from four irrigation canals; two in Tula and two in Tlahuelilpan. In Tecozautla, groundwater from three different irrigation wells was collected; a total of 20 irrigation water samples were collected (Figure 2).

Samples were collected in sterile polypropylene bottles. In the households, we took 1 L of tap water, and when this was not possible, we collected stored water due to the intermittent water service supply in the zone, better known as *tandeo* (distribution of water by turns). In some cases, there was a hose connected to the tap; therefore, water was taken from the hose, which is the water used within the household. In areas receiving wastewater, we collected 250 mL at three points along each canal and then mixed them to prepare a composite sample. In Tecozautla, we collected 1 L of groundwater directly from the extraction wells. All sites were sampled and analyzed in triplicate. We kept

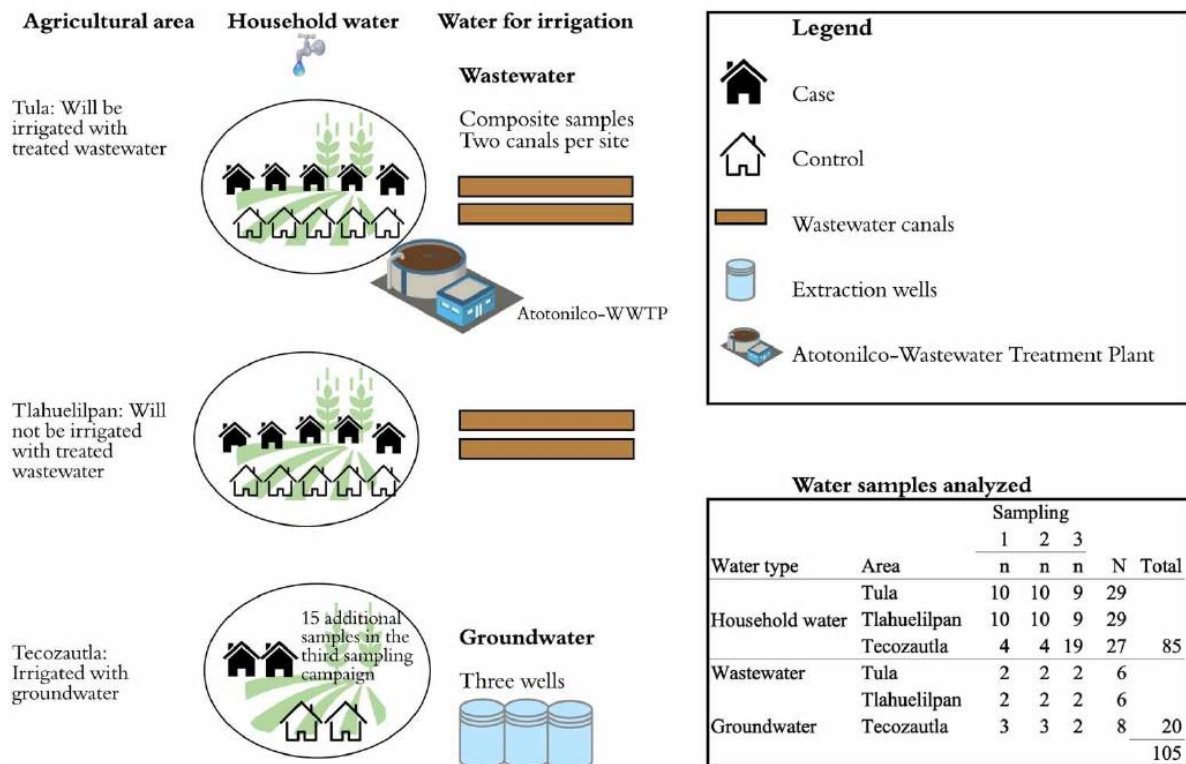


Figure 2 | Sampling design scheme showing households in each agricultural area. An equal number of cases and controls of diarrhea in children under 5 years of age were taken, and irrigation water was collected simultaneously.

the samples in coolers (4 °C) until their processing in the laboratory (~24 h or less).

Physicochemical and bacteria measurements

To describe water quality in all water types, we recorded the following *in situ*: temperature (°C), pH, dissolved oxygen (DO) (mg L⁻¹), electrical conductivity (µS cm⁻¹), total dissolved solids (TDS) (mg L⁻¹), and turbidity (NTU) using a YSI EX02 Multiparameter Water Quality Probe (Yellow Springs, OH).

Other variables, such as location and residual chlorine, were registered for each household. For household water only, we measured residual chlorine using a DR 2800 model Spectrophotometer (Loveland, CO). Residual chlorine records were classified according to Mexican Regulation NOM-127-SSA-1994 (DOF 2000), which established an acceptable interval of 0.2–1.5 mg L⁻¹. Values below this interval were classified as ‘do not meet’, while values falling within the interval were classified as ‘meet’.

In the laboratory, we enumerated the following FIB: FC, fecal enterococci (FE), and *Escherichia coli*, following standard membrane filtration procedures (APHA 2005).

E. coli polymerase chain reaction confirmation

DNA extraction was performed applying the boiling protocol to confirm *E. coli* by polymerase chain reaction (PCR) (Dashti *et al.* 2009). The primers Fw-5'-ATGGAATTCGCCGATTTTGC-3' and Rv-5'-ATTGTTGCCTCCCTGCTGC-3 at 1 mM initial concentration were used to amplify the gene *uidA*, a conserved region of *E. coli* (Heijen & Medema 2006). Amplification conditions were included with an initial activation step at 95 °C for 3 min, 30 denaturation cycles at 95 °C for 30 s, annealing at 60 °C for 30 s, extension at 72 °C for 30 s, and final elongation at 72 °C for 5 min. Amplicon size was 200 base pairs.

Statistical analysis

A Kruskal–Wallis test to observe differences of FIB counts between areas was applied. Later, we performed a *post hoc* test (Dunnnett test) to recognize these areas. The paired comparisons performed were the following: Tula versus

Tecoautla and Tlahuelilpan versus Tecozautla. We also ran paired comparisons between FIB counts in stored water versus non-stored water (tap water or from a hose connected to the tap) by the Mann–Whitney *U* test. All statistical results were significant at an α of <0.05. All analyses were carried out in RStudio program suite ver. 1.2.5001 statistical software.

RESULTS

Physicochemical parameters

Physicochemical parameters measured in household water samples showed average values of 18.7 °C for temperature, a pH of 7.4, and DO of 6.7 mg L⁻¹. EC, TDS, and turbidity were higher in Tula, presenting average values of 1,790.8 µS cm⁻¹, 1,333.4 mg L⁻¹, and 15.9 NTU. In Tlahuelilpan, EC and TDS were also elevated (1,673.4 µS cm⁻¹ and 1,273 mg L⁻¹), while in Tecozautla, mean values of 1,288.2 µS cm⁻¹ and 913.6 mg L⁻¹ were recorded for EC and TDS, respectively.

For wastewater, mean values for temperature, pH, and DO of 17.6 °C, 7.6, and 2.1 mg L⁻¹ were recorded, respectively. Values for EC and TDS were similar to those of household water (1,430 µS cm⁻¹ and 1,103.5 mg L⁻¹), while turbidity was 86.4 NTU.

In groundwater, temperature, pH, and DO were higher than in other water types, presenting mean values of 21.4 °C, 8.1, and 7 mg L⁻¹, unlike the pattern observed in household and wastewater, which demonstrated lower average values of EC and TDS (670.9 µS cm⁻¹ and 468.2 mg L⁻¹).

Residual chlorine in household water was measured between 0 and 0.96 mg L⁻¹. Lowest values of chlorination were observed in Tula, while in Tlahuelilpan, highest concentrations were recorded. Media values of 0.05, 0.25, and 0.17 mg L⁻¹ for Tula, Tlahuelilpan, and Tecozautla, respectively, were measured. According to the NOM-127-SSA-1994-based classification, ‘do not meet’ (residual chlorine <0.2 mg L⁻¹) and ‘meet’ (between 0.2 and 1.5 mg L⁻¹), 27 household water samples from Tula do not comply with the NOM and only two samples fell within the recommended range. In Tlahuelilpan, 15 household water samples do not meet and 14 meet the regulation, while in Tecozautla, 20 samples do not meet and 7 met the

regulation. FIB counts were higher when residual chlorine was below 0.2 mg L^{-1} (Figure 3).

FIB and *E. coli* PCR

Overall, the household water analyzed from the three areas involved contained fecal contamination; 46, 35, and 38% of the samples were positive for FC, FE, and *E. coli*.

The presence of *E. coli* was confirmed in 82% of the positive household water samples by molecular methods. In the case of wastewater and groundwater, *E. coli* was confirmed in 100% of the positive samples.

Household water FIB: comparisons among areas

The Kruskal–Wallis test revealed significant differences in FIB among the three areas ($p\text{-value}^a = 1.43 \times 10^{-10}$, 2.65×10^{-5} , and 4.48×10^{-8} for FC, FE, and *E. coli*, respectively). The Dunnett test was also performed and showed that Tula behaves differently from Tecozautla, presenting higher FIB counts and a $p\text{-value}^b = 0.01$, 0.0006 , and 0.005 for FC, FE, and *E. coli*, respectively. In contrast, this pattern was not observed in the comparison between Tlahuelilpan

versus Tecozautla ($p\text{-value}^b = 0.99$, 0.98 , and 0.99 for FC, FE, and *E. coli*, respectively); fecal contamination in both areas was similar, despite irrigation practices with groundwater in Tecozautla (Table 1).

For all areas, the FIB group with the majority of counts was FC followed by *E. coli* and, at a lesser proportion, FE (Figure 3). Minimal values for all FIB groups were zero or not detected ($<1 \text{ CFU}/100 \text{ mL}$), while maximal FIB counts were between one or two orders-of-magnitude. Highest FIB counts were in households located in Tula followed by Tecozautla, and lowest contaminations were found in households from Tlahuelilpan (Figures 1 and 4).

The Mann–Whitney *U* test suggested high counts of FIB when the water is stored, and exhibited a decrease of FIB in tap or hose water, with significant differences observed for the three FIB groups. For FC, $p\text{-values} = 1.66 \times 10^{-6}$ and 8.34×10^{-5} were estimated for the paired comparisons: stored water versus tap water, and store water versus hose connected to the tap. For FE, $p\text{-values} = 5.58 \times 10^{-5}$ and 8.73×10^{-5} were computed, while for *E. coli*, $p\text{-values} = 1.59 \times 10^{-5}$ and 4.66×10^{-6} were calculated for stored water versus tap water as well as for stored water versus hose water, respectively.

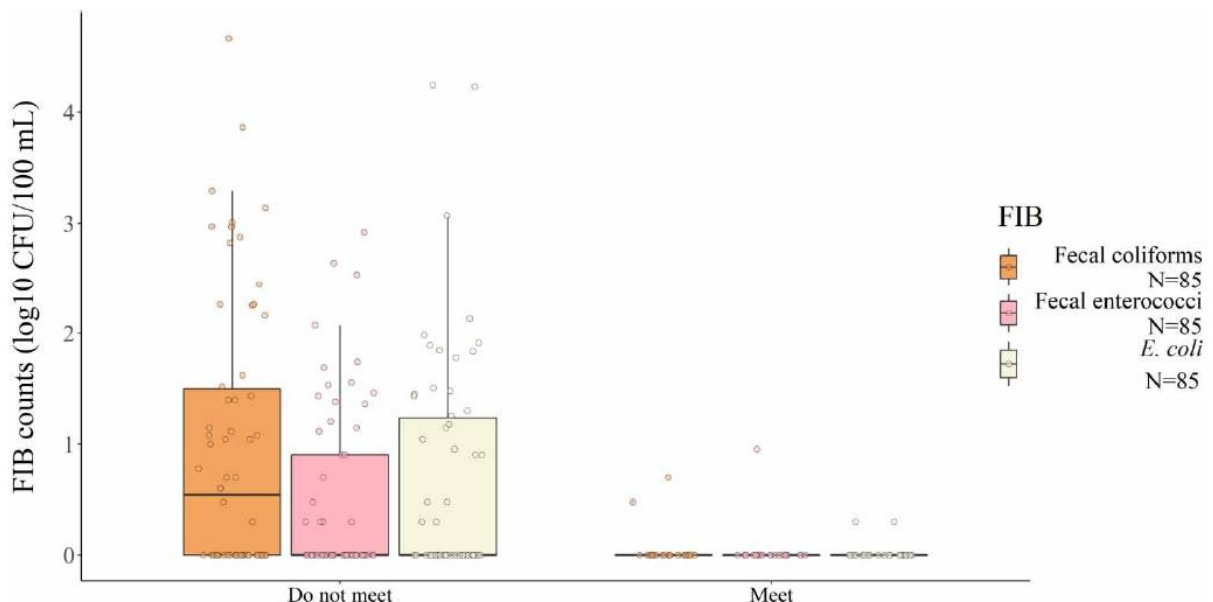


Figure 3 | FIB counts according to the comparison of residual chlorine with NOM-127-SSA-1994 (DOF 2000). Meet: $0.2\text{--}1.5 \text{ mg L}^{-1}$; Do not meet: below 0.2 mg L^{-1} .

Table 1 | Parameters for FIB counts reported in Colony Forming Units per 100 mL in household water samples

Variables	Area	N	GM	Min	Max	SD	p-value ^a	p-value ^b
			(CFU/100 mL)					
FC	Tula	29	19.4	ND	4.6 × 10⁴	467.8	1.43 × 10 ⁻¹⁰	0.01
	Tlahuelilpan	29	1.9	ND	277.1	6.1		
	Tecozautila	27	4.3	ND	750.8	22.8		
FE	Tula	29	4.5	ND	825.6	7.0	2.65 × 10 ⁻⁵	0.0006
	Tlahuelilpan	29	1.4	ND	34.4	1.9		
	Tecozautila	27	2	ND	54.8	1.4		
<i>E. coli</i>	Tula	29	7.4	ND	1.7 × 10⁴	350.9	4.48 × 10 ⁻⁸	0.005
	Tlahuelilpan	29	1.3	ND	78.3	0.76		
	Tecozautila	27	3.5	ND	82.3	4.7		

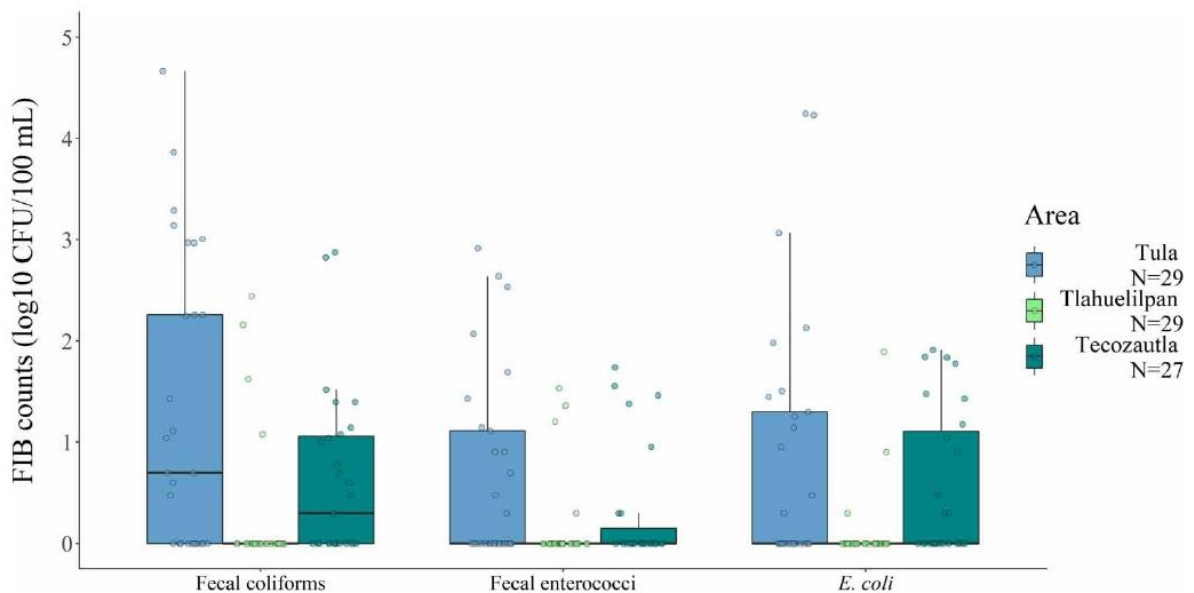
Note: GM, geometric mean; SD, standard deviation; ND, not detected.

Bold values represent significant differences.

Detection limit <1 Colony Forming Unit (CFU).

^ap-value obtained by Kruskal-Wallis test for the comparison between areas.

^bp-value obtained by Dunnett-test for paired comparisons.

**Figure 4** | Boxplot indicating FIB count per area, individual results are shown with points. *N* per area is detailed. It observed that household water samples from Tula contained the highest FIB counts.

Irrigation water comparisons

In general, we found geometric means in wastewater of 3.63×10^6 , 1.56×10^5 , and 3.02×10^6 CFU/100 mL for FC, FE, and *E. coli*, respectively. The specific values for wastewater analyzed in Tula and Tlahuelilpan are reported in Table 2. For groundwater, we found geometric means of 1.2, 1.2, and 1.3 CFU/100 mL for FC,

FE, and *E. coli*, respectively. Due to this apparent difference between wastewater and groundwater, we did not perform a statistical test between these types of water. We contrasted only the areas irrigated with wastewater by means of the Kruskal-Wallis test and observed that these bacterial counts were not significantly different, in that they fall within the same orders-of-magnitude (Table 2).

Table 2 | Parameters for FIB counts reported in Colony Forming Units per 100 mL in water for irrigation

Variables	Area	N	GM	Min	Max	SD	p-value
			(CFU/100 mL)				
FC	Tula	6	3.9×10^6	4.1×10^4	2.4×10^7	1.4×10^6	0.28
	Tlahuelilpan	6	3.4×10^6	6.5×10^5	1.6×10^7	1.6×10^6	
	Tecozautila	8	1.2	ND	3.1	0.3	
FE	Tula	6	1.4×10^5	2.2×10^4	1.5×10^6	8.9×10^4	0.71
	Tlahuelilpan	6	1.7×10^5	2.6×10^4	6.2×10^5	7.1×10^4	
	Tecozautila	8	1.2	ND	3.7	0.6	
<i>E. coli</i>	Tula	6	3.5×10^6	3.9×10^4	2.2×10^7	2.8×10^6	0.48
	Tlahuelilpan	6	2.6×10^6	4.8×10^5	1.6×10^7	1.1×10^6	
	Tecozautila	8	1.3	ND	19.5	5.9	

Note: GM, geometric mean; SD, standard deviation; ND, not detected. Detection limit, <1 Colony Forming Unit (CFU).

DISCUSSION

Clean water and sanitation are part of the 2030 Agenda for Sustainable Development. We gathered evidence that, in the agricultural area studied where wastewater is used for irrigation, there is no guarantee of access to clean water although the latter comprises a sustainable development goal and a human right for living under safe environmental conditions (United Nations 2015).

Physicochemical parameters for household water can be compared with Lesser-Carrillo *et al.* (2011), who measured TDS from supply sources showing similar values. In both studies, the Maximum Permissible Limits (MPL) of NOM-127-SSA1-1994 (DOF 2000) for TDS are exceeded (MPL = $1,000 \text{ mg L}^{-1}$). Other parameters included in this regulation are pH and turbidity; in our study, pH was 7.4, which met the MPL (between 6.5 and 8.5), which is similar to that reported by Lesser-Carrillo *et al.* (2011). Turbidity in Tula was 15 NTU, above the MPL of 5 NTU. Temperature and EC were also similar to those reported by Lesser-Carrillo *et al.* (2011) ($18.7 \text{ }^\circ\text{C}$, and values greater than $1,000 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$), but these are not included in NOM-127-SSA1-1994. Some of these parameters evidence the degradation of supply sources and household water.

According to the limits established by Mexican Official Regulation NOM-127-SSA1-1994 (DOF 2000), FC or *E. coli* must be absent in water for human use and consumption; however, we found 46 and 38% of household water samples with these indicators. In a previous study in the

area serving for pilot sampling, the results demonstrated other percentages of contamination in household water, including 25% of samples positive for FC and 8% of samples positive for *E. coli* (Contreras *et al.* 2017). Therefore, we can state that the water presented poor quality if we consider FIB, as well as confirmed potentially pathogenic *E. coli*. This outcome supports the idea that at least one-quarter of the water for human use and consumption in low- and middle-income households may be contaminated by fecal material, a proportion that is in agreement with the suggested level of Bain *et al.* (2014), a topic of inequity and environmental justice.

Household water quality is worse in Tula compared with Tlahuelilpan and Tecozautla (Figure 4). This result was consistent with our hypothesis that household water from areas irrigated with wastewater contained higher FIB counts, an issue that must be considered in areas with wastewater reuse for irrigation worldwide. However, the FIB load was similar in Tlahuelilpan and Tecozautla irrigated with wastewater and groundwater, respectively (Table 1). The similar pattern between these latter areas demonstrates that fecal contamination is common in the entire region, an issue to be considered by the Ministry of Health authorities. These data confirm that the influence of infiltrated wastewater flowing into the aquifer, which is well documented (Downs *et al.* 1999; Foster & Chilton 2004; Lesser-Carrillo *et al.* 2011), represents a threat to the inhabitants of the Mezquital Valley. The Mexican Regulation focuses on contaminants in wastewater discharged into national

water bodies (NOM-001-SEMARNAT-1996, DOF 1997), and a limit of 1,000 FC/100 mL is considered. FC loads of >1,000 CFU/100 mL were found and reported in this study (Table 2), supporting evidence that the Mezquital Valley aquifer received discharges of these above the allowed limits, which exerts a negative impact on recharge and water quality for irrigation. The Atotonilco-WWTP operation will change the conditions of the irrigation water, but it will take a long time to observe its benefits in irrigated soils and aquifers, which means an improvement in livelihoods among the farmers in the Mezquital Valley. This research serves a baseline for observing such an improvement.

Currently, wastewater for irrigation is not safe: bacterial counts were very high, above 7 logs of FC and *E. coli*, and between four and six orders-of-magnitude for FE (Table 2). During the pilot sampling for irrigation wastewater, geometric means of CFU/100 mL of 1.13×10^7 , 7.65×10^5 , and 2×10^6 for FC, FE, and *E. coli* were enumerated, while geometric mean counts of groundwater for irrigation were FC = 2.63, FE = 1.57, and *E. coli* = 6.44 CFU/100 mL, as reported in the pilot sampling (Contreras *et al.* 2017). Counts were similar in the pilot study as well as in the reported sampling campaigns. Our findings support what has been reported in other studies, in which very high values of FIB have been observed (Chávez *et al.* 2011; Fonseca-Salazar *et al.* 2016). According to World Organization Health (WHO) recommendations, wastewater for irrigation must be below 1,000 *E. coli* per 100 mL (WHO 2006), thus representing a threat for the inhabitants of the Mezquital Valley.

Due to that household water samples were collected at the point of use, it is difficult to follow the source of contamination, and the comparison was not sufficient among areas that irrigate with different types of water. Therefore, we consider that the fecal contamination that occurred in household water can be multifactorial.

Of the three areas, household water quality was worst in Tula. Currently, it should be irrigated with treated water from the Atotonilco-WWTP. However, the Plant was not operating when sampling was carried out, and irrigation was still performed with wastewater. Exposure to wastewater could be affecting household water quality, along with the lack of chlorination. In addition, it is necessary to

consider that Tula is the most urbanized of the three areas and it is immersed within an industrial area with a petrochemical plant and several cement industries. It is probable that there is a negative influence on water quality and a worse environmental health state due to a higher number of inhabitants (109,093 inhabitants versus 37,674 in Tecozautla; INEGI 2015) because a higher amount of local sewage is generated.

In contrast, water quality did not present a significant difference between Tlahuelilpan and Tecozautla, in contrast with our initial prediction. This pattern has been already found and was reported by Falkenberg and collaborators (2018), who also worked in agricultural areas irrigated with different water types (wastewater, surface water, and groundwater as control). These authors did not find a significant difference in *E. coli* counts in any of the areas. Tlahuelilpan and Tecozautla are more agriculturally oriented than Tula. The number of inhabitants is lower in Tlahuelilpan than in Tecozautla (19,389; INEGI 2015), which we suggest contributes to the better water quality recorded in Tlahuelilpan. Additionally, our records indicated higher concentrations of chlorine, which could influence the reduction of microorganism counts.

Tecozautla is a rural area that has more limited health and sanitation services and, in general, more precarious conditions. Its inhabitants ingest the household water, a situation representing a risk since it is contaminated with fecal material and *E. coli*. The inhabitants from Tula and Tlahuelilpan consume bottled water, of unknown origin and quality; therefore, it would be necessary to evaluate the level of fecal contamination in the bottled water.

According to our field data, low levels of residual chlorine were recorded in household water, chlorine is the local primary disinfection treatment for water supplied for human use and consumption. In Mexico, NOM-127-SSA1-1994 establishes a concentration between 0.2 and 1.5 mg L^{-1} as an acceptable interval for residual chlorine in household water (DOF 2000). Unfortunately, we found lower levels of residual chlorine in household water samples (Min–Max: 0–0.96 and a mean of 0.14 mg L^{-1}). We think that the high bacterial counts recorded in household water occurred due to the lack of chlorination (Figure 3). It is possible that there is not an appropriate system of disinfection in any of the study areas. Thus, bacteria and other

microorganisms are not eliminated and can be ingested by the inhabitants of these areas.

Another factor that exerted an effect on water quality was storage, which is associated with intermittent water service. The three areas present a non-continuous (intermittent) water distribution service (denominated *tandeo*), and a partial supply of water occurs in low- and middle-income countries, as described by Brown *et al.* (2013). Storage is a procedure that persons require when the water supply is limited; water is stored during variable periods and, in general, under non-controlled conditions (uncovered storage recipients); as a consequence, bacterial regrowth can occur (Falkenberg *et al.* 2018).

The presence of animals is important in the study areas because nearly 80% of households have pets or farm animals, which can contribute to fecal contamination. According to Gerba (2015), the FC load is different in animal feces, for example, ducks can excrete up to 3.3×10^7 CFU/g feces. On the other hand, a high proportion of solid wastes (garbage) on the floor of households (75%) and surroundings at the time of our visit was observed, an indicator of deficient cleanliness. Clean hands were observed in 86% of persons who gave us access to their household. Falkenberg *et al.* (2018) attributed a mitigation effect to good practices of hygiene and good hand-washing behavior because of their function as barriers that control waterborne diseases. The authors suggest that hands comprise a contamination pathway due to their contact with water. Therefore, hand washing and hygiene are fundamental.

CONCLUSION

General conditions that do not guarantee safe water and sanitation were observed, including not meeting NOM-127-SSA1-1994, insufficient chlorination levels, intermittent water service, and poor intrahousehold water-management practices. Appropriate provision from supply sources, adequate disinfection of drinking water, and better sanitation measures, along with integrative programs on sanitation and hygiene as well as community education, would be strategies for reducing the consequences of contaminated water. These proposals would aid in improving water quality in the studied areas and

are strategies that would enhance water and living conditions by reducing waterborne diseases. A definite recommendation lies in the enhancement of the chlorination system and the avoidance of a shortage of water supply or storage under controlled conditions. In the household, individuals should cover recipients in case of water storage and disinfect this water before human consumption.

Moreover, we strongly recommend improving wastewater quality prior to its reuse in the Mezquital Valley, which receives inadequate water quality. This situation may improve over time through the operation of the Atotonilco-WWTP in the State of Hidalgo, a process that should be monitored to follow the changing conditions. As noted, improvement should be observed over time. Our prediction is that improvement will not be observed immediately, in that there is an accumulation of organic matter, microorganisms, and chemicals in the soil, in sediments, and in the irrigation canals, as well as in the different soil layers through which the water infiltrates. Finally, it is necessary to know the risk for humans because water contains high bacterial densities and the potential presence of pathogens. A real improvement of water quality, discharge control, and safe reuse oriented toward risk reduction, in addition to the previously mentioned elements, will guarantee access to safe water and access to sanitation services and hygiene. This should represent an improvement in the area that could contribute toward Sustainable Development Goal number 6 when reusing wastewater for irrigation and related to clean water use in the area. The Mezquital Valley is a reference place for water reuse practices related to public health issues, due to its dimensions and period of water reuse can be considered as a natural laboratory. The environmental health conditions in the Mezquital Valley represent a topic of interest for the World Health Organization for its update of the Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta, and Greywater from 2006, in that water reuse is and will become a common practice worldwide.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Posgrado en Ciencias Biológicas of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) for

the development of the postgraduate studies of NV-S in its program. We appreciate grant number 449352 awarded by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología to support the graduate studies of NV-S. Finally, we thank the persons and authorities of Hidalgo State for the permits and facilities to carry out this study.

FUNDING

Financial support for the study design, data collection, and field work was provided by Project ‘Prevalencia de enfermedades gastrointestinales y presencia de multidrogoresistencia en comunidades expuestas al reúso de agua residual en el Valle del Mezquital, Hidalgo’ (PCNPN2014-14-247779), PI Dr Horacio Riojas-Rodríguez, Instituto Nacional de Salud Pública, México.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

All relevant data are included in the paper or its Supplementary Information.

REFERENCES

- APHA-AWWA & WEF 2005 *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st edn. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC, pp. 9–63.
- Asano, T. 2005 Urban water recycling. *Water Science and Technology* **51** (8), 83–89.
- Bain, R., Cronk, R., Wright, J., Yang, H., Slaymaker, T. & Bartram, J. 2014 Fecal contamination of drinking-water in low- and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Medicine* **11** (5), e1001644. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001644>.
- Brown, J., Hien, V. T., McMahan, L., Jenkins, M. W., Thie, L., Liang, K., Printy, E. & Sobsey, M. D. 2013 Relative benefits of on-plot water supply over other ‘improved’ sources in rural Vietnam. *Tropical Medicine and International Health* **18** (1), 65–74. <https://doi.org/10.1111/tmi.12010>.
- Chávez, A., Maya, C., Gibson, R. & Jiménez, B. 2011 The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution* **159** (5), 1354–1362. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.01.008>.
- Contreras, J. D., Meza, R., Siebe, C., Rodríguez-Dozal, S., López-Vidal, Y. A., Castillo-Rojas, G., Amieva, R. I., Solano-Gálvez, S. G., Mazari-Hiriart, M., Silva-Magaña, M. A., Vázquez-Salvador, N., Rosas Pérez, I., Martínez Romero, L., Salinas Cortez, E., Riojas-Rodríguez, H. & Eisenberg, J. N. S. 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. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.058>.
- Dashti, A. A., Jadaon, M. M., Abdulsamad, A. M. & Dashti, H. M. 2009 Heat treatment of bacteria: a simple method of DNA extraction for molecular techniques. *Kuwait Medical Journal* **41** (2), 117–122.
- Dirección General de Epidemiología 2018 *Boletín Epidemiológico*. (*Epidemiological Bulletin*). Available from: <https://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-231750/> (accessed 2 July 2018).
- DOF 1997 *NOM-001-SEMARNAT-1996 Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales* (*That Establishes the Maximum Permissible Limits of Contaminants in Wastewater Discharges to National Water Bodies*). Diario Oficial de la Federación, Mexico.
- DOF 2000 *Modificación A la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización* (*Modification of the Official Mexican Regulation NOM-127-SSA1-1994. Environmental Health. Water for Human use and Consumption. Permissible Limits of Quality and Treatments That Water Must Undergo for Its Purification*). Diario Oficial de la Federación, Mexico.
- Downs, T. J., Cifuentes-García, E. & Suffet, I. M. 1999 Risk screening for exposure to groundwater pollution in a wastewater irrigation district of the Mexico City region. *Environmental Health Perspectives* **107** (7), 553–561. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107553>.
- Falkenberg, T., Saxena, D. & Kistemann, T. 2018 Impact of wastewater-irrigation on in-household water contamination. A cohort study among urban farmers in Ahmedabad, India. *Science of the Total Environment* **659**, 988–996. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.117>.
- Fonseca-Salazar, M. A., Díaz-Ávalos, C., Castañón-Martínez, M. T., Tapia-Palacios, M. A. & Mazari-Hiriart, M. 2016 Microbial indicators, opportunistic bacteria, and pathogenic protozoa for monitoring urban wastewater reused for irrigation in the proximity of a megacity. *EcoHealth* **13** (4), 672–686. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1172-2>.
- Foster, S. S. D. & Chilton, P. J. 2004 Downstream of downtown: urban wastewater as groundwater recharge. *Hydrogeology Journal* **12** (1), 115–120. <https://doi.org/10.1007/s10040-003-0296-y>.

- Gerba, C. P. 2015 Indicator microorganism. In: *Environmental Microbiology*, 3rd edn (I. L. Pepper, C. P. Gerba & T. J. Gentry eds). Elsevier, San Diego, CA, pp. 551–579.
- Hales, S. 2019 Climate change, extreme rainfall events, drinking water and enteric disease. *Reviews on Environmental Health* **34** (1), 1–3. <https://doi.org/10.1515/reveh-2019-2001>.
- Heijnen, L. & Medema, G. 2006 Quantitative detection of *E. coli*, *E. coli* O157 and other Shiga toxin producing *E. coli* in water samples using a culture method combined with real-time PCR. *Journal of Water and Health* **4** (4), 487–498.
- INEGI 2015 *México en cifras. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (Mexico in Figures. National Institute of Statistics, Geography and Informatics)*. Available from: <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/> (Accessed 21 April 2019).
- Jiménez, B., Siebe, C. & Cifuentes, E. 2004 El reúso intencional y no intencional del agua en el Valle de Tula (Intentional and unintentional reuse of water in the Tula Valley). In: *El Agua en México Vista de la Academia* (B. Jiménez & L. Marín eds), 1st edn. Academia Mexicana de Ciencias, Ciudad de México, México, pp. 33–54.
- Lesser-Carrillo, L. E., Lesser-Illades, J. M., Arellano-Islas, S. & González-Posadas, D. 2011 Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del valle del Mezquital, México Central (Water balance and groundwater quality in the Mezquital Valley Aquifer, Central Mexico). *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* **28** (3), 323–336.
- Murphy, H. M., Prioleau, M. D., Borchardt, M. A. & Hynds, P. D. 2017 Review: epidemiological evidence of groundwater contribution to global enteric disease, 1948–2015. *Hydrogeology Journal* **25** (4), 981–1001. <https://doi.org/10.1007/s10040-017-1543-y>.
- Nas, B., Uyanik, S., Aygün, A., Dogan, S., Erul, G., Batuhan Nas, K., Turgut, S., Cop, M. & Dolu, T. 2020 Wastewater reuse in Turkey: from present status to future potential. *Water Supply* **20** (1), 73–82. <https://doi.org/10.2166/ws.2019.136>.
- Reznik, A., Dinar, A. & Hernández-Sancho, F. 2019 Treated wastewater reuse: an efficient and sustainable solution for water resource scarcity. *Environmental and Resource Economics* **74**, 1647–1685. <https://doi.org/10.1007/s10640-019-00383-2>.
- Salgot, M. & Folch, M. 2018 Wastewater treatment and water reuse. *Current Opinion in Environmental Science & Health* **2**, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.03.005>.
- SEMARNAT 2007 *Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Atotonilco (Atotonilco Wastewater Treatment Plant)*. Available from: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAPDS-19-11.pdf/> (Accessed 9 November 2017).
- United Nations 2015 *Transforming our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development*. Available from: <https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/21252030AgendaforSustainableDevelopmentweb.pdf/> (Accessed 8 September 2019).
- WHO 2006 *Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater*. Volume 2: Wastewater Use in Agriculture. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241546832_eng.pdf (Accessed 23 July 2018).

First received 2 April 2020; accepted in revised form 22 October 2020. Available online 10 November 2020

7. Resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* presente en agua del Valle del Mezquital, México

Manuscrito para ser enviado a Salud Pública de México
Factor de Impacto 2020: 2.028

Resumen

La resistencia antimicrobiana actualmente es una preocupación a nivel mundial y las matrices ambientales representan una fuente potencial de bacterias resistentes. Para el año 2050, 10 millones de casos serán fatales debido a esta causa. En esta investigación se realizaron tres muestreos de agua de tomas domiciliarias y agua para riego durante 2016 y 2017 en el Valle de Mezquital, Hidalgo. Se enumeró y determinó el perfil de resistencia de *Escherichia coli* productora de beta-lactamasas de espectro extendido. De acuerdo con el ensayo de MicroScan se observó resistencia a 14 antibióticos y el 3.4% de las muestras correspondió a *Citrobacter freundii*. Se presentó un perfil de resistencia similar entre el agua domiciliaria y el agua residual, lo que sugiere la transferencia de bacterias resistentes a fuentes de abastecimiento y al punto de uso ($p>0.05$). Tratar las aguas residuales, establecer estándares y evaluaciones de riesgo es esencial para mitigar los efectos negativos del uso desmedido de antibióticos.

1 **Título:** Resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* presente en agua del Valle del Mezquital,

2 México

3 **Title:** Antibiotics resistance of *Escherichia coli* present in water from the Mezquital Valley,

4 Mexico

5

6 **Autores**

7 M en C. Nallely Vázquez-Salvador^{1,2}, Dr. Gonzalo Castillo-Rojas³, Q.F.B. Rosa Isabel

8 Amieva-Fernández³, Dra. Yolanda López-Vidal³, Dra. Marisa Mazari-Hiriart^{2*}.

9 1. Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM

10 2. Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, Instituto de Ecología, UNAM

11 3. Laboratorio del Programa de Inmunología Molecular Microbiana. Depto. de Microbiología
12 y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM

13

14 *Autor de correspondencia

15 Dirección: Circuito Exterior s/n anexo al Jardín Botánico, Ciudad Universitaria, Ciudad de
16 México, C.P. 04510.

17 Teléfono: (+52) 55 5623 7715

18 Dirección electrónica: mazari@unam.mx

19

20

21

22

23

24

25

26 **Resumen**

27 **Objetivo:** Establecer el perfil fenotípico de la resistencia de *Escherichia coli* productora de
28 beta-lactamasas de espectro extendido en muestras de agua de tomas domiciliarias y de agua
29 para riego de dos áreas agrícolas del Valle del Mezquital, Hidalgo. **Material y método:** Tres
30 muestreos durante el ciclo anual 2016-2017. Se cuantificó *E. coli* en el medio CHROMagar
31 ESBL[®], posteriormente se aislaron colonias, se determinó su perfil de susceptibilidad
32 antimicrobiana mediante MicroScan y se identificaron. Se compararon los perfiles de la
33 resistencia en ambos tipos de agua mediante una t de Student. **Resultados:** Se observó
34 resistencia a 14 antibióticos y el 3.4% de las muestras correspondió a *Citrobacter freundii*. Se
35 observó un perfil similar de resistencia entre los aislamientos del agua domiciliaria y del agua
36 residual ($p>0.05$). **Conclusiones:** Se sugiere la transferencia de bacterias resistentes de agua
37 residual a las tomas domiciliarias, lo que suma a la evidencia de la problemática ambiental y
38 refuerza la necesidad de tratar eficientemente las aguas residuales. Establecer estándares y
39 hacer evaluaciones de riesgo es esencial para mitigar los efectos negativos al ambiente y a las
40 poblaciones animales y humanas.

41

42 **Palabras clave:** agua; resistencia a antibióticos; *Escherichia coli*; beta-lactamasas de espectro
43 extendido; ESBL

44

45

46

47

48

49

50

51 **Abstract**

52 **Objective:** Establish the phenotypic resistance profile of *Escherichia coli* producer of extended
53 spectrum beta-lactamases (ESBL) in household water and irrigation water from two
54 agricultural areas from the Mezquital Valley, Hidalgo. **Material and methods:** Three
55 sampling campaigns during the annual cycle 2016-17. It was quantified *E. coli* on the
56 CHROMagar ESBL[®] media, colonies were isolated, their identification and susceptibility
57 profile were determined by MicroScan, and they were identified. It was compared the
58 resistance in both water types by a Student's t-test. **Results:** Resistance to 14 antibiotics was
59 observed, 3.4% of samples corresponded to *Citrobacter freundii*. In both, the isolation of
60 household water and wastewater showed a similar resistance pattern ($p>0.05$). **Conclusions:**
61 The transference of resistant bacteria from wastewater towards supply sources and households
62 is suggested, which adding evidence to environmental issues and reinforcing the need to treat
63 wastewater appropriately. Guidelines and risk assessments are essential to mitigate the effects
64 negatives on environment and human and animal populations.

65

66 **Key words:** water; antibiotic resistance; *Escherichia coli*; extended spectrum beta-lactamases,
67 ESBL

68

69

70

71

72

73

74

75

76 **Introducción**

77 La resistencia antimicrobiana es un reto mundial que afecta a la salud pública, animal y
78 ambiental. Los antimicrobianos son una opción terapéutica para combatir enfermedades
79 infecciosas; sin embargo, los agentes patógenos han desarrollado mecanismos para evadir la
80 acción de estos compuestos. Aunque los virus, protozoarios y hongos también han desarrollado
81 resistencia, el problema es más grave para el caso de las bacterias¹.

82 En términos de salud pública, el estado de la resistencia es desalentador, de acuerdo
83 con la Organización Mundial de la Salud para el año 2050, 10 millones de muertes podrían ser
84 ocasionadas por la resistencia antimicrobiana². Para ese año se estiman costos de salud globales
85 hasta de \$1.2 billones de dólares, equivalentes a \$23,962 millones de pesos mexicanos³.
86 Además, en Estados Unidos cada año mueren 35, 000 personas a causa de la resistencia a
87 antibióticos y se adquieren más de 2.8 millones de infecciones⁴.

88 El aumento de la resistencia podría ser más alarmante en países con economías
89 emergentes, debido a la falta de control en la prescripción de antibióticos, por pacientes que no
90 completan sus tratamientos o por la automedicación, una práctica bastante común en países en
91 vías de desarrollo⁵. Seguramente este evento se ha agravado durante la emergencia sanitaria,
92 por las evidencias que describen un abuso en el uso de los antibióticos⁶. Esto sin duda impactará
93 negativamente con el incremento de bacterias resistentes a antibióticos (*Antibiotic Resistant*
94 *Bacteria*, ARB por sus siglas en inglés) en hospitales y en el ambiente. Además, el uso
95 desmedido que se da en otros sectores productivos como la ganadería y la agricultura empeora
96 el escenario y para enfrentarlo es necesario el enfoque de Una Salud o *One Health* en inglés,
97 una visión conjunta que involucra la relación entre salud humana, animal y ambiental¹.

98 El estudiar cómo ocurre la transferencia de ARB en diferentes matrices ambientales es
99 importante para prevenir su diseminación⁷. Una de las matrices que favorece la propagación
100 de la resistencia es el agua residual, ésta contiene farmacéuticos no metabolizados, genes de

101 resistencia y comunidades bacterianas que interactúan entre sí, lo que permite la selección de
102 bacterias resistentes y su reproducción⁸. A nivel global, el 80% de las aguas residuales son
103 vertidas directamente a los cuerpos de agua y en México sólo se trata el 40%, con una eficacia
104 cuestionable^{9,10}. Estas condiciones propician la descarga de ARB al ambiente a través de
105 desechos urbanos, hospitalarios, industriales y veterinarios, principalmente en países con
106 economías emergentes¹¹.

107 Al igual que las instalaciones hospitalarias, los sistemas acuáticos son reservorios de
108 bacterias resistentes a antibióticos, las cuales son cada vez más frecuentes en el ambiente^{12,13}.
109 Las ARB más comunes en cuerpos de agua son *Enterococcus* spp., *Aeromonas* spp.,
110 *Pseudomonas aeruginosa* y miembros del grupo de las *Enterobacteriaceae*, tales como:
111 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp. y *Citrobacter* spp^{11,14}. Las
112 enterobacterias tienen la capacidad de producir beta-lactamasas de espectro extendido o de
113 amplio espectro (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*, ESBL por sus siglas en inglés), enzimas
114 que les confieren resistencia a los beta-lactámicos¹⁵. Los brotes ocasionados por bacterias
115 productoras de ESBL se han reportado desde los años 80 y han sido reconocidas como uno de
116 los grupos de mayor relevancia clínica^{16,12}.

117 Las beta-lactamasas son capaces de hidrolizar compuestos como las penicilinas y
118 cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación¹⁴. Existen diferentes métodos clínicos
119 para su detección, los cuales se han empleado en muestras ambientales¹¹. Los métodos están
120 basados en la detección de la producción de ESBL y en la valoración de su resistencia a los
121 diversos grupos antimicrobianos. Valoración que puede realizarse mediante el empleo de
122 métodos comerciales, como los paneles de MicroScan, con los que realizan las pruebas de
123 susceptibilidad a antibióticos basadas en puntos de corte que abarcan el intervalo de interés
124 clínico¹⁴. Asimismo, permiten la identificación bacteriana con base en cambios de pH, la
125 utilización de diversos sustratos y el crecimiento en presencia de antimicrobianos¹⁷.

126 Dada la importancia de las ARB en el ambiente, el objetivo fue establecer el perfil
127 fenotípico de la resistencia de *Escherichia coli* productora de beta-lactamasas de espectro
128 extendido en muestras de agua de tomas domiciliarias y de agua para riego de dos áreas
129 agrícolas del Valle del Mezquital, Hidalgo. Un sistema altamente deteriorado en México, pues
130 recibe el agua residual generada en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México y a pesar
131 de ello es aprovechada en la producción agrícola¹⁸. Un perfil similar entre el agua de tomas
132 domiciliarias y el agua residual era esperado por el posible contacto entre ambos tipos de agua,
133 y como punto de comparación se realizaron mediciones en un área regada con agua subterránea.
134

135 **Métodos de campo**

136 *Muestreo*

137 Durante el periodo anual de 2016 a 2017 se realizaron tres muestreos de agua de tomas
138 domiciliarias, agua residual y agua subterránea en el Valle del Mezquital, Hidalgo. Un total de
139 105 muestras fueron colectadas y procesadas en el Laboratorio Nacional de Ciencias de la
140 Sostenibilidad del Instituto de Ecología, UNAM.

141 Respecto al agua de tomas domiciliarias, éstas fueron recolectadas en dos áreas: una
142 regada con agua residual y otra con agua subterránea. Se colectaron 20 muestras en la primera
143 y cuatro en la segunda, pero con el fin de igualar el número de muestras entre áreas se agregaron
144 15 domicilios en el tercer muestreo. El agua para riego incluyó agua residual de cuatro canales
145 diferentes y agua subterránea proveniente de tres pozos de extracción. Durante los tres
146 muestreos se visitaron los mismos domicilios, canales y pozos; no obstante, para el tercer
147 muestreo se perdió el acceso a dos domicilios y a un pozo.

148

149

150

151 *Enumeración de presuntivas Escherichia coli productoras de ESBL y preservación*

152 Todas las muestras de agua fueron analizadas por el método de filtración a través de
153 membrana¹⁹. Brevemente, se procesaron 100 mL de agua de tomas domiciliarias y de agua
154 subterránea. Se hicieron diluciones seriadas 1:10 del agua residual y se analizaron 10 mL de
155 cada dilución. El agua se filtró a través de membranas de ésteres mixtos de celulosa con un
156 poro de 0.45 µm (Millipore, Darmstadt, Alemania). Las membranas se transfirieron
157 asépticamente a cajas de Petri que contenían el medio de cultivo CHROMagar suplementado
158 con antibióticos (CHROMagar ESBL, París, Francia) y se incubaron a 37°C durante 18 horas.

159 Las colonias con morfología malva se consideraron *E. coli* ESBL presuntivas y los
160 conteos se expresaron en Unidades Formadoras de Colonia por cada 100 mL (UFC/100 mL).
161 Todas las muestras se analizaron por triplicado. De las muestras positivas a colonias malva,
162 estas se transfirieron a tubos individuales que contenían el medio líquido Luria Broth (Becton,
163 Dickinson, México), se incubaron a 37°C durante 18 a 24 horas y se preservaron con glicerol
164 al 50%, a -80°C.

165

166 *Pruebas de susceptibilidad*

167 Los aislados preservados con glicerol se descongelaron a temperatura ambiente y se sembraron
168 por segunda vez en el medio CHROMagar ESBL para verificar la morfología. Se descartaron
169 los aislados en las que no se corroboró la morfología malva. Un total de 59 aislados (28 de agua
170 de tomas domiciliarias y 31 de agua residual) se analizaron en la Facultad de Medicina de la
171 UNAM utilizando los paneles comerciales MicroScan Neg Combo Panel Type 68 (Siemens
172 Healthcare Diagnostics) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se incubó un aislado
173 por panel a 37°C durante 18 - 24 horas. Se registró como la concentración mínima inhibitoria
174 (CMI), la concentración antimicrobiana más baja que muestra inhibición del crecimiento.

175

176 *Perfil de resistencia e identificación*

177 La interpretación de los paneles se basó en la determinación de la concentración del
178 antimicrobiano que mostró inhibición del crecimiento. El perfil se clasificó como susceptible
179 cuando hubo inhibición del crecimiento bacteriano; susceptibilidad intermedia cuando hubo
180 crecimiento en la concentración baja e inhibición en una mayor concentración; y resistente
181 cuando se observó crecimiento en todas las concentraciones del antimicrobiano. La
182 identificación de los microorganismos se realizó con el programa Biotype Lookup en el Labpro
183 Information Manager, lo que permitió corroborar la identificación presuntiva en el medio
184 CHROMagar ESBL.

185

186 *Análisis de datos*

187 Para observar la similitud de los perfiles de resistencia a cada uno de los antibióticos en agua
188 de tomas domiciliarias y agua para riego se realizaron tres pruebas de t de Student en RStudio
189 Versión 1.3.1093.

190

191 **Resultados**

192 *Enumeración de Escherichia coli ESBL presuntivas*

193 En 25/105 (24%) de las muestras de agua se detectó la presencia de *E. coli* en el medio de
194 cultivo CHROMagar ESBL, obteniéndose un total de 62 colonias que fueron conservadas en
195 glicerol. Sin embargo, después de la descongelación sólo se recuperaron 59 (95%) aislados
196 correspondientes a 22 muestras (13 de agua de tomas domiciliarias y 9 de agua residual). No
197 hubo crecimiento de *E. coli* ESBL en las muestras de agua subterránea (Cuadro I). La densidad
198 de *E. coli* fue mayor en el agua de tomas domiciliarias correspondientes al área regada con
199 agua residual. A su vez, la densidad en el agua residual fue mayor hasta por cinco órdenes de
200 magnitud (Figura 1).

201 *Perfil de resistencia e identificación*

202 El 100% de los aislados presentó resistencia a ampicilina (AM); el 98.3% fue resistente a
203 cefazolina (CFZ), cefuroxima (CRM), cefotaxima (CFT), ceftriaxona (CAX); el 96.6% fue
204 resistente a cefepima (CPE); 84.7% resistente a tetraciclina (TE); 81.4% resistente a
205 trimetoprima-sulfametoxazol (T/S); 78% resistente a ceftazidima (CAZ); 69.5% a
206 ciprofloxacina (CP); 55.9% a tobramicina (TO); 54.2% a y levofloxacina (LVX); 47.5% a
207 ampicilina/sulbactam (A/S). En contraste, el 100% presentó susceptibilidad a ertapenem
208 (ETP), meropenem (MER) y tigeciclina (TGC); 96.6% a imipenem (IMP); 91.5% a amikacina
209 (AK), 67.8% a piperacilina/tazobactam (P/T) y el 47.5% a gentamicina (GM) (Cuadro II).

210 En agua de tomas domiciliarias y en agua residual se observó multidrogoresistencia, ya
211 que se detectaron bacterias resistentes a al menos tres clases de antibióticos diferentes²⁰. Las
212 CMI para cada antibiótico y las clases a las que pertenecen se especifican en el Cuadro II.

213 Por su parte, 57/59 (96.6%) de los aislados identificados por MicroScan *E. coli*,
214 mientras que el resto (2/59, 3.4%) se identificó como *Citrobacter freundii*, el cual fue aislado
215 en agua de un mismo domicilio durante los muestreos 1 y 2. Su perfil de resistencia resultó
216 similar al de *E. coli* (Figura 2). Cabe resaltar que en la toma domiciliaria en la que se detectó
217 *C. freundii* durante el segundo muestreo también se detectó *E. coli*. Se observó similitud entre
218 el perfil de *E. coli* productora de ESBL en agua de tomas domiciliarias y en agua residual
219 (Figura 2). Esta semejanza se reforzó con los resultados de las pruebas de t de Student, las
220 cuales sugieren medias similares de bacterias susceptibles, intermedias y resistentes en agua
221 residual y en agua de tomas domiciliarias (t=0.2 y p=0.83; t=0.22 y p=0.83; t=1.18 y p=0.24,
222 respectivamente).

223

224

225

226 **Discusión**

227 En el presente estudio se realizó la comparación del perfil de resistencia de *Escherichia coli*
228 productora de ESBL en agua de tomas domiciliarias y en agua para riego del Valle del
229 Mezquital. La presencia de bacterias resistentes a antibióticos se encontró en 25/105 (24%) de
230 las muestras, lo cual es preocupante. A pesar de que se observó una diferencia de hasta cinco
231 órdenes de magnitud respecto al agua residual, la presencia de *E. coli* productora de beta-
232 lactamasas en agua de tomas domiciliarias sugiere la mezcla de aguas residuales en las fuentes
233 de abastecimiento de la zona. Esta situación representa un riesgo potencial para la población,
234 ya que el agua de tomas domiciliarias es utilizada por los habitantes de la región en labores
235 domésticas y en algunos casos es ingerida (Mónica Bautista, comunicación personal, 12 de
236 mayo de 2017). La resistencia a antibióticos también fue evidenciada en agua para uso
237 doméstico en Pakistán, en la que se determinó la presencia de dos genes de resistencia en cinco
238 géneros bacterianos, incluido *Escherichia*²¹.

239 Como se esperaba, se determinaron entre dos y seis órdenes de magnitud de *E. coli*
240 productora de beta-lactamasas en agua residual y ausencia de éstas en agua subterránea. El
241 riego con agua residual representa un riesgo adicional para los agricultores, sus familias y
242 consumidores. Además de los agentes patógenos, las ARB también pueden ser transmitidas a
243 través del consumo de alimentos regados con agua contaminada, principalmente los que se
244 consumen crudos. Enterobacterias productoras de beta-lactamasas han sido aisladas en
245 alimentos frescos; por ejemplo, en ensaladas y en frutas²².

246 A través del uso de paneles de MicroScan se confirmó la presencia del 96.6% de *E.*
247 *coli*, por tal razón es posible mencionar que el medio de cultivo CHROMagar ESBL es
248 adecuado y útil para la detección de bacterias resistentes en muestras de agua. El resto de los
249 aislados se identificaron como *C. freundii*, que también pertenece al grupo de las
250 Enterobacterias.

251 Al igual que *E. coli* se localiza en el tracto intestinal con afectaciones de tipo urinario,
252 hepáticas, intestinales, respiratorias, entre otras; en el ambiente se puede encontrar en agua,
253 suelo y en alimentos²³.

254 La presencia de Enterobacterias multirresistentes fue observada en las muestras de
255 agua, lo que hace más crítica la situación. Se observó resistencia al grupo de las penicilinas, a
256 cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, tetraciclinas,
257 fluoroquinolonas, aminoglucósidos (TO) y a compuestos combinados como
258 trimetoprima/sulfametoxazol y ampicilina/sulbactam. A su vez los aislados presentaron
259 susceptibilidad a carbapenémicos, a glicilciclinas, a aminoglucósidos (amikacina y
260 gentamicina), a compuestos combinados como piperacilina/tazobactam. Éstas son opciones
261 terapéuticas con mayor efecto sobre las infecciones ocasionadas por *E. coli*¹⁶.

262 El 89% (25/28) de los aislados de agua de tomas domiciliarias corresponden a muestras
263 provenientes de la zona regada con agua residual, mientras que solo 3 aislados equivalentes al
264 12% pertenecen a la zona regada con agua subterránea. Además, no se encontraron diferencias
265 en las pruebas de t aplicadas entre los aislados susceptibles, intermedios o resistentes de los
266 diferentes tipos de agua ($p > 0.05$). Estos hechos junto con la semejanza observada en el perfil
267 de resistencia de *E. coli*, sugieren que el agua residual que se utiliza para el riego es una fuente
268 de la presencia de bacterias resistentes en el agua de tomas domiciliarias.

269 Cabe mencionar que la resistencia antimicrobiana ha sido estudiada en mayor
270 proporción a nivel médico, el desarrollo de métodos y criterios comparables entre el monitoreo
271 ambiental y el clínico es una meta por alcanzar¹¹. Por ejemplo, el Programa Universitario contra
272 la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA) ha definido la situación basal de la resistencia en los
273 hospitales de México. En general, las bacterias son resistentes a los beta-lactámicos y a
274 quinolonas; por su parte, los carbapenémicos aún son compuestos efectivos contra las
275 infecciones bacterianas; así como la amikacina y la combinación piperacilina/tazobactam²⁴.

276 Estos datos son consistentes con los resultados obtenidos en las muestras de agua. Además, el
277 patrón de susceptibilidad y resistencia observado es similar al reportado en un estudio en el
278 que se determinó la resistencia a antibióticos de *E. coli* en agua que se utiliza en sistemas de
279 riego de territorios palestinos²⁵.

280 En la actualidad, la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de Atotonilco
281 de Tula depura el 60% del agua residual que se envía desde la Ciudad de México, su operación
282 inició en diciembre de 2017¹⁸. Considerando que en las PTARs se puede propiciar el
283 enriquecimiento de la resistencia a antibióticos¹², es posible el aumento de ARB en el agua que
284 se utiliza tanto para actividades domésticas como para el riego agrícola en un futuro. Este
285 estudio servirá como base del estado previo a la circulación de agua tratada en el Valle del
286 Mezquital, y será necesario darle seguimiento.

287 La remoción de contaminantes emergentes como los antibióticos permitiría la
288 disminución de microorganismos resistentes en el ambiente¹¹. Aunque en los países con
289 economías emergentes los tratamientos a los que se somete el agua residual son deficientes, se
290 requiere su mejoramiento y su transformación para que el reúso del agua sea seguro. Además,
291 el monitoreo a largo plazo para identificar la aparición de cepas resistentes, límites permisibles
292 y evaluaciones de riesgo son fundamentales para hacer intervenciones oportunas en el manejo
293 del agua y de otras matrices como el suelo^{11,24}.

294 Un esfuerzo transdisciplinario enfocado en estrategias para Una sola Salud es el reto¹.
295 Se deben tomar medidas básicas como mejorar el diagnóstico de infecciones bacterianas y la
296 prescripción, así como su control con un esquema de vacunación eficiente, mejorar condiciones
297 de higiene y evitar el uso de antibióticos como promotores de crecimiento²³. Esto está
298 relacionado con aliviar las condiciones de pobreza e higiene de la población y propiciar el
299 derecho humano a un medio ambiente sano, pero lo que se observa es que la situación va en
300 detrimento de este principio.

301 **Conclusiones**

302 El uso de antibióticos para diferentes fines, la calidad deficiente de las aguas residuales en
303 países desarrollados, más lo complicado de los sistemas de agua superficial y subterránea dada
304 su interconexión, representan un problema complejo que es necesario atacar para salvaguardar
305 el bienestar de la población. Este estudio representa una contribución relevante en la generación
306 de datos que ayuden a entender el impacto de la resistencia antimicrobiana y su diseminación
307 en los sistemas acuáticos.

308 El trabajo se enfocó en la resistencia de *E. coli*, la cual se ha sugerido como candidata
309 para el monitoreo de la resistencia antimicrobiana en cuerpos de agua, debido a que está
310 caracterizada adecuadamente en términos de su resistencia y además es una bacteria indicadora
311 de contaminación fecal. Tanto *E. coli* como *C. freundii* presentaron multidrogoresistencia y el
312 perfil de fue semejante entre agua de tomas domiciliarias y agua residual. Los resultados
313 descritos en este artículo aplican de manera más precisa a las condiciones de países con
314 economías emergentes y forman parte de los retos actuales para alcanzar los Objetivos de
315 Desarrollo Sostenible. En especial en lo referente a agua de buena calidad y a un adecuado
316 saneamiento, lo que a su vez está relacionado con la salud pública y ambiental.

317

318 **Financiamiento**

319 Proyecto CONACYT “Prevalencia de enfermedades gastrointestinales y presencia de
320 multidrogoresistencia en comunidades expuestas al reúso de agua residual en el Valle del
321 Mezquital, Hidalgo” con clave PDCPN2014-14-247779. Responsable Dr. Horacio Riojas
322 Rodríguez, Instituto Nacional de Salud Pública.

323

324

325

326 **Agradecimientos**

327 Agradecemos al Biól. Miguel Silva Magaña y al M. en C. Marco Antonio Tapia Palacios del
328 LANCIS-IEUNAM por su apoyo en el trabajo de campo y en la selección de colonias. A la
329 Quím. Blanca Hernández Bautista del LANCIS-IEUNAM y a la M. en C. Leticia Martínez del
330 Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático-UNAM por su ayuda en la
331 interpretación de resultados.

332

333 **Referencias**

- 334 1. Collignon P, McEwen S. One Health—Its importance in helping to better control
335 antimicrobial resistance. *Trop Med Infect Dis* 29;4(1):22.
336 <https://doi.org/10.3390/tropicalmed4010022>
- 337 2. United Nations meeting on antimicrobial resistance. *Bull World Health Organ.*
338 2016;94(9):638–9. <https://dx.doi.org/10.2471/BLT.16.020916>.
- 339 3. Banco Mundial. Final report. Drug-resistant infections: A threat to our economic future.
340 2017. [https://documents1.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/final-](https://documents1.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/final-report.pdf)
341 [report.pdf](https://documents1.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/final-report.pdf)
- 342 4. Centers for Disease Control and Prevention. AR Threats Report. 2019.
343 <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>
- 344 5. Ayukekbong JA, Ntemgwa M, Atabe AN. The threat of antimicrobial resistance in
345 developing countries: causes and control strategies. *Antimicrob Resist Infect Control*
346 15;6(1):47. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0208-x>
- 347 6. Miranda C, Silva V, Capita R, Alonso-Calleja C, Igrejas G, Poeta P. Implications of
348 antibiotics use during the COVID-19 pandemic: present and future. *J Antimicrob*
349 *Chemother* 2020;75(12):3413–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa350>

- 350 7. Uluseker C, Kaster KM, Thorsen K, Basiry D, Shobana S, Jain M, et al. A review on
351 occurrence and spread of antibiotic resistance in wastewaters and in wastewater
352 treatment plants: mechanisms and perspectives. *Front Microbiol* 2021;12: 717809.
353 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.717809>
- 354 8. Hong PY, Julian TR, Pype ML, Jiang SC, Nelson KL, Graham D, et al. Reusing treated
355 wastewater: Consideration of the safety aspects associated with antibiotic-resistant
356 bacteria and antibiotic resistance genes. *Water* 2018;10.
357 <https://doi.org/10.3390/w10030244>.
- 358 9. Naciones Unidas. Agua. 2017. [https://www.un.org/es/sections/issues-](https://www.un.org/es/sections/issues-depth/water/index.html)
359 [depth/water/index.html](https://www.un.org/es/sections/issues-depth/water/index.html) (consultado 29/05/2020).
- 360 10. Consejo Consultivo del Agua. ONU: 80% de agua residual regresa al ecosistema sin
361 ser tratada 2017. [https://www.aguas.org.mx/sitio/blog/noticias/item/1162-onu-80-de-](https://www.aguas.org.mx/sitio/blog/noticias/item/1162-onu-80-de-agua-residual-regresa-al-ecosistema-sin-ser-tratada.html)
362 [agua-residual-regresa-al-ecosistema-sin-ser-tratada.html](https://www.aguas.org.mx/sitio/blog/noticias/item/1162-onu-80-de-agua-residual-regresa-al-ecosistema-sin-ser-tratada.html) (consultado 2/10/2020).
- 363 11. Berendonk TU, Manaia CM, Merlin C, Fatta-Kassinos D, Cytryn E, Walsh F, et al.
364 Tackling antibiotic resistance: The environmental framework. *Nat Rev Microbiol*
365 2015;13:310–7. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>.
- 366 12. Gekenidis M-T, Qi W, Hummerjohann J, Zbinden R, Walsh F, Drissner D. Antibiotic-
367 resistant indicator bacteria in irrigation water: High prevalence of extended-spectrum
368 beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. *PLoS ONE* 2018;13:e0207857.
369 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207857>.
- 370 13. Amarasiri M, Sano D, Suzuki S. Understanding human health risks caused by antibiotic
371 resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments:
372 Current knowledge and questions to be answered. *Crit Rev Environ Sci Technol*
373 2020;50:2016–59. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1692611>.

- 374 14. Sanganyado E, Gwenzi W. Antibiotic resistance in drinking water systems:
375 Occurrence, removal, and human health risks. *Sci Total Environ* 2019;669:785–97.
376 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.162>.
- 377 15. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: A Clinical Update. *Clin*
378 *Microbiol Rev* 2005;18:657–86. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>.
- 379 16. García-Hernández AM, García-Vázquez E, Hernández-Torres A, Ruiz J, Yagüe G,
380 Herrero JA, et al. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de
381 espectro extendido (BLEE): Significación clínica y perspectivas actuales. *Soc Española*
382 *Quimioter* 2011;24:57–66.
- 383 17. Gobernado M, López-Hontangas JL. Identificación bacteriana. *Enferm Infecc*
384 *Microbiol Clin* 2003;21:54–60.
- 385 18. Chamizo-Checa S, Otazo-Sánchez E, Gordillo-Martínez A, Suárez-Sánchez J,
386 González-Ramírez C, Muñoz-Nava H. Megacity wastewater poured into a nearby
387 basin: Looking for sustainable scenarios in a case study. *Water* 2020;12:824.
388 <https://doi.org/10.3390/w12030824>.
- 389 19. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association
390 (AWWA) WEF (WEF). Standard methods for the examination of water and
391 wastewater. 21ed., Washington, D.C.: Centennial Edition; 2005, p. 9–63.
- 392 20. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al.
393 Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An
394 international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance.
395 *Clin Microbiol Infect* 2012;18:268–81. [https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-](https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.g)
396 [0691.2011.03570.x.g](https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.g)
- 397 21. Samrta ZQ, Naseem M, Khan SJ, Dar N, Athar MA. PCR Targeting of antibiotic
398 resistant bacteria in public drinking water of Lahore Metropolitan, Pakistan. *Biomed*

399 Environ Sci 2009;22:458–63. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0895->
400 [3988\(10\)60002-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0895-3988(10)60002-5).

401 22. Nüesch-Inderbinen M, Zurfluh K, Peterhans S, Hächler H, Htephan R. Assessment of
402 the prevalence of extended-spectrum β -Lactamase-producing Enterobacteriaceae in
403 ready-to-eat salads, fresh-cut fruit, and sprouts from the Swiss market. *J Food Prot*
404 2015;78:1178–81. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-018>.

405 23. Liu LH, Wang NY, Wu AyJ, Lin CC, Lee CM, Liu CP. *Citrobacter freundii*
406 bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. *J Microbiol*
407 *Immunol Infect* 2018;51:565–72. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.08.016>.

408 24. PUCRA. Estado actual de la resistencia antimicrobiana en México. Ciudad de México,
409 México: 2019.

410 25. Craddock HA, Chattopadhyay S, Rjoub Y, Rosen D, Greif J, Lipchin C, et al.
411 Antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in greywater reuse systems and
412 pond water used for agricultural irrigation in the West Bank, Palestinian Territories.
413 *Environ Res* 2020;188:109777. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109777>.

414
415
416
417
418
419
420
421
422
423

424 **Cuadros y Figuras**

425

426 Cuadro I. Número de muestras con *E. coli* productoras de Beta-lactamasas de espectro
 427 extendido (ESBL) presuntivas, y número de aislados analizados para la determinación del
 428 perfil de resistencia.

429

Tipo de agua	Muestreo	<i>E. coli</i> ESBL presuntivas	Aislados analizados por MicroScan
Agua de tomas domiciliarias ^{AR}	1	5/20	9/9
	2	5/20	16/17
	3	0/18	0/0
Agua de tomas domiciliarias ^{AS}	1	1/4	1/1
	2	1/4	1/1
	3	1/19	1/1
Agua residual	1	4/4	20/20
	2	4/4	10/11
	3	4/4	1/2
Agua subterránea	1	0/3	0/0
	2	0/3	0/0
	3	0/2	0/0
		25/105	59/62

430 ^{AR} Área regada con agua residual; ^{AS} Área regada con agua subterránea

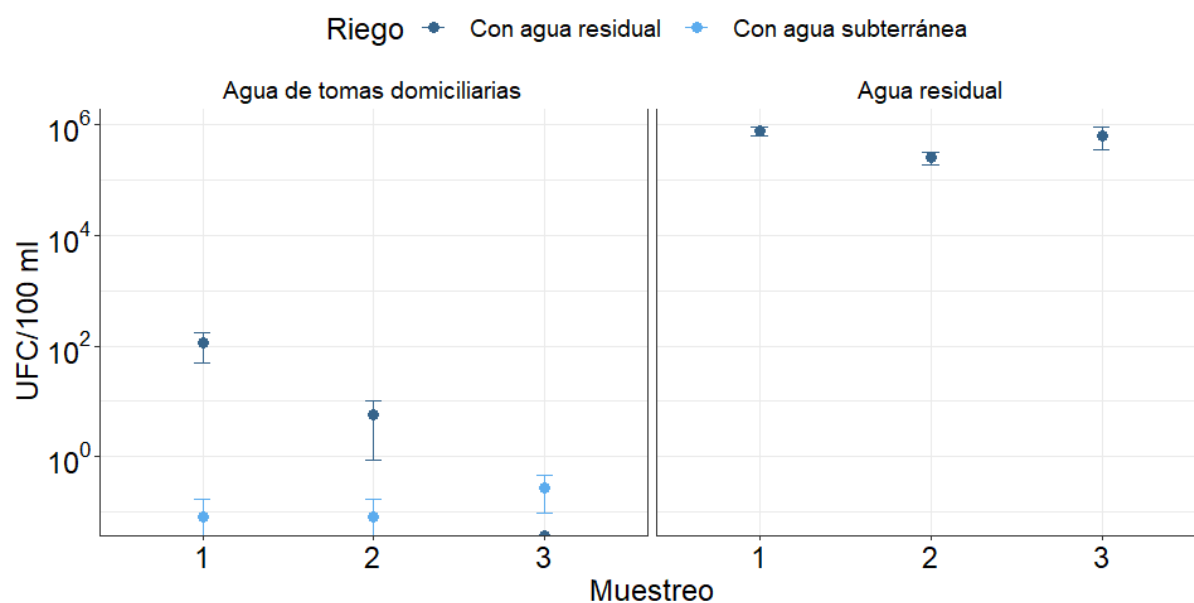
431 Cuadro II. Proporción de aislados resistentes (>) y susceptibles (≤) de *Escherichia coli* en
 432 muestras de agua. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). La clase a la que pertenece cada
 433 antibiótico se indica con superíndices.
 434

Antibiótico	Número de aislados (%)			CMI (µg/mL)
	Resistentes	Intermedios	Susceptibles	
Ampicilina (AM) ^P	59 (100)	0 (0)	0 (0)	>16
Cefazolina (CFZ) ^{C1G}	58 (98.3)	1 (1.7)	0 (0)	>4
Cefotaxima (CFT) ^{C3G}	58 (98.3)	0 (0)	1 (1.7)	>32
Cefuroxima (CRM) ^{C2G}	58 (98.3)	0 (0)	1 (1.7)	>16
Ceftriaxona (CAX) ^{C3G}	58 (98.3)	0 (0)	1 (1.7)	>32
Cefepima (CPE) ^{C4G}	57 (96.6)	1 (1.7)	1 (1.7)	>16
Tetraciclina (TE) ^{T1G}	50 (84.7)	0 (0)	9 (15.3)	>8
Trimetoprima- sulfametoxazol (T/S) ^{D/S}	48 (81.4)	0 (0)	11 (18.6)	>2/38
Ceftazidima (CAZ) ^{C3G}	46 (78)	4 (6.8)	9 (15.3)	>16
Ciprofloxacina (CP) ^F	41 (69.5)	3 (5.1)	15 (25.4)	>2
Tobramicina (TO) ^A	33 (55.9)	4 (6.8)	22 (37.3)	>8
Levofloxacina (LVX) ^F	32 (54.2)	9 (15.3)	18 (30.5)	>4
Ampicilina/ sulbactam (A/S) ^{P/IBL}	28 (47.5)	14 (27.3)	17 (28.8)	>8/4
Ertapenem (ETP) ^C	0 (0)	0 (0)	59 (100)	≤0.5
Meropenem (MER) ^C	0 (0)	0 (0)	59 (100)	≤1
Tigeciclina (TGC) ^G	0 (0)	0 (0)	59 (100)	≤2
Imipenem (IMP) ^C	1 (1.7)	1 (1.7)	57 (96.6)	≤1

Amikacina (AK) ^A	3 (5.1)	2 (3.4)	54 (91.5)	≤16
Piperacilina/tazobactam (P/T) ^{P/βL}	6 (10.2)	13 (22)	40 (67.8)	≤16
Gentamicina (GM) ^A	25 (42.4)	6 (10.2)	28 (47.5)	>8

435 ^P Penicilinas; ^{C1-4G} Cefalosporinas de primera a cuarta generación; ^{T1G} Tetraciclinas de primera
436 generación; ^{D/S} Diaminopirimidina / Sulfonamida; ^F Fluoroquinolonas; ^A Aminoglucósidos; ^{βL}
437 Inhibidor de Beta-Lactamasas; ^C Carbapenems; ^G Glicilciclinas

438
439
440
441
442



443
444

445 Figura 1. Densidades de *Escherichia coli* presuntiva, productora de beta-lactamasas de espectro
446 extendido en agua del Valle del Mezquital, México. Media geométrica (puntos) y error estándar
447 (líneas). Límite de detección= <1 UFC/100 mL.

8. Proyección de riesgo asociados con contaminación de patógenos en agua de uso doméstico e irrigación del Valle del Mezquital, una zona de reúso de agua en México Central.

Projecting risks associated with pathogen contamination in domestic and irrigation water from the Mezquital Valley, an area irrigated with reuse water in Central Mexico

Manuscrito para ser enviado a *Microbial Risk Analysis*

Factor de Impacto 2019: 2.000

Resumen

Las enfermedades que se transmiten a través del agua a pesar de ser prevenibles son un tema de preocupación mundial. Actualmente, 2 mil millones de personas carecen de agua segura y 8 de cada 10 personas viven en áreas rurales sin acceso al agua ni tratamiento de aguas residuales. Una región en donde el tratamiento ha sido una limitante es el Valle del Mezquital, la cual recibe el agua residual de la ciudad de México y es reutilizada para el riego de cultivos. Entre 2015 y 2017 se colectó agua domiciliaria y agua residual dentro del Valle. Se realizó una evaluación de riesgo para calcular la probabilidad de infección por *E. coli*, virus, y protozoarios en cada tipo de agua. En el agua de uso doméstico los riesgos anuales se estimaron en 0.74, 0.97 y 0.002 para *E. coli*, virus y protozoos respectivamente, aunque las muestras positivas a estos patógenos fueron bajas, las concentraciones fueron elevadas, particularmente para norovirus (10^4 copias/mL).

En aguas residuales, los riesgos anuales para los patógenos alcanzaron 1, mientras que un riesgo anual de 0.57 se calculó para enterovirus en aguas subterráneas, el único patógeno detectado en ese tipo de agua. El riesgo anual superó la recomendación de la USEPA de 0.0001. Estas estimaciones funcionan como una línea de base para mejorar la calidad del agua que circula en la región. El mejoramiento de la calidad del agua, la reducción de exposición a contaminantes y la alimentación sana son parte de los Objetivos del Desarrollo Sostenible, en particular el número 6 “Agua limpia y saneamiento”, el cual debe de ser tomado en cuenta para reducir los riesgos del agua contaminada.

1 **Title:** Projecting risks associated with pathogen contamination in domestic and irrigation water
2 from the Mezquital Valley, an area irrigated with reuse water in Central Mexico

3 **List of authors:** Nallely Vázquez-Salvador^{1,2}, Miguel Alt Silva-Magaña³, Jennifer Islas⁴,
4 Manuel Mora-López⁴, Iván Moreno Andrade⁵, Gerardo Suzán Azpiri⁶, Joe Eisenberg⁷ and
5 Marisa Mazari-Hiriart^{2*}

6

7 ¹ Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, Mexico City, Mexico

8 ² Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad (LANCIS) - Instituto de Ecología
9 UNAM, Mexico City, Mexico

10 ³ Posgrado en Ciencias Bioquímicas, UNAM, Mexico City, Mexico

11 ⁴ Facultad de Ciencias UNAM, Mexico City, Mexico

12 ⁵ Instituto de Ingeniería, UNAM, Unidad Juriquilla, Querétaro, Mexico

13 ⁶ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Mexico City, Mexico

14 ⁷ Department of Epidemiology, University of Michigan School of Public Health, Ann Arbor,
15 Michigan, USA

16

17 *Corresponding author: mazari@unam.mx

18

19

20

21

22

23

24

25 **Abstract:** The Mezquital Valley (Mexico) is a region with limited wastewater treatment, which
26 receives wastewater from Mexico City and is used for irrigation. Between 2015 and 2017,
27 before to operation of Atotonilco-WWTP, we collected domestic water and water for irrigation
28 within the Mezquital Valley. A risk assessment was performed to calculate the infection risk
29 for *E. coli*, viruses, and protozoa in each water type. For domestic water, annual risks were
30 estimated at 0.74, 0.97 and 0.002 for *E. coli*, viruses, and protozoa respectively. Although the
31 positive samples to these pathogens were few the concentrations were elevated, particularly for
32 norovirus (10^4 copies/mL). In wastewater risks for the pathogens reached 1, while an annual
33 risk of 0.57 was calculated for enterovirus in groundwater, the unique pathogen detected there.
34 The annual risk exceeded the USEPA recommendation of 0.0001. These estimations working
35 as a baseline to improving of water quality that circles in the region. The improvement is part
36 of United Nations Sustainable Development Goal 6 for “Clean water and sanitation”, which
37 must be considered to reduce the risks of contaminated water.

38

39 **Key words:** Waterborne pathogens, risk assessment, domestic water, irrigation water,
40 Mezquital Valley.

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50 **Introduction**

51 Water is a vehicle for the transmission of different pathogens; unsafe sources and insufficient
52 access to water, and inadequate hygiene and sanitation, are important contributors to water
53 contamination and ultimately waterborne diseases (Adelodun et al., 2021). Despite being
54 preventable diseases, waterborne diseases are still an important contributor to infant mortality
55 worldwide, and more recent evidence suggests that repeated infection can lead to chronic
56 sequel associated with malabsorption of nutrients (Müller and Krawinkel, 2005).
57 Approximately one-quarter of the population worldwide ingests water contaminated with
58 viruses, bacteria, and protozoa, largely since that 29 and 55% of the world's population does
59 not have access to safe drinking water or safe sanitation services, respectively (UN-WATER,
60 2020; Adelodun et al., 2021).

61 Over the past four decades, numerous studies have been estimated the risks caused by
62 pathogens associated with exposure to environmental contamination (e.g., Steyn et al., 2004;
63 Uprety et al., 2020). Many of these studies focus on risks associated with exposure to untreated
64 wastewater (Alegbeleye and Sant'Ana, 2021). This research focused on exposures associated
65 specifically with untreated wastewater used for irrigation in the Mezquital Valley as a case
66 study of a public health issue of significant importance worldwide (Leonel and Tonetti, 2021).

67 The Mezquital Valley, located in Central Mexico, is a large agricultural area for
68 Mexico, indeed, cropland irrigation is performed with wastewater. The region has historically
69 received untreated wastewater from the Mexico City Metropolitan Area (MCMA), a megacity
70 of almost 22 million inhabitants (INEGI, 2020). The Mezquital Valley has been recognized as
71 the most impaired zone in the country (Chamizo-Checa et al., 2020), since it is an environment
72 that is highly contaminated by wastewater discharges, putting its inhabitants at risk for
73 gastrointestinal diseases (Cifuentes et al., 2000; Contreras et al., 2017).

74 Recently, a Wastewater Treatment Plant (Atotonilco-WWTP) began operations to treat more
75 than 50% of MCMA wastewater with a planned treated capacity of 60% (SEMARNAT, 2007).

76 Much of the studies examining the risks associated with exposure to untreated
77 wastewater have been focusing on epidemiology studies that collect data on the health status
78 of the populations exposed to environmental contamination. Here we focus on an alternative
79 approach that measures contamination directly based on a Quantitative Microbial Risk
80 Assessment (QMRA) (Yillia et al., 2009; Soller et al., 2015). The QMRA serves to explore
81 exposure pathways, estimate health risk, identify critic elements and contamination zones in
82 aquatic systems (Hajare et al., 2021); specifically, by modeling the risk associated with
83 exposure to microbial pathogens in the environment (Mraz et al., 2021). The advantages of this
84 framework are diverse, it is easy to understand and interpret by stakeholders and it is better
85 than the monitoring based on indicators (Hajare et al., 2021).

86 The objective of this work was to determine the risk for infection due to exposure to
87 pathogens present in domestic and irrigation water in the Mezquital Valley using the QMRA
88 approach, providing Atotonilco-WWTP pre-operation risk information to serve as basic
89 information and support for future investigations.

90

91 **Methods**

92 *Study site*

93 The Mezquital Valley is distributed in three irrigation districts along Hidalgo state, in Central
94 Mexico, between the coordinates 19°45' and 20°40'N and 98°44' and 99°36' W. Its annual
95 temperature ranges between 16°C and 18°C, while seasonality is divided in two periods, the
96 rainy and the dry seasons, which occur between May and October and between November and
97 April, respectively (Lesser et al., 2018). Its semi-arid climate and low rainfall (ranging from
98 400-700 mm annually) alone is not suitable for agriculture;

99 this water deficit is address by the MCMA wastewater delivered to the region via a
100 sophisticated canal system. This water has made possible extensive agriculture of more than
101 90,000 hectares to cultivate forage, maize, alfalfa, and forbidden crops such as cilantro, lettuce,
102 or spinach (Durán-Álvarez et al., 2021); these later vegetables are commonly consumed raw
103 and are thereby important in terms of public health.

104

105 *Water supply in the Mezquital Valley*

106 The domestic supply is based on groundwater withdrawal, according to CONAGUA, 2020
107 (governmental agency of Mexico), there are 321 water sources in the Mezquital Valley, which
108 include wells, waterwheels, and springs. The last one, as a result of infiltration of wastewater
109 into aquifer, one of the most important, is the Cerro Colorado spring that supply 70,000
110 inhabitants approximately (Jiménez, 2008). The extraction of the aquifer is around 98
111 Mm³/year, and the 17% of this corresponds to human consumption. Before to achieve the
112 consumers, water is disinfected mainly by chlorination, but piped water not always is treated
113 (Lesser-Carrillo et al., 2011). Water supply is an intermittent service; therefore, people must
114 store water in plastic containers or cement structures known as piletas, cisterns and tanks called
115 tinacos, which are placed in the roof of households (Vázquez-Salvador et al., 2020).

116

117 *Sampling*

118 Four sampling campaigns were carried out as follows: a pilot study from May-June 2015 (rainy
119 season), followed by sampling between November 2016 and May 2017 (dry season), between
120 June and July 2017 (rainy season), and between October and December 2017 (dry season).
121 Fieldwork was conducted in three counties of the Mezquital Valley, including Tula,
122 Tlahuelilpan, and Tecozautla; focused on three water types: water used for domestic activities

123 (n= 109), and composite wastewater samples (n = 19) and groundwater (n = 14), both used for
124 irrigation (Figure 1, Table1).

125 The household samples were randomly selected from 880 households, followed in a
126 parallel epidemiology study (Vázquez-Salvador et al., 2020). A survey in the households to
127 observe some hygiene habits was applied before the sampling. Tap water was the point of
128 sampling as far as possible, but due to intermittent water service, samples from storage also
129 were taken. Wastewater was collected from open canals in Tula and Tlahuelilpan, whilst
130 groundwater was extracted from wells intended for irrigation in Tecozautla. A volume of 20 L
131 of domestic water, 30 L of groundwater, and 250 mL of wastewater was collected and were
132 placed in polypropylene sterile bottles. Samples were transferred to the Mexico City-based
133 UNAM, Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad (LANCIS), in coolers and
134 processed during the following 24-48 hours.

135

136 *Detection of pathogens*

137 *Escherichia coli*: Colonies of presumptive *E. coli* from CHROMagar *E. coli*® (Paris, France)
138 were counted, isolated, and preserved with glycerol 50% at -70°C until their use. Later the
139 isolates were confirmed by PCR (Vázquez-Salvador et al., 2020). Additionally, the presence-
140 absence of the four pathotypes *E. coli* was confirmed by multiplex PCR assay. The sequences
141 were as follow: for STEC ([5'-AGCGAAATAATTTATATGTG-3'], [5'-
142 TGATGATGGCAATTCAGTAT-3'], Toma et al., 2003); ETEC ([5'-
143 TCTTTCCCCTCTTTTAGTCAG-3'], [5'-ACAGGCAGGATTACAACAAAG-3'], Rodas et
144 al., 2009); EPEC ([5'- GGAAGTCAAATTCATGGGGGTAT-3'], [5'-
145 GGAATCAGACGCAGACTGGTAGT-3'], Vidal et al., 2004), and EAEC ([5'-
146 CTGGCGAAAGACTGTATCAT-3'], [5'-AAATGTATAGAAATCCGCTGTT-3'], Tobias
147 and Vutukuru 2012). The assay was performed in an Applied Biosystems Verifi™ 96-Well

148 Thermal Cycler (Applied Biosystems, Singapore). The work solution contained an initial
149 concentration of each primer at 1 μ M, and the amplification consisted of an initial activation
150 step at 95°C for 3 min, followed by 30 cycles of denaturing at 95°C for 30 s, annealing at 53°C
151 for 30 s, an extension at 72°C for 30 s, and a final elongation at 72°C for 5 min. For QMRA,
152 we assumed that 8% of presumptive *E. coli* is the pathogenic portion, similar to what is reported
153 by Abia et al., (2016) and Machdar et al., (2013).

154

155 *Virus and protozoa*

156 A concentration procedure took place from 20 L and 30 L samples of domestic water and
157 groundwater samples, respectively, following the ultrafiltration method (Polaczyk et al., 2008);
158 wastewater did not need concentration.

159

160 *Enterovirus y norovirus*: The extraction of RNA was performed based on the RNA viral
161 QIAamp mini kit QIAGEN. Quantification was carried out in duplicate in a OneStepPlus™
162 thermal cycler (Applied Biosystems, Singapore). To quantify the genome enterovirus,
163 synthesized complementary DNA (cDNA) utilizing High-Capacity cDNA Reverse
164 Transcription kit (Applied Biosystems) was performed according to the manufacturer's
165 instructions. We employed the primers and probe reported by Monpoeho et al. (2000) as
166 follows: Ev1 [5'-GA TTGTCACCATAAGCAGC-3'], and Ev2 [5'-
167 CCCCTGAATGCGGCTAATC-3'], and probe [5'- FAM-
168 CGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGT-BHQ]. Amplification conditions were 95°C for
169 20 s, 45 cycles at 95°C for 0.03 s, and at 60°C for 30 s employing the TaqMan Fast Universal
170 PCR Master Mix kit (2X), No AmpErase UNG™ (Applied Biosystems). Quantification of
171 norovirus was one-step by RT-qPCR, utilizing the Primerdesign kit (Premier Scientific, Ltd.,

172 Camberley, UK) according to the manufacturer's instructions. Amplification conditions were
173 55°C for 10 min, 95°C for 2 min, 50 cycles at 95°C for 10 s, and 60°C for 1 min.

174

175 *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia*: Oocysts and cysts of were counted by indirect
176 immunofluorescence microscopy in liquid phase using an Axiostar Plus fluorescence
177 microscope (Carl Zeiss, Gottingen, Germany).

178

179 *Risk assessment*

180 We quantified the risks associated with exposure to three groups of waterborne pathogens,
181 bacteria, viruses, and protozoa in water used for domestic activities and irrigation. We
182 conducted Monte Carlo simulations for each pathogen in the different water types and ran
183 10,000 random samplings. All iterations were executed employing RStudio version 1.3.1093
184 software. The annual risk of infection was selected as the endpoint for the models and was
185 compared with the USEPA recommendation of 10^{-4} (Regli et al., 1991).

186

187 *Exposure assessment*

188 Domestic and irrigation practices: Cooking, showering, brushing teeth, and washing dishes and
189 clothes are household activities in which individuals inadvertently ingest from 1 to 10 mL of
190 potentially contaminated water (Steyn et al., 2004; Van Abel et al., 2017). During irrigation,
191 between 10 and 15 mL of water are incidentally consumed (Shuval et al., 1997; Kouamé et al.,
192 2017). Exposure to each pathogen in the three water types (domestic, wastewater, and
193 groundwater) were determined based on the following equation:

194

$$195 \quad d_p = C_p \times V \quad (1)$$

196

197 Where: d_p is the dose received of pathogen p, C_p , is the concentration of pathogen (CFU/mL
198 for *E. coli*, copies/mL for virus, and oocysts, and cysts/mL for *C. parvum* and *G. lamblia*), and
199 V is the volume ingested (mL/day).

200

201 *Dose-response models*

202 The probability of risk associated with exposure to waterborne pathogens per day ($P_{(day)}$) was
203 calculated by a Beta-Poisson model for *E. coli* and norovirus (equation 2) (Teunis et al., 2008;
204 Machdar et al., 2013), and an exponential model for enterovirus, *C. parvum*, and *G. lamblia*
205 (equation 3) (Ryu and Abbaszadegan, 2008; Moazeni et al., 2017).

206

$$207 \quad P_{(day)} = 1 - (1 + d / \beta)^{-\alpha} \text{ or } P_{(day)} = 1 - \left(1 + d * \frac{\frac{1}{2\alpha-1}}{N50}\right)^{-\alpha} \quad (2)$$

$$208 \quad P_{(day)} = 1 - e^{-k(d)} \quad (3)$$

209

210 Where d is the dose calculated in Equation (1), and β , α , $N50$, and k are parameters for each
211 model that are unique to each pathogen.

212

213 *Risk characterization*

214 For each pathogen in the different water types, the annual risk (P_{annual}) was estimated using
215 the following equation (Ryu and Abbaszadegan 2008):

216

$$217 \quad P_{annual} = 1 - (1 - P_{day})^n \quad (4)$$

218

219 Where: P_{day} is calculated using equations (2), (3) and n is the frequency at which the activities
220 in question are carried out, i.e., n days per year.

221 The frequency of domestic activities (which are mainly performed by women) was assumed to
222 be between 260 and 300 days per year, without considering weekends or holidays. The
223 irrigation frequency was 50-80 days per year (Moazeni et al., 2017). The parameters used in
224 the model are shown on Table 2.

225

226 **Results**

227 *Pathogen detection*

228 The three groups of pathogens were present in domestic water and wastewater (Table 3), but
229 their concentrations were more elevated in wastewater. The concentration of pathogens was
230 lowest in the groundwater where we only identified enterovirus.

231

232 *E. coli pathotypes*

233 Pathotypes were detected in domestic water in 13/109 (11.9%). Most positive samples were
234 detected in the dry season, and only one was observed during the rainy season. In Tula,
235 Tlahuelilpan and Tecozautla 3/37, 2/37 and 8/35 samples were positive for pathotypes
236 respectively. Wastewater was positive in 21% of the samples (4/19). Positive samples were
237 detected during in Tula during the rainy season. We did not detect pathotypes in wastewater
238 from Tlahuelilpan neither groundwater. In general, the four pathotypes were detected in
239 domestic and wastewater, but the information is more detailed in Table 4.

240

241 *Viruses*

242 Norovirus was generally higher than enterovirus; their geometric means were 78.48, 3.71×10^4
243 copies/mL for domestic and wastewater respectively, norovirus was not detected in
244 groundwater. The geometric means for enterovirus were 0.04, 16.49 and 0.01 copies/mL for
245 domestic, wastewater and groundwater respectively. In domestic water, viruses were present

246 in a low number of samples without apparent differences between seasons and counties (9.2%
247 and 5.5% for enterovirus and norovirus respectively).

248

249 *Protozoa*

250 In household water, both *C. parvum* and *G. lamblia* were detected at a low concentration. The
251 overall concentrations for *C. parvum* and *G. lamblia* were 5.82×10^{-4} and 9.15×10^{-5} oocysts and
252 cysts/mL respectively, without apparent differences between seasons and counties, *C. parvum*
253 was absent in Tecozautla. In wastewater, *C. parvum* was present at a level of 5.73 oocysts/mL,
254 and 9.83 cysts/mL of *G. lamblia*. Any protozoa were measured in the groundwater.

255

256 *Predicted risks*

257 The risk associated with accidental water ingestion during domestic activities or irrigation is
258 presented as daily and annual probability. The disaggregated values are shown in Table 5.

259

260 *Domestic water*

261 First, from survey hygiene observations there are variables that can contribute to diminish the
262 associated risks, since, in households there were soap and water to maintain hygiene. More
263 than 85% of people had a good hygiene of hands, but bathrooms were unclean in 31% of
264 households and almost half were inside household. Additionally, storage occurred in nearly
265 20% of houses (Figure 2).

266 Independently of these, for *E. coli* presented in domestic water, the daily probability
267 was of 0.014 and increased to 0.74 in the year. The viruses presented the higher risk in
268 household water with a daily risk of 0.29 that rises 0.97 annually, the probabilities of norovirus
269 were higher than enterovirus. In contrast, protozoa have the minor risk with daily and annual

270 probabilities of 2.54×10^{-5} and 0.002 respectively. The details for areas and seasons are depicted
271 in Figure 3, most cases exceed the USEPA recommendation.

272

273 *Irrigation water*

274 The daily probabilities were 0.37, 0.78 and 0.88 for *E. coli*, viruses and protozoa presented in
275 wastewater respectively. Annual risk probabilities reached 1, except to *E. coli* in Tlahuelilpan
276 and the dry season due to their absence (Figure 3). In groundwater was estimated a daily risk
277 of *E. coli* of 4.33×10^{-5} and 0.003 as annual probability, however, it must be emphasized that
278 we did not detect any pathogen for *E. coli*. The risk was 0.02 for the daily and 0.57 for the
279 annual probability in the case of enterovirus given that norovirus was absent.

280

281 **Discussion**

282 In this work, the main results comprised the detection of bacteria, viruses, and protozoa in
283 domestic water and wastewater that is reused for irrigation in the Mezquital Valley in Central
284 Mexico for estimate associated risks. The environment, the farmers, and the inhabitants of the
285 Mezquital Valley are exposed to wastewater; moreover, the water supply sources, and the water
286 distributed to the population can deteriorate. On examining household water, we found that
287 contamination was low, except for norovirus for which, in 6/109 samples, we counted more
288 than 10^4 copies/mL. Notwithstanding this, most of the samples were negative for all three
289 pathogen groups. Nevertheless, the USEPA recommendation of 10^{-4} was exceeded in both
290 water types; nearly all cases reached the annual risk of 1 (Figure 3). High risk can occur due to
291 high frequency of domestic activities during which water can be accidentally ingested and the
292 elevated concentration of wastewater pathogens.

293

294 In domestic water, the contamination occurred similarly between the counties, probably
295 due to the unsafe water system that continues to characterize developing nations such as
296 Mexico. Uprety et al. (2020) indicated that household water, including drinking water and
297 water for washing, possessed higher risks than that of the supply sources, suggesting a
298 deterioration of sanitary conditions in the households. For these reasons, not only drinking
299 water, but also the water used in general in homes, should be taken into consideration for the
300 mitigation of risk.

301 In previous results from our group, Vázquez-Salvador et al. (2020), reported that the
302 water supply system in this area is affected by the lack of chlorination, an issue that is relevant
303 and should be accessible for reducing the risk associated with household water. Moreover, 11%
304 of households involved in this study mainly in Tecozautla county, drink water without
305 disinfection or boil it, only 2% consume boiled water. In Tula and Tlahuelilpan 87% of people
306 consume bottled water, with not enough information on the source or the quality. This
307 represents an important point for reducing the risk in households, in addition to uncontrolled
308 discharges after from the Atotonilco-WWTP, which allow water contamination sources.

309 Wastewater presented higher pathogen loads, and since irrigation in the Mezquital
310 Valley depends on Mexico City's wastewater and not on precipitation during the rainy season,
311 the frequency of irrigation increases, as does, in turn, the risk for inappropriate procedures. The
312 use of flooding irrigation practiced in the Mezquital Valley comprises an inefficient method
313 compared to drip or sprinkler irrigation. The latter requires less contact with persons and would
314 aid in transitioning to better sustainable water management, according to Durán-Álvarez et al.
315 (2021), but represent inaccessible technological costs for the local inhabitants.

316

317

318 Regarding the difference in water-type order of magnitude, there is a need to point out
319 wastewater possibly as the main transmission route for waterborne pathogens. The important
320 point here is to identify the mechanism by which pathogens reach persons not necessarily
321 engaged in agriculture, which could be possibly inadequate sewage services, aerosols, the
322 transport from crop fields to households, or through just lack of hygiene.

323 Our sampling was carried out during 2015 and 2017, before the Atotonilco-WWTP
324 operation, which was conducted gradually. According to Chamizo-Checa et al. (2020), the
325 WWTP operated at full capacity until January 2020. The treatment processes of Atotonilco-
326 WWTP were focused on reducing the microbial load and the remotion of suspended solids
327 (Durán-Álvarez et al., 2021). In this way, treated wastewater would be safe for public health.
328 The results reported herein represent a point of comparison for monitoring the quality of the
329 water circulating in the Mezquital Valley, and a reduction of waterborne pathogens and
330 waterborne diseases that would be expected with time.

331 Special attention is merited regarding the trend observed for pathogens. The absence of
332 *E. coli* pathotypes during the dry season is similar for bacteria analyzed by Abia et al. (2016).
333 The authors also reported negative results during this season. Possibly rainfall and higher
334 temperatures in the wet season favor an increased input of bacteria. Apparently, the associated
335 risks were higher in the rainy seasons, which is opposite to expected for norovirus, which is
336 well recognized with peaks during the winter (Patel et al., 2009). Enterovirus infections can
337 occur in summer and autumn (Wieczorek et al., 2015). Another point is viral detection in
338 groundwater, but with no *E. coli* or protozoa. This outcome can be explained because viruses
339 are the smallest pathogens, and their infiltration has been reported as into aquifers (Bradbury
340 et al., 2013), which have no retention capacity for these pathogens.

341

342 The risk calculated here was at demographic level, one case per 10,000 inhabitants as
343 a reference. The Mezquital Valley counts with a population of almost 500,000 inhabitants
344 (Lesser et al., 2018) and in the counties studied there are 172,184 people in total. Just in Tula
345 and Tlahuelilpan, both irrigated with wastewater there are 134,174 inhabitants (INEGI, 2020),
346 all of them potentially exposed to contaminants of wastewater. In accord with to Secretaría de
347 Salud, the agency responsible to health issues in Mexico, 1554 cases of gastrointestinal
348 diseases were reported in the three areas under study, during the period 2015 to 2017. Without
349 considering the unreported or asymptomatic cases. Therefore, it is confirmed the risk elevated
350 at local level and probably also at regional level.

351 Before concluding, it is necessary to mention some limitations of this study. First, it is
352 necessary to known in depth the effect of variables that can diminish or increase the calculated
353 risks, e.g., the mentioned in Figure 2, and environmental factors more the proportion of viruses
354 and protozoa infectious. For example, Van Abel et al. (2017) worked with virus under a
355 conservative assumption of 100%; however, this supposition can overestimate the risk.
356 Bradbury et al. (2013) conducted a study of virus detection by RT-qPCR in parallel with cell
357 culture and revealed that a large proportion of positive PCR tests were negative by culture.
358 Likewise, there is uncertainty about the quantification of *E. coli* pathogens, in that our
359 calculation was based on the presence/absence of these. We assumed 8% of *E. coli*
360 pathogenicity in household water and wastewater, this somewhat similar to the procedures of
361 Machdar et al. (2013) and Abia et al. (2016), Nonetheless, Uprety et al. (2020) suggest that this
362 is not the ideal way to calculate this, in that we could fall into an under-or overestimation in
363 terms of risk assessment.

364

365

366 Finally, the United Nation’s 2030 Agenda for Sustainable Development demands a new
367 water management approach fostering health and well-being which should focus on the
368 diminishment of health and environment risks. A central point when considering water
369 availability and climate change implications wastewater should be considered a valuable global
370 resource, especially in countries with emerging economies that must include wastewater in
371 their water-management plans in which adequate wastewater treatment should be a priority.

372

373 **Acknowledgments**

374 We thank Posgrado en Ciencias Biológicas for supporting the graduate studies of NV-S, and
375 likewise thank CONACYT for grant 449352 awarded to NV-S during the graduate studies. We
376 appreciate to CONACYT Project entitled “Prevalencia de enfermedades gastrointestinales y
377 presencia de multidrogoresistencia en comunidades expuestas al reúso de agua residual en el
378 Valle del Mezquital, Hidalgo”, number PDCPN2014-14-247779, headed by the Instituto
379 Nacional de Salud Pública de México (P.I. Dr. Horacio Riojas). In addition, we thank all
380 persons who allowed us to take water samples in their households and the Hidalgo Health and
381 Water Authorities for the permits granted.

382

383 **References**

- 384 Abia, Akebe Luther King, Eunice Ubomba-Jaswa, Bettina Genthe, and Maggy Ndombo
385 Benteke Momba. 2016. “Quantitative Microbial Risk Assessment (QMRA) shows
386 increased public health risk associated with exposure to river water under conditions of
387 riverbed sediment resuspension.” *Science of The Total Environment* 566–567: 1143–51.
388 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.155>.
- 389 Adelodun, Bashir, Fidelis Odedishemi Ajibade, Joshua O Ighalo, Golden Odey, Rahmat
390 Gbemisola Ibrahim, Kola Yusuff Kareem, Hashim Olalekan Bakare, et al. 2021.

391 “Assessment of socioeconomic inequality based on virus-contaminated water usage in
392 developing countries: A review.” *Environmental Research* 192: 110309.
393 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110309>.

394 Alegbeleye, Oluwadara O., and Sant’Ana Anderson. S. 2021. “Risks associated with the
395 consumption of irrigation water contaminated produce: on the role of quantitative
396 microbial risk assessment”. *Current Opinion in Food Science* 41: 88–98.
397 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.03.013>.

398 Bradbury, Kenneth R., Mark A. Borchardt, Madeline Gotkowitz, Susan K. Spencer, Jun Zhu,
399 and Randall J. Hunt. 2013. “Source and transport of human enteric viruses in deep
400 municipal water supply wells.” *Environmental Science & Technology* 47 (9): 4096–4103.
401 <https://doi.org/10.1021/es400509b>.

402 Cifuentes, Enrique, Gomez Mariana Blumenthal Ursula, Tellez-Rojo Martha María, Romieu
403 Isabelle, Ruiz-Palacios Guillermo, and Ruiz-Velazco Silvia. 2000. “Risk factors for
404 *Giardia intestinalis* infection in agricultural villages practicing wastewater irrigation in
405 Mexico”. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 62(3): 388–392.
406 <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2000.62.388>.

407 Chamizo-Checa, Silvia, Elena Otazo-Sánchez, Alberto Gordillo-Martínez, Juan Suárez-
408 Sánchez, César González-Ramírez, and Hipólito Muñoz-Nava. 2020. “Megacity
409 wastewater poured into a nearby basin: Looking for sustainable scenarios in a case study”.
410 *Water* 12(3):824. <https://doi.org/10.3390/w12030824>.

411 Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2013 “Actualización de la disponibilidad media
412 anual de agua en el acuífero del Valle del Mezquital (1310), estado de Hidalgo”.
413 https://sigagis.conagua.gob.mx/gas1/Edos_Acuiferos_18/hidalgo/DR_1310.pdf

414 Contreras, Jesse D., Rafael Meza, Christina Siebe, Sandra Rodríguez-Dozal, Yolanda A.
415 López-Vidal, Gonzalo Castillo-Rojas, Rosa I. Amieva, et al. 2017. “Health risks from

416 exposure to untreated wastewater used for irrigation in the Mezquital Valley, Mexico: A
417 25-year update.” *Water Research* 123: 834–50.
418 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.058>.

419 Durán-Álvarez, Juan C., Blanca Jiménez, Mario Rodríguez-Varela, and Blanca Prado. 2021.
420 “The Mezquital Valley from the perspective of the new Dryland Development Paradigm
421 (DDP): Present and future challenges to achieve sustainable development.” *Current*
422 *Opinion in Environmental Sustainability* 48: 139–50.
423 <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2021.01.005>.

424 Hajare, Rajashree, Pawan Labhassetwar, and Pranav Nagarnaik. 2021. “Evaluation of pathogen
425 risks using QMRA to explore wastewater reuse options: A case study from New Delhi in
426 India”. *Water Science and Technology* 83(3):543–55. [https://doi.org/](https://doi.org/10.2166/wst.2020.583)
427 [10.2166/wst.2020.583](https://doi.org/10.2166/wst.2020.583).

428 INEGI 2020. Censo de Población y Vivienda 2020 (2020 Population and housing census)
429 <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/default.html#Tabulados> (Accessed May
430 25, 2021).

431 Jiménez, Blanca. 2008. “Unplanned reuse of wastewater for human consumption:
432 the Tula Valley, Mexico”. In: *Water Reuse - An International Survey: Contrasts, issues*
433 *and needs around the world*. IWA Publishing, pp. 414–433.

434 Kouamé, Parfait K., Hung Nguyen-Viet, Kouassi Dongo, Christian Zurbrügg, Jean Biémi, and
435 Bassirou Bonfoh. 2017. “Microbiological risk infection assessment using QMRA in
436 agriculture systems in Côte d’Ivoire, West Africa.” *Environmental Monitoring and*
437 *Assessment* 189 (11): 587. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6279-6>.

438 Leonel, Lays Paulino, and Tonetti Adriano Luiz. 2021. “Wastewater reuse for crop irrigation:
439 Crop yield, soil and human health implications based on giardiasis epidemiology”.
440 *Science of The Total Environment* 775: 145833.

441 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145833>.

442 Lesser-Carrillo, Luis E., Juan M. Lesser-Illades, Santiago Arellano-Islas, and David
443 González-Posadas. 2011. “Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero
444 del Valle del Mezquital, México Central.” *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*
445 28(3):323–36.

446 Lesser, Luis E, Abrahan Mora, Cristina Moreau, Jürgen Mahlkecht, Arturo Hernández-
447 Antonio, Aldo I Ramírez, and Héctor Barrios-Piña. 2018. “Survey of 218 organic
448 contaminants in groundwater derived from the world’s largest untreated wastewater
449 irrigation system: Mezquital Valley, Mexico.” *Chemosphere* 198: 510–21.
450 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.154>.

451 Machdar, E., N.P. van der Steen, L. Raschid-Sally, and P.N.L. Lens. 2013. “Application of
452 Quantitative Microbial Risk Assessment to analyze the public health risk from poor
453 drinking water quality in a low-income area in Accra, Ghana.” *Science of The Total*
454 *Environment* 449: 134–42. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.048>.

455 Moazeni, Malihe, Mahnaz Nikaeen, Mahdi Hadi, Sharareh Moghim, Leili Mouhebat, Maryam
456 Hatamzadeh, and Akbar Hassanzadeh. 2017. “Estimation of health risks caused by
457 exposure to enteroviruses from agricultural application of wastewater effluents.” *Water*
458 *Research* 125: 104–13. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.028>.

459 Monpoeho, S., A. Dehée, B. Mignotte, L. Schwartzbrod, V. Marechal, J.-C. Nicolas, S.
460 Billaudel, and V. Ferré. 2000. “Quantification of enterovirus RNA in sludge samples
461 using single tube real-time RT-PCR.” *BioTechniques* 29 (1): 88–93.
462 <https://doi.org/10.2144/00291st03>.

463 Mraz, Alexis L., Innocent K. Tumwebaze, Shane R. McLoughlin, Megan E. McCarthy,
464 Matthew E. Verbyla, Nynke Hofstra, Joan B. Rose, and Heather M. Murphy. 2021. “Why
465 pathogens matter for meeting the united nations’ sustainable development goal 6 on safely

466 managed water and sanitation.” *Water Research* 189: 116591.
467 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116591>.

468 Muller, Olaf, and Michael Kranwinkel. 2005. “Malnutrition and health in developing
469 countries”. *Canadian Medical Association Journal* 173(3): 279–286.
470 <https://doi.org/10.1503/cmaj.050342>.

471 Patel, Manish M., Aron J. Hall, Jan Vinjé, and Umesh D. Parashar. 2009. “Noroviruses: A
472 comprehensive review.” *Journal of Clinical Virology* 44 (1): 1–8.
473 <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.10.009>.

474 Polaczyk, Amy L., Jothikumar Narayanan, Theresa L. Cromeans, Donghyun Hahn, Jacqueline
475 M. Roberts, James E. Amburgey, and Vincent R. Hill. 2008. “Ultrafiltration-based
476 techniques for rapid and simultaneous concentration of multiple microbe classes from
477 100-L tap water samples.” *Journal of Microbiological Methods* 73 (2): 92–99.
478 <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.02.014>.

479 Regli, Stig., Joan B. Rose, Charles N. Haas, and Charles P. Gerba. 1991. “Modeling the risk
480 from *Giardia* and viruses in drinking water”. *Journal American Water Works Association*
481 83(11): 76–84. <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.1991.tb07252.x>

482 Rodas, Claudia, Volga Iniguez, Firdausi Qadri, Gudrun Wiklund, A.-M. Svennerholm, and A.
483 Sjoling. 2009. “Development of multiplex PCR assays for detection of enterotoxigenic
484 *Escherichia coli* colonization factors and toxins.” *Journal of Clinical Microbiology* 47
485 (4): 1218–20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00316-09>.

486 Ryu, Hodon, and Morteza Abbaszadegan. 2008. “Long-term study of *Cryptosporidium* and
487 *Giardia* occurrence and quantitative microbial risk assessment in surface waters of
488 Arizona in the USA.” *Journal of Water and Health* 6 (2): 263–73.
489 <https://doi.org/10.2166/wh.2008.030>.

490 Secretaría de Salud - Boletín Epidemiológico (2018). (Health Secretary-Epidemiological

491 Bulletin). <https://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema->
492 [nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-231750/](https://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema-) (accessed
493 2 July 2018).

494 SEMARNAT. 2007 Planta de tratamiento de aguas residuales Atotonilco (Atotonilco
495 Waswater Treatment Plant)
496 <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAPDS-19->
497 [11.pdf/](http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAPDS-19-) (accessed 9 November 2017)

498 Shuval, H., Y. Lamper, and B. Fattal. 1997. “Development of a risk assessment approach for
499 evaluating wastewater reuse standards for agriculture.” *Water Science and Technology* 35
500 (11–12): 15–20. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00228-X](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00228-X).

501 Soller, Jeffrey, Timothy Bartrand, John Ravenscroft, Marirosa Molina, Gene Whelan, Mary
502 Schoen, and Nicholas Ashbolt. 2015. “Estimated human health risks from recreational
503 exposures to stormwater runoff containing animal faecal material.” *Environmental*
504 *Modelling & Software* 72: 21–32.
505 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2015.05.018>.

506 Steyn, M., P. Jagals, and B. Genthe. 2004. “Assessment of microbial infection risks posed by
507 ingestion of water during domestic water use and full-contact recreation in a Mid-
508 Southern African Region.” *Water Science and Technology* 50 (1): 301–8.
509 <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0071>.

510 Teunis, P.F.M., G.J. Medema, L. Kruidenier, and A.H. Havelaar. 1997. “Assessment of the
511 risk of infection by *Cryptosporidium* or *Giardia* in drinking water from a surface water
512 source.” *Water Research* 31 (6): 1333–46. <https://doi.org/10.1016/S0043->
513 [1354\(96\)00387-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00387-9).

514 Teunis, Peter F.M., Christine L. Moe, Pengbo Liu, Sara E. Miller, Lisa Lindesmith, Ralph S.
515 Baric, Jacques Le Pendu, and Rebecca L. Calderon. 2008. “Norwalk virus: How infectious

516 is it?” *Journal of Medical Virology* 80 (8): 1468–76. <https://doi.org/10.1002/jmv.21237>.

517 Tobias, Joshua, and Sreekanth-ReddyVutukuru. 2012. “Simple and rapid multiplex PCR for
518 identification of the main human diarrhegenic *Escherichia coli*.” *Microbiological*
519 *Research* 167 (9): 564–70. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.11.006>.

520 Toma, Claudia, Yan Lu, Naomi Higa, Noboru Nakasone, Isabel Chinen, Ariela Baschkier,
521 Marta Rivas, and Massaki Iwanaga. 2003. “Multiplex PCR assay for identification of
522 human diarrhegenic *Escherichia coli*.” *Journal of Clinical Microbiology* 41 (6): 2669–
523 71. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.6.2669>.

524 UN-Water. 2020. United Nations world water development report 2020: Water and climate
525 change. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000372985.locale=en>. Consultado:
526 4/01/2021

527 Uprety, Sital, Bipin Dangol, Pramina Nakarmi, Isha Dhakal, Samendra P Sherchan, Joanna L
528 Shisler, Antarpreet Jutla, Mohan Amarasiri, Daisuke Sano, and Thanh H Nguyen. 2020.
529 “Assessment of microbial risks by characterization of *Escherichia coli* presence to
530 analyze the public health risks from poor water quality in Nepal.” *International Journal*
531 *of Hygiene and Environmental Health* 226: 113484.
532 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113484>.

533 Van Abel, Nicole, Janet Mans, and Maureen B. Taylor. 2017. “Quantitative microbial risk
534 assessment to estimate the health risk from exposure to noroviruses in polluted surface
535 water in South Africa.” *Journal of Water and Health* 15 (6): 908–22.
536 <https://doi.org/10.2166/wh.2017.305>.

537 Vázquez-Salvador, Nallely, Miguel Atl Silva-Magaña, Marco Antonio Tapia-Palacios, Manuel
538 Mora-López, Eunice Félix-Arellano, Sandra Rodríguez-Dozál, Horacio Riojas-
539 Rodríguez, and Marisa Mazari-Hiriart. 2020. “Household water quality in areas irrigated
540 with wastewater in the Mezquital Valley, Mexico.” *Journal of Water and Health* 18 (6):

541 1098–1109. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.095>.

542 Vidal, R., Maricel Vidal, Rossana Lagos, Myron Levine, and Valeria Prado. 2004. “Multiplex
543 PCR for diagnosis of enteric infections associated with diarrheagenic *Escherichia coli*.”
544 *Journal of Clinical Microbiology* 42 (4): 1787–89.
545 <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1787-1789.2004>.

546 Wieczorek, Magdalena, Agnieszka Ciąćka, Agnieszka Witek, Łukasz Kuryk, and Anna Żuk-
547 Wasek. 2015. “Environmental surveillance of non-polio Enteroviruses in Poland, 2011.”
548 *Food and Environmental Virology* 7 (3): 224–31. [https://doi.org/10.1007/s12560-015-](https://doi.org/10.1007/s12560-015-9195-3)
549 [9195-3](https://doi.org/10.1007/s12560-015-9195-3).

550 Yillia, Paul T, Norbert Kreuzinger, Jude M Mathooko, and Ernest T Ndomahina. 2009.
551 “Microbial risk assessment with the OAEL approach at water abstractionp in rural Kenya.”
552 *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C* 34 (13): 790–98.
553 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pce.2009.07.002>.

554

555

556

557

558

559

560

561

562

563

564

565

566 **Tables and Figures**

567

568 Table 1. Number of water samples collected in the Mezquital Valley from 2015-2017. Pilot
 569 study conducted May- June 2015; Sampling 1 campaign November 2016-May 2017, Sampling
 570 2 campaign June-July 2017, and Sampling 3 campaign October- December 2017.

571

Water type	County	Rainy	Dry	Rainy	Dry	Total
		Pilot	Sampling 1	Sampling 2	Sampling 3	
Domestic water (n = 109)	Tula	8	10	10	9	37
	Tlahuelilpan	8	10	10	9	37
	Tecozautla	8	4	4	19	35
Wastewater (n = 19)	Tula	3	2	2	2	9
	Tlahuelilpan	4	2	2	2	10
Groundwater (n = 14).	Tecozautla	6	3	3	2	14

572

573

574

575

576

577

578

579 Table 2. Input parameters for risk assessment model.

580

Parameter	Unit	Value	Min	Max	Reference
Consumption during domestic activities	mL/day	-	1	10	Steyn et al., 2004
Consumption during wastewater irrigation	mL/day	-	10	15	Kouamé et al., 2017
Exposure frequency for domestic activities	days/year	-	260	355	This research
Exposure frequency for irrigation	days/year	-	50	80	Moazeni et al., 2017
Enterovirus k	-	0.00374	-	-	Moazeni et al., 2017
Norovirus α	-	0.04	-	-	Teunis et al., 2008
Norovirus β	-	0.055	-	-	Teunis et al., 2008
<i>E. coli</i> α	-	0.395	-	-	Abia et al., 2006
<i>E. coli</i> β	-	2.473	-	-	Abia et al., 2006
Pathogenic <i>E. coli</i> portion	%	8	-	-	Abia et al., 2006, Machdar et al., 2013
<i>C. parvum</i> k	-	35.7	-	-	Ryu and Abbaszadegan 2008
<i>G. lamblia</i> k	-	50.5	-	-	Ryu and Abbaszadegan 2008

581

582

583

584

585

586

587

588 Table 3. Proportion of positive samples with pathogens in the different types of water.

589

Water type	Presumptive <i>E. coli</i>	Pathotypes	Enterovirus	Norovirus	<i>C. parvum</i>	<i>G. lamblia</i>
Positive samples (%)						
Domestic	39/109 (35.78)	13/109 (11.93)	18/109 (16.51)	6/109 (5.5)	4/109 (3.67)	7/109 (6.42)
Wastewater	19/19 (100)	4/19 (21.05)	5/19 (26.32)	5/19 (26.32)	19/19 (100)	19/19 (100)
Groundwater	2/14 (14.29)	0/19 (0)	3/14 (21.43)	0/14 (0)	0/14 (0)	0/14 (0)

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

601 Table 4. Geometric means of presumptive *E. coli*, and pathotypes presence information in the
 602 three water types. STEC: Shiga toxin-producing *E. coli*, ETEC: Enterotoxigenic *E. coli*, EPEC:
 603 Enteropathogenic *E. coli*, EAEC: Enteroaggregative *E. coli*.
 604

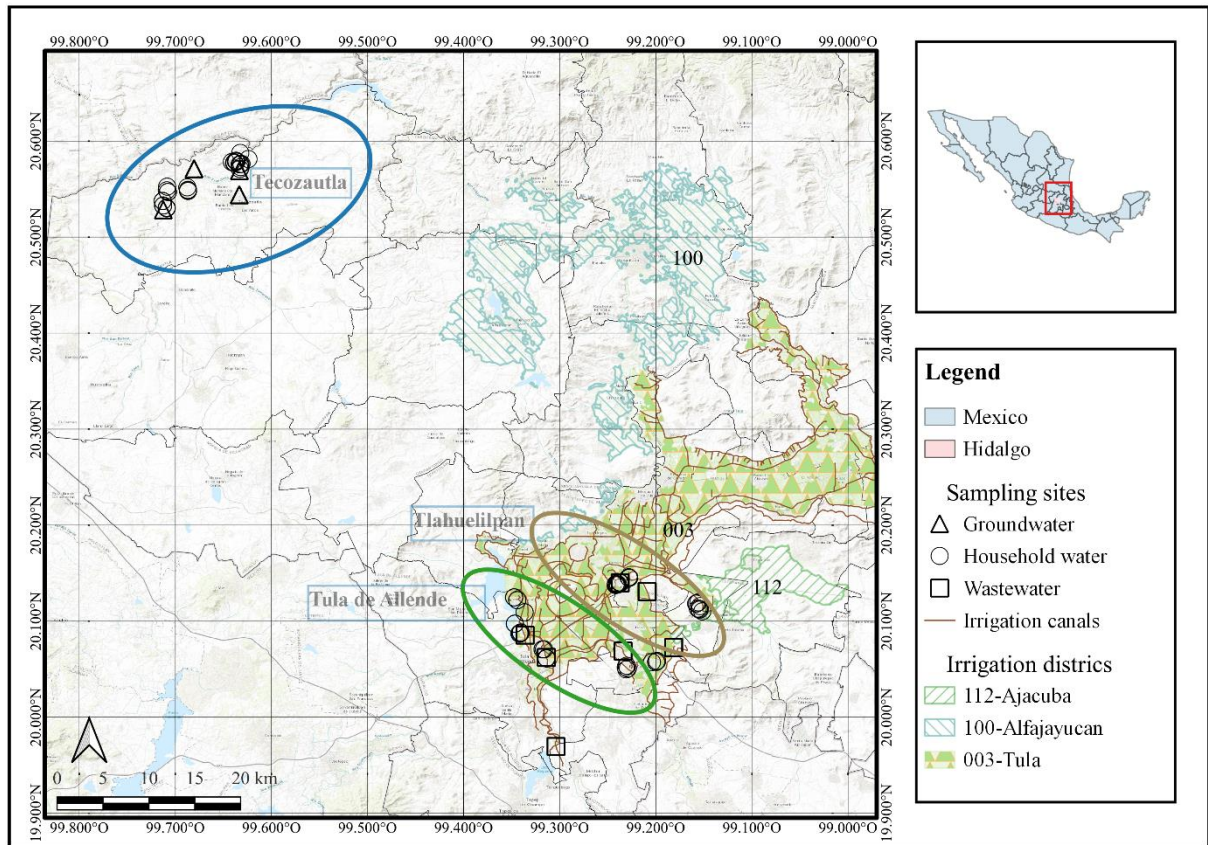
Water type	<i>E. coli</i> (CFU/100 mL)	8% for QMRA	Detected pathotypes (Number of isolated)	Season
Tula				
Domestic	9.78	0.78	STEC (3), ETEC (2)	Both
Wastewater	2.32x10 ⁴	1.86x10 ³	STEC (4), ETEC (2), EPEC (3), EAEC (2)	Rainy
Tlahuelilpan				
Domestic	0.04	0.003	EAEC (2)	Dry
Wastewater	2.97x10 ⁴	2.38x10 ³	Not detected	-
Tecoautla				
Domestic	0.11	0.009	STEC (1), ETEC (4), EPEC (6)	Dry
Groundwater	0.015	0.001	Not detected	-

605
 606
 607
 608
 609
 610
 611

612 Table 5. Daily and annual probabilities for each pathogen in the different types of water. No
 613 information for norovirus or protozoa is shown because they were not detected in the samples.
 614

Pathogen	Risk	Water type	Probability	Standard deviation	Standard error	Confidence interval 95%		
<i>E. coli</i>	Daily	Household water	1.4E-02	1.0E-02	1.0E-04	2.0E-04		
Enterovirus			3.9E-02	3.3E-02	3.3E-04	6.4E-04		
Norovirus			5.3E-01	2.3E-02	2.3E-04	4.6E-04		
<i>G. lamblia</i>			7.8E-03	6.1E-03	6.1E-05	1.2E-04		
<i>C. parvum</i>			2.3E-05	1.8E-05	2.0E-07	4.0E-07		
<i>E. coli</i>		Wastewater	3.7E-01	4.8E-02	4.8E-04	9.5E-04		
Enterovirus			9.4E-01	1.7E-01	1.7E-03	3.3E-03		
Norovirus			6.2E-01	1.7E-02	1.7E-04	3.2E-04		
<i>G. lamblia</i>			9.4E-01	1.6E-01	1.6E-03	3.1E-03		
<i>C. parvum</i>			8.2E-01	2.5E-01	2.5E-03	4.8E-03		
<i>E. coli</i>		Groundwater	4.3E-05	2.6E-05	2.6E-07	5.1E-07		
Enterovirus			1.6E-02	9.5E-03	9.5E-05	1.9E-04		
<i>E. coli</i>			Annual	Household water	7.4E-01	2.8E-01	2.8E-03	5.4E-03
Enterovirus					9.3E-01	1.7E-01	1.7E-03	3.4E-03
Norovirus					1.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00
<i>G. lamblia</i>	1.8E-03	1.4E-03			1.4E-05	2.8E-05		
<i>C. parvum</i>	6.4E-03	5.1E-03			5.1E-05	9.9E-05		
<i>E. coli</i>		Wastewater	1.0E+00	8.5E-05	8.5E-07	1.7E-06		
Enterovirus			1.0E+00	1.7E-02	1.7E-04	3.4E-04		
Norovirus			1.0E+00	1.9E-16	1.9E-18	3.6E-18		
<i>G. lamblia</i>			1.0E+00	2.3E-03	2.3E-05	4.5E-05		
<i>C. parvum</i>			1.0E+00	4.4E-02	4.4E-04	8.6E-04		
<i>E. coli</i>		Groundwater	2.8E-03	1.7E-03	1.7E-05	3.4E-05		
Enterovirus			5.7E-01	2.5E-01	2.5E-03	4.9E-03		

615

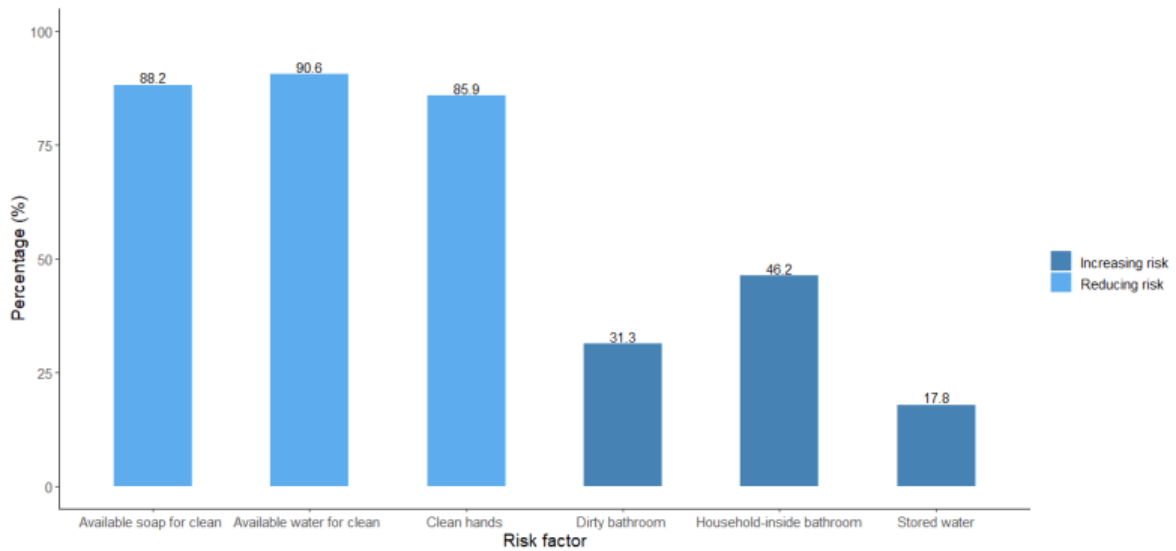


616

617

618 Figure 1. Sampling sites in the Mezquital Valley.

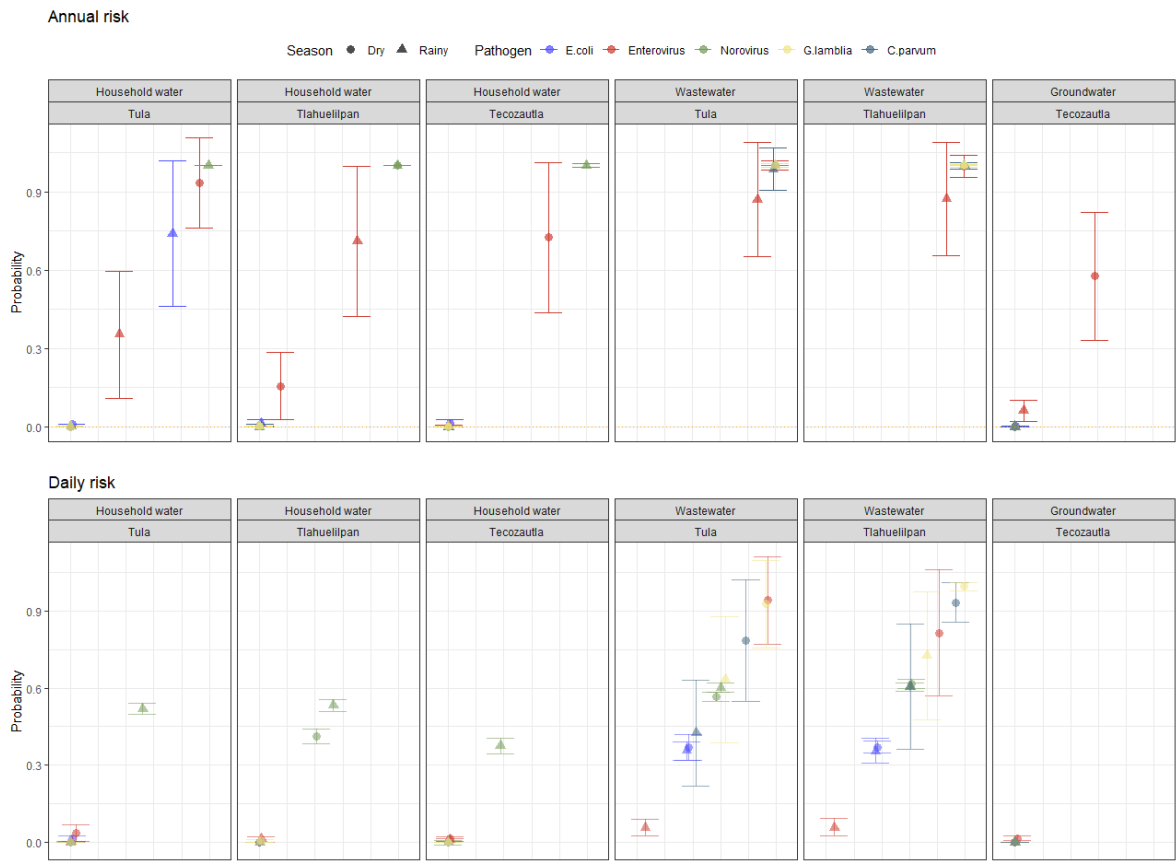
619



620

621

622 Figure 2. Percentages of observed variables of hygiene and storage in households.



623

624

625 Figure 3. Media probabilities and standard deviation for each pathogen according to season,
 626 water types and counties.

627

9. Discusión general

Este trabajo de investigación aborda la detección de bacterias indicadoras de contaminación fecal, con resistencia a antibióticos y patógenas, así como virus entéricos y protozoarios. Los resultados principales del monitoreo de estos agentes en agua del Valle del Mezquital, en el estado de Hidalgo, una zona que a nivel mundial presenta condiciones extremas, están enfocados a tomas domiciliarias con la intención de entender cuál es la exposición y el riesgo que esto representa para los pobladores de la región.

De los diferentes tipos de agua analizados, el agua subterránea presentó los niveles más bajos de contaminación microbiológica. Al igual que el agua subterránea de Marruecos, el agua analizada es apta para el riego agrícola. Los conteos de bacterias indicadoras determinados entre 0 y 19.5 UFC/100 mL están por debajo de los conteos del agua de pozos de este país africano (0 y 100 UFC/100 mL) (Yahya et al., 2017). En otro estudio, en el mismo continente, el 90% de muestras de agua subterránea de Argelia presentó bacterias indicadoras (Fehdi et al 2016), mientras que en esta tesis solo hubo presencia bacteriana en el 21% de los pozos. En comparación con los estudios citados, el agua subterránea de Tecozautla presentó mejor calidad. En contraste, el agua residual presentó todos los microorganismos examinados en niveles similares a lo reportado previamente (Cifuentes et al., 2000; Fonseca-Salazar et al., 2016; Contreras et al., 2017).

En el primer artículo se resalta que el agua de tomas domiciliarias presentó bacterias coliformes, enterococos fecales y *E. coli*, todas consideradas indicadoras de contaminación fecal. En el capítulo siguiente se determinó que una cuarta parte de las muestras de agua analizadas presentó *E. coli* multirresistente a antibióticos. Además, el patrón de resistencia observado es similar en agua de tomas domiciliarias y en agua residual.

En el último capítulo se demuestra la presencia de los tres grupos de patógenos, lo cual representa un riesgo a la salud de los usuarios.

En esta sección se discutirá la problemática de la calidad del agua del Valle del Mezquital bajo el marco de la Agenda 2030 y los Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS), se retomarán aquellos factores que propician la presencia de bacterias indicadoras y resistentes en el ambiente, como es la pandemia actual de la COVID-19, así como los aspectos que están relacionados con las condiciones que caracterizan a los países con economías emergentes que favorecen la presencia de patógenos y el riesgo a la salud pública.

Históricamente, la Ciudad de México ha sufrido constantes inundaciones que han desencadenado ciclos de decisiones en el manejo del agua desde tiempos prehispánicos. Una de estas medidas, decretada a finales del siglo XIX ha sido expulsar el agua pluvial y residual en forma combinada fuera de la Ciudad de México y de la Cuenca de México donde se inserta (Tellman et al., 2018). De manera oficial, el agua empezó a desalojarse de la ciudad en 1912, a través una pendiente que favorecía su salida por gravedad hacia el Valle del Mezquital (SEMARNAT, 2007; Siebe, 2018). En la actualidad el sistema se ha tornado cada vez más complejo, el elemento recién incorporado es la Planta de Tratamiento de Atotonilco de Tula.

La Ciudad de México es la quinta megaciudad más habitada del mundo, su población cuenta con casi 22 millones de habitantes (INEGI, 2020), por lo tanto, la demanda de agua y la generación de aguas residuales es cada vez mayor. El agua residual que se genera en esta megaciudad y que se envía al Valle del Mezquital ha favorecido su reúso para el riego agrícola. Al tratarse de una zona semiárida, naturalmente escasa en recursos hídricos, el Valle del Mezquital no es propicio para la agricultura. Sin embargo, se compensa por el volumen de agua residual que recibe, lo que lo ha convertido en un sistema altamente productivo (Siebe, 2018).

A pesar de los beneficios económicos y productivos es necesario resaltar que se trata de un sistema alterado por su proximidad a la megaciudad y poco sostenible ya que sin el subsidio de la Ciudad de México el sistema sufriría un colapso (Chamizo-Checa et al., 2020).

Al mismo tiempo, el agua residual es una amenaza para el ambiente y la salud pública, ya que contiene altas concentraciones de contaminantes químicos y patógenos (Englande et al., 2015; Saxena et al., 2015). Se debe de considerar que el agua residual se ha infiltrado en el acuífero del Valle del Mezquital, a tal magnitud que han surgido manantiales como el Cerro Colorado que contribuyen al abastecimiento de medio millón de habitantes (Chávez et al., 2011). Diferentes estudios a lo largo de los años han demostrado la presencia de microorganismos, como resultado de la infiltración (Downs et al., 1999; Chávez et al., 2011; Lesser-Carrillo et al., 2011; Fonseca-Salazar et al., 2016).

En este estudio se confirmó la elevada carga de microorganismos del agua residual del Valle del Mezquital; sin embargo, las bacterias indicadoras y la proporción patógena de *E. coli* en el agua para uso y consumo humano no reflejaron una asociación clara con las zonas regadas con este tipo de agua. Aunque el origen del agua que abastece a los habitantes del Valle del Mezquital proviene de la infiltración del agua residual, el agua se somete a un proceso de desinfección para hacerla apta para su uso y consumo (Lesser-Carrillo et al., 2011). Sin embargo, se demostró que la desinfección con cloro no es suficiente para asegurar la remoción bacterias indicadoras y, en consecuencia, la de aquellos microorganismos que son más resistentes como los virus y protozoarios.

La desinfección ineficiente en el sistema de distribución de agua es común en países con ingresos bajos y medianos (Lee y Schwab, 2005). En este caso, la relación entre la concentración del cloro residual libre y los conteos de bacterias indicadoras fue significativa. Los conteos fueron casi nulos cuando las mediciones de cloro residual libre cumplieron los parámetros de la NOM-127-SSA1-1994 (entre 0.2 y 1.5 mg/L; DOF, 2000).

De manera contraria, mayores conteos bacterianos fueron determinados en concentraciones de cloro por debajo 0.2 mg/L. Lesser-Carrillo et al., (2011) demostró la presencia de coliformes fecales en 22 de 50 pozos de abastecimiento del Valle del Mezquital, de los cuales ninguno recibió cloración, además, 8 de 25 pozos presentaron contaminación fecal a pesar de la desinfección.

No se descarta el papel que tiene el agua residual en la degradación del agua subterránea y de otros cuerpos de agua que funcionan como fuente de abastecimiento; sin embargo, se sugieren aspectos adicionales que afectan la calidad de las tomas domiciliarias. Un patrón similar se menciona en Siebe (2018), quien resalta la importancia de la higiene y las condiciones de pobreza que prevalecen en la zona. Adicionalmente, una re-contaminación en el punto de uso y la ineficacia de los tratamientos a los que se somete el agua para su potabilización probablemente determinan la contaminación microbiológica del agua en las tomas domiciliarias.

El manejo inadecuado del agua se puede deber a la carencia de información por parte de los habitantes. Para contrarrestar esta situación, en cuanto se obtuvieron resultados se informó y se entregaron una serie de recomendaciones para eliminar las bacterias fecales del agua a cada uno de los participantes de este estudio. Se reveló que el almacenamiento del agua propicia el recrecimiento bacteriano ya que esta práctica no se realiza bajo la supervisión de personas especializadas o bajo estándares que previenen la contaminación (Totsuka et al., 2004). Por ello se sugiere el lavado periódico de los contenedores, así como el mantenerlos cubiertos y ubicados en sitios frescos para disminuir la re-contaminación potencial.

Es complicado evitar el almacenamiento del agua dado que es común el desabasto de agua en el país. A nivel internacional, el servicio de agua es suspendido con frecuencia por recursos de agua limitados o por infraestructura inadecuada (Nyahora et al., 2020).

Lamentablemente, la población que cuenta con servicios interrumpidos podría incrementar en los próximos años (Bivins et al., 2017). De acuerdo con los resultados de un cuestionario basal aplicado a los hogares participantes de este estudio, el 61% no recibió agua continua durante el día, y de esa proporción, el 49% tuvo cortes mayores a 24 horas. La práctica de tandeo de agua en centros urbanos se ha convertido en una práctica frecuente, en especial en los países que representan al Sur Global. Ejemplo de lo anterior son las ciudades de África como Nigeria y Kenia, y China en Asia, que también enfrentan un servicio intermitente de agua (Toksuka et al., 2004; Cheng et al., 2009). Asimismo, el almacenamiento de agua se ha reportado Turquía, Palestina, India, entre otros (Toksuka et al., 2004; Abu-Madi, 2013; Falkenberg et al., 2018).

En el caso de las bacterias resistentes a antibióticos la conexión entre el agua de tomas domiciliarias y el agua residual fue más clara, ya que las bacterias en ambos tipos de agua presentaron resistencia a los mismos antibióticos. El perfil de resistencia demostró que *E. coli* fue resistente a al menos tres grupos de antibióticos, por lo que es posible considerar multidrogoresistencia (Magiorakos et al., 2012 y Gekenidis et al., 2018). Por su parte, los carbapenems aún son efectivos en su contra ya que todos los aislados fueron susceptibles a su presencia, lo que coincide con muestras clínicas reportadas para México (PUCRA, 2019).

Se ha documentado que en países con economías emergentes el uso de los antimicrobianos no se controla en forma adecuada. Además, es muy común que ante infecciones virales se prescriban o automediquen antibióticos de manera desinformada, a pesar de no ser efectivos contra los virus. Esta situación se ha agravado con la pandemia de COVID-19 en la que los antimicrobianos han sido ampliamente utilizados para combatir la enfermedad. Un estudio en Lima, Perú mostró que del 72% de pacientes COVID que recibieron antibióticos solo el 8% presentaba coinfección por bacterias u hongos (Zavala-Flores y Salcedo-Matienzo, 2020). La ceftriaxona ha sido recetada como tratamiento anti-COVID en países como México

y Perú (Ruiz, 2021). En este estudio, el 96% de las *E. coli* analizadas fueron resistentes a este fármaco, siendo un foco rojo incluso en tiempos pre-pandémicos.

La pandemia no solo afectó el uso desmedido de antibióticos, también ha sido una situación que subrayó la importancia de realizar investigación bajo el enfoque de Una Salud. La imperante necesidad de mejorar los servicios de salud, contar con servicios básicos como la distribución de agua segura, disponible para lavarse las manos y para mantener la higiene en los hogares con menos recursos y con menos acceso a las fuentes de agua ha resaltado con la emergencia sanitaria. Esto reduce la posibilidad de contraer otras infecciones prevenibles, en esta tesis se demostró la presencia de bacterias patógenas, virus y protozoarios causantes de enfermedades gastrointestinales en agua de tomas domiciliarias. Lo cual representó un riesgo elevado por la frecuencia con la que se realizan actividades domésticas y por el pequeño porcentaje de personas que la ingieren y no la desinfectan o no la hierven por desconocimiento.

Para el cumplimiento del ODS 6, “Agua limpia y saneamiento” la detección de patógenos resulta fundamental. No es ideal depender de organismos indicadores en el manejo del agua, debido a la ausencia de correlación con patógenos. Sobre todo, en países con economías emergentes, los riesgos asociados se subestiman al evaluar sistemas de saneamiento y tratamientos de agua usando solamente organismos indicadores (Mraz et al., 2020). Este trabajo aporta un monitoreo completo basado en patógenos e indicadores, lo cual está encaminado en el avance de las metas del ODS 6.

La proporción de patógenos en agua de tomas domiciliarias fue baja, con la mayoría de las muestras negativas; sin embargo, su detección representa un punto alarma. En el agua residual se detectaron los tres grupos de patógenos, pero en agua subterránea solo se detectó enterovirus. En una investigación del sur de Italia, se detectaron virus entéricos en agua de pozos destinada para el riego, de forma similar a este estudio, por lo que se sugieren como el mejor candidato para determinar la contaminación de aguas subterráneas (De Giglio et al.,

2017). En general, la presencia de virus en todos los tipos de agua se puede explicar por sus propiedades generales como su resistencia a los tratamientos y al ambiente, así como su menor tamaño, lo que les permite migrar a zonas más profundas (Fong y Lipp, 2005).

En cuanto a *E. coli* se determinaron los cuatro patotipos de interés en agua de domicilios y en el agua residual, esto difiere con la literatura, pues *E. coli* productora de la toxina Shiga (STEC) y EAEC (*E. coli* enteroagregativa) se reportan en menor proporción en países en desarrollo. En cambio, los *C. parvum* y *G. lamblia* son muy comunes (Ashbolt, 2004), y las concentraciones encontradas coinciden con las reportadas por Cifuentes et al. (2000) hace más de 20 años, quien reportó hasta 300 quistes/L en la misma zona de estudio.

Es importante mencionar el papel de la PTAR de Atotonilco de Tula en el contexto del ODS 6. El tratamiento adecuado y el reúso de las aguas residuales permite un manejo sostenible del agua no solo en zonas áridas, a pesar de que las naciones cuenten con recursos hídricos es una práctica sostenible que se debe de fomentar y que a largo plazo contribuye en el mejoramiento de la calidad del agua y del saneamiento (Leonel y Tonetti, 2021).

La PTAR de Atotonilco de Tula opera de acuerdo con información oficial a toda su capacidad desde 2020 (Chamizo-Checa et al., 2020), y trata más de la mitad del agua residual generada en el Zona Metropolitana de la Ciudad de México. El proceso se enfoca a la reducción de sólidos suspendidos y la eliminación de patógenos (SEMARNAT, 2007). Sin embargo, será necesaria una estricta vigilancia para evitar descargas clandestinas que propicien la recontaminación del agua. Por su parte, la disminución de sólidos disueltos permitiría la implementación de otros tipos de riego por goteo o aspersión, lo cual sería una aproximación más sostenible (Durán-Alvaréz et al., 2020), pero requiere una inversión y una modificación de los usos y costumbres de los agricultores. Cabe destacar que existen áreas que no son beneficiadas por la misma, por lo tanto, en esos sitios se requieren planes alternos para mejorar la calidad del agua antes de su reúso (Chamizo-Checa et al., 2020).

Para finalizar, se debe enfatizar que la contaminación de sistemas acuáticos continúa siendo un tema de preocupación a nivel mundial y es realmente alarmante en México. Actualmente, los sistemas acuáticos no han dejado de recibir descargas de agua residual, con consecuencias a la salud ambiental y pública que se acentúan principalmente en países con economías emergentes como México. El monitoreo ambiental es una herramienta fundamental para identificar zonas de riesgo y establecer medidas para mejorar la calidad del agua y sobre todo para conservar los ecosistemas acuáticos que son nuestras fuentes de abastecimiento tanto para su uso directo como para la generación de alimentos.

Bibliografía

- Abu-Madi, M., & Trifunovic, N. (2013). Impacts of supply duration on the design and performance of intermittent water distribution systems in the West Bank. *Water International*, 38(3), 263–282. <https://doi.org/10.1080/02508060.2013.794404>
- Ashbolt, N. J. (2004). Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions. *Toxicology*, 198(1), 229–238. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.01.030>
- Bivins, A. W., Sumner, T., Kumpel, E., Howard, G., Cumming, O., Ross, I., Nelson, K., & Brown, J. (2017). Estimating infection risks and the global burden of diarrheal disease attributable to intermittent water supply using QMRA. *Environmental Science and Technology*, 51(13), 7542–7551. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01014>
- Chamizo-Checa, S., Otazo-Sánchez, E., Gordillo-Martínez, A., Suárez-Sánchez, J., González-Ramírez, C., & Muñoz-Nava, H. (2020). Megacity wastewater poured into a nearby basin: Looking for sustainable scenarios in a case study. *Water*, 12(3), 824. <https://doi.org/10.3390/w12030824>
- Chávez, A., Maya, C., Gibson, R., & Jiménez, B. (2011). The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during in filtration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution*, 159(5), 1354–1362. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.01.008>
- Cheng, H., Hu, Y., & Zhao, J. (2009). Meeting China's water shortage crisis: Current practices and challenges. *Environmental Science & Technology*, 43(2), 240–244. <https://doi.org/10.1021/es801934a>
- Cifuentes, E., Gomez, M., Blumenthal, U., Tellez-Rojo, M. M., Romieu, I., Ruiz-Palacios, G., & Ruiz-Velazco, S. (2000). Risk factors for *Giardia intestinalis* infection in agricultural

- villages practicing wastewater irrigation in Mexico. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62(3), 388–392. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2000.62.388>
- Contreras, J. D., Meza, R., Siebe, C., Rodríguez-Dozal, S., López-Vidal, Y. A., Castillo-Rojas, G., Amieva, R. I., Solano-Gálvez, S. G., Mazari-Hiriart, M., Silva-Magaña, M. A., Vázquez-Salvador, N., Rosas Pérez, I., Martínez Romero, L., Salinas Cortez, E., Riojas-Rodríguez, H., & Eisenberg, J. N. S. (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. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.058>
- De Giglio, O., Caggiano, G., Bagordo, F., Barbuti, G., Brigida, S., Lugoli, F., Grassi, T., La Rosa, G., Lucentini, L., Uricchio, V., De Donno, A., & Montagna, M. (2017). Enteric viruses and fecal bacteria indicators to assess groundwater quality and suitability for irrigation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(6), 558. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060558>
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2000). Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- Downs, T. J., Cifuentes-García, E., & Suffet, I. M. (1999). Risk screening for exposure to groundwater pollution in a wastewater irrigation district of the Mexico City region. *Environmental Health Perspectives*, 107(7), 553–561. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107553>
- Durán-Álvarez, J. C., Jiménez, B., Rodríguez-Varela, M., & Prado, B. (2021). The Mezquital Valley from the perspective of the new Dryland Development Paradigm (DDP): present and future challenges to achieve sustainable development. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 48, 139–150. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2021.01.005>
- Englande, A. J., Krenkel, P., & Shamas, J. (2015). Wastewater treatment and water

- reclamation. En *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.09508-7>
- Falkenberg, T., Saxena, D., & Kistemann, T. (2018). Impact of wastewater-irrigation on in-household water contamination. A cohort study among urban farmers in Ahmedabad, India. *Science of the Total Environment*, 639, 988–996. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.117>
- Fehdi, C., Rouabhia, A., Mechai, A., Debabza, M., Abla, K., & Voudouris, K. (2016). “Hydrochemical and microbiological quality of groundwater in the Merdja area, Tebessa, N-E of Algeria.” *Applied Water Science*, 6, 47–55. <https://doi.org/10.1007/s13201-014-0209-3>
- Fong, T.-T., & Lipp, E. K. (2005). Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: Health risks, detection, and potential water quality assessment tools. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69, 357–371. <https://doi.org/10.1128/MMBR.69.2.357>
- Fonseca-Salazar, M. A., Díaz-Ávalos, C., Castañón-Martínez, M. T., Tapia-Palacios, M. A., & Mazari-Hiriart, M. (2016). Microbial indicators, opportunistic bacteria, and pathogenic protozoa for monitoring urban wastewater reused for irrigation in the proximity of a megacity. *EcoHealth*, 13(4), 672–686. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1172-2>
- Gekenidis, M.-T., Qi, W., Hummerjohann, J., Zbinden, R., Walsh, F., & Drissner, D. (2018). Antibiotic-resistant indicator bacteria in irrigation water: High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. *PLoS ONE*, 13(11), e0207857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207857>
- INEGI 2020. Censo de Población y Vivienda 2020 <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/default.html#Tabulados>.
- Lee, E. J., & Schwab, K. J. (2005). Deficiencies in drinking water distribution systems in

- developing countries. *Journal of Water and Health*, 3(2), 109–127.
<https://doi.org/10.2166/wh.2005.0012>
- Leonel, L. P., & Tonetti, A. L. (2021). Wastewater reuse for crop irrigation: Crop yield, soil and human health implications based on giardiasis epidemiology. *Science of The Total Environment*, 775, 145833.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145833>
- Lesser-Carrillo, L. E., Lesser-Illades, J. M., Arellano-Islas, S., & González-Posadas, D. (2011). Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del Valle del Mezquital, México Central. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 28(3), 323–336.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.154>
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Mraz, A. L., Tumwebaze, I. K., McLoughlin, S. R., McCarthy, M. E., Verbyla, M. E., Hofstra, N., Rose, J. B., & Murphy, H. M. (2021). Why pathogens matter for meeting the united nations' sustainable development goal 6 on safely managed water and sanitation. *Water Research*, 189, 116591. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116591>
- Nyahora, P. P., Babel, M. S., Ferras, D., & Emen, A. (2020). Multi-objective optimization for improving equity and reliability in intermittent water supply systems. *Water Supply*, 20(5), 1592–1603. <https://doi.org/10.2166/ws.2020.066>
- Plan Universitario de Control de la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA). (2019). Estado

actual de la resistencia antimicrobiana en México.

<http://www.puis.unam.mx/ReportePUCRA2.pdf>

- Ruiz, J. (2021). Enhanced antibiotic resistance as a collateral COVID-19 pandemic effect? *Journal of Hospital Infection*, 107, 114–115. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.11.010>
- Saxena, G., Bharagava, R. N., Kaithwas, G., & Raj, A. (2015). Microbial indicators, pathogens and methods for their monitoring in water environment. *Journal of Water and Health*, 13(2), 319–339. <https://doi.org/10.2166/wh.2014.275>
- SEMARNAT. (2007). Planta de tratamiento de aguas residuales Atotonilco. *Semarnat* <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAPDS-19-11.pdf>
- Siebe, C. (2018). Human impact on geospheric processes in the critical zone exemplified by the regional water exchange between the Mexico City metropolitan area and the Mezquital Valley. *Humanities Futures*. <https://humanitiesfutures.org/papers/human-impact-on-geospheric-processes-in-the-critical-zone-exemplified-by-the-regional-water-exchange-between-the-mexico-city-metropolitan-area-and-the-mezquital-valley/>
- Tellman, B., Bausch, J. C., Eakin, H., Anderies, J. M., Mazari-Hiriart, M., Manuel-Navarrete, D., & Redman, C. L. (2018). Adaptive pathways and coupled infrastructure: seven centuries of adaptation to water risk and the production of vulnerability in Mexico City. *Ecology and Society*, 23, 1. <https://doi.org/10.5751/ES-09712-230101>
- Totsuka, N., Trifunovic, N., & Vairavamoorthy, K. (2004). Intermittent urban water supply under water starving situations. *30th WEDC International Conference, Vientiane, Lao PDR*, 505–512. <https://core.ac.uk/download/pdf/288365164.pdf>
- Yahya, H.S.A., Jilali, A., Mostareh, M.M.M., Chafik, Z., & Chafi, A. (2017). Microbiological, physicochemical, and heavy metals assessment of groundwater quality in the Triffa plain (eastern Morocco). *Applied Water Science*, 7, 4497–4512.

<https://doi.org/10.1007/s13201-017-0598-1>

Zavala-Flores, E., & Salcedo-Matienzo, J. (2020). Medicación prehospitalaria en pacientes hospitalizados por COVID-19 en un hospital público de Lima-Perú. *Acta Médica Peruana*, 37(3), 393-395. <https://doi.org/10.35663/amp.2020.373.1277>

10. Conclusiones

El riego con aguas residuales tiene efectos ambientales que conllevan a la degradación de las fuentes de abastecimiento, aunado a un servicio intermitente que no distribuye agua segura a la población del Valle del Mezquital. El agua de tomas domiciliarias y del agua residual utilizada está contaminada con materia fecal y con patógenos, lo que afecta la salud de los habitantes del Valle del Mezquital. En términos generales, la hipótesis de mayor contaminación y en consecuencia mayor riesgo en Tula y Tlahuelilpan no se cumplió en todos los casos. Los hallazgos más relevantes del trabajo doctoral se mencionan a continuación.

En el capítulo 1 se demostró que las bacterias indicadoras de contaminación fecal son comunes en agua para uso y consumo humano, incluso en Tecozautla, la cual es regada con agua subterránea. Además, la desinfección inadecuada y el hecho de que las personas se ven forzadas a almacenar agua debido al servicio intermitente o tandeo, favorecen la presencia de microorganismos, los cuales deben de estar ausentes de acuerdo con la normatividad oficial mexicana.

En el segundo capítulo resaltó la multidrogoresistencia que presenta *E. coli* en agua de tomas domiciliarias y en agua residual, ambas con un perfil de resistencia similar. No se encontraron bacterias resistentes en la zona de Tecozautla. La presencia de estas bacterias involucra infecciones cada vez más difíciles de controlar por la posible ingesta de bacterias resistentes en agua o en alimentos regados con la misma. A nivel ambiental, implica la descarga de restos de antibióticos no metabolizados, bacterias y genes de resistencia hacia los cuerpos de agua.

De acuerdo con los datos del capítulo tres, las probabilidades anuales estimadas de contraer una infección por el consumo incidental de agua domiciliaria con patotipos de *E. coli*, virus o protozoarios, todos responsables de enfermedades transmitidas a través del agua, fue del 50%, mientras que para el riego con agua residual fue del 100%. La presencia de todos los patógenos se observó en el agua domiciliaria de Tula y Tlahuelilpan y en el agua residual, mientras que en Tecozautla fue notoria la presencia viral. Estos datos contribuyen al entendimiento de la exposición a patógenos y suman al hecho de que el Valle del Mezquital es una zona de riesgo para la salud humana.

Finalmente, el estado de la calidad del agua que se describe en esta evaluación se determinó previo a la operación de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Atotonilco de Tula, por lo que es un estudio fundamental para la comparación con futuras valoraciones. Se desconoce el tiempo que se requiere para que circule agua residual tratada en el sistema por completo y deben de identificarse las descargas difusas de las comunidades cercanas. Los resultados de esta investigación se pueden extrapolar más allá de un caso de estudio, ya que las deficiencias en la calidad y sus afectaciones son situaciones que se replican en la mayoría de los países del Sur Global. Se requiere una visión conjunta de la autoridad y los usuarios para lograr acercarnos al ODS 6 y mejorar en cuanto al tema de salud y el bien de los mexicanos.

11. Recomendaciones

En general, las sugerencias están enfocadas a aspectos técnicos, se aconseja mejorar el monitoreo de agua midiendo y cuantificando *E. coli* y sus formas patógenas simultáneamente, por métodos de cultivo y de preferencia métodos moleculares que arrojen datos cuantitativos y no solo presencia-ausencia como fue este caso. Se sugiere ampliar la información obtenida en este estudio mediante una PCR multiplex para determinar los genes que codifican para la resistencia a antibióticos de amplio espectro, tal información sería clave para establecer una conexión más exacta entre los genes de las muestras de agua residual y el agua de tomas domiciliarias, además, sería una aportación a la estandarización de metodologías entre diferentes disciplinas que demandan el uso de antibióticos como lo recomienda el PUCRA. En cuanto a los patógenos, se requiere ampliar la información con aspectos de viabilidad, lo que haría más precisa la evaluación del riesgo.