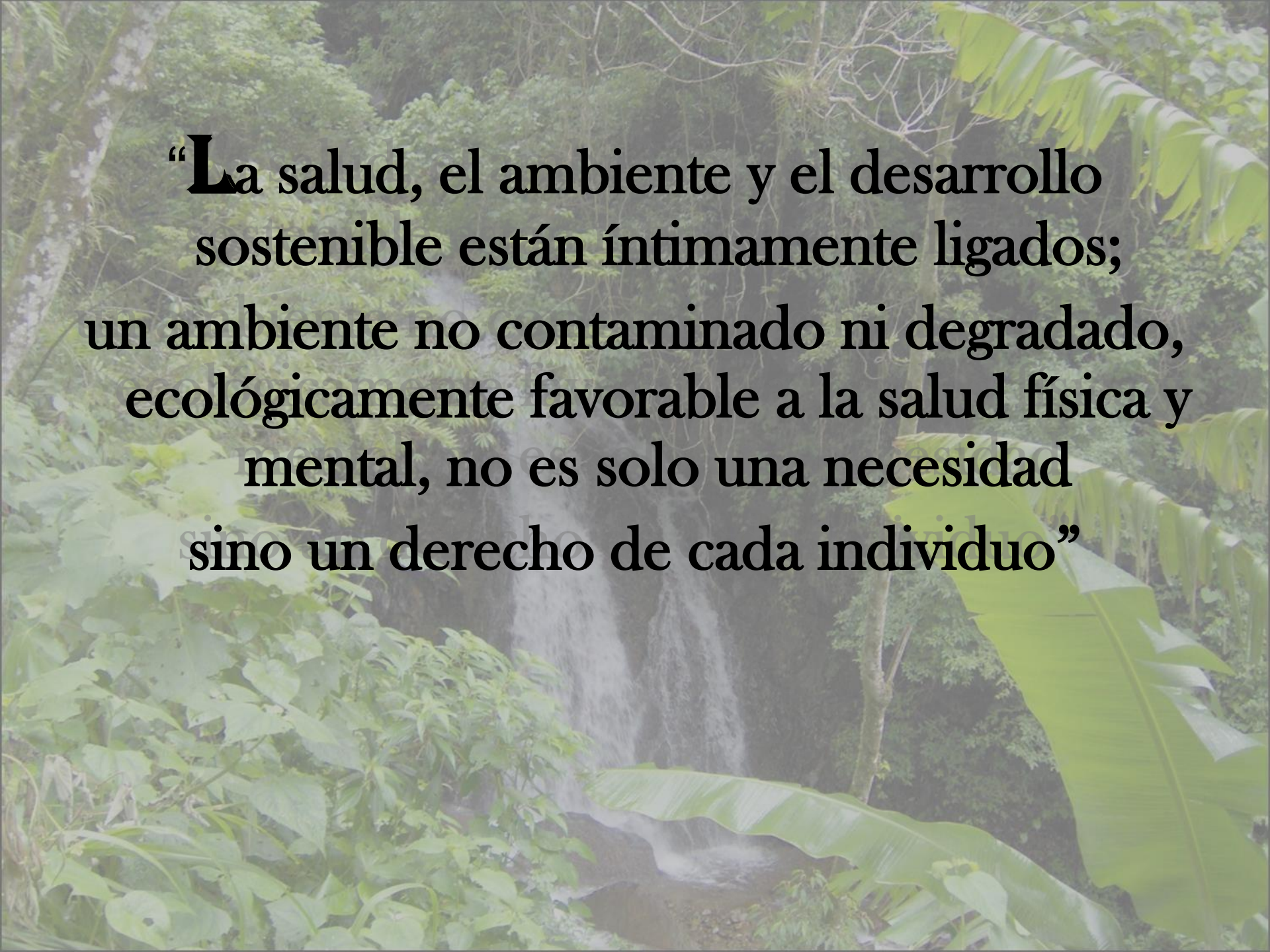


Determinación de la bacteria *Helicobacter pylori* en abastecimientos de agua para consumo humano y su implicación en el manejo del agua en Costa Rica.

Tesis para optar por el grado académico de
doctor en ciencias

Virginia Montero Campos
Tecnológico de Costa Rica.



“La salud, el ambiente y el desarrollo sostenible están íntimamente ligados; un ambiente no contaminado ni degradado, ecológicamente favorable a la salud física y mental, no es solo una necesidad sino un derecho de cada individuo”

Presentación de la investigación

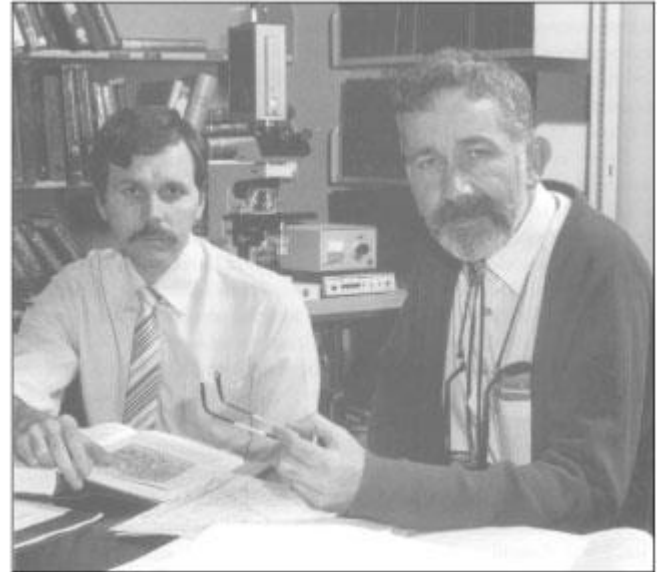
- Problema
- Marco Teórico
- Hipótesis
- Objetivos
- Metodología
- Resultados
- Discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones

Presentación de la investigación

- 🔹 Problema
- 🔹 Marco Teórico
- 🔹 Hipótesis
- 🔹 Objetivos
- 🔹 Metodología
- 🔹 Resultados
- 🔹 Discusión
- 🔹 Conclusiones
- 🔹 Recomendaciones

Antecedentes del problema

- *H. pylori*, se descubrió por primera vez en estómagos de pacientes con gastritis y úlceras en los años 1982-83, hace casi 25 años, por los Drs. Barry Marshall y Robin Warren de Perth, Australia.
- En reconocimiento a su descubrimiento fueron galardonados con el Premio Nobel 2005 en Medicina y Fisiología.

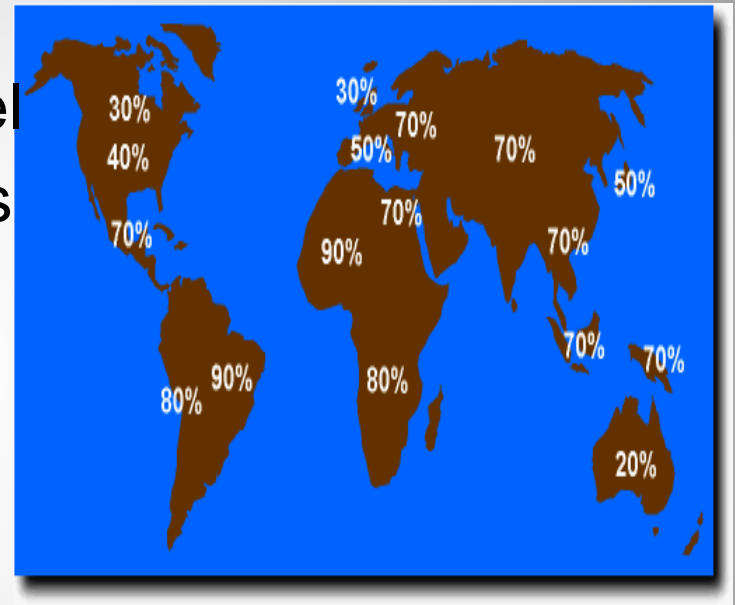


Antecedentes del problema

- Desde 1994 y a la fecha la OMS lo declara como un cancerígeno en humanos, pertenece al grupo I de IARC.
- Hoy la infección por *Helicobacter pylori* se considera un problema de salud pública a nivel mundial.

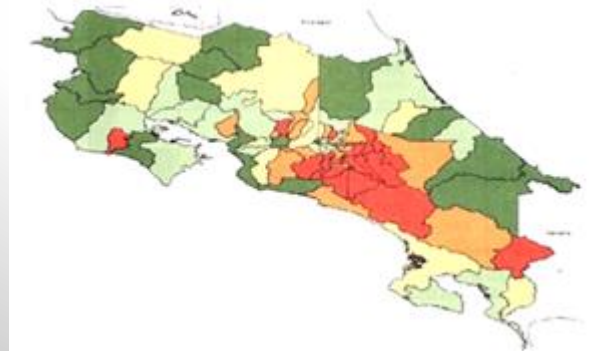
➤ Se considera un problema de salud pública porque:

➤ La prevalencia de infección del microorganismo en el mundo es alta, y más en los países de origen tropical, asociados al ingreso per capita bajo.



➤ Se ha considerado su erradicación bastante difícil, la re-infección es alta, el tratamiento costoso y de amplios efectos secundarios, la vacuna todavía no es viable.

- En Costa Rica:
 - Se le relaciona con gastritis crónica, úlcera duodenal y gastritis atrófica con probabilidades de transformarse en cáncer gástrico especialmente en adenocarcinoma de tipo intestinal.
 - Con mayor incidencia en las personas si viven en la parte central en las provincias de Cartago y San José.

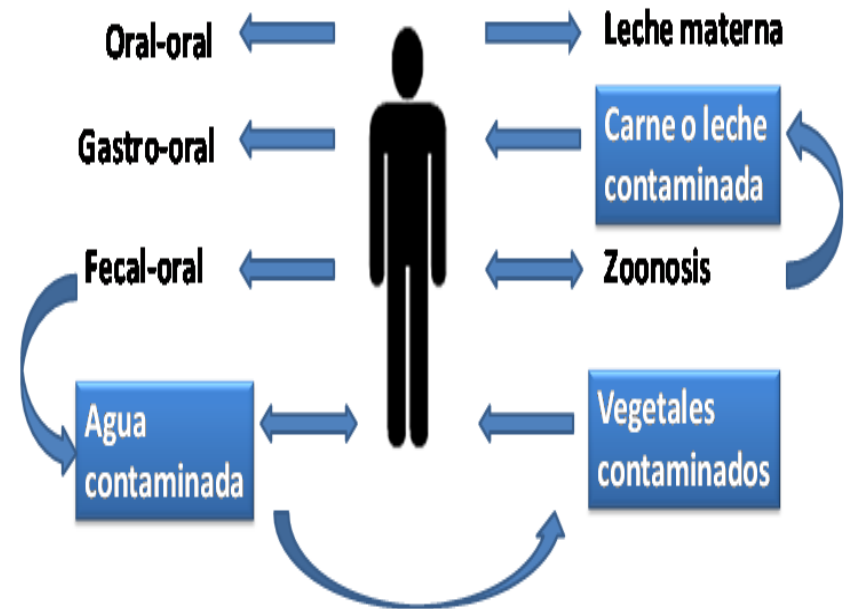


- A la fecha no se ha dado a conocer de forma definitiva el mecanismo epidemiológico de adquisición poblacional de la bacteria (solamente se ha supuesto).
- Al no tenerse claridad al respecto, no se ha establecido medidas adecuadas de prevención ni en las personas ni a la salud pública en general, mucho menos acciones necesarias que conlleven al abordaje integral del problema.

Epidemiología de la infección

- ❖ La presencia de la bacteria, podría pasar inadvertida en toda la vida del hospedero.
- ❖ Ahora se acepta que la infección es adquirida principalmente en la infancia, y que por la edad de 10 años, más del 50% de los niños en todo el mundo han estado en contacto con el microorganismo **se ha sugerido que las infecciones transitorias pueden producirse e incluso ser muy comunes.**

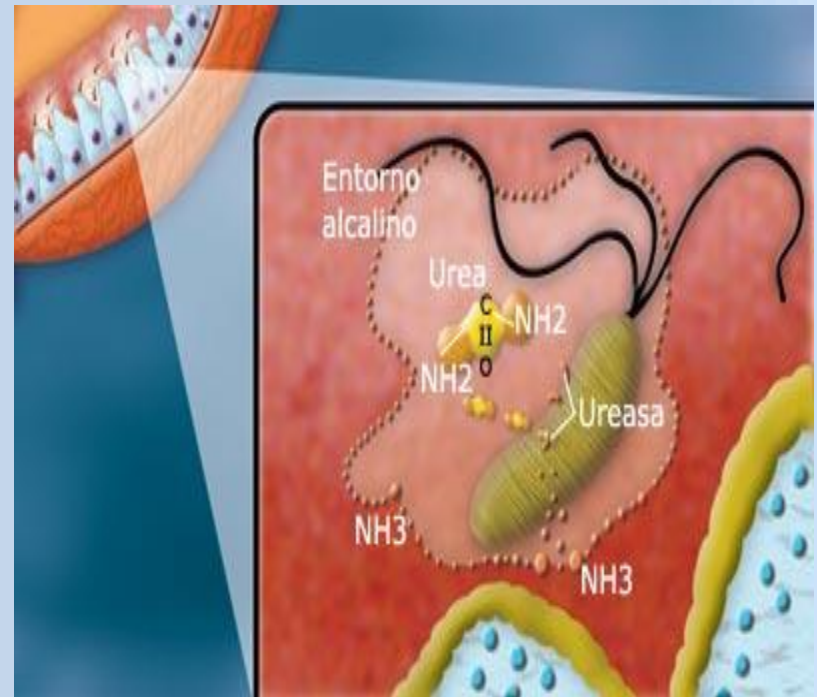
❖ Basado en evidencia epidemiológica y microbiológica varias vías de transmisión han sido supuestas.



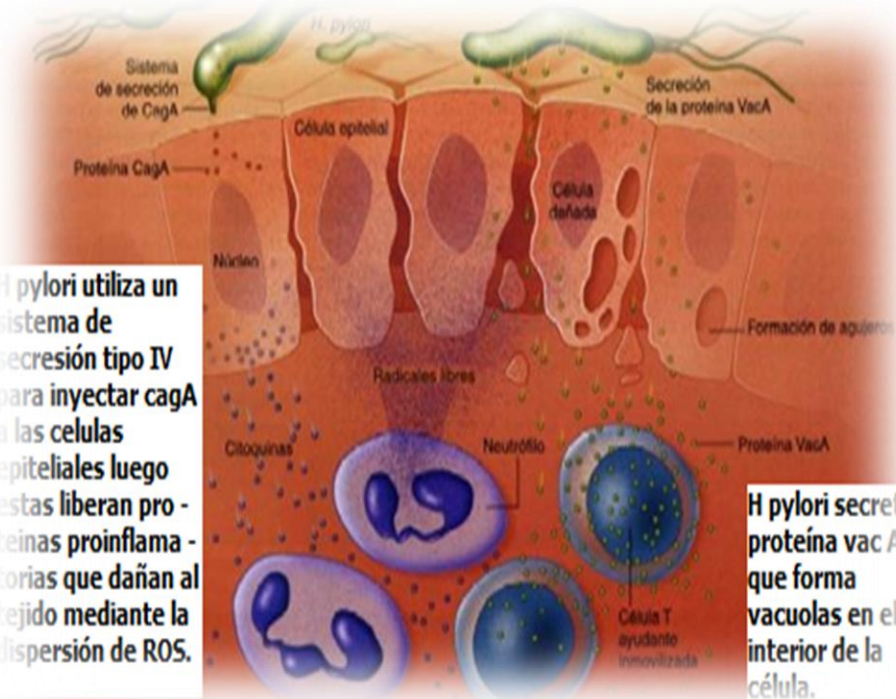
Mecanismos de acción y variaciones genéticas

- Se dice que *H. pylori* coloniza de forma crónica el estómago de más de la mitad de la población mundial.
- Sin embargo sólo entre el 10-20% de los pacientes infectados desarrollan enfermedades graves, como úlcera péptica, cáncer gástrico y linfoma (el problema de gastritis no ha sido cuantificado).

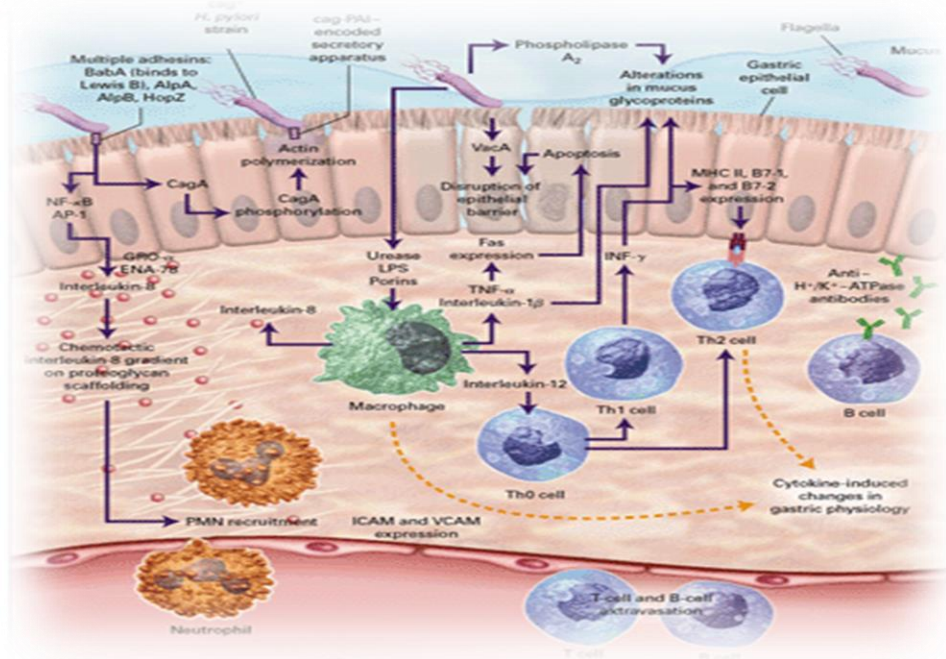
- La producción de la enzima ureasa y la movilidad son esenciales en el primer paso de la infección.
- La ureasa hidroliza la urea existente en dióxido de carbono y amoníaco



H. pylori utiliza un sistema de secreción tipo IV para inyectar caga a las células epiteliales luego estas liberan proteínas proinflamatorias que dañan al tejido mediante la dispersión de ROS.



H. pylori secreta proteína vacA que forma vacuolas en el interior de la célula.



Factores inductores en cepas específicas que aumentan la patogenicidad o el riesgo de progresión a cáncer gástrico

- ❑ Cepas *CagA* positivas
- ❑ Cepas *VacA* (alelos *s1*, *m1*)
- ❑ Producción de fosfolipasa A (degradación del moco gástrico)
- ❑ LPS y producción de ureasa
- ❑ Flagelos y adhesinas de superficie (*babA2*)
- ❑ Gen *iceA1/iceA2*
- ❑ Proteína Inductora de Factor de Necrosis Tumoral- Alfa (Tipalpha)
- ❑ Deterioro del sistema de reparación celular DNA- MMR (MGMT)
- ❑ Inflamación crónica activa y acumulación de ROS y RNS
- ❑ Desregulación de genes supresores de tumores y sobre regulación de citoquinas y oncogenes.
- ❑ Inhibición de proteína protectora de membranas HSP 70

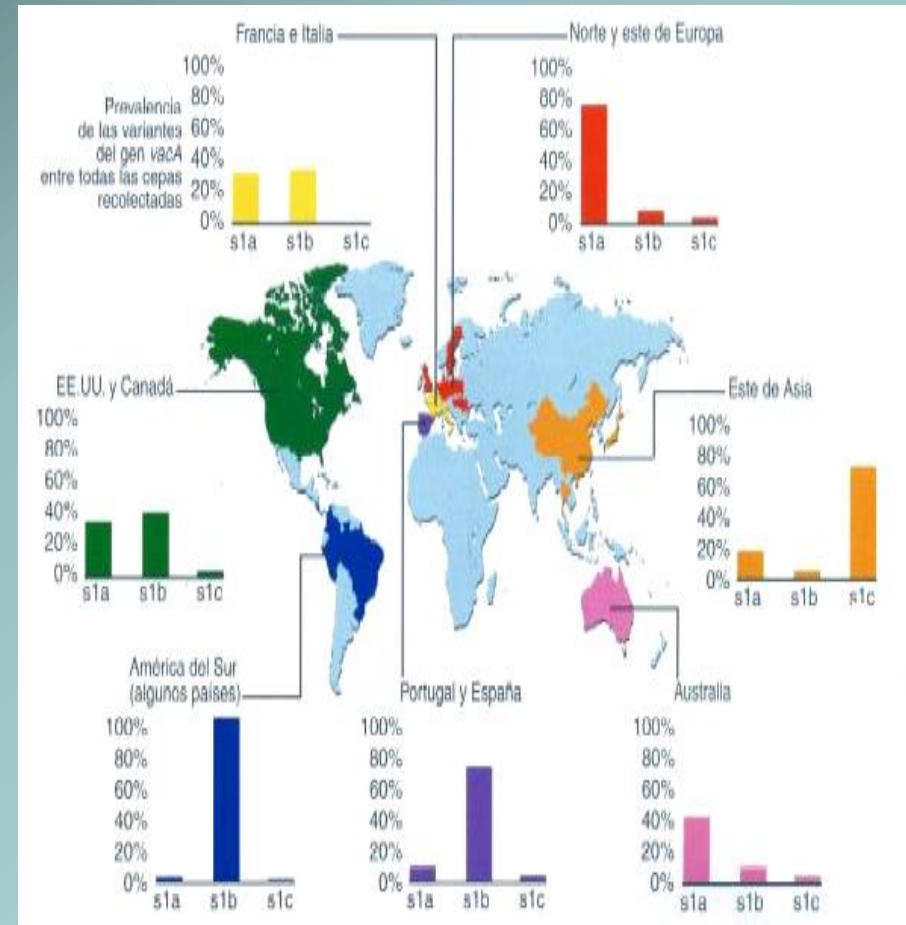
Necesidad fisiológica de cationes

(Fe^{2+} , Ni^{3+} , Zn^{2+}).

- El hierro tiene dos o mas sistemas de transporte indicando su importancia fisiológica.
- Tiene una alta demanda de níquel como cofactor para su enzima ureasa.
- El zinc, el cual está involucrado en proteólisis de células del huésped y de esta forma contribuye a la severidad de la patología gástrica.

Prevalencia de la infección por *H. pylori* y su distribución geográfica mundial.

- Se han encontrado diferencias significativas en la prevalencia tanto entre países como dentro de un país.
- Lo que implica que en la colonización por *H. pylori* en el mundo convergen varios factores que determinan, además de la presencia el origen natural, condiciones ambientales y condiciones socioeconómicas que podrían intervenir en la severidad de una infección para una población dada.

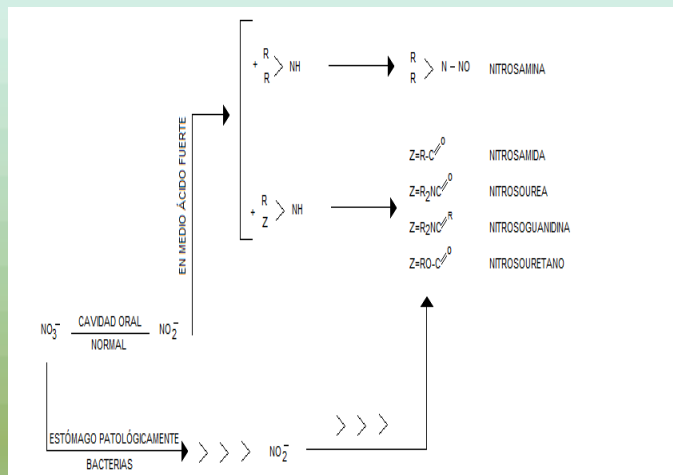


Cáncer gástrico y factores predisponentes

- Actualmente en el mundo no son muchos los factores reconocidos asociados directamente al aumento en el riesgo de cáncer de estómago.

Según la Sociedad Americana de Cáncer (2006-2008)

- 1- Las **dietas** ricas en alimentos ahumados, pescado o carne salada: la alta ingesta de sal aumenta la efectividad de carcinógenos como la N-metil-N-nitrosoguanidina.
- 2- El bajo consumo de frutas y hortalizas: por el contenido en betacarotenos, tocoferoles y vitaminas C y E porque contribuyen a la neutralización de nitritos y la reducción de la concentración de N-nitrosaminas y radicales libres.
- 3- La infección de largo plazo por ***H. pylori***.

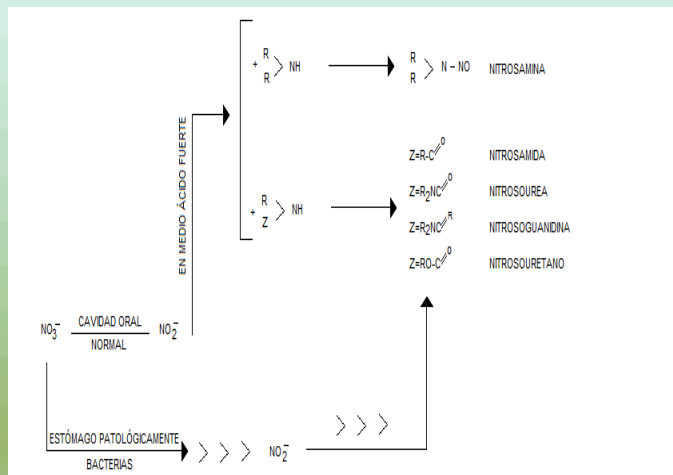


IARC (Last update: 30 Aug 2010)

Agent	Group	Volume	Year
<i>Helicobacter pylori</i> (infection with)	1	61,100 B	In prep
Hepatitis B virus (chronic infection with)	1	59, 100B	In prep
Hepatitis C virus (chronic infection with)	1	59, 100B	In prep
Hepatitis D virus 3	3	59	1994
Human papillomavirus types 5 and 8 (in patients with epidermodysplasia verruciformis)	2B	100B	in prep
Human papillomavirus types 6 and 11	3	90, 100B	in prep
Human papillomavirus types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 (NB: The HPV types that have been classified as carcinogenic to humans can differ by an order of magnitude in risk for cervical cancer).	1	64,90, 100B	In prep
Human papillomavirus types 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82	2B	100B	In prep
Human papillomavirus types 30, 34, 69, 85, 97 (NB: Classified by phylogenetic analogy to the HPV genus alpha types classified in Group 1)	2B	100B	In prep
Human papillomavirus type 68	2A	100B	In prep

Según la Sociedad Americana de Cáncer (2006-2008)

- 1- Las **dietas** ricas en alimentos ahumados, pescado o carne salada: la alta ingesta de sal aumenta la efectividad de carcinógenos como la N-metil-N-nitrosoguanidina.
- 2- El bajo consumo de frutas y hortalizas: por el contenido en betacarotenos, tocoferoles y vitaminas C y E porque contribuyen a la neutralización de nitritos y la reducción de la concentración de N-nitrosaminas y radicales libres.
- 3- La infección de largo plazo por *H. pylori*.

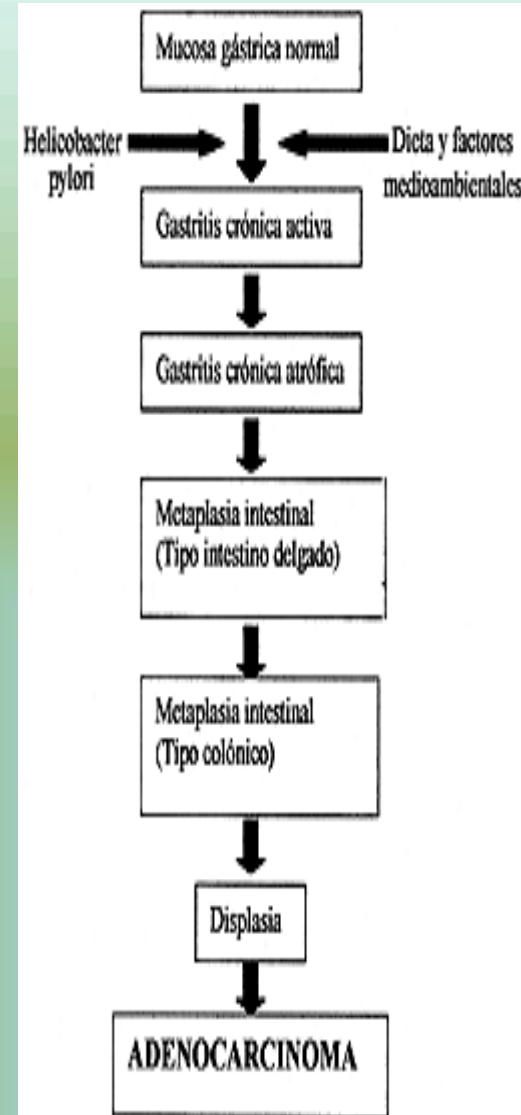


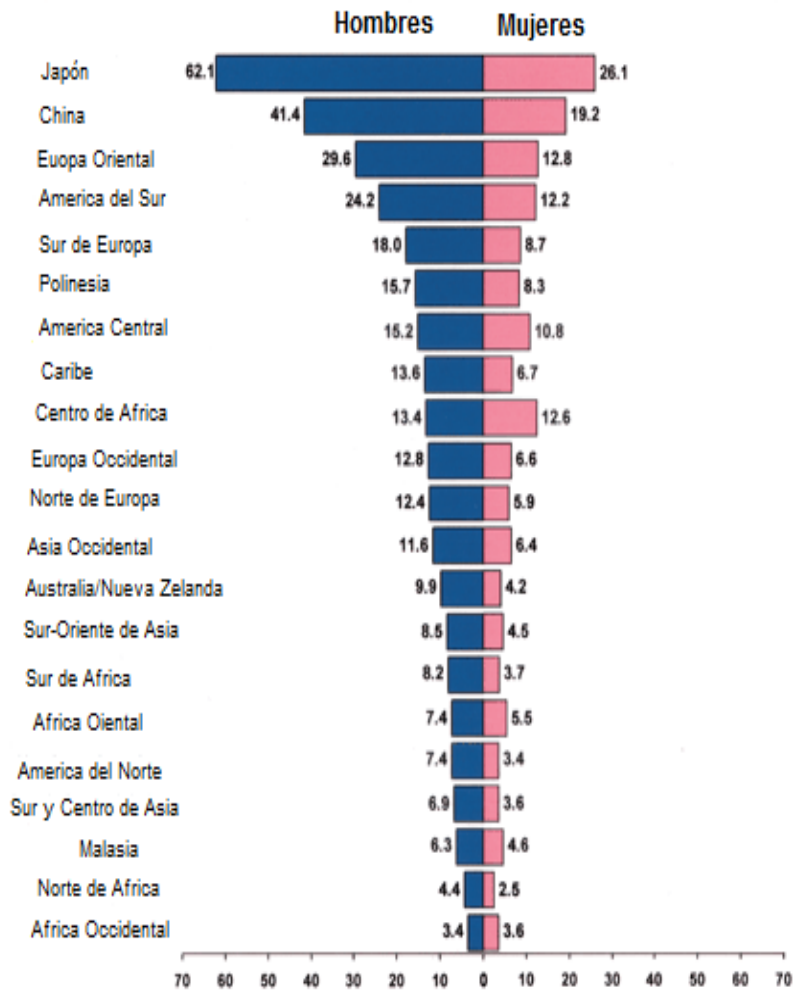
IARC (Last update: 30 Aug 2010)

Agent	Group	Volume	Year
<i>Helicobacter pylori</i> (infection with)	1	61,100 B	In prep
Hepatitis B virus (chronic infection with)	1	59, 100B	In prep
Hepatitis C virus (chronic infection with)	1	59, 100B	In prep
Hepatitis D virus 3	3	59	1994
Human papillomavirus types 5 and 8 (in patients with epidermodysplasia verruciformis)	2B	100B	in prep
Human papillomavirus types 6 and 11	3	90, 100B	in prep
Human papillomavirus types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 (NB: The HPV types that have been classified as carcinogenic to humans can differ by an order of magnitude in risk for cervical cancer).	1	64,90, 100B	In prep
Human papillomavirus types 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82	2B	100B	In prep
Human papillomavirus types 30, 34, 69, 85, 97 (NB: Classified by phylogenetic analogy to the HPV genus alpha types classified in Group 1)	2B	100B	In prep
Human papillomavirus type 68	2A	100B	In prep

Desde el punto de vista epidemiológico el desarrollo del cáncer con relación a la infección por *H. pylori* se relaciona en las personas con:

- ❧ Infección desde edades tempranas
- ❧ Infección con cepas agresivas de alto riesgo
- ❧ Historia familiar de cáncer gástrico,
- ❧ Susceptibilidad genética de la población (polimorfismos proinflamatorios de interleucinas)
- ❧ Bajo nivel socioeconómico.





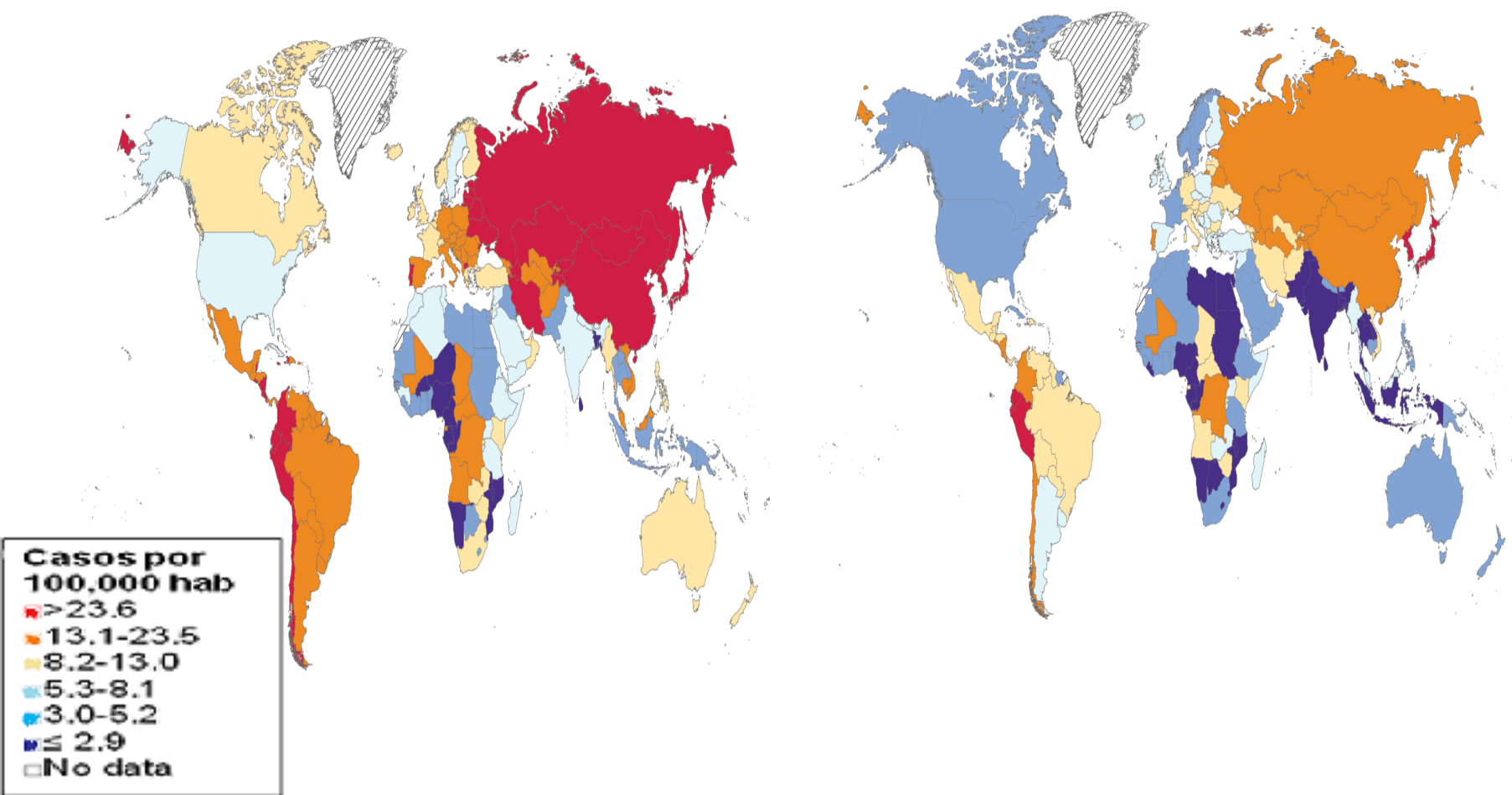
- Una característica notable del cáncer gástrico en el mundo es que es significativamente más alta en hombres que en mujeres (aproximadamente 2:1) en la mayoría de los países en los que esto no sucede la incidencia de cáncer de estómago es baja

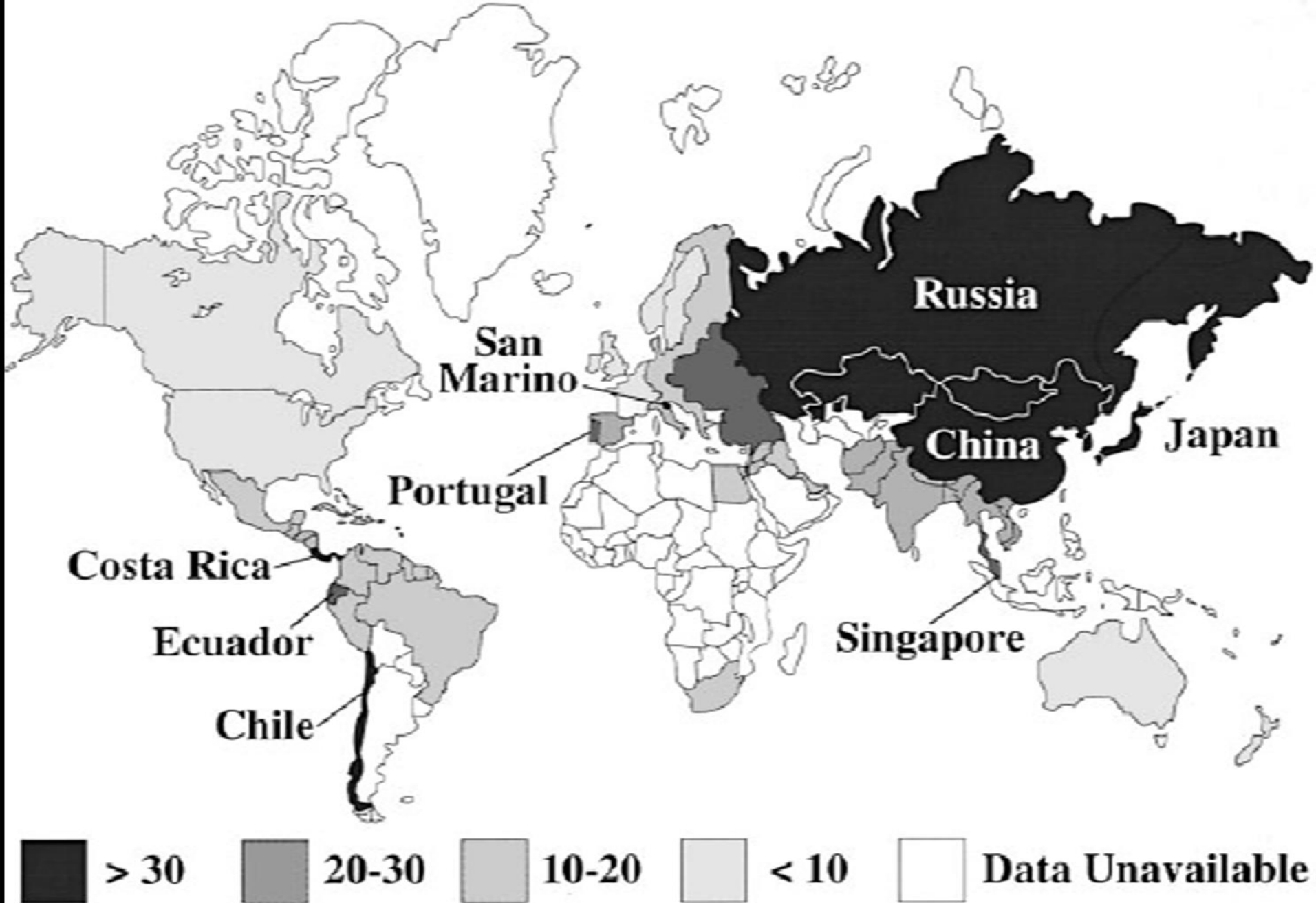


Tasa de incidencia por sexo-edad estandarizada por 100.000 habitantes.

Fuente: Globocan, 2002

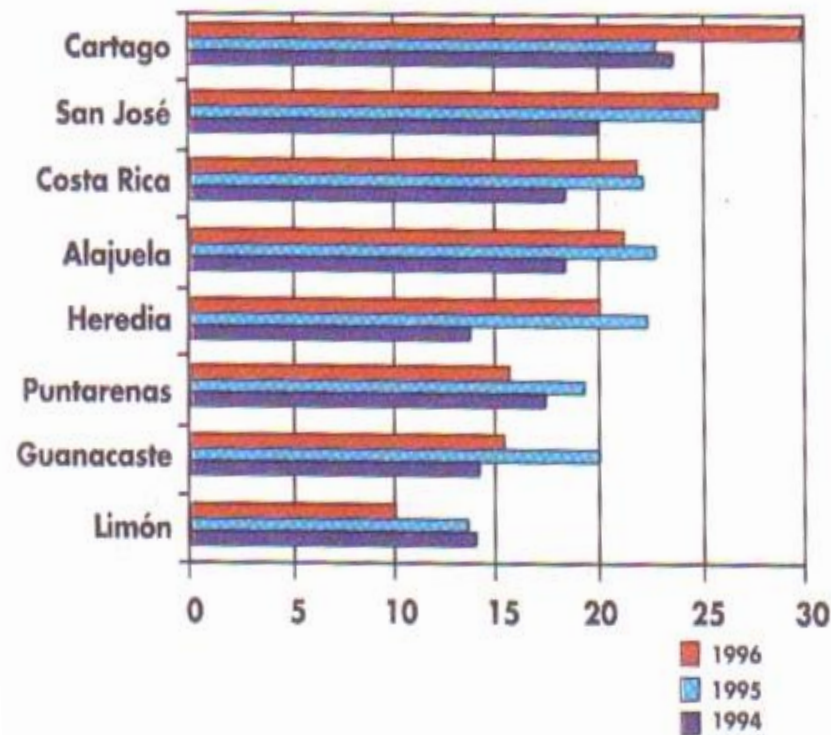
Variación internacional de incidencia para cáncer de estómago en hombres (iz) y mujeres (der).

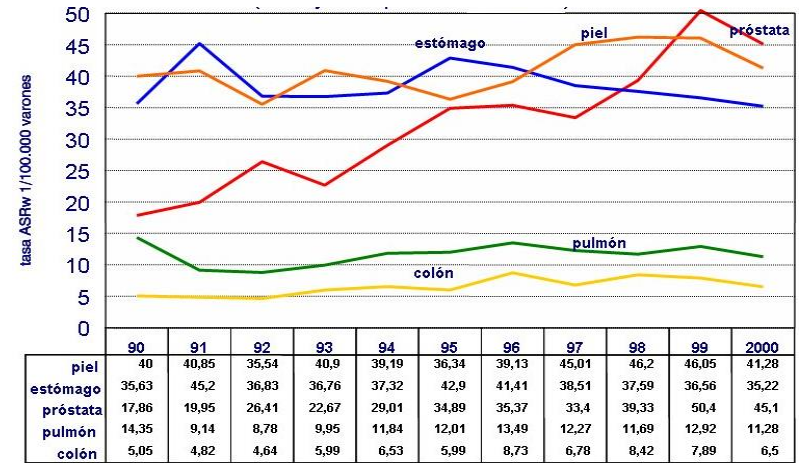




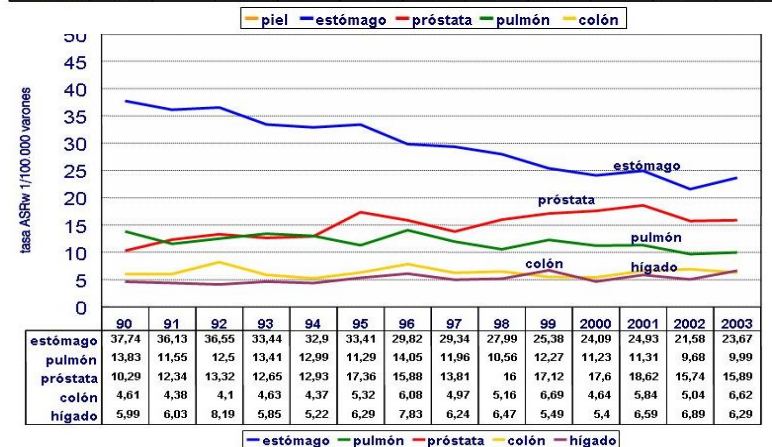
Age-adjusted death rate per 100,000 population for gastric cancer

- Tasa de incidencia de cáncer de estómago, por 100,000 habitantes, según provincia, Costa Rica, 1994-1996.

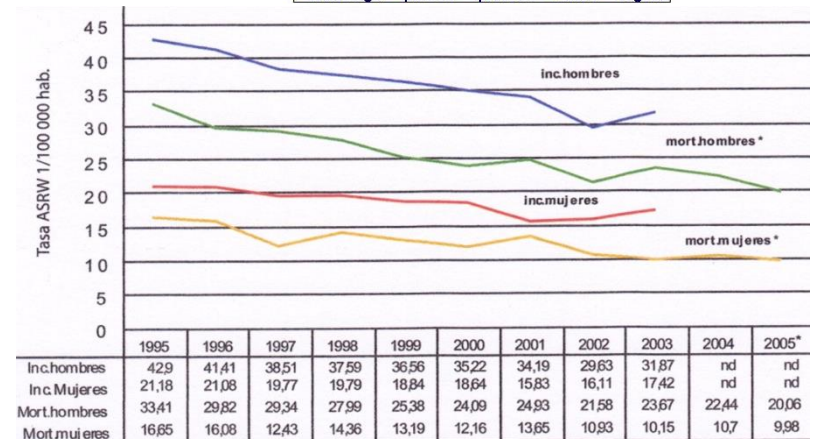




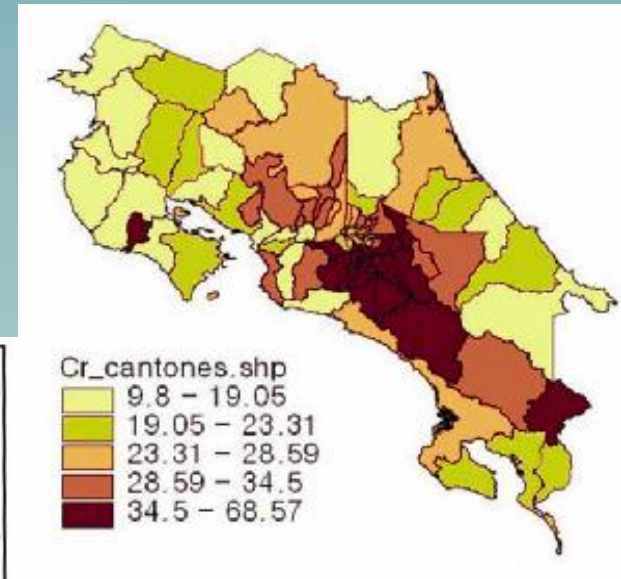
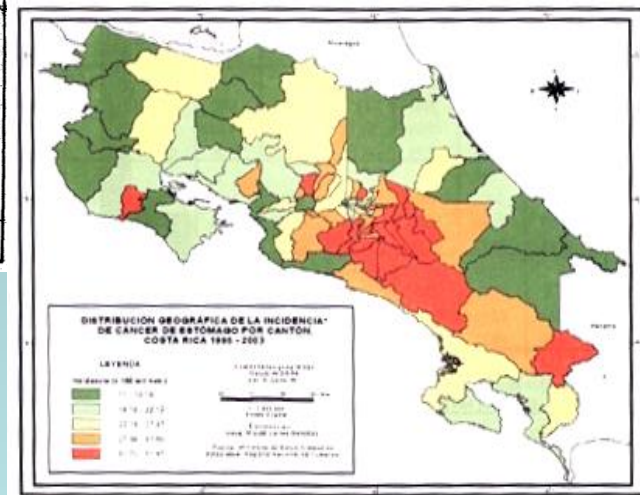
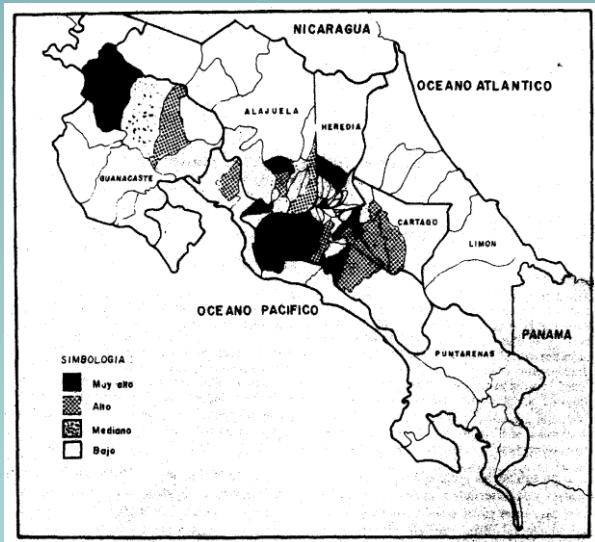
- Se muestra como solo la mortalidad ha bajado de manera franca.



- Arriba incidencia, en medio mortalidad, abajo incidencia y mortalidad (hombres).



- Desde los inicios de la investigación del cáncer de estómago en Costa Rica por el Dr Salas del Hospital San Juan de Dios por la década de 1970 y luego por la MSc Rafaela Sierra en la década de 1980, se ha mantenido la misma tendencia de distribución geográfica con respecto a alta y baja incidencia.



El papel del agua de consumo humano en la transmisión de *H. pylori*.

- ◆ Actualmente se cuenta con evidencia para el reconocimiento del agua de consumo humano en el rol epidemiológico de *H. pylori* (Mazari, 2001; Kowolick, 2005), advirtiéndose directamente que el consumo del agua no tratada debería considerarse un factor de riesgo para la infección en una población dada (Kowolick, 2005, Reavis, 2005; Bragança, 2007; Baker, 2001, Gião, 2006).

- Una variedad de métodos moleculares y la determinación de marcadores genéticos por Polimerasa Chain Reaction (PCR directo) y ensayos con anticuerpos han sido utilizados para detectar la presencia de *H. pylori* en:
 - agua de pozo
 - ríos,
 - biofilmes asociados a tanques de almacenamiento de agua
 - en tuberías de redes de distribución
- Sin embargo a la fecha ningún investigador ha reportado su cultivo directo a partir del agua de consumo humano.

- Actualmente se presenta evidencia sobre la mayor resistencia de *H. pylori* con respecto a *E. coli* al cloro y al ozono, por lo que, es capaz de tolerar desinfección en sistemas de distribución de agua.
- La propuesta de modelos a través de la tolerancia en el agua, le puede conferir características importantes en el ciclo de transmisión, siendo trascendental para una población dada, pues tiene fuertes implicaciones en la salud pública.

Hipotesis

"Si *Helicobacter pylori* se encuentra en agua de consumo humano de la población, entonces éste será un vehículo de transmisión de la enfermedad gástrica".

Presentación de la investigación

- Problema
- Marco Teórico
- Hipótesis
- Objetivos**
- Metodología
- Resultados
- Discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones

Objetivo General

- Valorar el impacto de la presencia de *H. pylori* en agua de consumo humano de fuentes seleccionadas de cantones de alta y baja incidencia de cáncer gástrico en Costa Rica por medio de técnicas moleculares y técnicas de cultivo modificadas.

Objetivos específicos

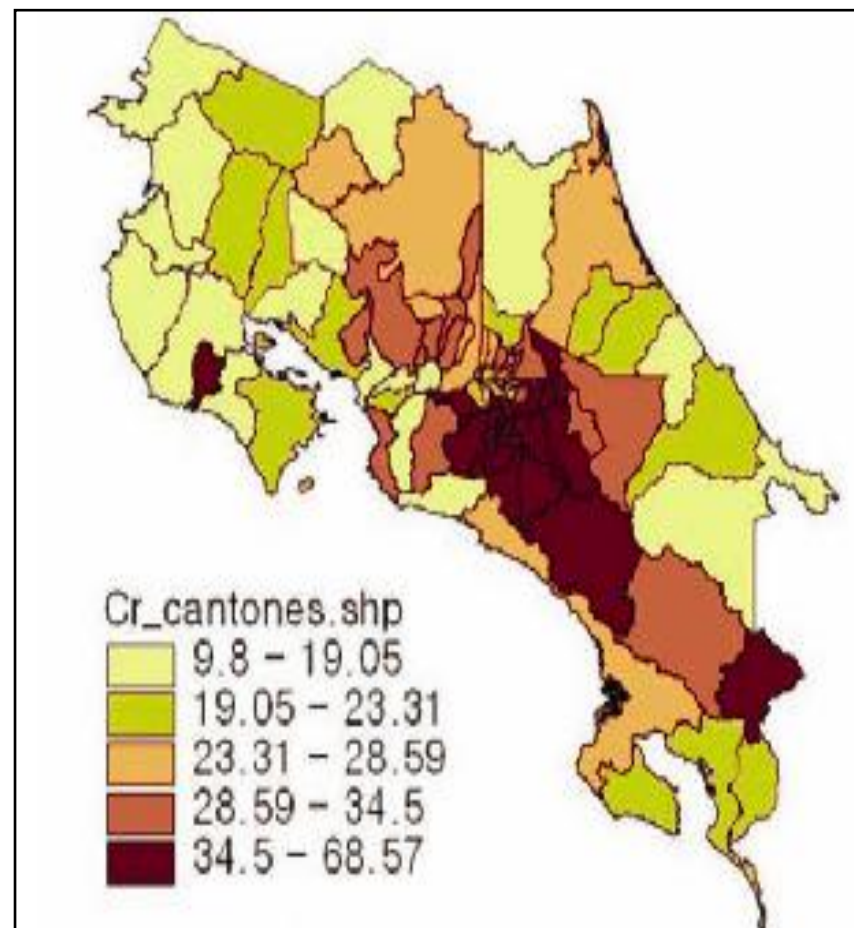
- ❑ Determinar la presencia de *Helicobacter pylori* mediante técnicas de cultivo y técnicas moleculares en muestras de agua de zonas de alta y baja incidencia por cáncer gástrico.
- ❑ Confirmar la identidad de las cepas encontradas mediante marcadores moleculares de identificación y de patogenicidad.
- ❑ Valorar el manejo del agua potable en Costa Rica y contrastarlo con el manejo en países desarrollados con el fin de proponer pautas para su mejoramiento.

Presentación de la investigación

- Problema
- Marco Teórico
- Hipótesis
- Objetivos
- Metodología**
- Resultados
- Discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones

Elección de los sitios de muestreo

QUINTIL 1		QUINTIL 2		QUINTIL 3		QUINTIL 4		QUINTIL 5	
Cantón	Tasa	Cantón	Tasa	Cantón	Tasa	Cantón	Tasa	Cantón	Tasa
León Cortés	68,57	Jiménez	34,50	Tibás	28,59	Guácimo	23,28	Nooja	18,97
Tarrazú	55,12	Greccia	34,25	San Domingo	28,55	Orotina	23,02	Talamanca	18,41
El Guarco	48,48	La Unión	32,15	Bara	28,35	Upala	22,94	Los Chiles	18,16
Parícuti	43,12	Naranjo	31,50	Golosechea	27,59	Escazú	22,76	Abangares	17,95
Coto Brus	42,57	Coronado	30,89	San Carlos	27,48	Santa Ana	22,26	La Cruz	17,88
Alvarado	39,59	Puriscal	30,65	Santa Bárbara	27,48	Montes de Oca	21,86	Turubares	17,74
Hojancha	38,10	Buenos Aires	30,57	Alfaro Ruiz	27,35	Heredia	21,67	Liberta	17,01
Alajuelita	37,85	Turriaba	30,55	Poocoi	26,75	Barques	20,74	Atenas	16,06
Aserri	36,97	San Ramón	30,17	Aguilre	26,35	Corredores	20,65	Santa Cruz	15,90
Cartago	36,91	Flores	30,12	Podis	25,82	Cañas	20,57	Tierras	15,49
Acosta	36,68	Valverde Vega	29,92	San José	24,78	Golfo	20,41	Matina	15,04
Pérez Zeledón	36,44	Garabito	29,65	Moravia	24,72	Curridabat	20,09	Nandayure	14,25
Mora	35,50	San Isidro	29,59	Gustavo	24,55	Siquiles	19,95	Sarapiquí	14,06
Oreamuno	35,22	Montes Oro	29,08	Belén	23,85	Punta Venas	19,92	Parrita	12,94
Desamparados	34,67	Palmares	29,05	Osa	23,85	Limón	19,13	San Mateo	11,94
Dota	34,58	San Rafael	29,03	Alajuela	23,71	Esparza	19,05	Carillo	9,80
				San Pablo	23,31				



Elección de los cantones de muestreo

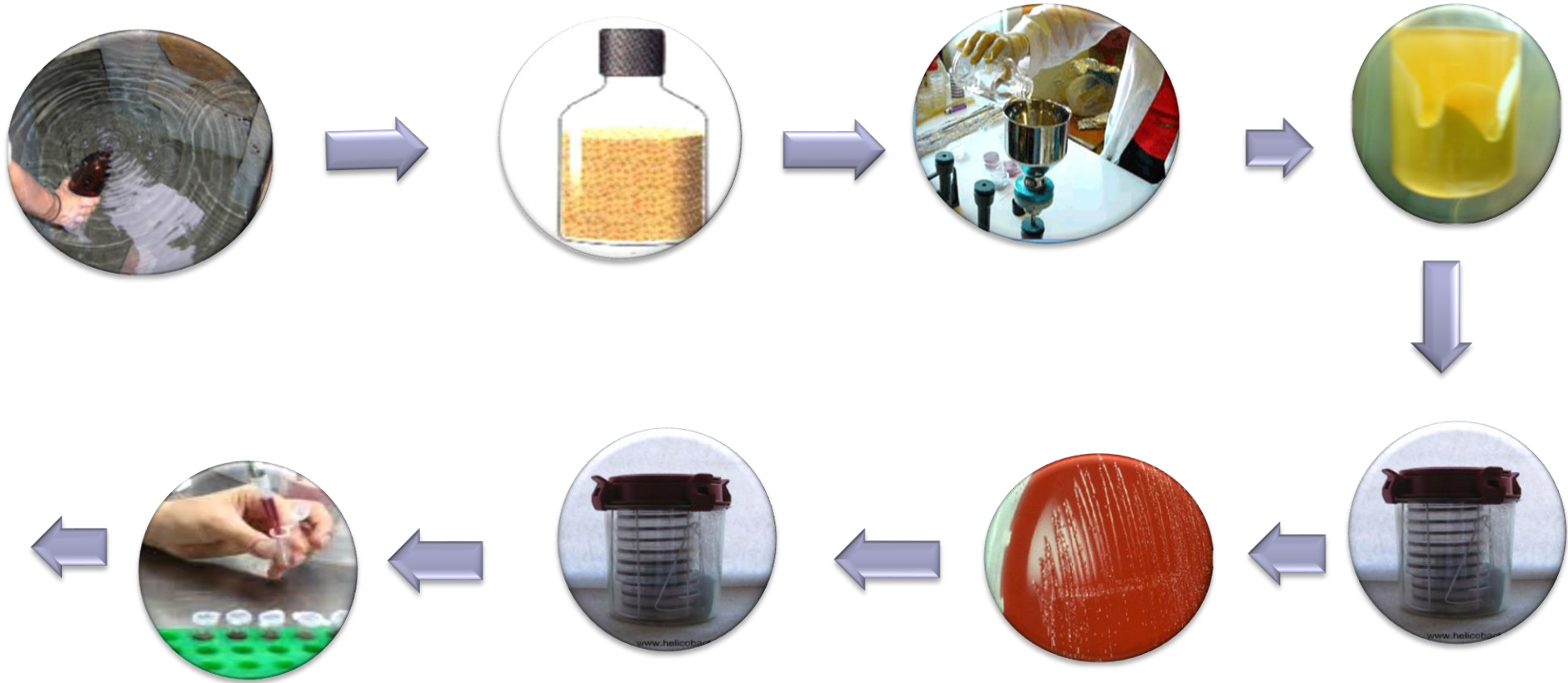
De alta incidencia:

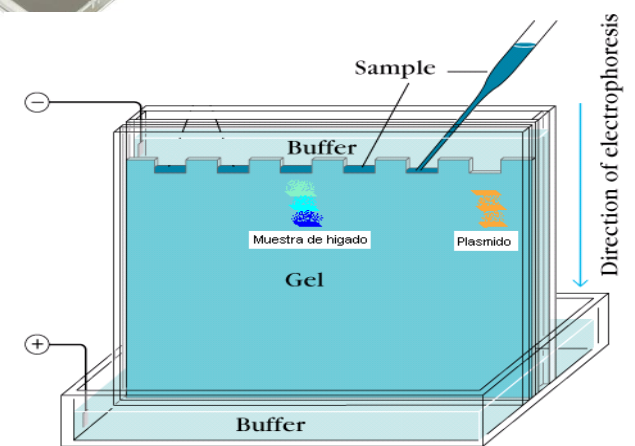
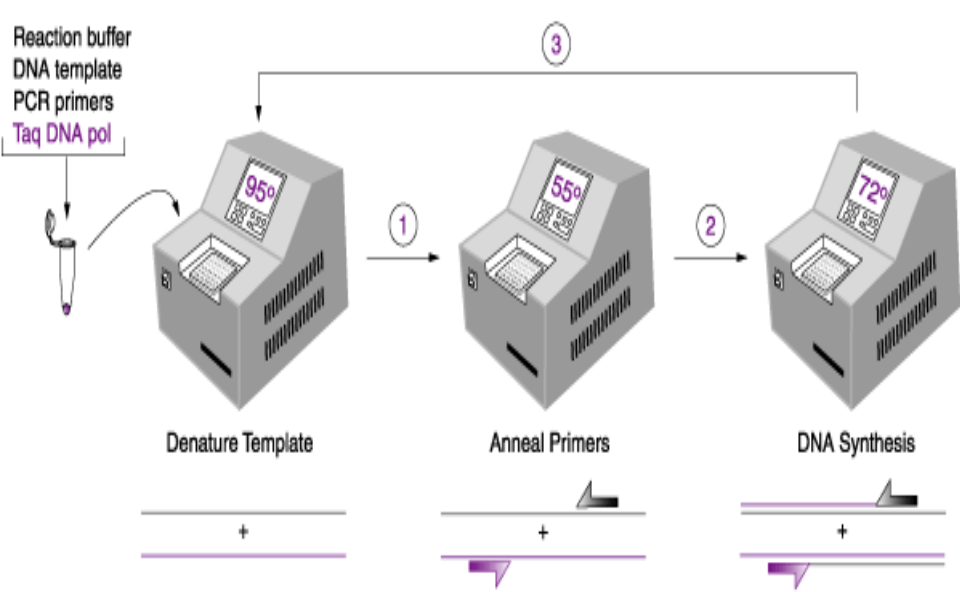
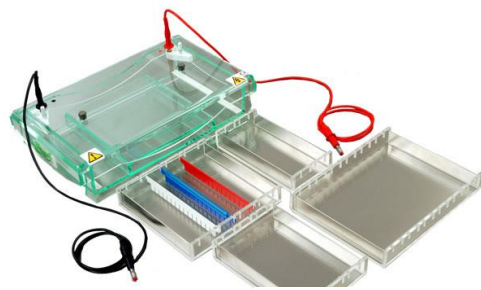
- De Cartago
 - Cartago
 - Oreamuno
 - Paraíso
 - El Guarco
 - Alvarado
- De San José
 - León Cortes
 - Aserrí
 - Acosta
 - Dota
 - Tarrazú

De baja incidencia:

- De Guanacaste
 - Nicoya
 - Abangares
 - La Cruz
 - Santa Cruz
 - Liberia
 - Tilarán
 - Nandayure
 - Carrillo
- De Alajuela
 - Los Chiles
 - San Mateo

Metodología





Muestreo.

Se lleva a cabo 3 muestreos:

1° Se evaluó protocolos de PCR, para la identificación de cepas con el marcador del gen *glmM*, el gen que codifica para la fracción ARNr 16S, y la presencia del gen *CagA*. Además se aplicó a la primera muestra positiva protocolo para la evaluación de las variantes alélicas de la región *vacA* de *H. pylori*.

Se practicaron conteos de coliformes totales y fecales.

Muestreo.

- 2° Se analizó los marcadores: *glmM* , coliformes totales y fecales.
- 3° Se les analizó la presencia del gen *glmM* .
 - A las muestras positivas se les determinó el marcador de la Proteína inductora del factor de necrosis tumoral alfa (Tipalpha FNT- α).

Análisis final

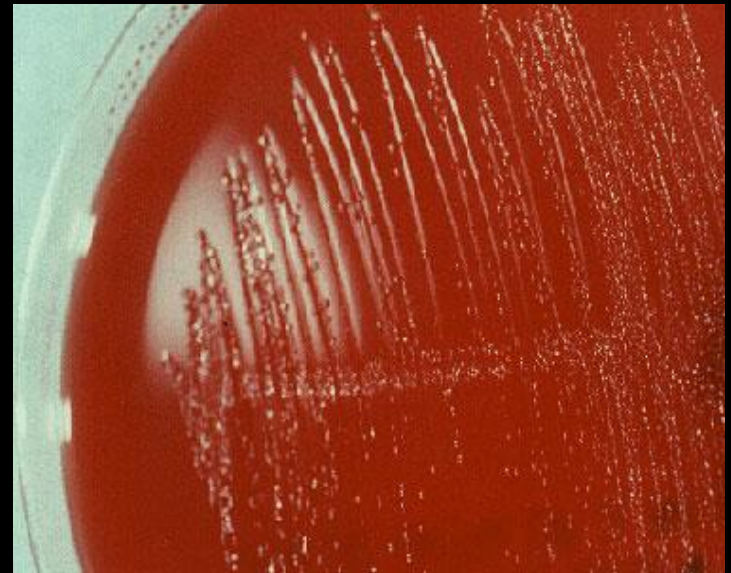
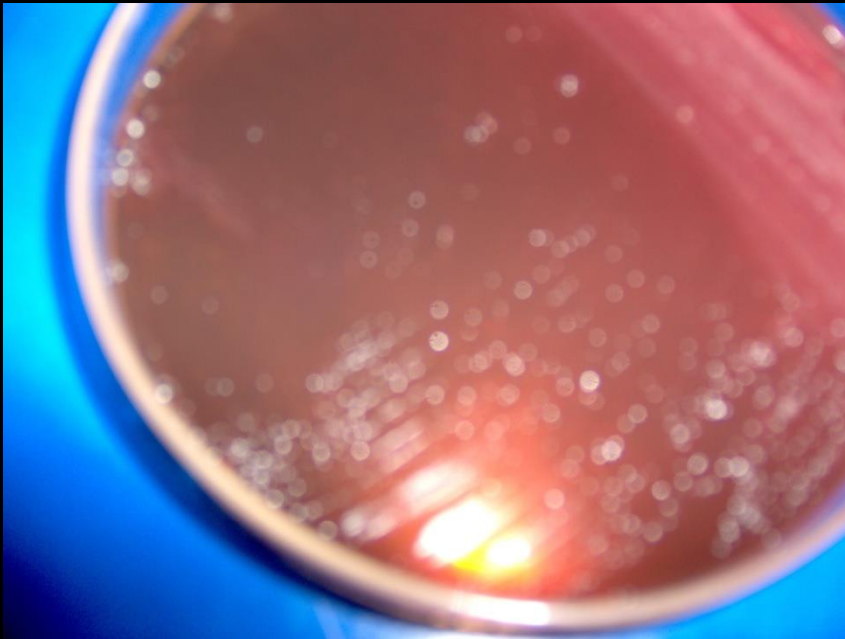
- Dos muestras positivas y el control se enviaron para secuenciación a la empresa MacroGen de Maryland, Estados Unidos.
- Se procede a la realización de correlaciones estadísticas entre los hallazgos de los que se recolectó información.

Presentación del Proyecto

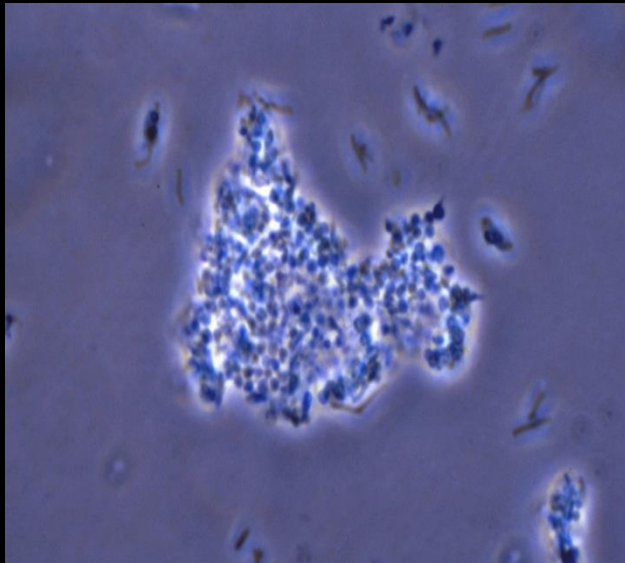
- 🔹 Problema
- 🔹 Marco Teórico
- 🔹 Hipótesis
- 🔹 Objetivos
- 🔹 Metodología
- 🔸 **Resultados**
- 🔹 Discusión
- 🔹 Conclusiones
- 🔹 Recomendaciones

Resultados

- Se procedió a la estandarización de la técnica de cultivo y la recuperación de la bacteria en la matriz agua, para esto se trabajo con las cepas adquiridas de ATCC de Estados Unidos: Hp 51932, Hp700392.
- ADN de la cepa de *H. pylori* 12455 de la National Collection of Type Cultures NCTC y la cepa J99 (Occhialini, 2000), las que sirvieron como controles en los ensayos de biología molecular.

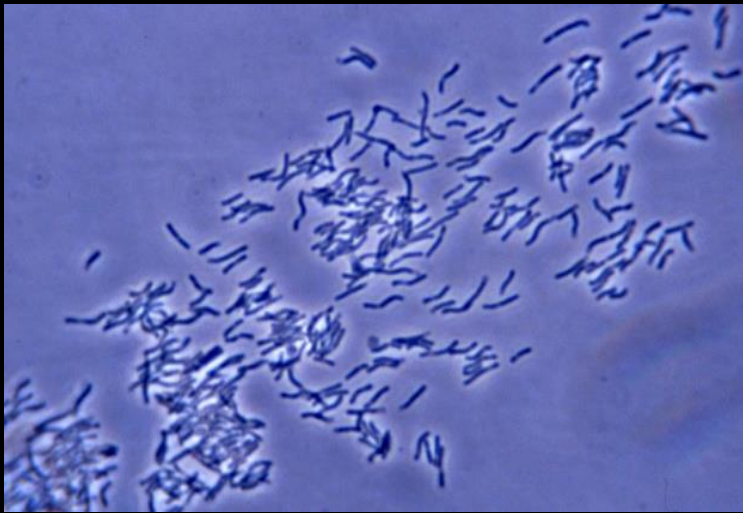


Microscopia en contraste de fases de formas cocoides de H pylori en cultivo en placa de 5 días. Se pueden apreciar formas vegetativas.



Cultivo en agar inclinado de 3 días, agregado de células inmóviles dispuestas en cuerda, en microscopia de contraste de fases





- Bacterias de cultivo bifásico inclinado por microscopia de contraste de fases.
- La disposición de las bacterias, con esta técnica se puede apreciar movilidad.

Primer muestreo.

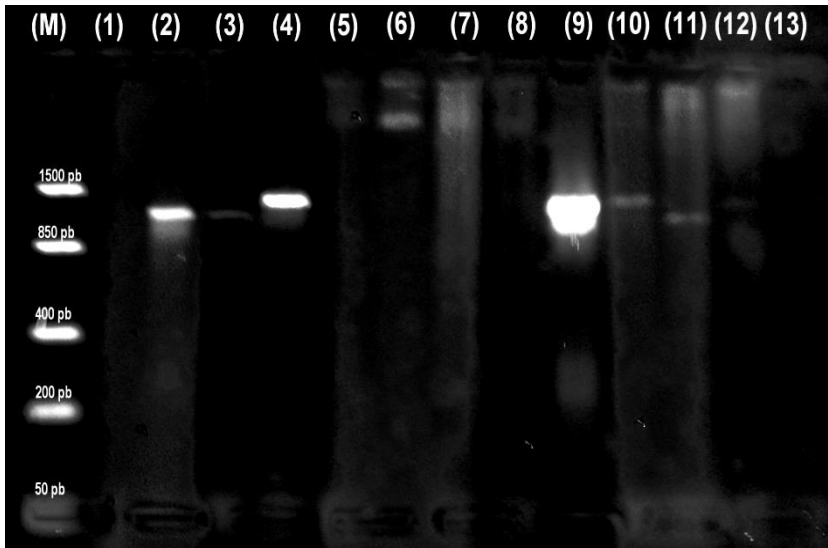
Análisis de las zonas de alta incidencia.

- Se recolectó 12 muestras de los cantones Central de Cartago y Santa María de Dota de San José.
 - Cantón Central :9 pertenecen a nacientes y 1 pozo
 - Cantón de Dota: 2 nacientes y 1 tanque

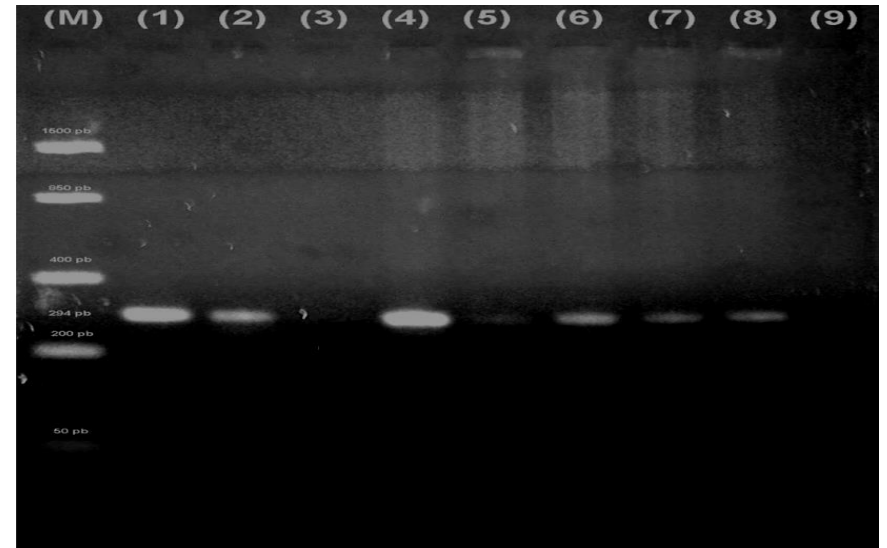
Tomadas en fuentes oficiales de agua manejadas por la Municipalidades respectivas.

Resultados primer muestreo

# de muestra	Muestras	PCR 16S ARNr	PCR glmM	CT/CF (NMP/100 mL)
	Cantón Central de Cartago			
10	Naciente Río Loro	negativo	N.R.	neg / neg
11	Naciente Ladrillera	Producto de tamaño mayor al esperado*	N.R.	4,5/neg
12	Naciente Banderilla	negativo	N.R.	neg / neg
13	Naciente Padre Méndez	N.R	N.R	N.R
14	Naciente Río Claro	negativo	N.R.	11/neg
15	Naciente La Misión	negativo	N.R.	23/neg
16	Naciente La Ortiga	negativo	N.R.	1,8/neg
17	Naciente Paso Ancho	negativo	positivo	13/neg
18	Naciente San Blas	negativo	positivo	23/neg
19	Pozo del TE C	positivo	positivo	neg/neg
	Cantón Santa María de Dota			
20	Naciente El Cedro	positivo	positivo	900 / neg
21	Naciente La Viejita	positivo	positivo	22 / neg
22	Tanque El Centro	positivo	positivo	N.R

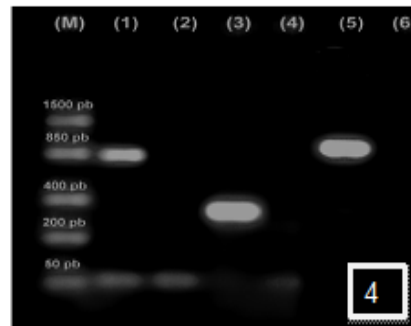
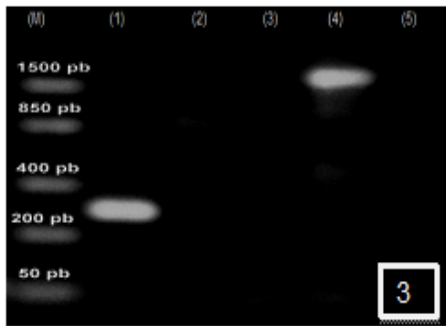
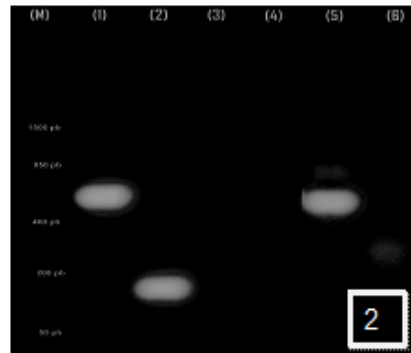
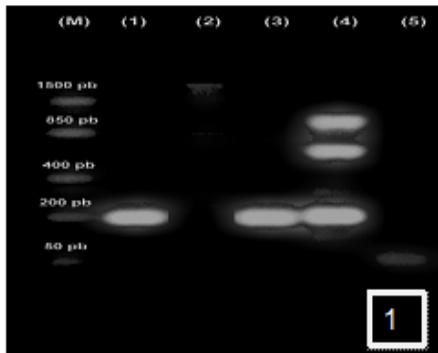


Visualización de productos de PCR para 16S ARNr (992-1500 pb). M: Marcador Fast Ruler Low Range; 1: Blanco, 2: cepa J99 (control); 3: *H. pylori* ATCC 700392; 4: *H. pylori* ATCC 51932; 5: #10; 6: #11; 7: #15; 8: #16; 9: *H. pylori* ATCC 51932; 10: #19; 11: #20; 12: #21; 13: Blanco.



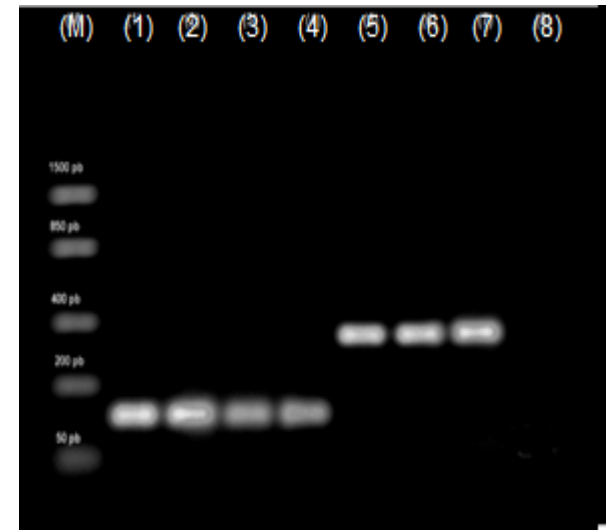
Visualización de productos de PCR para glmM (294 pb).. M: Marcador Fast Ruler Low Range 1: *H. pylori* ATCC 700392; 2: *H. pylori* ATCC 51932; 3: *E. coli*, 4: #17; 5: #18; 6: #19; 7: #21; 8: #22; 9: Blanco.

Resultados muestra 20

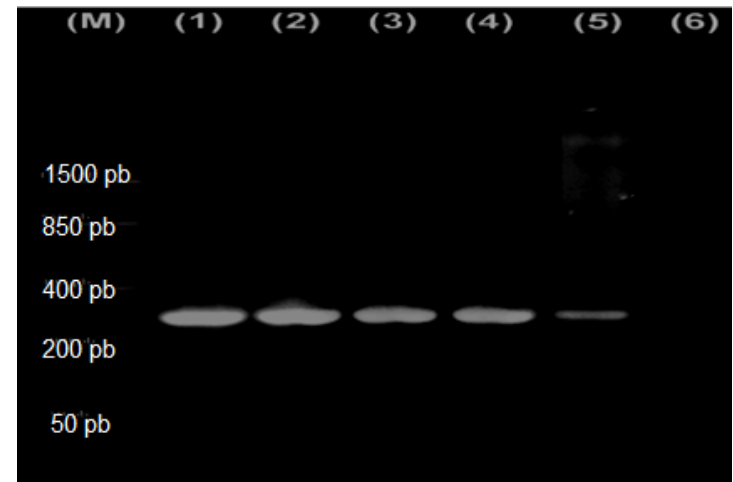


Productos de PCR para *Vac A*. 1- s1a, 2- s1b, 3- m1, 4- m2

Visualización de productos de PCR para *glmM*, se demostró que era una cepa s1 a



Visualización de productos de PCR para *CagA*



Segundo muestreo.

Análisis de las zonas de alta y baja incidencia.

 León Cortes

 Tarrazú

 El Guarco

 Paraíso

 Alvarado

 Aserri

 Cartago

 Acosta

 Oreamuno


 Dota

 Nicoya

 Santa Cruz

 La Cruz

 Los Chiles

 Nandayure

 Tilarán

 San Mateo

 Abangares

 Liberia

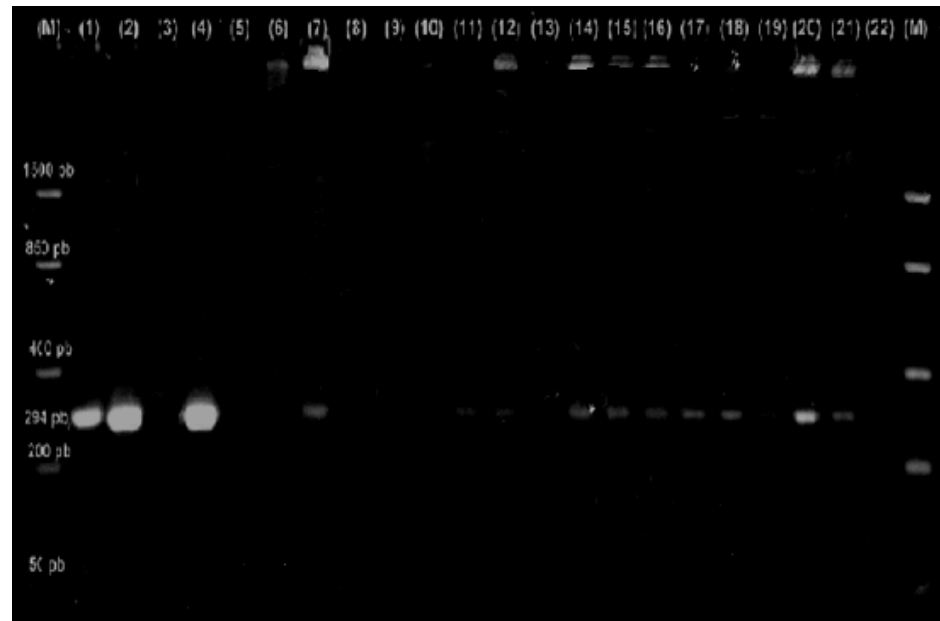
 Carrillo

Código	Origen de la muestra	Apariencia de la colonia elegida	Morfología / oxidasa / ureasa
01-07	Cepa biopsia KS	Colonias pequeñas puntiformes típicas, con el tiempo presenta hemólisis α con precipitado negro.	Bp / + / +
02-07	Pozo TEC	Colonias mediana	Bg / + / nr
03-07	Pozo TEC luego de botar agua por dos horas	Colonias rosadas Caldo + a las 24 horas	C / - / dudosa
04-07	Cantón de Oreamuno Naciente Carlos Gómez,	Colonia pequeña diminuta y en gran cantidad	Bpd / + / nr
05-07	Naciente Mario Ivancovich, Toño Meneses	Colonia pequeña diminuta	Bpd / + / nr
06-07	De un hidrante de la calle, convergen 8 nacientes Tejar del Guarco	Solo colonias grandes	Bg / - / nr
07-07	Naciente Tablón	Colonias pequeñas blancas	Bp / + / +
08-07	Tanque Palo Blanco	Colonia pequeña	Bp / + / -
09-07	Toma de Hacienda Vieja, captación las Cabras. Cantón de Paraíso	Se aísla Bacillus sp	N.R
10-07	Naciente. La Capira	Clorada 0,4 ppm Sin crecimiento positivo en el caldo solo hasta las 48 horas. Se aíslan solo unas 20 colonias puntiformes.	Bp / + / -
11-07	Naciente El Bosque	Clorada Sin crecimiento	N.R
12-07	Naciente Boquerón Cantón de León Cortes	Se aíslan colonias pequeñas	Bp / + / -
13-07	Naciente Zetillal	Se aíslan colonias puntiformes	Bp / + / -
14-07	Tanque de captación: naciente Zetillal y Gemelo Gamboa	Cloro residual 0.2 p.p.m +++ de crec. Colonias puntiformes pero muy pocas	Bp / + / + leve
15-07	Naciente Gemelo Gamboa # 2 Cantón de Tarrazú	En caldo crec ++ a las 48 horas En agar colonias pequeñas	Bp / + / + leve
16-07	Naciente San Guillermo	En caldo crec ++ a las 48 horas Colonias pequeñas.	Bp / + / +
17-07	Tanque San Guillermo	Cloro residual 0.3 ppm En caldo \pm a las 48 horas Sin crecimiento en el agar	N. R
18-07	Naciente El Rodeo	En caldo crec + a las 48 horas	Bp / +débil / +

Código	Origen de la muestra	Apariencia de la colonia elegida	Morfología / oxidasa / ureasa
19-07	Cantón de Santa María de Dota: Naciente El Copey	En caldo crec + + a las 48 horas Colonias pequeñas	Bp / - / +
20-07	Tanque Rubén (3 nacientes)	Cloro residual 0.3 ppm En caldo crec + 48 horas. Colonias puntiformes	Bp / + / +
21-07	Tanque el Centro	Cloro residual 0.3 ppm Colonias puntiformes.	Bp / + / -
22-07	Biopsia paciente WM	No crecimiento	N.R
23-07	Cantón Central Cartago Planta de Tratamiento, agua cruda	Crecimiento de colonias, no típicas	N.R
24-07	Planta de Tratamiento, agua clorada	Cloro residual: 1.1 ppm Sin crecimiento.	N.R
25-07	Cantón de Alvarado Tanque Santa Teresa	Colonias puntiformes. Caldo +/2 a 48 horas	Bp / - / -
26-07	Naciente El Callejón	Caldo +/2 a 48 horas Colonias pequeñas y blancas	Bp / - / -
27-07	Naciente José Castro Cantón de Aserri:	Caldo a 48 horas negativo	N.R
28-07	Casa Sr José Sandoval	Caldo ++ a 24 horas Se ven colonias puntiformes	Bp / + / +
29-07	Naciente Juan Carlos # 2	Caldo ++ a 24 horas Se ven colonias puntiformes típicas mezcladas	Bp / + / +
30-07	Tanque Ojo de Agua	Caldo + a 24 horas. Colonias puntiformes	Bp / + / +
31-07	Cantón de Acosta: Planta de tratamiento El Cedral de AyA	Cloro residual 0.6 ppm. Caldo a 48 h negativo	N.R
32-07	Agua cruda para potabilizar (agua de río)	Caldo a 24 h +++ Se aíslan colonias puntiformes luego de varios pasajes	Bp / + / +

Código de muestra	Marcador <i>glmM</i>	CT/CF (NMP/ 100 mL)
04-07	+	50 / neg
08-07	+	900 / 50
10-07	+	neg / neg
12-07	+	N.R
15-07	+	13 / neg
16-07	+	70/ neg
18-07	+	1,8 / neg
19-07	+	3,6 / neg
21-07	+	1,8 / neg
28-07	+	23 / neg
29-07	+	1,8 /neg
30-07	+	11 / neg

Resultados de los análisis del marcador *glmM* con respecto a coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF)



Visualización de productos de PCR para *glmM* (294 pb). M: Marcador Fast Ruler Low Range; 1: *H. pylori* ATCC 700392; 2: *H. pylori* ATCC 51932; 3: *E. coli*; 4: 01, 5:02, 6:03, 7:04, 8:06, 9:07, 10:08, 11:10, 12:12, 13:14,14:15, 15:16, 16:18, 17:19 18:21, 19:28, 20:29, 21:30, 22: Blanco (Agua).

Segundo muestreo.

Análisis de las zonas de baja incidencia

Cantón	Tipo de muestra	Cloro residual (mg/L)	Turbiedad	Cultivo
Tilarán	Oficina de AyA	0,76	N.D	negativo
La Cruz	Planta de tratamiento AyA	0,57	N.D	negativo
Los Chiles	Planta de tratamiento AyA	0,5	NP	negativo
Vicoya	Planta de tratamiento AyA	1,06	1,85	negativo
Darrillo	Planta de tratamiento	1,9	1,01	negativo
Santa Cruz	Planta de tratamiento AyA	1,3	0,47	negativo
Liberia	Planta de tratamiento AyA	0,98	N.D	negativo
San Mateo	Planta de tratamiento AyA	0,97	N.D	negativo
Vandayure	El acueducto lo maneja la Municipalidad. Agua es de la Oficina de la Municipalidad	negativo	NP	Crec. Positivo (++), pero no se aísla colonias semejantes a Hp
Abangares	El acueducto lo maneja la Municipalidad (antes de AyA) La muestra se tomo del agua cruda de la planta de tratamiento (río)	neg**	positivo	Crec. positivo, pero no se aísla colonias semejantes a Hp por la alta carga acompañante

- Se encontró que el 90% de estos cantones son manejados por AyA desde hace muchos años (desde los años de 1960 o principio de los años 1970), esto implica que el cloro residual que se maneja en estos lugares es alto.
- Según estimaciones teóricas la probabilidad de encontrar bacterias viables en aguas que usualmente manejan cloro residual alto es de aproximadamente 5% (Montero, 2004).

Tercer muestreo.

Análisis de zonas de alta y baja incidencia de cáncer gástrico.

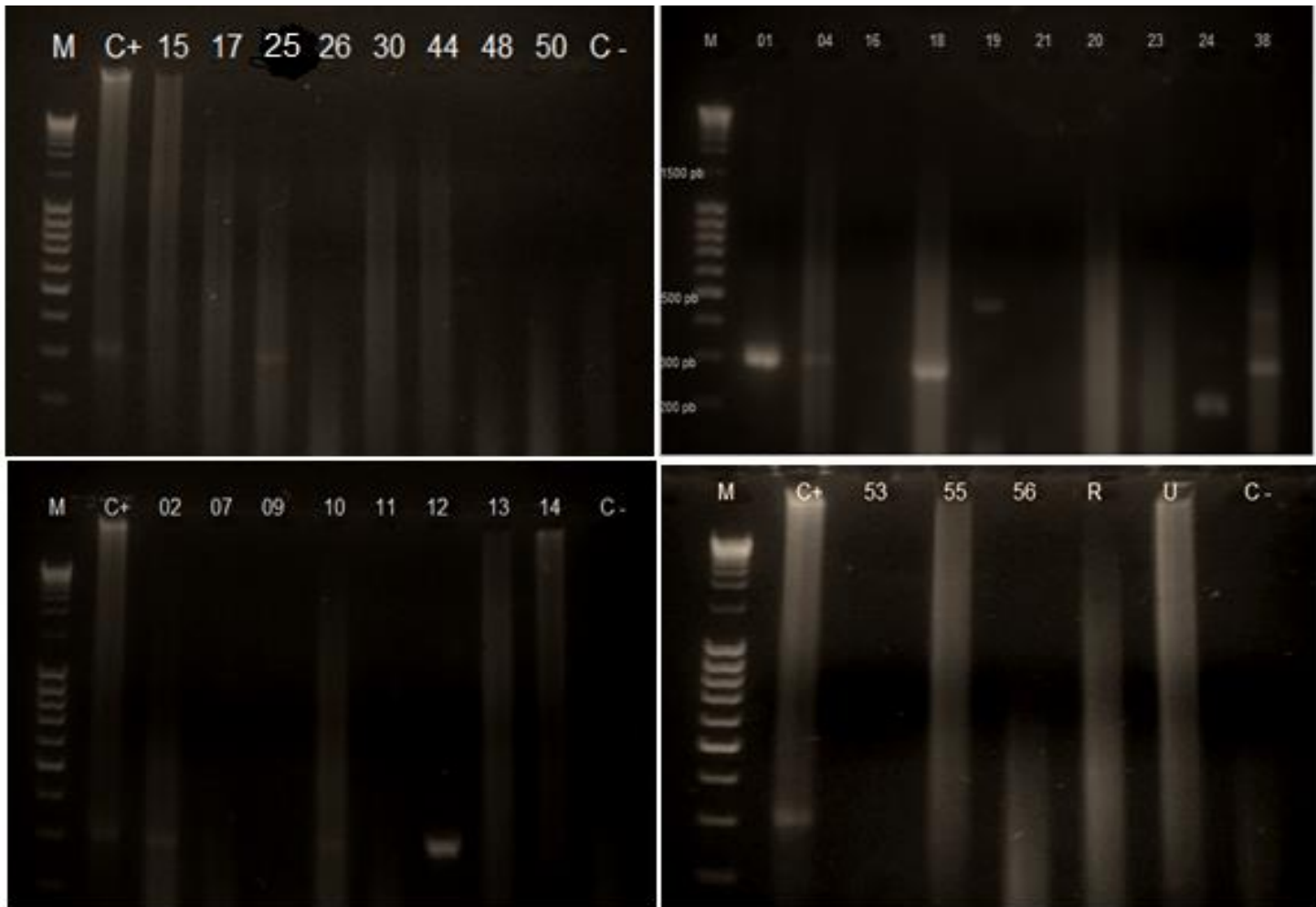
- Se pretende entonces el poder dilucidar la diferencia del efecto “Ente Operador AyA”, en las zonas de baja incidencia; y en las zonas de alta incidencia muestrear sobre la calidad del agua que directamente puede consumir la población.
- En el caso del Cantón Central de Cartago el efecto de cloraciones reconocidas de alta eficiencia se obvió muestreando las nacientes sin clorar.
- En este tercer muestreo se tomó agua sin tratar (naciente) y agua de consumo de las poblaciones.

- Para la identificación de la bacteria se utilizó el marcador molecular *glmM*.
- Las muestras positivas se les practicó una identificación con un marcador de patogenicidad nuevo llamado Proteína Inductora del Factor de Necrosis Tumoral α Tiphalfa (FNT- α).
- Envió a secuenciar productos de PCR del marcador *glmM* de dos muestras.

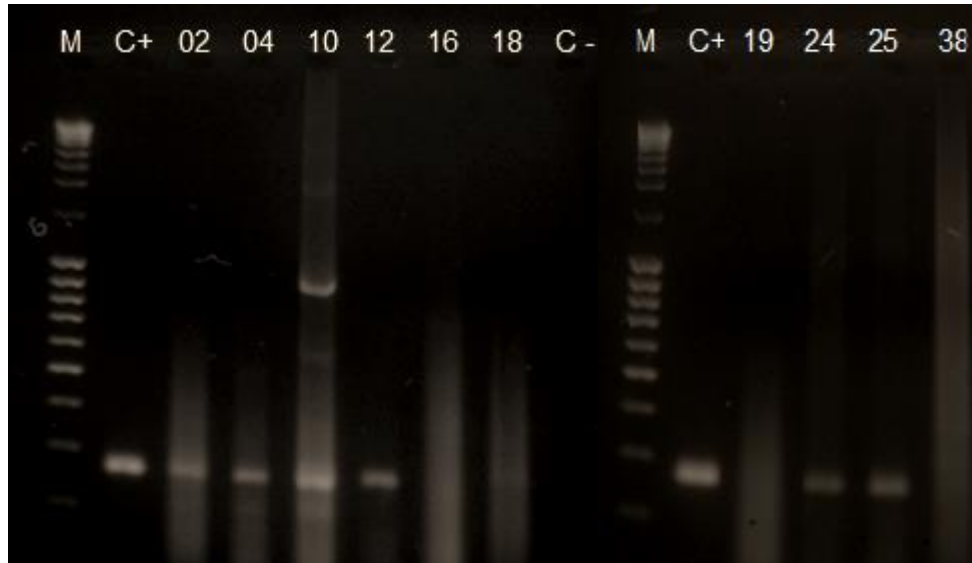
Resultados zonas de alta y baja incidencia

	Nombre	Cloro residual	Resultado crec. (48h a 25 °C)
	Cantón Central Cartago		
01-09	Naciente Río Loro	-----	+++
02-09	Naciente Larkaster	-----	+++
03-09	Naciente Paso Ancho	-----	+++
	Aserri		
04-09	Naciente Río Jorco	-----	+++
05-09	Tanque Intermedio de Río Jorco	v	Negativo
06-09	Casa Familia Sandoval M	v	Negativo
	Paraíso		
07-09	Naciente Luis Guzmán	-----	+
08-09	Naciente El Guayabal	-----	+++
09-09	Naciente El Bosque	-----	+++
	Santa María de Dota		
10-09	Naciente El Cedro	-----	+++
11-09	Casa Sr Julio Calvo	(clorada) sin c.r	+++
12-09	Naciente El Higueronal	-----	+++
	San Pablo de León Cortez		
13-09	Naciente Fulvio Gamboa	-----	+++
14-09	Naciente Evangelino Mora	-----	+++
15-09	Naciente El Zetillal	-----	+++
	Tarrazú		
16-09	Naciente El vapor	-----	+++
17-09	Tanque El vapor 1era casa	(clorada) sin c.r	+++
18-09	Naciente El Guillermo	-----	+++
	Muestras de tierra		
19-09	Dota (negra)	-----	+++
20-09	León Cortez (amarilla)	-----	+++
21-09	Tarrazú (roja)	-----	+++
	Tejar, El Guarco. Barrio Corazón de Jesús		
22-09	Fam Loaiza Leiva	-----	+++
23-09	Fam Robles Loaiza	-----	+++
24-09	Fam Hernández Loaiza	-----	+++
	Alvarado. Cervantes		
25-09	Fam Araya Umaña	-----	+++
26-09	Fam Umaña Araya	-----	+++
27-09	Fam Leitón Araya	-----	+++
	Oreamuno		
28-09	Fam Mata Loaiza	v	Negativo
29-09	Super Irazú	v	negativo
30-09	Fam Rivera Gómez	-----	+++

	Nombre	Cloro residual	Resultado crec en tubo (48h a 25 °C)
	Nicoya		
31-09	Casa frente al parque	-----	-
32-09	Casa entrada a Nicoya	-----	-
33-09	Casa 200 mts sur del parque	-----	-
	Santa Cruz		
34-09	Casa frente al parque	-----	-
35-09	Casa carretera principal	-----	-
36-09	Casa fam Cubillo M. Matapalo	-----	-
	Los Chiles		
37-09	Pozo Hotel Caño Negro *	-----	+++
38-09	Pozo Asada Super Caño Negro*	-----	+++
39-09	Pozo Asada Cabinas Oasis*	-----	+++
	La Cruz		
40-09	Pozo # 3 AyA	-----	+/-
41-09	Pozo # 4 AyA	-----	+/-
42-09	Pozo # 2 AyA	-----	-
	Liberia		
43-09	Pozo Capulín AyA	-----	++ (película)
44-09	Pozo Hotel Los Boyeros	-----	++
45-09	Pozo Moracia # 3 AyA	-----	-
	Tilarán		
46-09	Casa Sr John Jemilguy	-----	+(película)
47-09	Vivero del ICE Tronadora	-----	+/- (película)
48-09	Finca Sr Ramírez Tronadora	-----	++
	Nandayure		
49-09	Casa Fam Monge. Centro	-----	+
50-09	Soda Frente al Parque	-----	+++
51-09	Cabinas "Mas allá del Puente"	-----	+
	San Mateo		
52-09	Restaurante Cactus	-----	+/-
53-09	Restaurante Rancho Orofina	-----	+++
54-09	Finca fam Solís A. Centro	-----	-
	Carrillo		
55-09	Salón El Jordán. Río Cañas	-----	+/-
56-09	Fam Belén, Palestina	-----	++
57-09	Fam Belén Centro	-----	+
	Abangares		
58-09	Barrio La Gloria Salida P de Trat	(clorada) sin c.r	-
59-09	Restaurante El Fogón	(clorada) sin c.r	-
60-09	Cruz Roja	(clorada) sin c.r	-



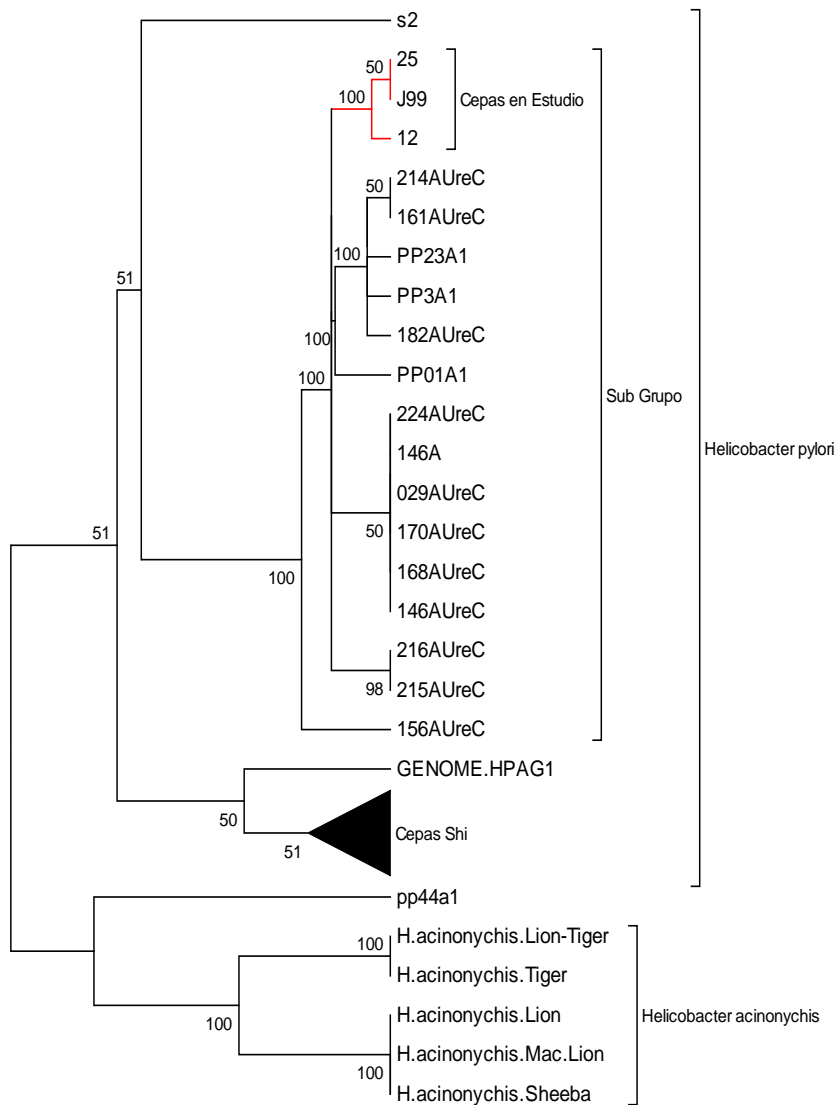
Visualización de productos reamplificados de PCR para *glmM* (294 pb). **Imagen 1:** M: Marcador Fast Ruler Low Range; 1: Control +, solo la muestra 25 se encuentra positiva. **Imagen 2:** Muestras positivas: 01, 04, 18, 19, 24 y 38. **Imagen 3:** Muestras positivas: 02, 10, 12. **Imagen 4:** Ninguna muestra positiva.



Visualización de productos de PCR para *FNT- α* (273 pb) en las muestras positivas con el marcador *glmM*.

Resultados del análisis de los marcadores *glmM* y FNT- α por muestra para el tercer muestreo.

Muestra	Tamaño del producto de PCR reamplificado (294 pb).	Presencia del FNT- α (Tiphalfa)	Origen de la muestra
1	Producto del tamaño esperado	N.R	Naciente no se usa directo
2	Producto del tamaño esperado	+	Naciente no se usa directo
4	Producto del tamaño esperado	+	Naciente no se usa directo
10	Producto del tamaño esperado	+	Naciente de uso directo
12	Producto del tamaño esperado	+	Naciente de uso directo
16	Producto del tamaño esperado	-	Naciente de uso directo
18	Producto del tamaño esperado	+ (muy leve)	Naciente de uso directo
19	Productos de mayor tamaño al esperado de 350 pb, y 450 pb.	-	Suelo
24	Una banda de mayor tamaño al esperado (325 pb) y una de menor tamaño al esperado (200 pb)	+	Casa de familia
25	Producto del tamaño esperado	+	Casa de familia
38	Un producto del tamaño esperado y otro producto de mayor tamaño al esperado (400 pb).	-	Pozo después de fuerte lluvia



- Se muestra en el dendograma el parentesco filogenético de las cepas secuenciadas
- Los números expresan porcentajes y el tamaño de las rayas muestra las distancias o diferencias en el ADN.
- Se trato de seleccionar todas las cepas reportadas bajo el gen *glmM*.

Resumen de los resultados por muestreo en las zonas de alta y baja incidencia.

Muestras de agua por muestreo	Lugares de alta incidencia +/total	Lugares de baja incidencia +/total
1 ^{er} (12)	6/12	N.R
2 ^{do} (40)	12/30	0/10
3 ^{er} (60)	10/30	3/30
Total 112 muestras	28/72	3/40
% Total positividad	39	7,5

- Se encontró entonces un manejo característico y diferenciado del agua para consumo humano entre las zonas de alta y baja incidencia de cáncer gástrico.

Cuadro comparativo de las zonas de alta y baja incidencia de cáncer gástrico (C.G) sobre la naturaleza del agua y el Ente Operador del acueducto.

Característica	Cantones con alta incidencia de C.G	Cantones con baja incidencia de C.G
Oferta hídrica	ALTA	BAJA
Ente operador (como fuente oficial)	Municipalidades 90%	AyA (muchos años) 90%
Naturaleza del agua	100% de nacies 2 lugares con agua de quebrada	80% de los lugares con pozos. 30% superficial tratada 10% nacies
Temperatura ambiental (como zonas frías o cálidas)	Baja	Alta

Se recolecta información adicional y se elabora los siguientes cuadros...

Cantón	Naturaleza del agua ¹			Ente operador oficial del agua (a 1999) ¹	Ente operador oficial del agua (a 2005) ¹
	nacientes	pozos	Superficial tratada		
Abangares	--	--	100%	AyA	Mun
Carrillo	--	100%		AyA	AyA
La Cruz	--	100%	--	AyA	AyA
Liberia	--	100%	--	AyA	AyA
Los Chiles	--	100%	--	AyA	AyA
Nandayure	100%	--	--	Mun	Mun
Nicoya	--	50%	50%	AyA	AyA
San Mateo	--	--	100%	AyA	AyA
Santa Cruz	--	100%	10%	AyA	AyA
Tilarán	80%	20%	--	AyA	AyA

Cantón	Naturaleza del agua ¹			Ente operador oficial del agua ¹ (a 1999)	Ente operador oficial del agua (a 2005) ¹
	nacientes	pozos	Trat completo AyA		
Alvarado	100%	--	--	Mun	Mun
Acosta	--	--	100%	AyA	AyA
Aserri	100%	--	--	Mun	Mun
Cartago	80%	--	20%	Mun	Mun
Dota	100%	--	--	Mun	Mun
El Guarco	70%	30%	--	Mun	Mun
Leon Cortes	100%	--	--	Mun	Mun
Oreamuno	100%	--	--	Mun	Mun
Paraíso	90%	--	10%	Mun	Mun
Tarrazú	100%	--	--	Mun	Mun

Cantón	Tasa ajustadas de incidencia ¹ (x 100 000 hab)	Altura (msnm) ²	Temperatura media anual ³ (°C)	Precipitación media anual (mm)* ³
Alvarado	39	1735	16,5*	ND
Acosta	36	1095	20,7*	2462
Aserri	36	1308	20,7*	ND
Cartago	36	1435	19,0	ND
Dota	35	1548	16,8*	2010
El Guarco	48	1377	19,3*	1462
Leon Cortes	68	1542	16,8	ND
Oreamuno	35	1453	14,7	ND
Paraíso	43	1325	19,6	ND
Tarrazá	55	1429	17,4	ND

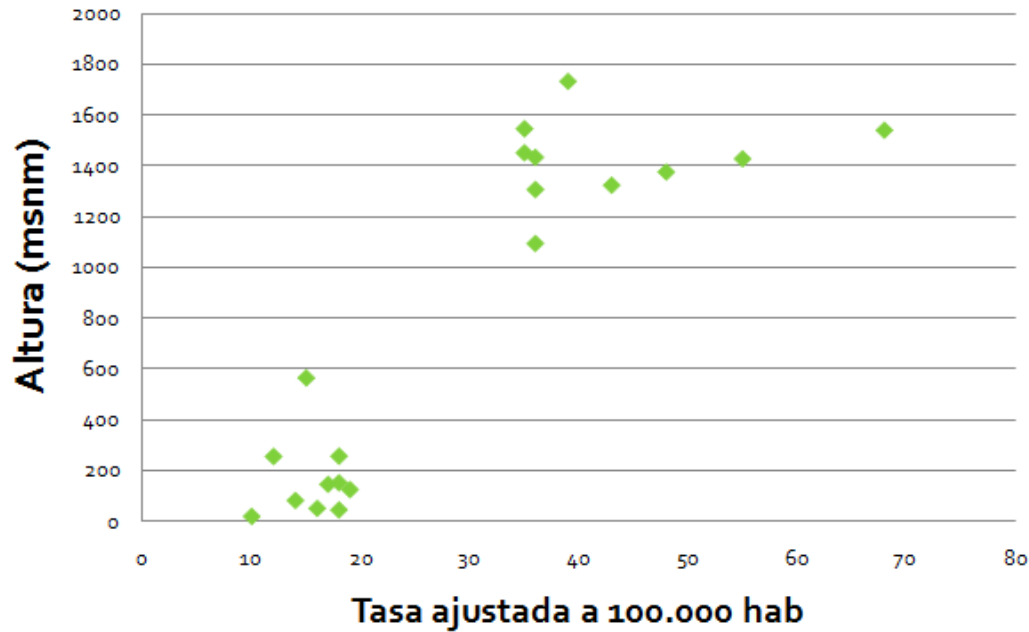
Cantón	Tasa ajustadas de incidencia ¹ (x 100 000 hab)	Altura (msnm) ²	Temperatura media anual ³ (°C)	Precipitación media anual (mm)* ³
Abangares	18	150	27*	2281
Carrillo	10	17	28,4	ND
La Cruz	18	255	27,7	ND
Liberia	17	144	27,1*	1642
Los Chiles	18	43	28,9	ND
Nandayure	14	80	28,1	ND
Nicoya	19	123	27,8*	2151
San Mateo	12	254	27,7	ND
Santa Cruz	16	49	27,8*	1709
Tilarán	15	564	24,6	ND

Fuente: ¹ Ministerio de Salud, Unidad Estadística, Registro Nacional de Tumores.

² Instituto Geográfico Nacional, altura correspondiente al distrito primero del cantón.

³ Instituto Meteorológico Nacional. * Medida directamente de las estaciones meteorológicas a 2008.

ND: no se dispone de datos



R= 0,86

Correlación entre altura y tasa de incidencia de cáncer gástrico para los cantones marco de estudio.

Entonces.....

- La relación entre altura y tasa se realiza con el objetivo específico de establecer correlaciones estadísticas de las zonas entre tasas de alta y baja incidencia de cáncer gástrico con factores geofísicos ambientales, relacionados con la sobrevivencia en el ambiente y adquisición de *Helicobacter pylori* en el agua de consumo por la población.
- Se analizó todas las variables utilizando el software SPSS.

Del análisis anterior se determinó que existe correlaciones importantes y significativas, según:

- Coeficiente de Correlación de Pearson entre:
 - Tasa de incidencia de cáncer gástrico y altitud: 0,867
 - Tasa de incidencia de cáncer gástrico y temperatura ambiental: - 0,853
 - Tasa de incidencia de cáncer gástrico y origen del agua como naciente: 0,651.
- Coeficiente de Regresión Lineal entre incidencia y temperatura: $R^2 = 0,728$.
- En la prueba exacta de Fisher para evaluar la independencia entre tasa de incidencia de cáncer gástrico con Ente Operador del agua, se tiene un valor de $p < 0,05$, se concluye que existe relación entre las variables y que esta relación no se debe al azar con un 95% de confianza.

- Una vez analizadas las variables anteriores surgió entonces la pregunta: ¿ cómo se comporta en el marco de las zonas de estudio las tasas de incidencia de cáncer gástrico a la fecha?

Tasa de los cantones marco del estudio correspondientes al quintil 1 de alta incidencia de cáncer gástrico para los periodos 1999 y 2005.

Cantón	Tasas periodo 1990-1999	Quintil	Tasas periodo 1995-2005	Quintil
León Cortes	68,57	1	51,4	1
Tarrazú	55,12	1	39,32	1
El Guarco	48,48	1	40,3	1
Paraíso	43,12	1	39,42	1
Alvarado	39,59	1	42,77	1
Aserri	36,97	1	43,46	1
Cartago	36,91	1	33,92	2
Acosta	36,68	1	39,95	1
Oreamuno	35,22	1	39,23	1
Dota	34,58	1	39,14	1

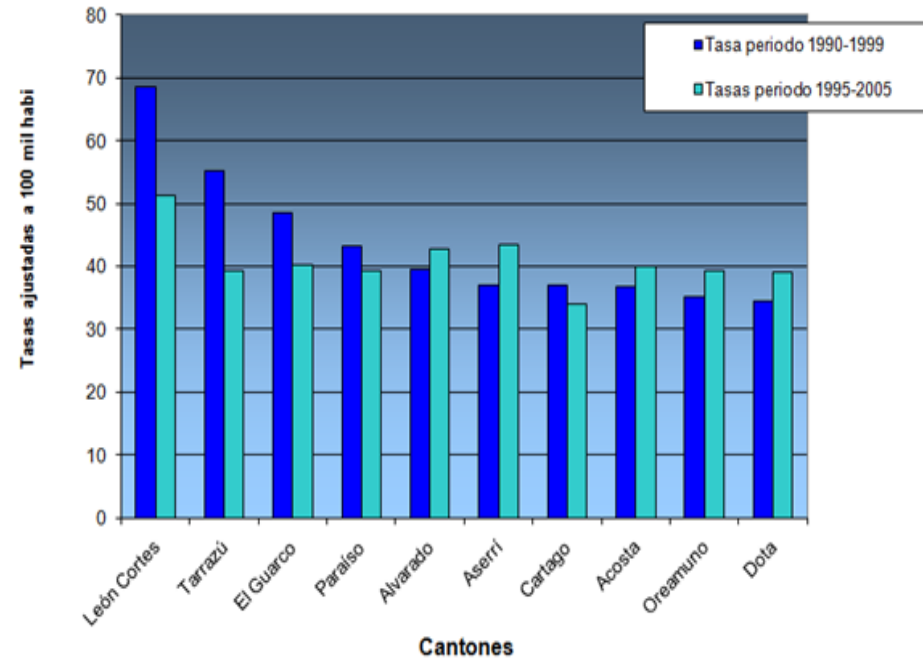
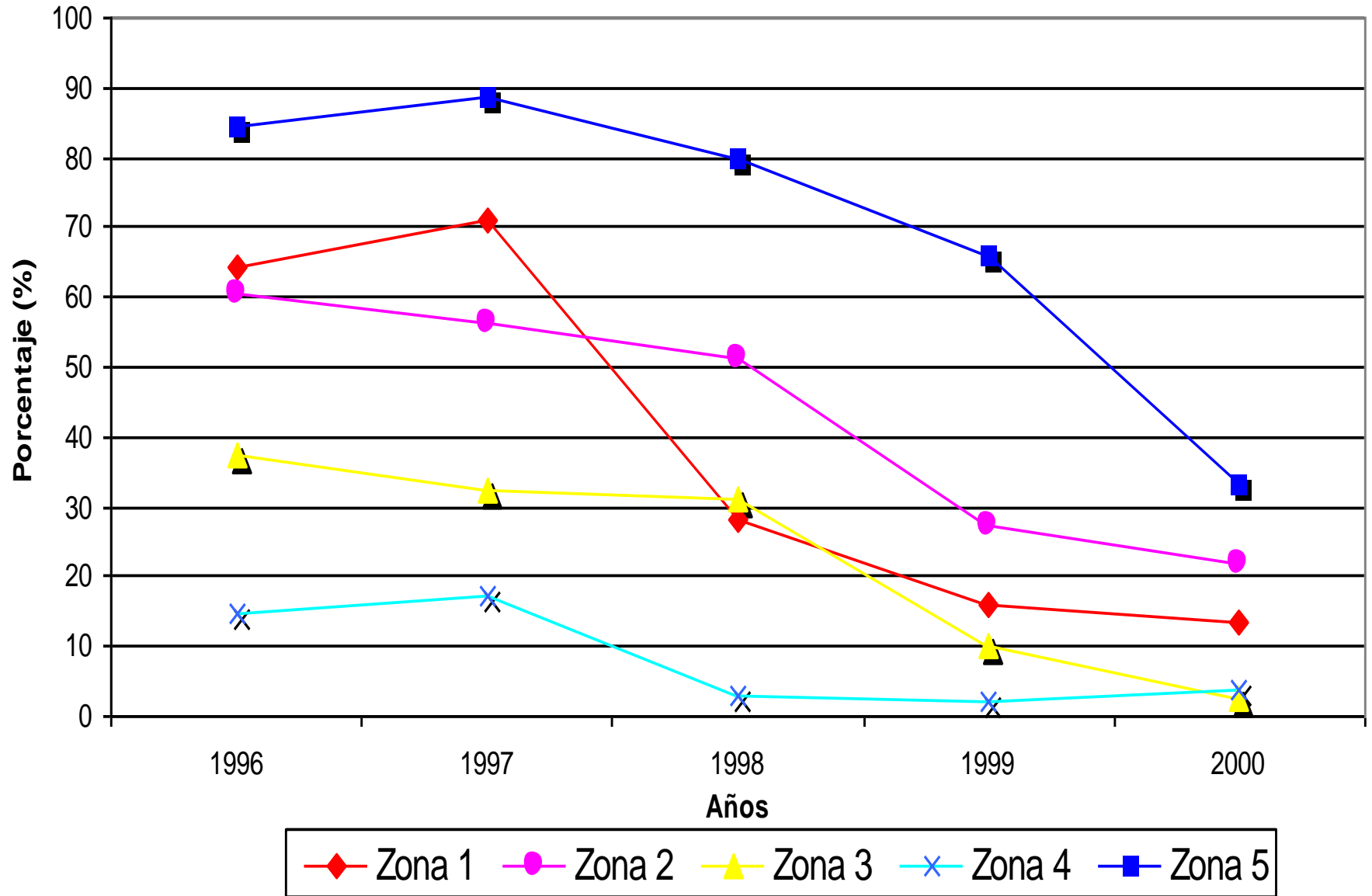
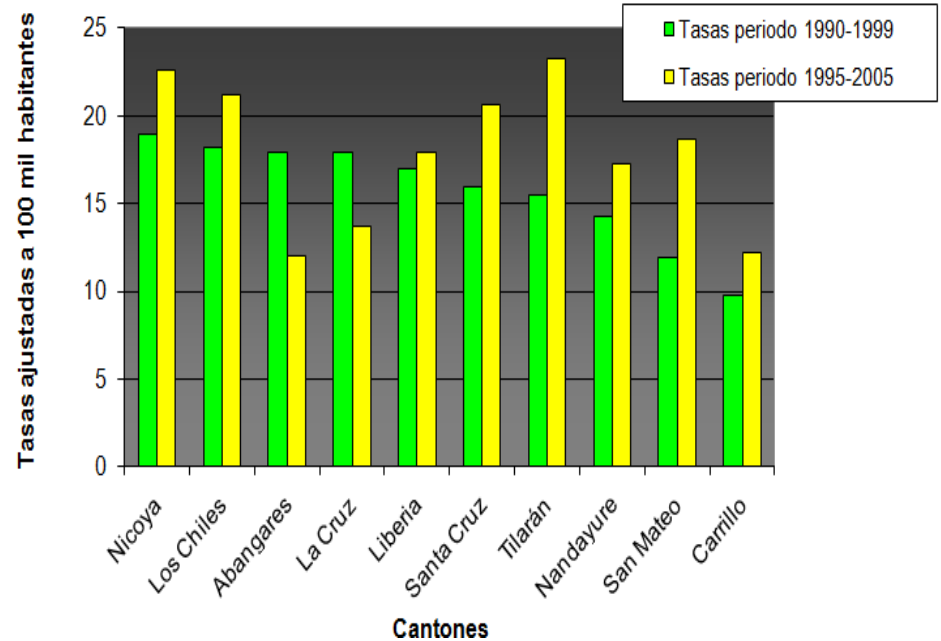


Gráfico No.1
Positividad bacteriológica del agua de la red municipal del cantón Central de Cartago, 1996-2000 (%)



Tasa de los cantones marco del estudio correspondientes al quintil 5 de baja incidencia de cáncer gástrico para los periodos 1999 y 2005.

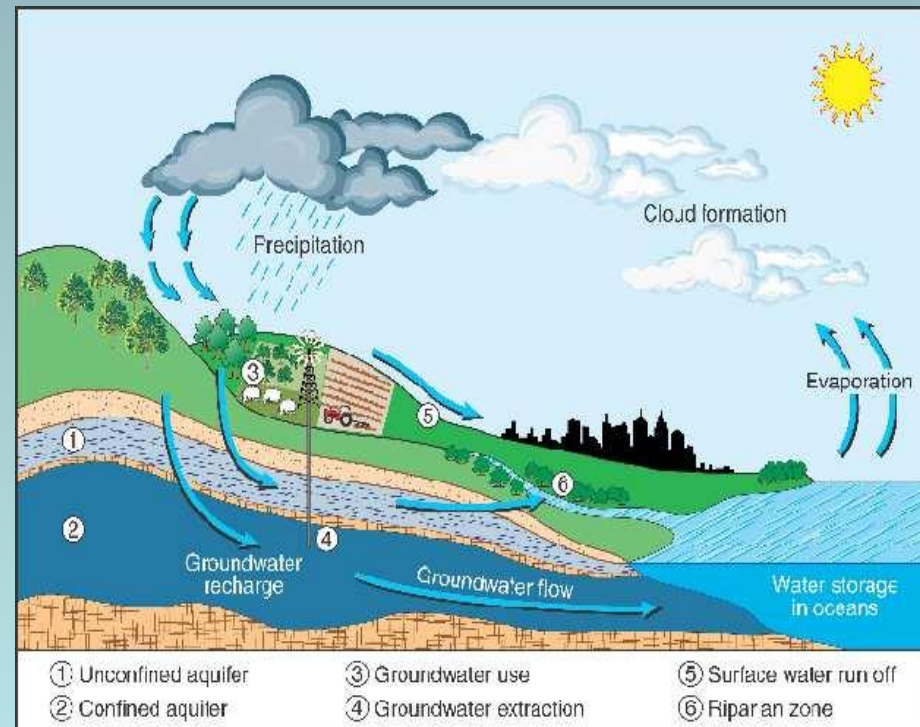
Cantón	Tasas periodo 1990-1999	Quintil	Tasas periodo 1995-2005	Quintil
Nicoya	18,97	5	22,62	3
Los Chiles	18,16	5	21,21	4
Abangares	17,95	5	11,97	5
La Cruz	17,88	5	13,74	5
Liberia	17,01	5	17,95	5
Santa Cruz	15,9	5	20,61	4
Tilarán	15,49	5	23,23	3
Nandayure	14,25	5	17,26	5
San Mateo	11,94	5	18,62	4
Carrillo	9,8	5	12,17	5

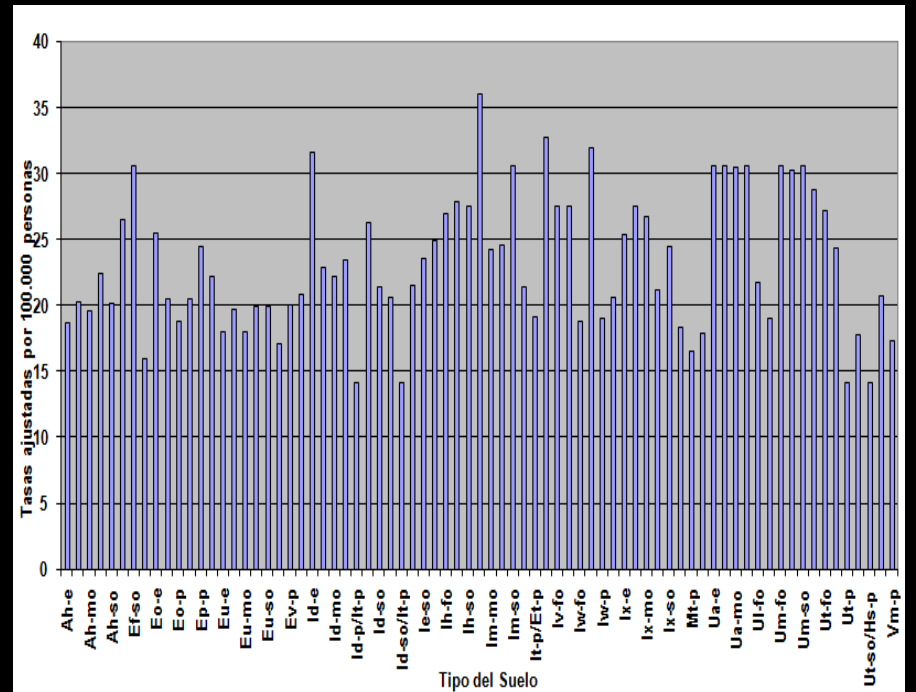
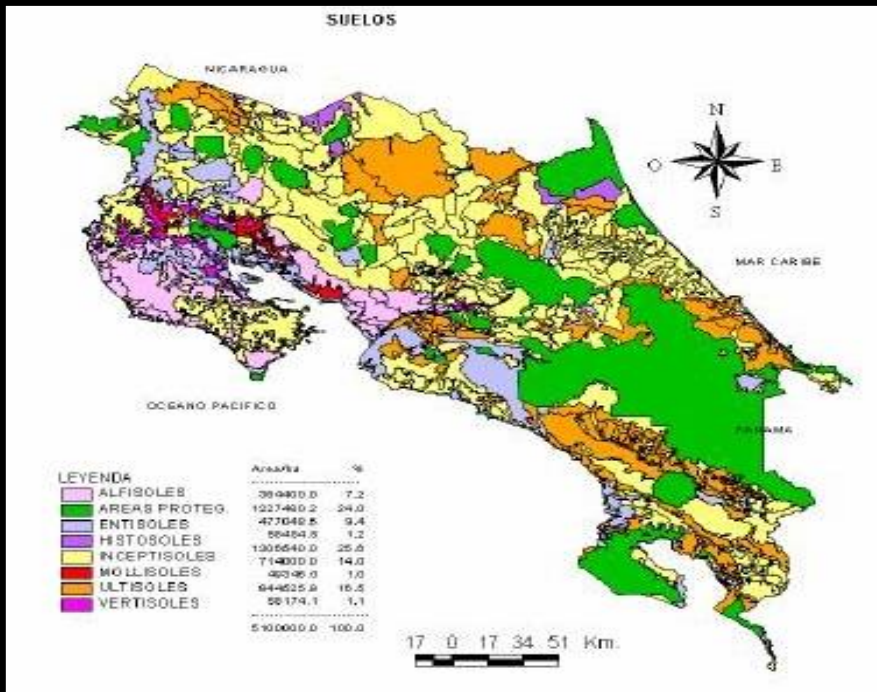
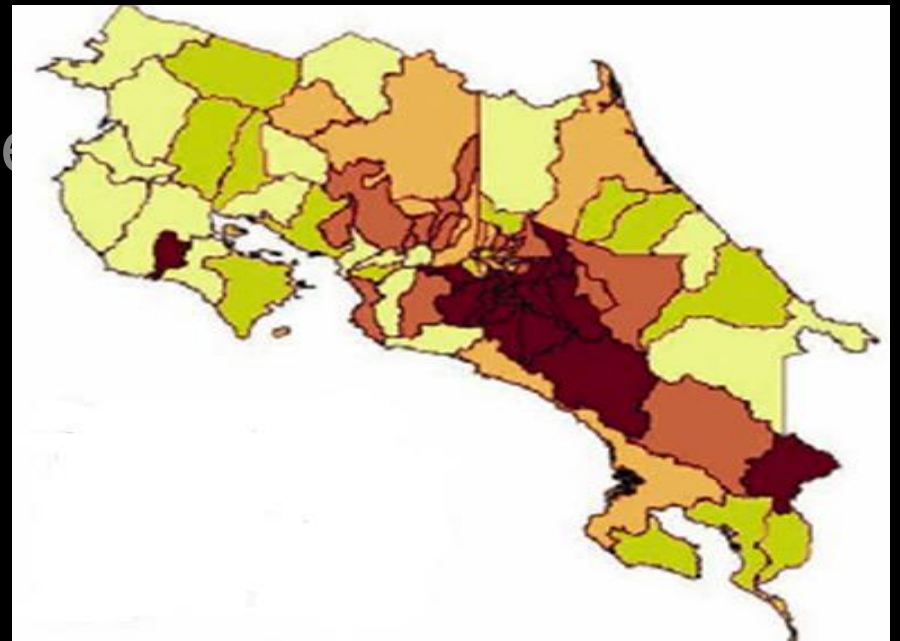
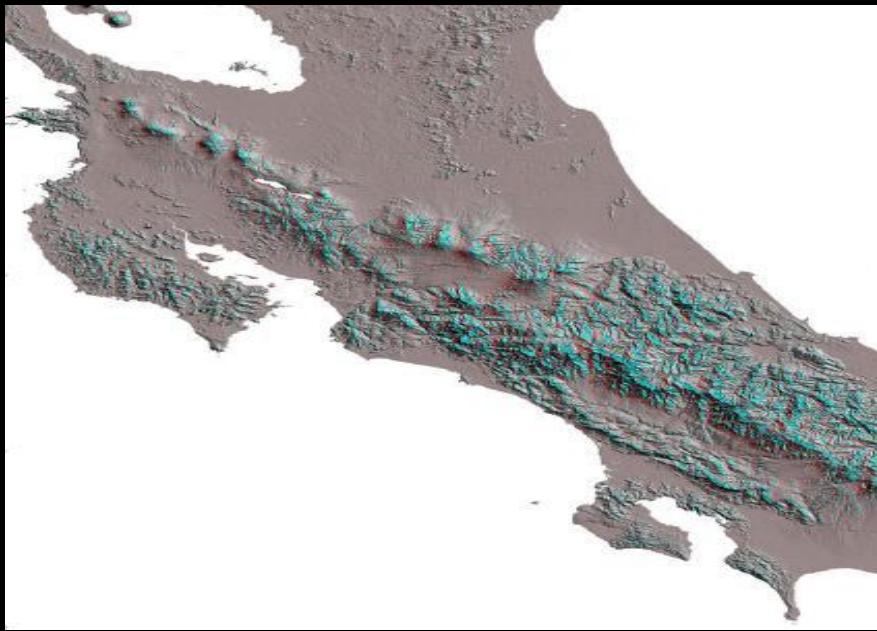


- No se puede afirmar que Costa Rica, como país, la incidencia de cáncer gástrico este disminuyendo, lo que conduce a pensar que la influencia intrínseca que aumenta selectivamente la tasa de incidencia aún permanece en el ambiente.

•Al valorar la diferencia de las fuentes de abastecimiento de zonas de alta y baja incidencia, se encuentra una diferencia importante y se **propone** que es la influencia del suelo en la captación del agua por el Ente Operador y al que se le proporciona de diferente manera directamente la materia orgánica que contiene.

•Esta influencia del suelo es mayor cuando el agua es dispensada a partir de nacientes que cuando es dispensada a partir de pozos profundos.





Condición del suelo	Zonas de alta incidencia (A.I)	Zonas de baja incidencia (B.I)	Observaciones
Geomorfología, (Denyer y Kussmaul 2000).	Predominan materiales volcánicos de composición andesítica: SiO ₂ (54,5%), Fe ₂ O ₃ (3,2%), FeO (3,5%)	Predominan formaciones de composición riolítica SiO ₂ (70,7%), Fe ₂ O ₃ (1,9%) FeO (0,3%)	Implica la presencia de rocas que contienen mayores porcentajes de hierro sobre el área de alta incidencia. Sobre la formación andesítica, los procesos de meteorización que actúan en las rocas pueden liberar mayores concentraciones de hierro en el suelo.
Relieve y elevación	La mayor elevación y bajas temperaturas favorecen mayores contenidos de materia orgánica en el suelo (MOS)	Mayores temperaturas y un relieve ligeramente ondulado	La actividad microbiana depende de la humedad y la temperatura del suelo, y más aún de la disponibilidad de carbono fácilmente accesible que es utilizado como fuente de energía por los microorganismos. (Bernal 2003).
Proceso de acidificación del suelo	Predominan mayores concentraciones de MOS, la materia orgánica experimenta un proceso natural de mineralización que permanentemente acidifica el suelo (Bertsch 1998), a su vez incrementa la solubilidad del hierro en sus formas Fe ²⁺ y Fe ³⁺ condicionados por los cambios del "potencial oxidación/reducción" en el suelo	Los suelos en promedio pueden exhibir mayores pH que los suelos de las regiones de alta incidencia.	A mayor basicidad en los suelos o sea a un pH mayor, se presenta una menor disponibilidad del hierro (Barber 1984)
Relación entre la precipitación anual y la tasa de infiltración de agua en el suelo.	A una precipitación media anual comparable entre las dos zonas, la evapotranspiración es menor, este fenómeno también puede ser apoyado por una menor temperatura mensual, lo que puede implicar mayores tasas de infiltración de sustancias solubles hasta el suelo profundo	Comparativamente la evapotranspiración es mayor, por una temperatura comparativamente mayor.	Normalmente metales pesados que puedan estar presentes en el suelo, tales como el níquel, pueden experimentar una alta movilidad. Ni>Cd>Zn>Pb>Cu

Presentación del Proyecto

- Problema
- Marco Teórico
- Hipótesis
- Objetivos
- Metodología
- Resultados
- Discusión**
- Conclusiones
- Recomendaciones

- En el presente trabajo se logró la detección de *Helicobacter pylori* a partir de muestras de agua, por cultivo, y posterior verificación por análisis molecular.
- Se puede afirmar que la bacteria fue recuperada del agua bajo su forma bacilar con la estrategia de cultivo utilizada.

- La búsqueda de la bacteria por medio de marcadores moleculares directos en el agua no se considero pues podría presentar resultados falsos positivos o negativos por unión no específica de primers o la presencia de sustancias inhibidoras a la PCR (alta cantidad de ácidos húmicos y fúlvicos en los suelos).
- Una forma de evitar esto es el cultivo previo de las muestras.

- Se pudo determinar de gran importancia en el hallazgo de la bacteria en muestras de agua de origen natural, que su presencia puntual en el agua está fuertemente influenciada por las condiciones ambientales previas al muestreo como lo es la lluvia.
- Este hallazgo refleja la **naturaleza transitoria** de la contaminación de las fuentes de agua.
- En cuanto a la calidad del agua se encontró que no existe relación entre coliformes fecales (*E coli*) y presencia de *H. pylori*.

- Como resultado de este trabajo se hace notar que la situación de manejo del agua en las zonas de alta incidencia en términos generales no es adecuada (ni siquiera se trabaja con ASADAS).
- El 80 % de las municipalidades que manejan el agua de las zonas de alta incidencia de cáncer gástrico la manejan de forma deficiente, aún la Municipalidad de Tarrazú que posee Bandera Azul dispensa agua con niveles sub-óptimos de cloro residual (0,5 mg/L)

- Se obtuvo 3 muestras de suelo y en una de ellas, se encontró dos productos de mayor tamaño al esperado, uno de 350 pb y otro de 450 pb del gen *glmM*.
- Este hallazgo se propone como “positivo” por cuanto se pudo encontrar ADN de un género relativo o relacionado, en medio del ADN total de una matriz que puede poseer, según consideran los ecólogos hasta 10^8 bacterias/g es realmente difícil, sin embargo este hallazgo debe de ser corroborado por secuenciación.

- La relación entre la composición química del suelo y la probable existencia de *H. pylori* en él se trata de explicar principalmente por su probable presencia en la materia orgánica (MOS), específicamente dentro de la composición del mismo que tienen las llamadas bacterias “ureasa positivas”.

- El contenido de MOS en el suelo aumenta con la humedad y la disminución de temperatura.
- Relacionado con esto, Azevedo menciona que **zonas frías en el mundo** presentan mayores tasas de infección y que posiblemente la transmisión ocurra principalmente durante época lluviosa (Azevedo, 2007).

- En general en estas zonas de alta incidencia (a excepción de la municipalidad del Cantón Central de Cartago), existe ausencia de control físico-químico de la calidad del agua para consumo humano.
- En general no existe la determinación de parámetros cuyos contaminantes nitrogenados puedan ser de toxicidad para el estómago como lo son los nitratos, nitritos y/o plaguicidas nitrogenados (esto se toma como puntual no poblacional).
- En términos generales no hay aplicación o hay desconocimiento del Reglamento de Calidad del Agua de Costa Rica en estas zonas.

- Como parte de las debilidades de este sector en el área de la gestión de los servicios, se conoce de la ausencia de un sistema constante e integral de control y vigilancia de la calidad del agua potable, así como la fiscalización y control a las organizaciones comunitarias administradoras de acueductos rurales (CAAR's y ASADAS), donde se identifican los mayores índices de suministro de agua "no potable".

- De forma generalizada se encontró un desaliento al proceso de cloración en las zonas de alta incidencia por cuanto en las visitas de los personeros del LNA se les dice que su agua es de excelente calidad, (según algunos de ellos lo manifestaron en la entrevista), entonces no se ve la necesidad de clorarla o el proceso se lleva a cabo de forma insuficiente incluso esperádico.
- Lo que si se pudo determinar de forma general es la preocupación en estas zonas por guardar la zona de recarga de las nacientes.

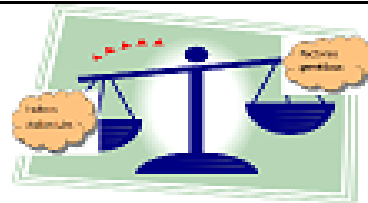
- El criterio en algunos casos de valorar la calidad de agua con la sola ausencia de coliformes fecales, para ser considerada como potable, debe ser revisado, con especial significado para las zonas de alta incidencia de cáncer gástrico.

Presentación del Proyecto

- Problema
- Marco Teórico
- Hipótesis
- Objetivos
- Metodología
- Resultados
- Discusión
- Conclusiones**
- Recomendaciones

Con el reconocimiento que el medio ambiente juega un rol preponderante en la adquisición de la infección y que la asociación entre la infección por *Helicobacter pylori* de forma crónica y el riesgo elevado de desarrollar cáncer gástrico está bien establecido (la Asociación Americana de Cáncer estima que se le puede atribuir el 65% de todos los cánceres de estómago en el mundo (Graham, 2007).

Se propone un mecanismo que pretenda explicar valores aumentados de alta incidencia para cáncer gástrico a la luz de lo encontrado y lo comparado en las zonas de estudio.



Bani Hani, 2006

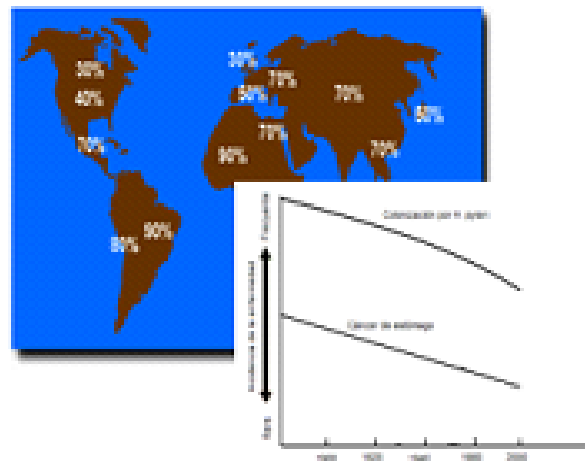
Población con predisposición: citoquinas proinflamatorias + Le B

+

-Diets (comp. nitrosos)
- ? consumo frutas y vegetales

- Infección de largo plazo con *H pylori* (SAC, 2008)

-Bartchewsky, 2009 (MMR)

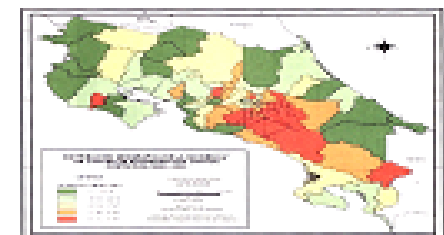
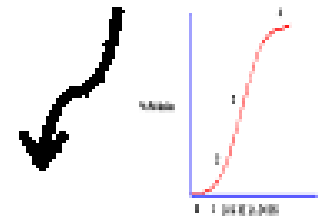
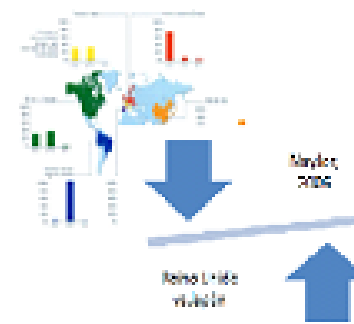


?

-Saneamiento ambiental (acceso al agua potable, condiciones higiénicas).

-Educación a la población (Hábitos saludables, prevención de riesgo, quimio prevención)

-Nivel socioeconómico



Ecuación de incidencia de cáncer gástrico en la población costarricense:

A + B + C + D + E + F – G => Dispara la evolución a la incidencia
C.G (adenocarcinoma intestinal), gastritis, úlceras

Donde:

A = factores asociados a la población (polimorfismos, Lewis B)

B = Presencia de cepas patógenas de *H pylori* en el ambiente (por los pacientes)

C = Condiciones socioeconómicas de la población (no tan marcado entre las zonas)

D = Acceso de *H. pylori* al agua de consumo

E= Manejo deficiente del agua en las zonas de alta incidencia

F= otro (s)

G = Factor protector

*en **rojo** los factores específicos que podrían aumentar la incidencia.

- Una forma común de expresar la exposición a cancerígenos y para exposiciones crónicas es calculando la **Dosis Diaria Promedio Vitalicia (DDPV)**.

$$\text{DDPV} = \frac{(\text{concentración del tóxico}) (\text{tasa de contacto}) (\text{biodisponibilidad}) (\text{durac expos})}{(\text{masa corporal})(\text{período de vida})}$$

$$\text{DDPV} = \frac{(125) (2) (0.7) (76 \times 365 \times 8)}{(70) (76 \times 365)} = 20 \text{ u/Kg}$$

$$\text{Calculo de riesgo de cáncer} = \text{SF} \times \text{DDPV} = 1,5 \times 0,007 = 0,01$$

Finalmente se muestra como este trabajo contribuye a la sociedad costarricense con los siguientes nuevos hallazgos:

- Técnicas optimizadas de cultivo para *H. pylori* de origen ambiental en medio líquido con soporte de nitrocelulosa y como agar inclinado bifásico.
- Optimización de técnicas moleculares para cepas ambientales de los marcadores *glmM* (no determinado en cepas ambientales) y de la proteína inductora del factor de necrosis tumoral alfa (Tipalpha FNT- α).
- La obtención de cepas de *H. pylori* (2 secuenciadas) a partir de muestras de agua de consumo humano de fuentes oficiales con y sin cloro residual, lo que demostró la vulnerabilidad y el riesgo en el manejo de los acueductos para las poblaciones de las zonas de mayor incidencia de cáncer gástrico de Costa Rica.
- Se comprobó la no correlación entre presencia de *H. pylori* y contaminación fecal en las nacientes que abastecen los cantones de las zonas de alta incidencia.

- Se describió por primera vez correlaciones importantes y significativas entre incidencia de cáncer gástrico y altura, temperatura, origen del agua como naciente y Ente Operador del Acueducto, lo que propone relacionar de forma diferenciada, presencia de *H. pylori* de origen ambiental y alta incidencia de cáncer gástrico.

Presentación del Proyecto

- Problema
- Marco Teórico
- Hipótesis
- Objetivos
- Metodología
- Resultados
- Discusión
- Recomendaciones**

- La determinación en el agua de *H. pylori* es difícil, sin embargo si la misma es requerida en agua potable, se sugiere la técnica de identificación molecular por RT-PCR (PCR en tiempo real), con previa concentración de la carga microbiana por filtración por membranas y posterior elusión para la extracción del ADN; y en agua residual se haría imprescindible el uso de anticuerpos inmunomagnéticos.

- La población costarricense por la naturaleza de la alta carga orgánica no debe de consumir agua (para considerarla como potable) con menos de 0,5 mg/L de cloro residual, esto debe ser adecuadamente vigilado por las autoridades sanitarias para asegurarle la debida protección a la población.

- Lo anterior podría implicar que las municipalidades por la cantidad de usuarios que manejan deberían contratar el servicio de cloración a un ente externo, se ha visto que la actividad es más eficiente, con respecto a que sea la misma municipalidad quien se encargue de ésta. Algunas ASADAS podrían tener la capacidad económica también.
- Aunque no se trabajo directamente con ASADAS se considera que es imprescindible las políticas claras en cuanto al manejo de su propio abastecimiento a la luz de necesidades específicas, esto es, si tienen problemas de turbiedad debe tratarse antes del proceso de cloración, así como procedimientos adecuados de filtración (tecnología FIME).

- Se requiere la implementación de los Planes de Seguridad del Agua, el cual persigue estrategias de manejo específicas llevadas a cabo por el Ente Operador que involucra la gestión completa del recurso hídrico y **deben prevalecer los parámetros de salud pública en torno al manejo del agua.**
- En una segunda parte de la investigación se debería abordar el aislamiento e identificación de cepas de *H. pylori* en el suelo, y ampliar la identificación de cepas aisladas del agua.



Cantón de Alvarado



Alvarado, zona de
captación del agua



Tanque de
almacenamiento



Captación de la
Naciente Lankaster,
Cartago



NACIENTE EL RODEO
RECURSO HIDRICO VITAL PARA EL CONSUMO HUMANO
AYUDENOS A PROTEGERLO-COMISION DE BANDERA AZUL

**PROHIBIDO EL
PASO POR ESTA
PROPIEDAD.
MUNICIPALIDAD
DE TARRAZU
C.P.R. NATURALES**



**Zona de recarga en el cantón
de Tarrazú**



Zona de recarga, Aserri



ASERRI















Un agradecimiento

- Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos- CEQIATEC – y al Centro de Investigación en Biotecnología- CIB
- A las 20 Municipalidades que abrieron sus puertas.

- Laboratorio Nacional de Aguas (AyA).
- Universidad de Murcia, España. Facultad de Microbiología y Genética.
- Laboratorio de Bacteriología, Facultad de Microbiología de la UCR. Dr García
- Laboratorio Biotécnica de Kenneth Madriz

Un agradecimiento muy especial

A los profesionales que colaboraron de diversas maneras:

- PhD Fernando García
- MSc Darner Mora
- MSc Alejandro Hernández
- MSc Federico Masis
- PhD Jorge Camacho
- PhD Sergio Con

Un agradecimiento muy especial

A los estudiantes que colaboraron a lo largo de la investigación

- Karina Barboza
- Gustavo López
- Jimena Orozco
- Diana Chinchilla

Un agradecimiento muy especial

A los muestreadores que colaboraron:

- Roberto Fonseca y Marlen Avendaño (AyA)
- Alejandro Córdoba
- Sofía Vargas