

UNIVERSIDAD NACIONAL
TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
POSGRADO EN SALUD OCUPACIONAL CON ÉNFASIS EN HIGIENE
AMBIENTAL

“EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A AGENTES
MICROBIOLÓGICOS EN TRES PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES EN COSTA RICA, PERIODO 2020-2021”

ERIC MORALES MORA

HEREDIA, COSTA RICA

FECHA

TESIS SOMETIDA A CONSIDERACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR DEL
POSGRADO EN SALUD OCUPACIONAL CON ÉNFASIS EN HIGIENE
AMBIENTAL PARA OPTAR AL GRADO DE *MAGÍSTER SCIENTIAE*

“Evaluación de la exposición ocupacional a agentes microbiológicos en tres plantas de tratamiento de aguas residuales en Costa Rica, periodo 2020-2021”

Eric Morales Mora

Tesis presentada para optar al grado de *Magíster Scientiae* en Salud Ocupacional con énfasis en Higiene Ambiental cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.



MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Dr. José Vega Baudrit
Representante del Consejo Central de Posgrado

Dra. Berendina van Wendel de Joode
Coordinador del posgrado o su representante

Dra. Jennifer Crowe
Tutor de tesis

M.Sc. Luz María Chacón Jiménez
Miembro del Comité Asesor

M.Sc. Clemens Ruepert
Miembro del Comité Asesor

Lic. Eric Morales Mora
Sustentante

RESUMEN

La exposición ocupacional a agentes biológicos tiene el potencial de producir un amplio espectro de enfermedades infecciosas, que afectan particularmente a ciertos grupos ocupacionales. Uno de ellos, son los trabajadores de plantas de tratamiento de aguas residuales, quienes, en labores de mantenimiento y supervisión de los procesos de depuración del agua tienen una alta probabilidad de exposición a material bioinfeccioso. Una posible alternativa para evaluar tales riesgos es la aplicación del análisis cuantitativo de riesgo microbiológico, una metodología que permite estimar la probabilidad de ocurrencia de infecciones por un determinado patógeno y simular el resultado de posibles escenarios de exposición. Sin embargo, su aplicación presenta gran complejidad, puesto que existen diferentes tipos de exposición y los procesos de infección tienen una naturaleza estocástica.

Este estudio, se enmarcó en el proyecto “Análisis cuantitativo de riesgo microbiano para patógenos en aguas residuales de la Gran Área Metropolitana, Costa Rica” desarrollado entre el Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) de la Universidad de Costa Rica y el Laboratorio Nacional de Aguas (LNA). Se aplicó el análisis cuantitativo de riesgo microbiológico y una evaluación simplificada de riesgo biológico para evaluar el riesgo en los trabajadores de tres plantas de tratamiento de aguas residuales del Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillado (AyA): Los Tajos, André Chalé y El Roble. Para llevar a cabo lo anterior, se realizó una caracterización e identificación de peligros, inspecciones de las condiciones laborales, entrevistas a las jefaturas de cada planta, una medición puntual de microorganismos indicadores en aire y superficies, y una medición de polvo inhalable. En el análisis de la exposición se determinó la concentración, de norovirus, enterovirus, *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp., en la entrada y salida de cada planta de tratamiento de aguas residuales, para un total de 78 muestras para cada uno. Posteriormente, los datos obtenidos se analizaron como valores censurados mediante las técnicas de estimación de máxima verosimilitud y regresión de orden estadística para la estimación de parámetros descriptivos de las concentraciones. Se estimó la dosis recibida según la posible ingestión accidental de agua de las personas trabajadoras y se ensayaron escenarios de reducción de la dosis por el uso de equipo de

protección personal (mascarilla). Tras la determinación de la dosis, se estimó la probabilidad de infección utilizando un modelo de dosis-respuesta y la técnica de Monte Carlo. Con las estimaciones anteriores se calculó la carga de enfermedad en años de vida ajustados por discapacidad.

En la identificación de peligros se encontró consistentemente una deficiencia en medidas de salud ocupacional en las tres plantas de tratamiento. Se encontraron indicadores bacterianos de contaminación fecal en aire y superficies tanto en las zonas de trabajo (cerca de agua en tratamiento) como en las zonas de operación (oficinas y espacios sin contacto con agua en tratamiento). Adicionalmente, se encontraron concentraciones por encima del límite recomendado de polvo inhalable en ambientes ocupacionales para la zona de trabajo y no se observó correlación entre polvo inhalable e indicadores de contaminación fecal. Se observó que las medidas de control administrativas y sobre la infraestructura son potencialmente mejorables, principalmente en las plantas de tamaño pequeño y mediano, André Chalé y El Roble, respectivamente.

La concentración de los patógenos en aguas residuales superó los rangos típicamente reportados a la salida de las plantas de tratamiento para aguas residuales y el desempeño de reducción de patógenos durante el tratamiento fue insatisfactorio. En cuanto a la carga de enfermedad se estimó un riesgo inaceptable en las tres plantas de tratamiento, sobrepasando el límite recomendado por la Organización Mundial de la Salud ($1,0 \times 10^{-6}$) entre uno y tres órdenes de magnitud. Adicionalmente, las simulaciones realizadas incorporando el uso de equipo de protección personal, muestran una reducción en la carga de enfermedad, a pesar de ello, aún con su uso no se observó una reducción de riesgo a un rango de aceptable en las simulaciones matemáticas.

Por ello, se recomienda la aplicación de medidas de control alternativas como automatización de los procesos o la colocación de barreras para aislar la fuente de patógenos. En el presente caso, la aplicación del análisis cuantitativo de riesgo microbiológico permitió la evaluación de medidas de protección (uso de mascarillas) y determinó previo a su aplicación, que no sería una medida de

protección satisfactoria, con lo cual, se abre un abanico de posibilidades entorno a la valoración de alternativas de control y prevención de riesgo biológico en espacios laborales.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer encarecidamente a mi tutora Jennifer Crowe por su tiempo, dedicación y apoyo incondicional durante todo el proceso; especialmente por sus enseñanzas y motivación para cumplir con mi meta de completar esta maestría.

A mi asesora y compañera Luz Chacón por todo su colaboración, motivación y disposición durante este proceso. Así como su rol como coordinadora del proyecto que enmarca este trabajo final.

También agradezco a mi asesor Clemens Ruepert por su apoyo y disposición para guiarme y experimentar con nuevas con nuevas técnicas. A Berna van Wendel por su ayuda y motivación para mejorar este trabajo de modo que fuese posible. A Lourdes Medina por su apertura para colaborar y aclarar cualquier duda relativa al proceso.

Agradezco especialmente a Andrei Badilla por su trabajo en el Laboratorio Nacional de Aguas que aportó datos importantes a este trabajo. Asimismo, a Pablo Rivera y Ernesto Alfaro por facilitar los trámites para desarrollar el proyecto en el AyA. Así como a todos los funcionarios de esta institución que gentilmente tuvieron la disposición de recibirme para la elaboración del proyecto.

A Erin Symonds por su guía en la preparación del trabajo y revisión posterior. A mis compañeros de trabajo en el Instituto de Investigaciones en Salud; Kenia Barrantes, José Pablo Barrantes y Melissa Mora por su apoyo en el proyecto.

Finalmente, agradezco a mi familia por todo su apoyo y ánimos durante toda mi vida académica y profesional. En especial a mi padre Rafael y mi hermana Claudia, a mis tíos Juani y Rodrigo y mis primos Manfred y Raúl. También, a mis amigos Fabián y Katy por alentarme a seguir adelante en todo momento.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi familia por todo su apoyo durante mi vida y por el gran aprecio que les tengo. También a la memoria de todas las personas que con tesón y voluntad llevaron sus trabajos, sin importar cuan pesados o peligros fuesen, los asumieron con valentía. Por ustedes y su nobleza decidí emprender este camino.

Consejo Central de Posgrado
Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar
Maestría en Salud Ocupacional

UNA-MSO-ATFG-01- 2023

ACTA DE DEFENSA PÚBLICA DE TESIS DE MAESTRÍA

Sesión del Tribunal Examinador de la presentación pública de trabajo final de graduación celebrada a las 8:32 horas del 28 de junio de 2023 bajo la modalidad virtual por medio de la plataforma Teams de:

Nombre de la persona sustentante	Número identificación	Ubicación geográfica durante la defensa
Eric Morales Mora	1-1457-0938	San Rafael, Vásquez de Coronado, San José

Quien se acoge a la Normativa de Trabajos Finales de Graduación en Posgrado y el Reglamento Interno de la Maestría en **Salud Ocupacional con Énfasis en Higiene Ambiental**, bajo la modalidad de tesis para optar al grado de **MAGÍSTER SCIENTIAE**.

Están presentes los siguientes miembros del Tribunal Examinador:

Grado académico	Nombre completo	Puesto	Ubicación geográfica durante la defensa
PhD	José Roberto Vega Baudrit	Representante del Consejo Central de Posgrado, quien preside	Casa de habitación, Trejos Montealegre, Escazú, San José.
PhD	Berendina van Wendel de Joode	Coordinador (a) del posgrado o representante	Bioprocesos, Campus, Omar Dengo, Heredia
PhD	Jennifer Crowe	Tutor (a) de tesis	Bioprocesos, Campus, Omar Dengo, Heredia
MSc	Luz Chacón Jiménez	Miembro del Comité Asesor	Casa de habitación, Aserrí, San José
MSc	Clemens Ruepert	Miembro del Comité Asesor	Bioprocesos, Campus, Omar Dengo, Heredia

ARTÍCULO 1: Presentación de la persona sustentante

La persona que preside abre formalmente la sesión del Tribunal Examinador e inquiera a la coordinación del posgrado sobre el cumplimiento de los requisitos para este acto por parte de la persona sustentante.

El o la representante del posgrado declara que la persona sustentante ha cumplido con todos los requisitos del Plan de Estudios correspondiente, ha realizado su proceso de investigación bajo los cánones del rigor académico, con el auxilio de su comité asesor de tesis, y ha satisfecho sus obligaciones académicas y financieras con el Programa de Posgrado, lo cual le hace idónea para este acto.

ARTÍCULO 2: Defensa y réplica

La persona que preside le solicita a la persona sustentante que proceda a hacer la exposición oral, para lo cual le otorga un plazo máximo de 45 minutos.

La persona sustentante hace la exposición oral del trabajo de graduación titulado: **EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A AGENTES MICROBIOLÓGICOS EN TRES PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN COSTA RICA, PERIODO 2020-2021.**

Terminada la presentación, la persona que preside otorga la palabra a los miembros del Tribunal Examinador para que se refieran a la tesis de maestría presentada. Los miembros del Tribunal Examinador interrogan a la persona sustentante, quien con la venia de la persona que preside procede a hacer su réplica para satisfacer las cuestiones que se le plantean.

ARTÍCULO 3: Deliberación privada del Tribunal Examinador

La persona que preside solicita a la persona sustentante y a la concurrencia que se retiren con el fin de que el Tribunal Examinador proceda a su deliberación privada en relación con el trabajo escrito, exposición oral y su capacidad de réplica ante las preguntas y comentarios del Tribunal.

ARTÍCULO 4: Evaluación de la tesis

La persona que preside comunica a la persona sustentante el resultado de la deliberación, por el cual este Tribunal Examinador considera el trabajo de graduación:

<input checked="" type="checkbox"/>	Aprobado
<input type="checkbox"/>	Reprobado

<input type="checkbox"/>	Con observaciones
<input checked="" type="checkbox"/>	Sin observaciones

Dichas observaciones deben ser incorporadas y entregadas en el plazo establecido en el Reglamento Interno del Posgrado.

De acuerdo con el artículo 55 del Reglamento del Sistema de Estudios de Posgrado y el Artículo 80 del Reglamento General del Proceso de Enseñanza y Aprendizaje de la Universidad Nacional, se le confiere la calificación de 10. De acuerdo con el artículo 81 del Reglamento General del Proceso de Enseñanza y Aprendizaje se le otorga la mención de:

	Cum Laude
	Magna Cum Laude
	Summa Cum Laude
x	No aplica

ARTÍCULO 5: Otorgamiento del grado de Máster

La persona que preside el Tribunal Examinador declara a **Eric Morales Mora**, acreedor (a) al grado de **Magíster Scientiae en Salud Ocupacional con Énfasis en Higiene Ambiental**.

ARTÍCULO 6: Cierre de la defensa pública

La persona que preside indica a la persona sustentante su obligación de presentarse al acto público de juramentación, al que será oportunamente convocada por la Universidad Nacional.

Se da lectura al acta que firma el representante del Consejo Central de Posgrado, quien preside, a las 10 horas del 28 de julio de 2023.

JOSE VEGA
BAUDRIT
(FIRMA)

Firmado digitalmente
por JOSE VEGA
BAUDRIT (FIRMA)
Fecha: 2023.06.29
11:42:47 -06'00'

José Roberto Vega Baudrit
Representante
Consejo Central de Posgrado, quien preside.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	iv
ABREVIACIONES.....	x
GLOSARIO	x
DESCRIPTORES.....	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	13
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
ARTÍCULO 1. Un enfoque novedoso para la vigilancia de riesgos biológicos en higiene ocupacional: un estudio de caso sobre el uso de la evaluación cuantitativa de riesgos microbianos para determinar los riesgos laborales para los trabajadores de plantas de tratamiento de aguas residuales en Costa Rica.	28
PUNTOS SOBRESALIENTES	28
RESUMEN.....	28
PALABRAS CLAVE.....	29
INTRODUCCIÓN	30
METODOLOGÍA	33
2.1.1 Sitios de estudio	33
2.2.1. Identificación de peligros.....	33
2.2.2. Muestreo, detección y cuantificación de patógenos	34
2.2.3. Análisis estadístico.....	36
2.2.4. Evaluación de la exposición.....	37
2.3.1. Evaluación cuantitativa del riesgo microbiano	37
2.4.1. Análisis de sensibilidad	39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
3.1. Condiciones de trabajo e identificación de peligros.....	40
3.2. Descripción de las concentraciones de patógenos	41
3.3. Simulación de evaluaciones de riesgo para <i>Giardia sp.</i> , <i>Cryptosporidium sp.</i> , norovirus y enterovirus	43
3.4. Análisis de sensibilidad	46
CONCLUSIONES.....	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
CUADROS.....	59
FIGURAS.....	61
MATERIAL SUPLEMENTARIO	65
ARTÍCULO 2. Optimización de la evaluación simplificada de riesgo biológico ocupacional con R: un análisis de tres plantas de tratamiento de aguas residuales en Costa Rica.....	69
RESUMEN.....	69

PALABRAS CLAVE	69
INTRODUCCIÓN	70
METODOLOGÍA	72
2.1. Sitio de estudio	72
2.2. Recolección de datos	72
2.3. Programación de herramienta y análisis de datos	74
RESULTADOS	74
Evaluación medidas higiénicas administrativas:	75
Evaluación medidas higiénicas infraestructura:	75
Evaluación medidas higiénicas equipo de protección personal:	75
DISCUSIÓN	76
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
CUADROS	83
Tabla 1. Descripción del riesgo e indicadores de contaminación fecal y química en el ambiente de trabajo de las plantas de tratamiento de aguas residuales.	83
FIGURAS	84
Figura 1. Diagrama de flujo para la aplicación de la evaluación simplificada de riesgo biológico automatizado con el lenguaje de programación R y con la herramienta de Markdown. Azul (flujo de la herramienta analítica), amarillo (inspección de campo), gris (generalidades de la herramienta analítica).....	84
Figura 2. Cumplimiento de medidas higiénicas administrativas en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico.....	85
Figura 3. Cumplimiento de medidas higiénicas en la infraestructura en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico.....	85
Figura 4. Cumplimiento de medidas higiénicas en el equipo de protección personal en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico.	86
ANEXOS	87
Anexo 1. Instrumento para la caracterización, identificación de peligros, exposición y medidas de control**.....	87
Anexo 2. Escalas de cuantificación instrumento para la caracterización, identificación de peligros, exposición y medidas de control (ver Anexo 1).....	88
Anexo 3. Entrevista estructura a las personas encargadas en salud ocupacional de las plantas de tratamiento de Los Tajos, André Chalé y El Roble.....	89
Anexo 4. Cuadro para la descripción del proceso de trabajo y condiciones laborales.	90
Anexo 5. Fotografías de agentes biológicos identificados en los muestreos de las plantas de tratamiento de aguas residuales.....	91
Anexo 6. Requisitos e instrucciones de la revista científica donde se sometió el artículo 1 (en proceso de revisión)	94
Anexo 7. Publicación borrador 1.....	107

Anexo 8. Requisitos e instrucciones de la revista científica donde se sometió el artículo 2 (en proceso de revisión). 117

LISTA DE CUADROS

ARTÍCULO 1.

Cuadro 1.1. Escenarios de exposición en las plantas de tratamiento de aguas residuales.	59
Cuadro 1.2. Unidades, valores, ecuaciones, distribuciones y fuentes de los parámetros del modelo de riesgo microbiano cuantitativo.	59
Cuadro 1.S1. Instrumento de medidas de higiene ocupacional.	65
Cuadro 1.S1. <i>Giardia</i> sp. tasa de recuperación por sitio de captación en el DWS.	66
Cuadro 1.S3. Volúmenes filtrados de aguas residuales para la detección de virus.	66

ARTÍCULO 2.

Tabla 1. Descripción del riesgo e indicadores de contaminación fecal y química en el ambiente de trabajo de las plantas de tratamiento de aguas residuales.	83
--	----

LISTA DE FIGURAS

INTRODUCCIÓN

Fig 1. Esquema del proceso de evaluación de riesgos propuesto en el presente estudio.....	19
Fig 2. Infograma trabajo final de graduación.	20

ARTÍCULO 1.

Fig. 1. Inspecciones de cumplimiento de las medidas de higiene en salud laboral en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales estudiadas (grande, mediana y pequeña).....	61
Fig. 2. Concentraciones medias, mínimas y máximas estimadas mediante análisis de supervivencia de <i>Cryptosporidium</i> sp., <i>Giardia</i> sp. norovirus y enterovirus en las muestras de agua de las plantas de tratamiento de aguas residuales (véase la sección 2.2.3. Análisis estadístico para los detalles del cálculo).....	62
Fig. 3. AVAD por persona y año por escenarios de exposición para <i>Cryptosporidium</i> sp., <i>Giardia</i> sp. norovirus y enterovirus basados en el consumo accidental de aguas residuales en las plantas de tratamiento de aguas residuales del estudio. Los boxplots representan los AVAD por persona y año por escenario; la zona verde marca el nivel de riesgo aceptable, y la roja representa el nivel de riesgo inaceptable.....	63
Fig. 4. AVAD para <i>Cryptosporidium</i> sp., <i>Giardia</i> sp. norovirus y enterovirus basados en el consumo accidental de aguas residuales en los escenarios de exposición del estudio y la simulación del uso de equipos de protección individual (EPP). Los gráficos de caja representan los AVAD por persona y año según el tipo de EPP; la zona verde marca el nivel de riesgo aceptable y la roja representa el nivel de riesgo inaceptable.....	64
Fig. 5. Diagrama de tornado para mostrar las entradas de clasificación del modelo sobre la probabilidad de infección de riesgo combinada para los patógenos estudiados. Las barras muestran el coeficiente de rango de Spearman de las correlaciones.....	65

ARTÍCULO 2.

Figura 1. Diagrama de flujo para la aplicación de la evaluación simplificada de riesgo biológico automatizado con el lenguaje de programación R y con la herramienta de Markdown. Azul (flujo de la herramienta analítica), amarillo (inspección de campo), gris (generalidades de la herramienta analítica).....	84
Figura 2. Cumplimiento de medidas higiénicas administrativas en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico. ...	85
Figura 3. Cumplimiento de medidas higiénicas en la infraestructura en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico.....	85
Figura 4. Cumplimiento de medidas higiénicas en el equipo de protección personal en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico.	86

ABREVIACIONES

ACR: Análisis cuantitativo de riesgo.

ACRM: Análisis cuantitativo de riesgo microbiológico.

AVAD: Años de vida ajustados por discapacidad.

AYA: Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados.

CDC: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades.

ESRB: Evaluación simplificada de riesgo biológico.

EPP: Equipo de protección personal.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PI: Polvo inhalable.

PTAR: Planta de tratamiento de aguas residuales.

US EPA: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

GLOSARIO

Agente: se refiere a una entidad química, biológica o física que entra en contacto con el individuo (trabajador expuesto para este estudio) (US EPA, 2011).

Análisis cuantitativo de riesgo (ACR): proceso diseñado para estimar o calcular el riesgo de un efecto efectos adverso de un agente o situación sobre un organismo, sistema o población expuesta (trabajador expuesto para este estudio). Este proceso típicamente incluye: identificación del peligro, análisis de la exposición, evaluación dosis-respuesta y caracterización del riesgo. Este proceso incluye la identificación de fuentes de incertidumbre y las características inherentes del agente (US EPA, 2011).

Análisis cuantitativo de riesgo microbiológico (ACRM): proceso que aplica los principios del análisis cuantitativo de riesgo para estimar las consecuencias de la exposición actual o futura a un microorganismo infeccioso (Haas et al., 2014).

Análisis dosis-respuesta: análisis de la relación entre la cantidad del agente administrado (dosis) o absorbida por un organismo, sistema o población y los cambios desarrollados en los mismos por el agente. Incluye las inferencias derivadas del análisis con respecto a la población entera (US EPA, 2011).

Concentración: cantidad de material o agente disuelto o contenido en una cantidad dada en un medio o sistema (US EPA, 2011).

Dosis: cantidad del agente que entra en el objetivo después de cruzar una superficie de exposición (US EPA, 2011).

Evaluación simplificada de riesgo biológico: La evaluación simplificada de riesgos biológicos es una metodología diseñada para estimar la exposición a agentes biológicos en espacios laborales y valorar la potencial gravedad de los daños o consecuencias de la exposición de manera rápida y de fácil aplicación (Comisiones Obreras de Madrid, 2020).

Escenario de exposición: es el encuadre de eventos, supuestos e inferencias de como una exposición puede suceder. Su objetivo es definir el proceso de estimación o cuantificación de la exposición (US EPA, 2011).

Exposición: Contacto entre el agente y el objetivo (US EPA, 2011).

Patógeno de referencia: organismo sobre el cual se realiza la estimación de riesgo, para el cual, hay una casualidad probada, se conoce el efecto en salud y la relación dosis-respuesta (Haas et al., 2014).

Riesgo: probabilidad de ocurrencia de un evento adverso sobre un organismo, sistema o población causada bajo específicas circunstancias de exposición a un agente (US EPA, 2011).

Ruta de exposición: es el camino de entrada por el cual el agente ingresa al organismo (*e.g.* ingestión, inhalación, absorción dermal) (US EPA, 2011).

Técnica de Monte Carlo: muestreo aleatorio para una distribución de valores para uno de los parámetros en una ecuación genérica (exposición o dosis) derivada de la estimación de la distribución (exposición o dosis) en una población específica (US EPA, 2011).

Valor censurado: observación que se encuentra por debajo o por encima de la sensibilidad del método o técnica para medir una determinada variable (*e.g.* concentración de sustancia química por debajo del límite de detección). También existen datos censurados por el medio, donde solamente es posible mensurar los valores extremos (Helsel, 2011).

Vía de exposición: es el curso físico de un agente desde la fuente al organismo expuesto (US EPA, 2011).

DESCRIPTORES

Salud ocupacional, riesgo biológico, análisis cuantitativo de riesgo microbiológico, evaluación simplificada de riesgo biológico, años de vida ajustados por discapacidad, aguas residuales, plantas de tratamiento de aguas residuales, enfermedades infecciosas.

Occupational health, biological risk, quantitative microbial risk assessment, simplified biological risk assessment, disability adjusted life years, wastewater, wastewater treatment plants, infectious disease.

INTRODUCCIÓN GENERAL

La exposición a agentes biológicos en el lugar de trabajo tiene el potencial de causar una amplia gama de enfermedades infecciosas, por lo que es importante evaluarla y controlarla en el lugar de trabajo, especialmente en tareas de alto riesgo biológico como los trabajadores de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Carducci et al., 2018; Meima et al., 2020; WHO, 2019). Los efectos sanitarios causados por los agentes biológicos tienen importantes repercusiones en la salud pública (Meima et al., 2020; WHO, 2019). Se calcula que en todo el mundo mueren anualmente 320 000 trabajadores por enfermedades infecciosas relacionadas con el trabajo (Meima et al., 2020).

La evaluación de los riesgos biológicos es un proceso intrincado debido a múltiples factores dado que existen múltiples formas de exposición a agentes biológicos con un nivel de riesgo diferente (Corrao et al., 2012; Yan et al., 2021). Adicionalmente, las infecciones causadas por agentes biológicos suelen ser impredecibles, aunado a los diversos niveles de susceptibilidad a estas infecciones, lo que complica aún más el proceso de evaluación (WHO, 2016). Por último, a menudo se carece de datos epidemiológicos fiables que permitan establecer un límite claro para un nivel de riesgo aceptable; en consecuencia, la evaluación de los riesgos biológicos requiere un planteamiento minucioso y exhaustivo acorde a esta complejidad (Corrao et al., 2012; Schoen et al., 2017).

En respuesta a ello se utiliza el análisis cuantitativo de riesgo microbiológico (ACRM), proceso que estima las consecuencias de la exposición actual o futura a un microorganismo infeccioso, donde se han establecido límites de riesgo aceptables para morbilidad y mortalidad como los propuestos por la Organización Mundial de la Salud (1×10^{-6} años de vida ajustados por discapacidad) o por la US EPA (probabilidad de infección de 1×10^{-4}) (Haas et al., 2014; Medema, 2009; US EPA, 1998).

Una matriz particularmente expuesta a agentes patógenos es el agua residual, la cual, en las plantas de tratamiento de aguas residuales facilita la dispersión de éstos en los ambientes circundantes, donde frecuentemente se exponen los trabajadores encargados de la operación y mantenimiento de estas plantas (Bruni et al., 2020). Múltiples síntomas como fatiga, dolor de cabeza, problemas respiratorios

y gastrointestinales han sido descritos previamente para esta labor, lo cual se conoce como el síndrome del trabajador de aguas residuales (Melbostad et al., 1994; Rylander et al., 1976). Entre estos efectos, la exposición a aerosoles con patógenos, como norovirus, han sugerido ser la causa de enfermedad gastrointestinal (Uhrbrand et al., 2017).

La caracterización básica de las cualidades y peligros en los ambientes labores es una estrategia para dimensionar el grado de exposición a patógenos, dado que permite la identificación de factores concretos con el potencial de incrementar la exposición a agentes biológicos (CDC, 2015). Por otro lado, la generación de bioaerosoles frecuentemente puede resultar en la presencia de microorganismos patógenos en el aire y superficies que bajo condiciones específicas de trabajo pueden propiciar la exposición y el desarrollo de efectos adversos en la salud (Viegas et al., 2017). Adicionalmente, la descripción de las condiciones de salud ocupacional (procesos, entorno, y prácticas laborales) resulta relevante para el control y prevención de enfermedades infecciosas en sitios de trabajo, como plantas de tratamiento de aguas residuales, de ahí que la inspección de las medidas de seguridad e higiene sea un elemento necesario en el proceso de evaluación de riesgos biológicos (Llorca et al., 2018).

Entre los principales agentes etiológicos de enfermedad diarreica aguda en las poblaciones humanas se encuentran norovirus, enterovirus, *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp. (Certad et al., 2017; De Graaf et al., 2016; Uhrbrand et al., 2017; WHO, 2015). Estos patógenos, norovirus, enterovirus, *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp., son típicamente utilizados como indicadores de riesgo biológico por enfermedad diarreica aguda dada su alta prevalencia, persistencia ambiental, definición de modelos dosis-respuesta y diferenciación con respecto a estas cualidades con grupos bacterianos en agua de consumo y aguas residuales (Haas et al., 2014; van Lieverloo et al., 2007).

Norovirus es el principal agente de enfermedad diarreica aguda no bacteriana; es un virus de ARN banda simple positiva, clasificado en siete genogrupos, de los cuales GI, GII y GIV son infecciosos para los seres humanos (da Silva Poló et al., 2016). Su principal ruta de transmisión es el contacto directo con agua contaminada, además presenta una distribución cosmopolita cuyas infecciones son autolimitadas, con la presencia de casos severos en grupos inmunocomprometidos, adultos mayores

e infantes (De Graaf et al., 2016). Poseen una gran variabilidad, baja dosis infectiva ($3 - 3 \times 10^9$ copias genómicas) y alta persistencia ambiental, por lo que se categorizan como un problema severo de salud pública (Teunis et al., 2020; Vergara et al., 2016).

Por su parte, el género de enterovirus ha sido asociado con efectos en la salud como gastroenteritis y enfermedad diarreica aguda. Es un virus no envuelto, de ARN banda simple positiva, perteneciente a la familia de los Picornaviridae (Shen et al., 2019). Presentan una distribución cosmopolita, múltiples variedades y afecta principalmente a grupos inmunocomprometidos, adultos mayores e infantes (WHO, 2015). Con una baja dosis infectiva (ID_{50} 10-100 partículas virales) y una alta persistencia ambiental, tradicionalmente utilizados en el monitoreo de aguas residuales (Fukuhara et al., 2013).

Cryptosporidium sp. y *Giardia* sp., son dos de los protozoarios patógenos más frecuentes a nivel mundial causantes de enfermedad diarreica aguda (Chalmers, 2014; Robertson, 2014). Ambos protozoarios son transmitidos por agua y se encuentran entre los principales patógenos a prevenir, dado su impacto en la salud humana y distribución cosmopolita (Health Canada, 2012). En el contexto latinoamericano, son los dos protozoarios transmitidos por agua con mayor grado de brotes reportados (Rosado-García et al., 2017). Y dada su baja dosis infectiva (ID_{50} 30 ooquistes y 10 quistes, respectivamente) (DuPont et al., 1995; Rendtorff & Holt, 1955); y alta resistencia a los procesos de tratamiento y desinfección, su persistencia ambiental es alta (Chalmers, 2014; Robertson, 2014).

En consideración de lo anterior, la caracterización del ambiente de trabajo y estimación del nivel de riesgo en los trabajadores de plantas de tratamiento de aguas residuales por estos patógenos, resulta relevante en términos de salud ocupacional, como un punto de partida para la implementación de medidas protectoras en caso de encontrarse condiciones inseguras o un exceso de riesgo. En este contexto, la aplicación del ACRM puede resultar de gran utilidad, puesto que vincula directamente las condiciones ambientales con un potencial efecto en la salud de las poblaciones, sin la necesidad de intervenir en seres humanos, sino mediante la medición directa del agente (Haas et al., 2014; Petterson et al., 2006; Robson & Toscano, 2007).

El ACRM, independientemente de su aplicación, sigue un marco metodológico compuesto de cuatro etapas: identificación del peligro, análisis de la exposición, análisis de la dosis-respuesta y caracterización del riesgo (Haas et al., 2014). Esto en conjunto con la aplicación de modelos de dosis-efecto de patógenos previamente validados para seres humanos y en función de las características del microorganismo (Pettersen et al., 2006).

La regulación de riesgos microbiológicos por medio del ACRM ha mostrado mayor fiabilidad que los sistemas de monitoreo en salud tradicionales para seres humanos en la producción de agua y alimentos (Bichai & Smeets, 2013; Haas et al., 2014; O'Toole et al., 2015). La implementación del ACRM ofrece innovación en la gestión de los peligros biológicos en el lugar de trabajo al proporcionar evaluaciones precisas de los riesgos. Esto permite la identificación de los factores de riesgo y una gestión basada en datos, lo cual, proporciona a los analistas de riesgos información para mejorar la seguridad de los trabajadores, teniendo en cuenta los conocimientos y la tecnología actuales (Carducci et al., 2018). En la actualidad no existen límites de exposición profesional para los agentes biológicos, y usualmente sólo se considera la exposición potencial y las medidas preventivas, no un nivel aceptable de riesgo, lo cual puede ser determinado con ACRM (Carducci et al., 2016, 2018).

Esta metodología se ha utilizado para la estimación del riesgo microbiológico en espacios laborales, principalmente, en trabajadores de plantas de tratamiento de aguas residuales y agrícolas. En estos casos, modelos de dosis-respuesta y la técnica de Monte Carlo fueron utilizados para estimar la probabilidad de infección ante microorganismos, como adenovirus, *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. y SARS-CoV-2, en poblaciones ocupacionalmente expuestas a estos patógenos (Carducci et al., 2016, 2018; Dada & Gyawali, 2020; Sampson et al., 2017; Zaneti et al., 2021).

De tal manera, la aplicación del ACRM para la evaluación de riesgos ocupacionales es un enfoque para determinar la exposición ocupacional a determinados patógenos en las plantas de tratamiento. En particular, se permite superar las dificultades logísticas y técnicas tales como variaciones en la infectividad del patógeno, variaciones en el sistema inmune de la persona trabajadora, múltiples

escenarios de exposición en cada lugar de trabajo y fluctuaciones en las dosis, aunadas a patrones de exposición discontinuos y diferencias conductuales de las personas trabajadoras. Adicionalmente, la caracterización del ambiente de trabajo identifica condiciones laborales inseguras más allá del riesgo de exposición, resultando un complemento ideal para la identificación de peligros en el ACRM.

Por ello, el presente estudio aplicó un ACRM que incorporó una caracterización del ambiente de trabajo en tres plantas de tratamiento de aguas residuales de Costa Rica: Los Tajos, André Chalé y el Roble. Las tres plantas presentan importantes diferencias tecnológicas, sus dimensiones son diferentes y la cantidad de trabajadores varía sustancialmente entre una y otra. A pesar de ello, utilizan el mismo principio tecnológico de depuración mediante tratamiento primario y secundario, en el caso de Los Tajos se da tratamiento secundario incompleto. El tratamiento primario implica la remoción de grandes residuos por medio del cribado, donde se utilizan rejillas o tamices para retener objetos grandes. Mientras el secundario consiste en la degradación biológica mediante tanques de sedimentación y aireación para la remoción de microorganismos y estabilización de parámetros fisicoquímicos (Gerba & Pepper, 2019).

En el artículo 1 de esta tesis, se presenta los resultados de una evaluación ocupacional de riesgo microbiológico en tres plantas de tratamiento de aguas residuales para estimar la carga de enfermedad de *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp., norovirus y enterovirus. En este trabajo se estimaron las concentraciones de cada patógeno basado en mediciones ambientales, se identificaron posibles escenarios de exposición y se modeló el riesgo de infección. Adicionalmente, se modeló la efectividad en la reducción de la carga de enfermedad si se aplicase el uso de mascarilla como medida de protección personal.

En el artículo 2 se presentan los resultados de una evaluación simplificada de riesgo biológico, donde se realizaron observaciones e inspecciones de campo para describir las condiciones del espacio de trabajo y los factores que contribuyen a la exposición laboral de los agentes. Para ello, se clasificaron las medidas higiénicas jerárquicamente: administrativas, infraestructura y uso de equipo de protección personal. Además, se realizaron mediciones de indicadores fecales (coliformes fecales y

Escherichia coli) en aire y superficies; y mediciones de polvo inhalable en aire. Finalmente, se programó y diseñó una herramienta para el análisis y visualización de los resultados de la metodología, la cual se puede acceder de manera libre por otros profesionales interesados.

Esta tesis abordó una evaluación ocupacional de agentes biológicos que permite la valoración y toma de decisiones basada en información, la cual se espera sea de utilidad, tanto como marco metodológico (Figura 1 -flujo de las acciones realizadas-), como por la información generada para la mejora de las condiciones de salud ocupacional con respecto a este grupo de agentes escasamente estudiados en espacios ocupacionales en Costa Rica (Figura 2 -resultados de las acciones realizadas-).

Fig 1. Esquema del proceso de evaluación de riesgos propuesto en el presente estudio.

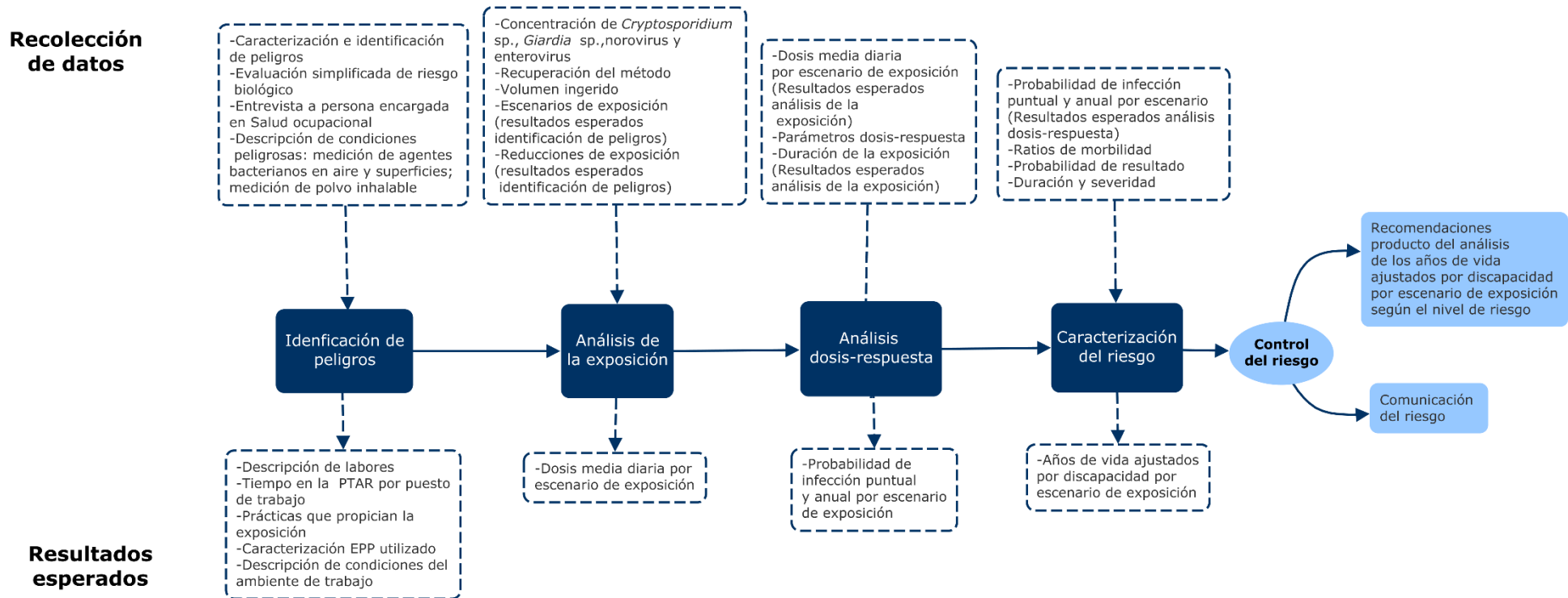


Fig 2. Infograma trabajo final de graduación.

EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A AGENTES MICROBIOLÓGICOS EN TRES PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS

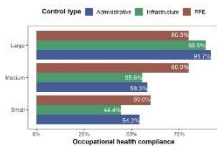
Artículo 1

Artículo 2

1. Identificación de peligros

Se realizó observación de las personas trabajadoras, sus patrones de comportamiento, condiciones laborales y rol en las plantas de tratamiento. A partir de ello, se definieron tres posibles escenarios de exposición con duración diferente:

- Operación.
- Mantenimiento.
- Visitantes.

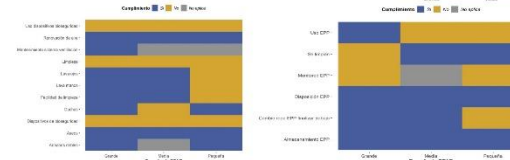


1. Inspección de campo y evaluación

Se inspeccionaron las condiciones ocupacionales en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales.

Se aplicó la metodología de la evaluación de riesgo simplificada, donde ninguna de las plantas obtuvo una puntuación aceptable en las condiciones ocupacionales.

Se programó y diseñó una función en R de Cran para analizar y visualizar los resultados.



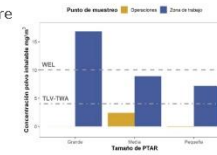
2. Medición indicadores fecales en

Se realizaron mediciones de indicadores fecales en aire y superficies tanto de la zona de trabajo como en las oficinas u operación.



3. Medición de polvo inhalable

Se realizaron mediciones de polvo inhalable en aire tanto de la zona de trabajo como en la zona de oficinas u operación. En la zona de trabajo se encontraron altos niveles de polvo inhalable en las tres PTAR.



4. Concluye

La evaluación simplificada de riesgo biológico es una metodología apropiada para análisis exploratorios en ambientes laborales con peligros biológicos. En este estudio con su aplicación se lograron detectar condiciones ocupacionales inadecuadas que exponen a los trabajadores de las plantas de tratamiento de aguas residuales a agentes infecciosos presentes en las aguas residuales.

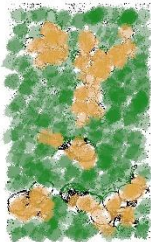
6. Concluye

La carga de enfermedad en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales es inaceptable según el nivel de riesgo recomendado por la OMS. Adicionalmente, el uso de mascarilla no es suficiente para alcanzar un nivel de riesgo aceptable, por lo cual son necesarias medidas complementarias como aislamientos y automatización.

2. Colecta muestras de agua

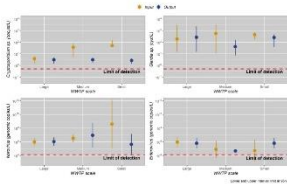
Se midió durante un año la concentración de:

Cryptosporidium sp.
Giardia sp.
Norovirus
Enterovirus



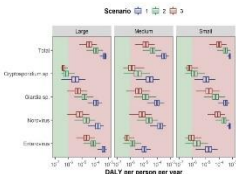
3. Estimación de concentraciones

Se realizó la estimación de parámetros para las concentraciones de los patógenos.



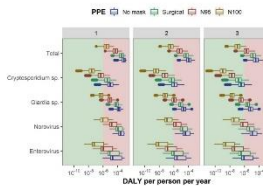
4. Estimación de riesgo y carga de enfermedad (AVAD)

Se estimó la probabilidad de infección y la carga de enfermedad para cada patógeno y escenario de exposición



5. Simulación carga de enfermedad (AVAD) para uso de mascarilla

Se simuló la carga de enfermedad para cada patógeno por escenario de exposición según el tipo de mascarilla que se use y sin uso de mascarilla.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bichai, F., & Smeets, P. W. M. H. (2013). Using QMRA-based regulation as a water quality management tool in the water security challenge: Experience from the Netherlands and Australia. *Water Research*, 47(20), 7315–7326. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.09.062>
- Bruni, E., Simonetti, G., Bovone, B., Casagrande, C., Castellani, F., Riccardi, C., Pomata, D., Di Filippo, P., Federici, E., Buiarelli, F., & Uccelletti, D. (2020). Evaluation of bioaerosol bacterial components of a wastewater treatment plant through an integrate approach and in vivo assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijerph17010273>
- Carducci, A., Donzelli, G., Cioni, L., Federigi, I., Lombardi, R., & Verani, M. (2018). Quantitative microbial risk assessment for workers exposed to bioaerosol in wastewater treatment plants aimed at the choice and setup of safety measures. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/ijerph15071490>
- Carducci, A., Donzelli, G., Cioni, L., & Verani, M. (2016). Quantitative microbial risk assessment in occupational settings applied to the airborne human adenovirus infection. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/ijerph13070733>
- Casman, E. a, Fischhoff, B., Palmgren, C., Small, M. J., & Wu, F. (2000). An integrated risk model of a drinking-water-borne cryptosporidiosis outbreak. *Risk Analysis: An Official Publication of the Society for Risk Analysis*, 20(4), 495–511. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.204047>
- CDC. (2015). Guidance for Reducing Health Risks to Workers Handling Human Waste or Sewage. https://www.cdc.gov/healthywater/global/sanitation/workers_handlingwaste.html

- Certad, G., Viscogliosi, E., Chabé, M., & Cacciò, S. M. (2017). Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends in Parasitology*, Jul;33(7):561-576, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.02.006>
- Chalmers, R. M. (2014). *Cryptosporidium*. In *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition* (Second, pp. 287–326). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00016-0>
- Cliver, D. O. (1981). Experimental Infection by Waterborne Enteroviruses. *Journal of Food Protection*, 44(11), 861–865. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-44.11.861>
- Corrao, C. R. N., Mazzotta, A., La Torre, G., & De Giusti, M. (2012). Biological risk and occupational Health. *Industrial Health*, 50(4), 326–337. <https://doi.org/10.2486/indhealth.MS1324>
- da Silva Poló, T., Peiró, J. R., Mendes, L. C. N., Ludwig, L. F., de Oliveira-Filho, E. F., Bucardo, F., Huynen, P., Melin, P., Thiry, E., & Mauroy, A. (2016). Human norovirus infection in Latin America. *Journal of Clinical Virology*, 78, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.03.016>
- Dada, A. C., & Gyawali, P. (2020). Quantitative microbial risk assessment (QMRA) of occupational exposure to SARS-CoV-2 in wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 142989. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142989>
- Das, S., Sarkar, S., Das, A., Das, S., Chakraborty, P., & Sarkar, J. (2021). A comprehensive review of various categories of face masks resistant to Covid-19. In *Clinical Epidemiology and Global Health* (Vol. 12, Issues 2213–3984). <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2021.100835>
- De Graaf, M., Van Beek, J., & Koopmans, M. P. G. (2016). Human norovirus transmission and evolution in a changing world. *Nature Reviews Microbiology*, 14(7), 421–433. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.48>
- DuPont, H. L., Chappell, C. . ., Sterling, C. R., Okhuysen, P. C., Rose, J. B., & Jakubowsky, W. (1995). The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *The New England Journal of Medicine*, 332(13), 1204. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.2576.1204-a>

- Fuhrmann, S., Winkler, M. S., Stalder, M., Niwagaba, C. B., Babu, M., Kabatereine, N. B., Halage, A. A., Utzinger, J., Cissé, G., & Nauta, M. (2016). Disease burden due to gastrointestinal pathogens in a wastewater system in Kampala, Uganda. *Microbial Risk Analysis*, 4, 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2016.11.003>
- Fukuhara, M., Iwami, S., Sato, K., Nishimura, Y., Shimizu, H., Aihara, K., & Koyanagi, Y. (2013). Quantification of the Dynamics of Enterovirus 71 Infection by Experimental-Mathematical Investigation. *Journal of Virology*, 87(1), 701–705. <https://doi.org/10.1128/jvi.01453-12>
- Gerba, C. P., & Pepper, I. L. (2019). Drinking Water Treatment. In *Environmental and Pollution Science* (3rd ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814719-1.00024-0>
- Haas, C. N., Rose, J. B., & Gerba, C. P. (2014). *Quantitative microbial risk assessment* (2nd ed.). Wiley.
- Havelaar, A. H., & Melse, J. M. (2003). Quantifying public health risk in the WHO Guidelines for Drinking Water Quality. In who.
- Health Canada. (2012). Enteric Protozoa: Giardia and Cryptosporidium. Minister of Health. <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/protozoa/index-eng.php#a21>
- Helsel, D. R. (2011). *Statistics for Censored Environmental Data using Minitab® and R* (M. Scott & V. Barnett (eds.); Second). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118162729>
- Howard, G., Pedley, S., & Tibatemwa, S. (2006). Quantitative microbial risk assessment to estimate health risks attributable to water supply: Can the technique be applied in developing countries with limited data? *Journal of Water and Health*, 4(1), 49–65. <https://doi.org/10.2166/wh.2005.058>
- Labite, H., Lunani, I., Van Der Steen, P., Vairavamoorthy, K., Drechsel, P., & Lens, P. (2010). Quantitative microbial risk analysis to evaluate health effects of interventions in the urban water system of Accra, Ghana. *Journal of Water and Health*, 8(3), 417–430. <https://doi.org/10.2166/wh.2010.021>

- Llorca, R. J. L., Soto, F. P., & Benavent, N. S. (2018). Manual práctico para la evaluación del riesgo biológico en actividades laborales diversas. In R. J. L. Llorca (Ed.), *Biogaval-Neo*. Centro Territorial de Valencia del INVASSAT. https://invassat.gva.es/documents/161660384/161741765/Biogaval_neo_2018_cs/ea1b4c14-8033-4c8b-8779-c9efe5db45ac
- Medema, G. (2009). Risk Assessment of Cryptosporidium in Drinking Water Risk Assessment of Cryptosporidium in Drinking Water. In World Health Organization (I). WHO.
- Meima, M., Kuijpers, E., Berg, C., Kruizinga, A., Kesteren, N., & Spaan, S. (2020). Biological agents and prevention of work-related diseases: a review. In European Agency for Safety and Health at Work. <https://doi.org/10.2802/403960>
- Melbostad, E., Eduard, W., Skogstad, A., Sandven, P., Lassen, J., Sørstrand, P., & Heldal, K. (1994). Exposure to bacterial aerosols and work-related symptoms in sewage workers. *American Journal of Industrial Medicine*, 25(1), 59–63. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700250116>
- O'Toole, J., Sinclair, M., Gibney, K., & Leder, K. (2015). Adoption of a microbial health-based target for Australian drinking water regulation. *Journal of Water and Health*, 13(3), 662–670. <https://doi.org/10.2166/wh.2015.201>
- Petterson, S., Signor, R., Ashbolt, N., & Roser, D. (2006). QMRA methodology. In University of New South Wales (Issue April). https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4255102/mod_resource/content/1/microrisk_qmra_methodology.pdf
- Rendtorff, R., & Holt, C. (1955). The Experimental Transmission of Human Intestinal Protozoan Parasites: *American Journal of Epidemiology*, 61(3), 321–325. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119756>
- Robertson, L. J. (2014). *Giardia duodenalis*. In *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition* (Second, pp. 375–405). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00019-6>

- Robson, M., & Toscano, W. (2007). Risk assessment for environmental health (First Edition). John Wiley & Sons, Inc.
- Rosado-García, F. M., Guerrero-flórez, M., Karanis, G., Del, M., Hinojosa, C., & Karanis, P. (2017). Water-borne protozoa parasites: The Latin American perspective. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.03.008>
- Rose, J. B., Haas, C. N., & Regli, S. (1991). Risk assessment and control of waterborne giardiasis. *American Journal of Public Health*, 81(6), 709–713. <https://doi.org/10.2105/AJPH.81.6.709>
- Rylander, R., Andersson, K., Belin, L., Berglund, G., Bergström, R., Hanson, L., Lundholm, M., & Mattsby, I. (1976). Sewage worker's syndrome. *The Lancet*, 88–91. <https://doi.org/10.2307/j.ctv6wghfz.28>
- Sampson, A., Owusu-Ansah, E. de G. J., Mills-Robertson, F. C., Ayi, I., Abaidoo, R. C., Hald, T., & Permin, A. (2017). Probabilistic quantitative microbial risk assessment model of farmer exposure to *Cryptosporidium* spp. in irrigation water within Kumasi Metropolis-Ghana. *Microbial Risk Analysis*, 6(June), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2017.06.001>
- Schoen, M. E., Ashbolt, N. J., Jahne, M. A., & Garland, J. (2017). Risk-based enteric pathogen reduction targets for non-potable and direct potable use of roof runoff, stormwater, and greywater. *Microbial Risk Analysis*, 0, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2017.01.002>
- Shen, X. Xin, Qiu, F. Zhou, Li, G. Xia, Zhao, M. Chuan, Wang, J., Chen, C., Zhao, L., Qi, J. J., Liu, H., Zhang, Y., He, X. Zhou, Wang, L., Feng, Z. Shan, & Ma, X. Jun. (2019). A case control study on the prevalence of enterovirus in children samples and its association with diarrhea. *Archives of Virology*, 164(1), 63–68. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-4021-5>
- Soller, J. A., Eftim, S. E., Warren, I., & Nappier, S. P. (2017). Evaluation of microbiological risks associated with direct potable reuse. *Microbial Risk Analysis*, 5, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2016.08.003>
- Soller, J. A., Eftim, S., Wade, T., Ichida, A., Clancy, J., Johnson, T., Schwab, K., Ramirez, G., Nappier, S., & Ravenscroft, J. (2016). Use of quantitative microbial risk assessment to improve

- interpretation of a recreational water epidemiological study. *Microbial Risk Analysis*, 1, 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2015.04.001>
- Teunis, P. F. M., Le Guyader, F. S., Liu, P., Ollivier, J., & Moe, C. L. (2020). Noroviruses are highly infectious but there is strong variation in host susceptibility and virus pathogenicity. *Epidemics*, 32(June), 100401. <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2020.100401>
- Teunis, P. F. M., Moe, C. L., Liu, P., Miller, S. E., Lindesmith, L., Baric, R. S., Pendu, J. Le, & Calderon, R. L. (2008). Norwalk Virus: How Infectious is It ? *Journal of Medical Virology*, 1476, 1468–1476. <https://doi.org/10.1002/jmv>
- Uhrbrand, K., Schultz, A. C., Koivisto, A. J., Nielsen, U., & Madsen, A. M. (2017). Assessment of airborne bacteria and noroviruses in air emission from a new highly-advanced hospital wastewater treatment plant. *Water Research*, 112, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.046>
- US EPA. (1998). National Primary Drinking Water Regulations: Disinfectants and Disinfection Byproducts: 40 CFR 9, 141, 142. Federal Register of the United States Government, 63(241), 69390–69476. <https://www.federalregister.gov/documents/1998/12/16/98-32887/national-primary-drinking-water-regulations-disinfectants-and-disinfection-byproducts>
- US EPA. (2011). Glossary terms. In: *Exposure Factors Handbook*. USEPA.
- van Lieverloo, J. H. M., Mirjam Blokker, E. J., & Medema, G. (2007). Quantitative microbial risk assessment of distributed drinking water using faecal indicator incidence and concentrations. *Journal of Water and Health*, 5(SUPPL. 1), 131–149. <https://doi.org/10.2166/wh.2007.134>
- Vergara, G. G. R. V, Rose, J. B., & Gin, K. Y. H. (2016). Risk assessment of noroviruses and human adenoviruses in recreational surface waters. *Water Research*, 103, 276–282. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.07.048>

- Viegas, C., Viegas, S., Quintal, A., Täubel, M., & Sabino, R. (2017). Exposure to Microbiological Agents in Indoor and Occupational Environments (Vol. 148). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-61688-9>
- Westrell, T., Schönning, C., Stenström, T. A & Ashbolt, N. J. (2004). Integration of QMRA and HACCP for management of pathogens in wastewater and sewage sludge treatment and reuse. *Water Science and Technology*, 50(2), 23–30.
- WHO. (2015). Enterovirus surveillance guidelines. In WHO Regional Office for Europe. https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0020/272810/EnterovirusSurveillanceGuidelines.pdf
- WHO. (2016). Quantitative Microbial Risk Assessment: Application for Water Safety Management (World Health Organization (ed.)). World Health Organization. <https://doi.org/10.1002/9781118910030>
- WHO. (2019). Safe water, better health. 2019 update. In World Health Organization; 2019. WHO. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329905/9789241516891-eng.pdf>
- Yan, C., Leng, Y. Li, & Wu, J. Ting. (2021). Quantitative microbial risk assessment for occupational health of temporary entrants and staffs equipped with various grade PPE and exposed to microbial bioaerosols in two WWTPs. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 94(6), 1327–1343. <https://doi.org/10.1007/s00420-021-01663-5>
- Zaneti, R. N., Girardi, V., Spilki, F. R., Mena, K., Westphalen, A. P. C., da Costa Colares, E. R., Pozzebon, A. G., & Etchepare, R. G. (2021). Quantitative microbial risk assessment of SARS-CoV-2 for workers in wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 754, 142163. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142163>

ARTÍCULO 1. Un enfoque novedoso para la vigilancia de riesgos biológicos en higiene ocupacional: un estudio de caso sobre el uso de la evaluación cuantitativa de riesgos microbianos para determinar los riesgos laborales para los trabajadores de plantas de tratamiento de aguas residuales en Costa Rica.

**La versión original del manuscrito es en inglés, la presente en este documento es una traducción.*

TÍTULO CORTO. Evaluación cuantitativa del riesgo microbiano aplicada a trabajadores de plantas de tratamiento de aguas residuales.

PUNTOS SOBRESALIENTES

- Los AVAD por enfermedad gastrointestinal de los trabajadores fueron superiores al valor de referencia de la OMS.
- La inclusión del EPP como intervención simulada mostró una elevada reducción del riesgo.
- La concentración de patógenos es el factor más importante en el modelo de riesgo.
- El ACRM ocupacional es una estrategia viable en los países de ingresos medios y bajos.
- Una PTAR eficiente influye directamente en la seguridad y la salud de los trabajadores.

RESUMEN

El tratamiento de las aguas residuales es esencial para prevenir las enfermedades infecciosas y la contaminación del agua. Para llevar a cabo este proceso, los trabajadores operan y mantienen plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR); por lo tanto, están expuestos a los numerosos patógenos presentes en las aguas residuales domésticas. Consecuentemente, es necesario evaluar la exposición profesional a los agentes patógenos en las PTAR. La evaluación cuantitativa del riesgo microbiano (ACRM), es un enfoque metodológico para estimar el riesgo de un patógeno específico que puede ser útil para analizar el riesgo biológico en la higiene ocupacional. En este estudio, se aplicó una ACRM, basada en la vigilancia ocupacional de campo para identificar los peligros biológicos y estimar el riesgo potencial para los trabajadores de las PTAR. Además, se utilizaron simulaciones para probar estrategias de control adicionales como el uso de equipos de protección personal (EPP). El ACRM se llevó a cabo en tres PTAR de Costa Rica entre mayo de 2020 y mayo

de 2021. La vigilancia de campo mostró una necesidad de mayor consistencia en el ambiente de trabajo, especialmente factores de comportamiento, infraestructura y EPP. Se midieron y detectaron *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp., Norovirus y géneros Enterovirus. Además, el rendimiento del tratamiento fue insatisfactorio para la reducción de los patógenos en estudio. Como resultado, la carga total de morbilidad fue superior al valor de referencia recomendado por la OMS ($1,00 \times 10^{-6}$ AVAD por persona y año) en los tres escenarios de exposición (operación, mantenimiento y visitantes) entre uno y tres órdenes de magnitud en todas las PTAR. La simulación demostró que el uso de EPP reduce en casi dos órdenes de magnitud la carga de morbilidad estimada. Aun así, esta medida de control no alcanzó un nivel de riesgo aceptable (inferior a $1,00 \times 10^{-6}$ AVAD por persona y año) para los trabajadores de las PTAR. Este estudio pone de manifiesto la importancia de utilizar EPP junto con otras medidas de control, como la automatización o las barreras, para aislar las fuentes de contaminación. Sin embargo, esta complementación de técnicas (inspecciones de campo, análisis de supervivencia y ACRM) es poco habitual en salud e higiene laboral. En este estudio se utilizó la vigilancia de campo para conocer el entorno ocupacional y las posibles vías de exposición, lo cual, es importante para la identificación de peligros y la evaluación de riesgos. Además, se utilizaron la modelización de la exposición y la ACRM para simular distintos escenarios de control, lo que proporcionó una estimación sólida de los riesgos potenciales asociados a la exposición ocupacional.

PALABRAS CLAVE

QMRA ocupacional, AVAD, vigilancia de campo, tratamiento de aguas residuales, patógenos de aguas residuales.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de aguas residuales domésticas contribuye a la construcción de espacios habitables y protege a la población de enfermedades infecciosas, al reducir la contaminación microbiana antes del vertido ambiental de efluentes de aguas residuales (Gerba & Pepper, 2019). Sin embargo, los trabajadores implicados en el funcionamiento y mantenimiento de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) corren el riesgo de entrar en contacto con agentes biológicos (Corrao et al., 2012; Hung et al., 2010). Esto se debe a la emisión de aerosoles con altas concentraciones de patógenos durante el proceso de tratamiento de aguas residuales, y actividades que incluyen el contacto directo con las aguas residuales (Fuhrmann et al., 2019; Szyłak-Szydłowski et al., 2016). Tanto los aerosoles como las aguas residuales pueden dispersarse en el entorno circundante, exponiendo así a los trabajadores a patógenos transportados por el aire y por el agua (Bruni et al., 2020), como *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp., Norovirus GI/GII y virus del género de enterovirus, presentes con frecuencia en las aguas residuales y asociados a enfermedades gastrointestinales (Certad et al., 2017; Sampson et al., 2017; Uhrbrand et al., 2017; OMS, 2015). *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp. son parásitos con alta infectividad y altamente resistentes al cloro y al tratamiento tradicional del agua, lo que aumenta el riesgo de infecciones fecales-orales en humanos (Chalmers, 2014; DuPont et al., 1995; Rendtorff & Holt, 1955; Robertson, 2014). Norovirus tiene una alta infectividad y una alta tasa de infección en comparación con otros virus entéricos (Teunis et al., 2008, 2020). Además, Norovirus es el principal agente causante de diarrea viral y presenta una alta prevalencia ambiental (da Silva Poló et al., 2016). Otros virus relevantes en aguas residuales son los del género Enterovirus, con una dosis-respuesta moderada asociada y un amplio espectro de efectos sobre la salud, como enfermedades gastrointestinales o gastroenteritis (Shen et al., 2019; Yezli & Otter, 2011). Algunos géneros relevantes de enterovirus asociados a enfermedades gastrointestinales son coxsackievirus, enterovirus 71, poliovirus o echovirus (Betancourt & Shulman, 2017; Zhang et al., 2022).

De manera general, el tratamiento primario de aguas residuales implica la separación física de sólidos, mientras que el secundario busca la degradación biológica de los sólidos y la reducción de patógenos (Gerba & Pepper, 2019). Este último utiliza un tanque de aireación para promover la degradación aeróbica (Gerba & Pepper, 2019; Naughton & Rousselot, 2017). Sin embargo, este proceso puede generar bioaerosoles que contienen patógenos (Kataki et al., 2022; Singh et al., 2021), potencialmente exponiendo a los trabajadores a riesgos (Dada y Gyawali, 2020). El riesgo se determina por la probabilidad de un efecto adverso debido a la exposición a patógenos (US EPA, 2011; Carducci et al., 2018).

En consecuencia, evaluar la exposición laboral a los patógenos presentes habitualmente en las PTAR es importante para evitar infecciones accidentales en los trabajadores (Bruni et al., 2020; Lu et al., 2020). Sin embargo, la evaluación del riesgo biológico convencional basada en enfoques cualitativos y semicualitativos tiene varias limitaciones, especialmente en la definición de la exposición en escenarios ocupacionales y opciones de control (Carducci et al., 2018). Por lo tanto, un enfoque para la evaluación del riesgo biológico ocupacional, es la evaluación cuantitativa del riesgo microbiano (ACRM) combinada con técnicas como estimaciones estadísticas e inspecciones de campo, para documentar los patrones de exposición y obtener insumos más realistas para la implementación del modelo (Carducci et al., 2016, 2018; CDC, 2015; Chen et al., 2021; Lee, 2017; Yan et al., 2021). ACRM es una metodología útil para estimar las consecuencias de la exposición a patógenos específicos y establecer niveles de riesgo de acuerdo con los límites de referencia de la US EPA (1998) y la OMS (2016). También, permite la modelización matemática para evaluar la relación entre las condiciones ambientales y la salud humana en diversos escenarios (Hamilton et al., 2020; Sano et al., 2019). El ACRM es un marco metodológico que implica la descripción del peligro, la relación dosis-respuesta, la evaluación de la exposición, la caracterización del riesgo y la gestión del riesgo (Haas et al., 2014). Mediante la aplicación de ACRM, se puede mejorar el control y la evaluación de los entornos ocupacionales en las PTAR, a través de simulaciones matemáticas de posibles escenarios de exposición o reducción de riesgos (Carducci et al., 2018; Chen et al., 2021).

Sin embargo, los estudios de ACRM ocupacional son escasos y, en algunos casos, poco específicos para aplicaciones en higiene ocupacional (Carducci et al., 2016; Fuhrmann et al., 2016, 2019; Sampson et al., 2017; Zaneti et al., 2021). Hasta donde sabemos, en América Latina solo se realizaron otros dos estudios de ACRM ocupacional, ambos en Brasil (de Matos Nascimento et al., 2020; Zaneti et al., 2021). Este estudio es el primer ACRM ocupacional en Costa Rica y Centroamérica, donde los patógenos estudiados son endémicos y altamente frecuentes (Chacón et al., 2020; Morales et al., 2022; Orner et al., 2021).

Los estudios de análisis de riesgos para la salud laboral se han restringido tradicionalmente a observaciones de campo, seguidas de mediciones directas de la exposición, lo que hace que su alcance sea más limitado, ya que el análisis de exposiciones múltiples aumenta sustancialmente el coste del estudio. El objetivo de este estudio fue evaluar el riesgo biológico de la exposición laboral simultánea a *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp., Norovirus y el género de Enterovirus en tres PTAR, y evaluar los efectos del uso de tres tipos diferentes de mascarillas para reducir la exposición de los trabajadores a estos patógenos. En este trabajo se utilizó ACRM con una evaluación de la exposición basada en mediciones de patógenos y observaciones de campo. Se utilizaron simulaciones de Monte Carlo para tener en cuenta la variabilidad y la incertidumbre de las entradas del modelo descritas como distribuciones. Al comparar los resultados del ACRM con los límites establecidos por la OMS, se identificaron intervenciones de gestión de riesgos posiblemente eficaces. Una limitación de este estudio es que no fue posible medir directamente los patógenos transportados por el aire. El estudio también se limitó a un grupo específico de agentes, lo que puede no reflejar plenamente todos los riesgos potenciales que podrían afectar a la salud laboral. No obstante, este estudio proporciona información valiosa sobre la gestión de los riesgos para la salud en el trabajo y pone en evidencia la utilidad de la ACRM en contextos de escasos recursos.

METODOLOGÍA

2.1.1 Sitios de estudio

Este estudio se realizó en tres plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) ubicadas en el Gran Área Metropolitana y Pacífico Central de Costa Rica, con diferentes escalas de población servida: grande (153 000 habitantes), mediana (11 172 habitantes) y pequeña (725 habitantes). Las aguas residuales domésticas son la fuente primaria de la matriz en las tres PTAR. Las PTAR mediana y pequeña utilizan tratamientos primarios y secundarios convencionales, y la PTAR grande aplica un tratamiento primario y secundario incompleto. Brevemente, el tratamiento primario implica una separación física de sólidos de las aguas residuales. El tratamiento secundario consiste en la degradación biológica, descomponiendo los sólidos y reduciendo los patógenos (Gerba & Pepper, 2019). En las PTAR estudiadas, el principal sistema de tratamiento secundario son los lodos activados. Este sistema consiste en la circulación del afluente hacia un tanque de aireación (se bombea aire a la matriz) para promover la degradación aeróbica de la materia orgánica (Gerba & Pepper, 2019; Naughton & Rousselot, 2017). Una parte de los lodos se utiliza como inóculo del efluente primario para enriquecer la mezcla (Gerba & Pepper, 2019). Este sistema de aireación, genera burbujas de aguas residuales que podrían transportar patógenos microbianos y formar partículas de bioaerosoles, que facilitan la presencia de microorganismos en el aire y superficies (Kataki et al., 2022; Singh et al., 2021). Además, las actividades cercanas al sistema de aireación, como el funcionamiento, mantenimiento o inspecciones, podrían exponer a los trabajadores a los bioaerosoles (Dada y Gyawali, 2020). Por otro lado, los lodos generados en el proceso de tratamiento se eliminan en un vertedero. Esta actividad aumenta la probabilidad de contacto directo entre los trabajadores y los lodos durante la movilización de estos. Además, las tres PTAR utilizan sistemas de tratamiento semiautomáticos que requieren cierta mano de obra que varían las tareas y duración en cada PTAR.

2.2.1. Identificación de peligros

Se realizaron inspecciones (observación directa, informes de los trabajadores y entrevistas con las jefaturas) para describir los riesgos laborales durante el turno de trabajo en cada PTAR. Las

inspecciones incluyeron las medidas de higiene recomendadas por el método simplificado de evaluación de riesgos biológicos y del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (Véase la Información complementaria para más detalles, Cuadro S1) (CDC, 2015; Llorca et al., 2018). Estas medidas de higiene se confirmaron con entrevistas a las jefaturas, que incluían preguntas sobre las medidas de higiene laboral, la formación de los trabajadores y el uso de equipos de protección individual. Las medidas de higiene ocupacional se clasificaron en administrativas, de infraestructura y de equipos de protección personal (EPP). La puntuación del porcentaje de cumplimiento se basa en las inspecciones realizadas mediante la presencia/ausencia de medidas básicas de higiene biológica; el cumplimiento ideal es del 100%.

La observación directa se realizó durante toda la jornada laboral y se registró en el instrumento proporcionado por la OMS (2016). Con base en estos datos, se definieron los escenarios de exposición a bioaerosoles inhalables para tres tipos de individuos que podrían ser potenciales escenarios de exposición: trabajadores de operación, trabajadores de mantenimiento y visitantes (Cuadro 1). El escenario 1 (operación) consiste en un trabajo continuo de inspección, monitorización, apoyo y mantenimiento durante todo el tiempo de trabajo (6 h/día). Los escenarios 2 (trabajadores de mantenimiento) y 3 (visitantes) requerían una entrada parcial o esporádica en las PTAR con una exposición menor durante la jornada laboral. Las horas de exposición al día y la frecuencia de días al año se detallan en la Cuadro 1.

2.2.2. Muestreo, detección y cuantificación de patógenos

Se recolectaron un total de 78 muestras de aguas residuales en las PTAR durante 13 meses desde mayo de 2020 hasta mayo de 2021 siguiendo los protocolos de la APHA (2017). En cada PTAR, mensualmente se recolectaron tres muestras en la entrada y tres muestras en la salida, para un total de seis muestras al mes por PTAR. Todas las muestras se almacenaron en hielo y se procesaron en el laboratorio el mismo día del muestreo. Se analizaron las concentraciones de los *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp., Norovirus y el género de Enterovirus de cada muestra de aguas residuales. En los párrafos siguientes se describe el procedimiento de análisis para cada patógeno.

2.2.2.1. Giardia sp. y Cryptosporidium sp.

Las muestras de aguas residuales se concentraron mediante la técnica de floculación con $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, tal como describieron Karanis et al. (2006): Se procesaron 1 L del afluente y 5 L del efluente por cada ronda de muestreo. Antes de la concentración, las muestras fueron inoculadas con 100 μL (1 quiste/ μL) de quistes de *Giardia* teñidos (quistes control) (Solano et al., 2019) para estimar su respectiva tasa de recuperación (Ver Información Suplementaria para más detalles, Cuadro S2). Tras el proceso de concentración, la detección de *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp. se realizó mediante separación inmunomagnética (sistema Dynal GC-Combo®, Dynal Biotech ASA, Oslo, Noruega) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras purificadas se tiñeron con isotiocianato de fluoresceína conjugado con anticuerpos monoclonales anti-*Cryptosporidium* y anti-*Giardia* (CeLLabs Pty Ltd., Australia). Todo el volumen de las muestras concentradas (aproximadamente 150 μL) se analizó mediante microscopía de fluorescencia, a una longitud de onda de 515 ± 25 nm utilizando un Olympus® CLX modelo BX43F. De acuerdo con los criterios del método 1623, los (oo)quistes se contaron cuando presentaban características protozoarias típicas (tamaño y morfología) y fluorescencia verde manzana brillante (US EPA, 2005), y los quistes control mostraron la misma fluorescencia y color de fondo rosa.

2.2.2.2. Norovirus y enterovirus

La detección viral se llevó a cabo mediante la técnica de absorción/elución por filtración con membrana de nitrocelulosa descrita por Symonds et al. (2017). En primer lugar, se concentró una muestra de agua residual de 100-500 mL (Véase la Información complementaria para más detalles, Cuadro S3). A continuación, de acuerdo con las instrucciones del fabricante, se realizó la extracción de ARN de las muestras concentradas utilizando RNeasyPower Water Kit (Qiagen). Posteriormente, se sintetizó el ADNc utilizando el SuperScript™ IV First-Strand Synthesis System (ThermoFisher Scientific, MA, EE. UU.). Más tarde, la detección y cuantificación de norovirus (G1) y el género de enterovirus se analizaron con qPCR en tiempo real según lo recomendado por el método 1615 de la US EPA (Fout et al., 2015). Los cebadores y sondas utilizados para la PCR fueron:

-Norovirus:

NorGIAF: 5' GCCATGTTCCGTTGGATG 3'.

NorGIAR: 5' TCCTTAGACGCCATCATCAT 3'.

NorGIAP: 5' 6FAM-TGTGGACAGGAGATCGCAATCTC-TAMRA 3'.

-Enterovirus:

EntF: 5' CCTCCGGCCCCTGAATG 3'.

EntR: 5' ACCGGATGGCCAATCCAA 3'.

EntP: 5' 6FAM-CGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGT-TAMRA 3'.

Se utilizó un fragmento del gen gblock (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, EE.UU.) que contenía la región genómica de interés para construir curvas estándar de RT-qPCR para ambos ensayos. Las diluciones de las curvas estándar oscilaron entre 1×10^7 y 1×10^1 copias/2 μ L. Las eficiencias y medias R^2 para los genes ensayados fueron del 109,55% y 0,986 para norovirus, y del 80,81% y 0,999 para el género enterovirus. En este trabajo, los límites de cuantificación y detección para cada gen fueron la concentración mínima (dilución) detectada con una curva estándar utilizando triplicados. Para ambos ensayos, se estableció 1×10^2 copias/2 μ L como límite de detección de la qPCR. Por lo tanto, los límites del ensayo se establecieron en $2,39 \times 10^4$ copias/L.

2.2.3. Análisis estadístico

Se calcularon estadísticas descriptivas como la media, la desviación estándar y los límites de intervalo utilizando métodos no paramétricos para los datos censurados a la izquierda (observaciones no detectables) de las concentraciones de los patógenos. La selección de la técnica de análisis se determinó por el tamaño de los conjuntos de datos ($n=26$ por PTAR, $n=78$ en total) y la proporción de observaciones censuradas a la izquierda (Helsel, 2011). Todos los análisis descriptivos se realizaron mediante estimación de máxima verosimilitud con el paquete NADA del lenguaje estadístico R (versión 4.1.2. www.r-project.org) siguiendo los métodos de datos censurados descritos por Lee (2017). Además, se utilizó la prueba de Peto-Prentice para evaluar la hipótesis nula de que

no había diferencias significativas entre los dos grupos de análisis: 1) concentraciones de influentes y efluentes y 2) concentraciones de PTAR. Para todas las pruebas estadísticas se definió $p=0,05$.

2.2.4. Evaluación de la exposición

La evaluación de la exposición, tenía como objetivo estimar la dosis de los patógenos estudiados en los escenarios definidos por el análisis de identificación de peligros (Sección 2.1 y Cuadro 1). Las vías de exposición a los patógenos se delimitaron, cuantificaron y caracterizaron según las recomendaciones de Haas et al. (2014); OMS (2016a). Inicialmente, la vía de exposición a patógenos se definió mediante funciones de la naturaleza del trabajo y el tiempo de trabajo en cada PTAR. Como resultado, se modelaron las vías de exposición a patógenos para cada uno de los tres escenarios previamente determinados: 1) trabajadores de operación, 2) trabajadores de mantenimiento y 3) visitantes (Cuadro 1). Para la evaluación de la exposición, todos los (oo)quistes y partículas víricas se consideraron infecciosos para el análisis de riesgos. Además, se simularon reducciones de patógenos por tipo de mascarilla: quirúrgica, N95 y N100 (Cuadro 2). La dosis diaria de patógenos se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$d = C * V * R * k_d \quad [1]$$

Donde d = dosis diaria del patógeno por persona ((oo)quiste/día/L o copias/día/L), C = concentración de patógenos detectables en el agua ((oo)quiste/L o copias/L), V = volumen de agua residual ingerida accidentalmente (L/día/persona), R = reducciones de uso de máscara, k_d = tasa media de decaimiento (día⁻¹) (Ver Cuadro 2 para detalles de los parámetros).

2.3.1. Evaluación cuantitativa del riesgo microbiano

El modelo se implementó utilizando el lenguaje estadístico R (versión 4.1.2. www.r-project.org) para todos los cálculos, estimaciones y visualizaciones. La evaluación del riesgo se realizó mediante una simulación de Monte Carlo con 10 000 iteraciones para cada escenario de exposición siguiendo las recomendaciones de Haas et al. (2014) (véase el Cuadro 2 para los

parámetros, los detalles de las ecuaciones y las referencias). En este estudio, se utilizaron parámetros de dosis-respuesta para la vía de ingestión accidental de los trabajadores, considerando las variaciones en su tiempo de exposición y tarea (Cuadro 1). Además, se simuló el riesgo con múltiples tipos de mascarillas para evaluar las posibles opciones de EPP para los trabajadores. Como resultado, se obtuvo la distribución de probabilidad de la dosis, el riesgo de infección (diario y anual) y la carga de enfermedad para todos los escenarios de exposición y simulaciones de uso de mascarillas. Por último, se estimaron los años de vida ajustados por discapacidad (AVAD) por persona y año en los escenarios de exposición estudiados, que se graficaron en un diagrama de cajas de las distribuciones y áreas de los niveles de aceptabilidad del riesgo.

El riesgo se define por la probabilidad de un efecto adverso en un organismo, sistema o población causado en circunstancias específicas por la exposición a un agente (patógenos en este estudio). (US EPA, 2011). Consecuentemente, los modelos utilizados para estimar el riesgo microbiano se basaron en la medición de la dosis de patógenos con efectos sobre la salud que se infieren utilizando relaciones matemáticas dosis-respuesta conocidas (Carducci et al., 2018). En este estudio, para estimar la probabilidad de infección diaria, se utilizó el modelo exponencial para *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp. y el género de enterovirus, mientras que para norovirus se utilizó un modelo Beta-Poisson (ver Cuadro 2 para los parámetros y detalles de la ecuación). Asimismo, el riesgo diario combinado (P_{comb}) para la exposición simultánea a todos los patógenos se estimó según lo propuesto por Teunis et al., (1997), y el teorema de adición de probabilidades mediante la siguiente ecuación (Cuadro 2):

$$P_{comb} = P_{i(g)} + P_{i(c)} + P_{i(n)} + P_{i(e)} - (P_{i(g)}P_{i(c)}P_{i(n)}P_{i(e)}) \quad [2]$$

Donde $P_{i(g)}$ =probabilidad de infección por *Giardia* sp., $P_{i(c)}$ =probabilidad de infección por *Cryptosporidium* sp., $P_{i(n)}$ =probabilidad de infección por norovirus, $P_{i(e)}$ =probabilidad de infección por enterovirus.

El riesgo anual de infección por persona y año se consideró como exposiciones múltiples a los patógenos estudiados utilizando el teorema de la independencia de la probabilidad, tal como recomiendan Haas et al., (2014):

$$P_a = 1 - \prod_{i=1}^N (1 - P_i)^n \quad [3]$$

Donde P_a = probabilidad de infección anual por cada patógeno y combinada por persona, P_i = probabilidad de infección diaria por patógeno por persona, n = periodo sobre el supuesto de probabilidad de infección diaria constante por año (Cuadros 1 y 2).

La probabilidad de infección anual se utilizó para estimar la probabilidad de enfermedad ($P_{ill|inf}$). La probabilidad de enfermedad es la probabilidad condicional del resultado en salud dada una infección (Chen et al., 2021). Este estudio utilizó la probabilidad de casos sintomáticos de gastroenteritis para cada patógeno (Haas et al., 2014).

Los AVAD representan un año de vida saludable perdido por cada discapacidad o muerte prematura por algún efecto específico (Devleeschauwer et al., 2016). Esta métrica traduce el riesgo de carga de enfermedad como una carga en salud global por caso de enfermedad (Pettersen et al., 2006). En este estudio, un AVAD se definió matemáticamente como:

$$AVAD = \sum_{i=1}^N P_{enf|inf} * P_{salida|enf} * D_i * S_i \quad [4]$$

Donde $P_{enf|inf}$ =probabilidad de enfermedad, $P_{salida|enf}$ =probabilidad de un resultado (i) para una enfermedad dada, D_i =duración de la consecuencia en años (7,2 días/año) (Havelaar & Melse, 2003), S_i =ponderación de gravedad para el resultado (0,067) (véase la Cuadro 2 para los parámetros y detalles de la ecuación) (Medema, 2009).

2.4.1. Análisis de sensibilidad

Se realizó un análisis de sensibilidad para estimar la influencia de cada parámetro de entrada en la probabilidad de infección anual combinada calculada. En primer lugar, se calculó el coeficiente

de correlación de Spearman entre cada parámetro de entrada y el riesgo combinado anual estimado, siguiendo la metodología descrita por Haas et al. (2014). Además, se determinó el impacto relativo de los insumos en el resultado calculado y se determinó la importancia relativa de los componentes individuales (Haas et al., 2014).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Condiciones de trabajo e identificación de peligros

La puntuación del porcentaje de cumplimiento se basa en la presencia/ausencia de medidas básicas de higiene biológica; el cumplimiento ideal es 100%. El estudio clasificó el cumplimiento de cada PTAR en tres categorías de medidas de higiene: administrativas, de infraestructura y EPP. Los controles administrativos en la PTAR grande no adecuaron el espacio y la mano de obra para trabajadores sensibles o vulnerables como mujeres embarazadas, personas con factores de riesgo o discapacidades particulares que laboran o visitan la planta. En la PTAR mediana se observó los mismos controles administrativos ausentes, más otros como incluir medidas de seguridad, protocolos de transporte externo de muestras de aguas residuales, protocolos de desinfección, prevención de diseminación de patógenos por fómites y aire, capacitación de trabajadores sobre agentes biológicos y prohibición de fumar, comer o beber en la PTAR. La pequeña planta presentaba todos los problemas mencionados, más la ausencia de métodos de limpieza y protocolos de comunicación de incidentes (Fig. 1). En cuanto a los controles de infraestructura, los principales incumplimientos en las tres PTAR estuvieron relacionados con la ausencia y no uso de dispositivos de bioseguridad (sensores para detectar agentes biológicos), limpieza del espacio y dispositivos de atención de emergencia (lavajos, duchas de seguridad y lavabos de seguridad). La PTAR grande presentó el puntaje de cumplimiento más alto aparte del uso de EPP (cumplimiento medio= 80,0%), mientras que la PTAR pequeña presentó el cumplimiento más bajo en los tres tipos de control (cumplimiento medio= 52,9%). Finalmente, en los tres sitios se observaron deficiencias en cuanto al uso, vigilancia y limpieza de los

EPP (esto incluía mascarillas, ropa, lentes y botas), especialmente en actividades peligrosas como limpieza, mantenimiento, inspección y toma de muestras de infraestructura.

La presente inspección detectó diversas fuentes de peligro en las tres PTAR (Fig. 1). Las principales fuentes de peligro para los trabajadores de la PTAR son el contacto mano-boca, vía fecal-oral (comer, beber o fumar), tocarse la cara con las manos contaminadas y trabajar sin EPP en ambientes con bioaerosoles y superficies contaminadas con aguas residuales (Dannoun & Nouban, 2021). Además, los factores organizacionales y la capacitación en control de infecciones son fundamentales para implementar la prevención entre los trabajadores para disminuir el riesgo de infección (Corrao et al., 2012). En este estudio, la inspección del cumplimiento de las medidas de higiene (administrativas, infraestructura y EPP) permitió definir escenarios de exposición más precisos, para incrementar la aplicación práctica de las simulaciones en el ACRM para la mejora de las condiciones de salud ocupacional (Cuadro 1.1 y Fig. 1) (Arroyave et al., 2021). Además, la inspección de las medidas de salud e higiene en el trabajo, resultó útil para identificar posibles peligros en el ambiente laboral y confirmar la exposición a agentes biológicos previo a la aplicación del ACRM (Cuadro 1.1 y Fig. 1). Estudios previos en países de bajos y medianos ingresos, observaron el incumplimiento de las condiciones de salud ocupacional de los trabajadores de aguas residuales, en temas como vigilancia y condiciones de infraestructura (Oza et al., 2022). Eso demuestra la necesidad de mejorar las condiciones de salud ocupacional de las PTAR relacionadas con EPP, capacitación, seguro de salud, vigilancia, políticas y regulaciones efectivas (Patwary et al., 2021). En este sentido, las medidas de higiene laboral en las PTAR estudiadas, necesitan mejorar urgentemente en temas como la vigilancia del entorno de trabajo, especialmente los factores de comportamiento e infraestructura, y la consistencia en el uso y mantenimiento de los EPP.

3.2. Descripción de las concentraciones de patógenos

Todos los patógenos estudiados se detectaron en las tres PTAR, con un total de 78 muestras para cada patógeno analizado, con diferentes porcentajes de muestras positivas: *Cryptosporidium* sp. (65%), *Giardia* sp. (99%), Norovirus (74%) y Enterovirus (55%). Para *Cryptosporidium* sp., la mayor

concentración estimada se detectó en la entrada de la PTAR mediana ($7,89 \times 10^1$ ooquistes/L). Mientras tanto, la más baja se detectó en la entrada de la PTAR grande ($1,47 \times 10^0$ ooquistes/L), y la reducción media fue de 0,5-log (Fig. 2). Se observaron diferencias no significativas en las concentraciones de *Cryptosporidium* sp. entre las PTAR ($\rho=0,10$), así como en las entradas-salidas del proceso de tratamiento en cada planta (grande $\rho=0,70$, mediana $\rho=0,06$, pequeña $\rho=0,40$). En el caso de *Giardia* sp., las concentraciones estimadas más altas y bajas se detectaron en la PTAR mediana ($3,19 \times 10^3$ quistes/L a la entrada y $7,35 \times 10^0$ ooquistes/L a la salida, respectivamente), y la reducción media fue de 0,25-log (Fig. 2). Se observaron diferencias no significativas de las concentraciones entre las PTAR ($\rho=0,6$) y entre las entradas-salidas del proceso de tratamiento (ρ grande= $0,60$, ρ pequeña= $0,10$), excepto para la media ($\rho<0,001$).

Las mayores concentraciones de Norovirus se observaron a la entrada de la PTAR pequeña ($1,50 \times 10^{12}$ copias/L), las menores a la salida de la mediana ($1,04 \times 10^4$ copias/L), y la reducción media fue de 1-log. Se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de las tres PTAR ($\rho<0,001$) (Fig. 2). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre las entradas-salidas del proceso de tratamiento (grande $\rho=0,90$, pequeña $\rho=0,50$) excepto para la de escala media ($\rho=0,03$). Las concentraciones más elevadas del género Enterovirus se registraron en la entrada de la PTAR grande ($6,03 \times 10^6$ copias/L) y las más bajas en la entrada de la pequeña ($1,37 \times 10^3$ copias/L), y la reducción media fue de 1 log. Se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de las tres PTAR ($\rho<0,001$). Por último, se observaron diferencias no significativas en las entradas-salidas del proceso de tratamiento (grande $\rho=0,60$, pequeña $\rho=0,07$) excepto en la escala media ($\rho=0,02$). Los métodos moleculares utilizados en este estudio (qPCR) no pudieron representar el virus infeccioso o no infeccioso. Asimismo, la detección de genomas virales podría no describir la reducción viral infecciosa real de las PTAR. A pesar de ello, un estudio anterior encontró una mayor reducción de $10^{3,5}$ a $10^{4,5}$ PTAR de virus utilizando qPCR en comparación con los resultados de este estudio (Wang et al., 2020).

Por tanto, la no diferencia entre entrada-salida para protozoos y virus podría revelar la baja capacidad de reducción de patógenos de las PTAR estudiadas (Fig. 2). En cuanto a los niveles de las concentraciones; en este estudio se encontró que *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp. presentaron rangos similares a los descritos previamente para PTAR domésticas (entre 10^{-1} y 10^2 (oo)quistes) (Gerba & Pepper, 2019). En cuanto a Norovirus, los niveles de concentración presentaron un rango similar al descrito previamente para PTAR domésticas (entre 10^{-1} a 10^9 copias/L), excepto para la PTAR pequeña (10^5 a 10^{12} copias/L) (Eftim et al., 2017). Por otro lado, las concentraciones de enterovirus presentaron rangos superiores a los típicamente informados en PTAR domésticas (entre 10^1 a 10^2 copias/L) (5-log por encima) (Gerba & Pepper, 2019).

3.3. Simulación de evaluaciones de riesgo para *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp., norovirus y enterovirus

La carga total de morbilidad por gastroenteritis fue superior al valor de referencia recomendado por la OMS ($1,00 \times 10^{-6}$ AVAD por persona y año) en los tres escenarios de exposición entre uno y tres órdenes de magnitud en todas las PTAR (Cuadro 1 y Fig. 3) (OMS, 2016a). Norovirus presentó el mayor AVAD por persona y año (promedio escenario 1= $8,50 \times 10^{-4}$, promedio escenario 2= $7,26 \times 10^{-4}$, y promedio escenario 3= $4,51 \times 10^{-4}$), seguido de *Giardia* sp. (promedio escenario 1= $3,19 \times 10^{-4}$, promedio escenario 2= $6,61 \times 10^{-5}$, y promedio escenario 3= $2,18 \times 10^{-5}$), en todos los escenarios de exposición estos patógenos representaron la porción más significativa del total de los AVAD. Por lo demás, *Cryptosporidium* sp. presentó la carga de enfermedad más baja (promedio escenario 1= $1,24 \times 10^{-5}$, promedio escenario 2= $1,68 \times 10^{-6}$, y promedio escenario 3= $5,24 \times 10^{-7}$) y fue el único patógeno con un nivel de riesgo aceptable en al menos un escenario (escenario 3-visitantes) (Fig. 3). En este estudio, los escenarios de exposición modularon los resultados que sugieren la relevancia del tiempo y la frecuencia de exposición sobre el nivel de riesgo, pero éste no es el único factor de exposición a tener en cuenta para el control del riesgo. Por ejemplo, en el caso de *Cryptosporidium* sp. y Enterovirus, el escenario de exposición modifica la clasificación del riesgo entre aceptable e inaceptable (Fig. 3). En cambio, el riesgo para *Giardia* sp. y Norovirus era

inaceptable en todos los escenarios. Por tanto, las medidas de control complementarias como la automatización del proceso y barreras para aislar la fuente de los agentes son altamente recomendables en las PTAR estudiadas que suelen contener altas concentraciones de patógenos, tal y como describimos en este estudio (Fig. 2) (Chen et al., 2021; Teixeira et al., 2013; Yan et al., 2021).

Los parámetros incluidos en el ACRM pueden conducir el nivel de riesgo global en el estudio; variables como los patógenos de interés, las altas concentraciones de aguas residuales y los parámetros de exposición pueden variar significativamente el nivel de riesgo (Sano et al., 2019). Por ejemplo, en este estudio, los niveles de riesgo en los escenarios de exposición fueron entre uno y tres órdenes de magnitud superiores al límite aceptable. Sin embargo, la decisión de incluir Norovirus elevó el nivel de riesgo total debido a sus altas concentraciones en las tres PTAR. Además, sus particularidades en los patrones dosis-respuesta, las variaciones de susceptibilidad de los hospederos, los patrones de agregación de las partículas virales en el agua o los métodos de detección pueden variar el riesgo de infección (Atmar et al., 2014; Lim et al., 2016; Teunis et al., 2008, 2020). Por lo tanto, en relación con las particularidades de Norovirus, se adoptaron consideraciones de infectividad y patogenicidad que Teunis et al. (2020) recomendaron como la opción más adecuada. La variabilidad en los escenarios de exposición presenta un reto a la hora de comparar los niveles de riesgo entre diferentes estudios en entornos ocupacionales. Puede ser difícil determinar si el riesgo estimado es similar en otros estudios debido a diferencias en factores como las definiciones de los escenarios, las características del agua y los patógenos estudiados (Beamer et al., 2015; Carducci et al., 2016, 2018; Chen et al., 2021; de Matos Nascimento et al., 2020; Fuhrmann et al., 2016, 2019; Sampson et al., 2017; Yan et al., 2021). No obstante, como describieron Carducci et al. (2016), los presentes resultados pueden ser útiles en un entorno ocupacional para establecer límites de exposición y opciones de control de riesgos en relación con la concentración de patógenos, los tiempos de exposición o las acciones preventivas.

Por otro lado, en una intervención de riesgo simulada en este estudio, el uso de EPP redujo el riesgo sustancialmente; la mejor opción de EPP es la mascarilla N100 porque redujo el riesgo a un

nivel aceptable para los escenarios 2-mantenimiento y 3-visitantes, pero no para el escenario 1-operación (Fig. 4). El nivel del riesgo de infección por *Cryptosporidium* sp. fue el más influenciado en la simulación del uso de mascarilla y riesgo de infección por Norovirus el menor influenciado. Aun así, el riesgo total, en general, era inaceptable incluso con el uso de mascarilla. Mientras tanto, el efecto combinado de los usos de EPP y la frecuencia de exposición (escenarios) modificó el nivel de riesgo en dos órdenes de magnitud en promedio (Cuadro 1 y Fig. 4). A pesar de las reducciones por escenarios y uso mascarilla, las altas concentraciones de los patógenos en las PTAR estudiadas requieren de controles alternativos, como ya se ha mencionado.

Otros estudios basados en ACRM bacterianos con trabajadores de PTAR encontraron niveles de riesgo aceptables tras el uso de EPP (mascarilla N95) con una reducción de casi dos órdenes de magnitud (Chen et al., 2021; Yan et al., 2021). Los resultados de este estudio presentan la misma diferencia entre el no uso de mascarilla y el uso de mascarilla N95, pero la clasificación del riesgo no cambia con estas reducciones (aceptable-inaceptable) (Fig. 4). A pesar de ello, el uso modelizado de EPP como medida de control ocupacional mostró reducciones de riesgo significativas, especialmente con las mascarillas N95 y N100, con el potencial de salvaguardar la salud de los trabajadores de aguas residuales frente a las infecciones. Así, estudios previos recomiendan el uso de mascarillas como EPP para prevenir infecciones en entornos ocupacionales como las PTAR (Das et al., 2021; Kelly & Fussell, 2019).

El uso de ACRM para entornos ocupacionales es útil porque permite simular escenarios de exposición potencial y evaluar las medidas de control mediante el punto de referencia del nivel de riesgo, resultado imposible de alcanzar utilizando herramientas convencionales de evaluación de la salud ocupacional. Además, el enfoque ACRM es útil en el contexto de la higiene ocupacional, donde la evaluación del riesgo biológico se realiza generalmente con herramientas cualitativas o semicualitativas que son limitadas en su capacidad para definir con precisión el nivel de riesgo y el impacto potencial en las medidas de control, como se realizó en el presente estudio (Carducci et al., 2016, 2018). Sin embargo, a pesar de estas ventajas, el uso combinado del ACRM y de inspecciones

convencionales de ambientes ocupacionales permiten un escenario aún más preciso de las fuentes de peligro, exposición y nivel de riesgo, permitiendo mejorar la toma de decisiones para la salud ocupacional.

Es importante mencionar que la eliminación completa del riesgo para la salud en todos los escenarios es imposible. Los modelos dosis-respuesta para los diferentes mecanismos de enfermedad y el enfoque limitado a patógenos específicos en las aguas residuales pueden subestimar o sobreestimar el riesgo (Haas et al., 2014; Teixeira et al., 2013). Ante tales limitaciones, medidas como el control de la incertidumbre, el uso de diferentes métodos como las simulaciones Monte Carlo, los métodos estadísticos de análisis de supervivencia y el uso de inspecciones de campo para definir la ruta de exposición con mayor precisión, son solo algunas estrategias para mejorar el modelo (Chen et al., 2021; Lee, 2017; Petterson et al., 2006; Schmidt & Emelko, 2011; Yan et al., 2021). Mientras tanto, el modelado QMRA puede mejorarse estudiando un nuevo enfoque dosis-respuesta más cercano a los trabajadores de tratamiento de aguas residuales o validando otros enfoques, como la inferencia bayesiana, para construir el modelo ACRM (Yan et al., 2021). Como limitación de este estudio, la medición directa de patógenos en el aire no era factible con los métodos disponibles. Además, el estudio se centró en un grupo limitado de agentes, lo que puede no tener en cuenta otros peligros potenciales que podrían afectar a la salud laboral. A pesar de estas limitaciones, el enfoque de vigilancia en campo utilizado en este estudio proporcionó información valiosa sobre el entorno laboral y las posibles vías de exposición a los agentes estudiados, lo que resulta esencial para la identificación de peligros y la evaluación de la exposición. El estudio también utilizó una combinación de modelización de la exposición y QMRA, que permitió la simulación de diferentes escenarios de control. Como resultado, proporcionó una estimación sólida de los riesgos potenciales asociados a la exposición ocupacional.

3.4. Análisis de sensibilidad

El análisis de sensibilidad describe el impacto relativo de las entradas calculadas del modelo Monte Carlo sobre el riesgo estimado (salida) (Haas et al., 2014). En este estudio, las concentraciones

de patógenos (factores ambientales) y el volumen ingerido accidentalmente fueron las entradas más significativas en las estimaciones de riesgo (Fig. 4). Este resultado coincide con otros estudios de ACRM en PTAR. Teniendo en cuenta la alta carga microbiana de las aguas residuales, incluso un volumen de ingestión accidental bajo implica un alto riesgo de infección (Chen et al., 2021; Fuhrmann et al., 2019). El principal factor de control en el modelo de riesgo total (incluidos todos los patógenos) es la concentración de Norovirus (rank corr 0,82). Le siguen factores de comportamiento como el volumen de agua residual ingerida accidentalmente (rank corr 0,53). El tercer y cuarto factor de control fueron las concentraciones de *Giardia* sp. y Enterovirus (rank corr. 0,042 y 0,19, respectivamente). Por lo demás, las concentraciones de *Cryptosporidium* sp. mostraron la menor influencia sobre la estimación del riesgo total (rank. corr. -0,29). Este patrón puede explicarse por las propiedades de las probabilidades combinadas, en las que la probabilidad final es un producto de valores altos (norovirus y *Giardia* sp. tienen un riesgo mayor) (Figs. 3 y 4). Por ejemplo, en la estimación del riesgo, el contribuyente más elevado fue Norovirus y, en consecuencia, presenta la influencia más significativa en el cálculo del riesgo combinado de infección. Por otro lado, *Cryptosporidium* sp. mostró el menor riesgo y la menor influencia en el riesgo de infección combinado. La concentración del patógeno es el factor más influyente en la estimación del riesgo individual (rank. corr: 0,79 *Cryptosporidium* sp., 0,85 *Giardia* sp., 0,83 norovirus, 0,75 enterovirus) (véase la Fig S1. para más detalles). La ingesta accidental fue el segundo factor más influyente en las estimaciones de riesgo individual (rango corr. 0,43-0,58). Estos resultados sugieren que la principal fuente de riesgo fueron las concentraciones de patógenos en las aguas residuales, seguidas de factores de comportamiento como la ingestión accidental y la influencia indeterminada de los parámetros dosis-respuesta. Por lo tanto, una estrategia de intervención recomendada debería considerar la reducción de las concentraciones de patógenos o el aislamiento de la fuente de los agentes para reducir el principal componente de riesgo (Fuhrmann et al., 2019). Por último, los escenarios de exposición se vieron moderadamente influidos por las estimaciones de riesgo de patógenos individuales (rank. corr. 0,01-0,44). Aunque los escenarios mostraron una influencia indeterminada sobre el riesgo

individual y combinado, su consideración da lugar a acciones de mejora relevantes y determinadas para reducir el nivel de riesgo en función del factor principal, como las concentraciones de patógenos y el volumen ingerido (Yan et al., 2021).

CONCLUSIONES

Este estudio utilizó la vigilancia de campo para evaluar el entorno ocupacional y definir los escenarios de exposición de los trabajadores de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Los resultados mostraron que la exposición ocupacional a los patógenos estudiados es peligrosa durante todo el proceso de tratamiento, y la carga anual de morbilidad supera las recomendaciones de la OMS ($1,00 \times 10^{-6}$ AVAD por persona y año) (2016a). La modelización de factores de exposición como la frecuencia, los periodos y el uso de equipos de protección persona (EPP) resultó valiosa para determinar el riesgo en entornos ocupacionales, lo que contribuyó a mejorar el control del riesgo y la toma de decisiones.

En contraste con las típicas evaluaciones de riesgo semicuantitativas o cualitativas comúnmente utilizadas en América Latina, nuestro enfoque de estimación de riesgo implicó el uso de ACRM informado con datos específicos del contexto sobre peligros y exposición. Además, aprovechó técnicas de datos censurados a la izquierda (por ejemplo, análisis de supervivencia) para caracterizar adecuadamente las distribuciones de patógenos. Por último, el marco ACRM descrito se utilizó para evaluar las posibles opciones de gestión de riesgos. Además de identificar intervenciones para reducir el riesgo, este estudio contribuye a la literatura global de ACRM y es el primer ACRM sobre riesgo ocupacional en Costa Rica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arroyave, W. D., Mehta, S. S., Guha, N., Schwingl, P., Taylor, K. W., Glenn, B., Radke, E. G., Vilahur, N., Carreón, T., Nachman, R. M., & Lunn, R. M. (2021). Challenges and recommendations on the conduct of systematic reviews of observational epidemiologic studies in environmental and occupational health. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 31(1), 21–30. <https://doi.org/10.1038/s41370-020-0228-0>
- Atmar, R. L., Opekun, A. R., Gilger, M. A., Estes, M. K., Crawford, S. E., Neill, F. H., Ramani, S., Hill, H., Ferreira, J., & Graham, D. Y. (2014). Determination of the 50% human infectious dose for norwalk virus. *Journal of Infectious Diseases*, 209(7), 1016–1022. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit620>
- Beamer, P. I., Plotkin, K. R., Gerba, C. P., Sifuentes, L. Y., Koenig, D. W., & Reynolds, K. A. (2015). Modeling of human viruses on hands and risk of infection in an office workplace using micro-activity data. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 12(4), 266–275. <https://doi.org/10.1080/15459624.2014.974808>
- Betancourt, W. Q., & Shulman, L. (2017). Polioviruses and other enteroviruses. In *Global Water Pathogens Project*. <https://doi.org/https://doi.org/10.14321/waterpathogens.15>
- Bruni, E., Simonetti, G., Bovone, B., Casagrande, C., Castellani, F., Riccardi, C., Pomata, D., Di Filippo, P., Federici, E., Buiarelli, F., & Uccelletti, D. (2020). Evaluation of bioaerosol bacterial components of a wastewater treatment plant through an integrate approach and in vivo assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijerph17010273>
- Carducci, A., Donzelli, G., Cioni, L., Federigi, I., Lombardi, R., & Verani, M. (2018). Quantitative microbial risk assessment for workers exposed to bioaerosol in wastewater treatment plants aimed at the choice and setup of safety measures. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/ijerph15071490>

- Carducci, A., Donzelli, G., Cioni, L., & Verani, M. (2016). Quantitative microbial risk assessment in occupational settings applied to the airborne human adenovirus infection. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/ijerph13070733>
- Casman, E. a, Fischhoff, B., Palmgren, C., Small, M. J., & Wu, F. (2000). An integrated risk model of a drinking-water-borne cryptosporidiosis outbreak. *Risk Analysis: An Official Publication of the Society for Risk Analysis*, 20(4), 495–511. <https://doi.org/Doi.10.1111/0272-4332.204047>
- CDC. (2015). Guidance for Reducing Health Risks to Workers Handling Human Waste or Sewage. https://www.cdc.gov/healthywater/global/sanitation/workers_handlingwaste.html
- Certad, G., Viscogliosi, E., Chabé, M., & Cacciò, S. M. (2017). Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends in Parasitology*, 33(7), 561–576. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.02.006>
- Chacón, L., Barrantes, K., Santamaría-Ulloa, C., Solano, M., Reyes, L., Taylor, L., Valiente, C., Symonds, E. M., & Achí, R. (2020). A somatic coliphage threshold approach to improve the management of activated sludge wastewater treatment plant effluents in resource-limited regions. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(17), 1–16. <https://doi.org/10.1128/AEM.00616-20>
- Chalmers, R. M. (2014). *Cryptosporidium*. In *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks* (Second, pp. 287–326). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00016-0>
- Chen, Y. Huan, Yan, C., Yang, Y. Fei, & Ma, J. Xin. (2021). Quantitative microbial risk assessment and sensitivity analysis for workers exposed to pathogenic bacterial bioaerosols under various aeration modes in two wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 755, 142615. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142615>
- Clover, D. O. (1981). Experimental Infection by Waterborne Enteroviruses. *Journal of Food Protection*, 44(11), 861–865. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-44.11.861>

- Corrao, C. R. N., Mazzotta, A., La Torre, G., & De Giusti, M. (2012). Biological risk and occupational Health. *Industrial Health*, 50(4), 326–337. <https://doi.org/10.2486/indhealth.MS1324>
- da Silva Poló, T., Peiró, J. R., Mendes, L. C. N., Ludwig, L. F., de Oliveira-Filho, E. F., Bucardo, F., Huynen, P., Melin, P., Thiry, E., & Mauroy, A. (2016). Human norovirus infection in Latin America. *Journal of Clinical Virology*, 78, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.03.016>
- Dada, A. C., & Gyawali, P. (2020). Quantitative microbial risk assessment (QMRA) of occupational exposure to SARS-CoV-2 in wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 142989. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142989>
- Dannoun, Y., & Nouban, F. (2021). Occupational health hazards and risk assessments in wastewater treatment plant. *International Journal of Advanced Engineering, Sciences and Applications*, 2(2), 21–25. <https://doi.org/10.47346/ijaesa.v2i2.83>
- Das, S., Sarkar, S., Das, A., Das, S., Chakraborty, P., & Sarkar, J. (2021). A comprehensive review of various categories of face masks resistant to Covid-19. In *Clinical Epidemiology and Global Health* (Vol. 12, Issues 2213–3984). <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2021.100835>
- de Matos Nascimento, A., de Paula, V. R., Dias, E. H. O., da Costa Carneiro, J., & Otenio, M. H. (2020). Quantitative microbial risk assessment of occupational and public risks associated with bioaerosols generated during the application of dairy cattle wastewater as biofertilizer. *Science of the Total Environment*, 745, 140711. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140711>
- DuPont, H. L., Chappell, C., Sterling, C. R., Okhuysen, P. C., Rose, J. B., & Jakubowsky, W. (1995). The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *The New England Journal of Medicine*, 332(13), 1204. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.2576.1204-a>
- Eftim, S. E., Hong, T., Soller, J., Boehm, A., Warren, I., Ichida, A., & Nappier, S. P. (2017). Occurrence of norovirus in raw sewage – A systematic literature review and meta-analysis. *Water Research*, 111, 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.017>
- Fout, G. S., Cashdollar, J. L., Varughese, E. A., Parshionikar, S. U., & Grimm, A. C. (2015). EPA method 1615. Measurement of enterovirus and norovirus occurrence in water by culture and

- RT-qPCR. I. collection of virus samples. *Journal of Visualized Experiments*, 2015(97), 1–7.
<https://doi.org/10.3791/52067>
- Fuhrmann, S., Nauta, M., & Winkler, M. (2019). Disease burden due to gastroenteritis infections among people living along wastewater reuse system in Hanoi, Vietnam. *Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)*. <https://doi.org/10.14321/waterpathogens.68>
- Fuhrmann, S., Winkler, M. S., Stalder, M., Niwagaba, C. B., Babu, M., Kabatereine, N. B., Halage, A. A., Utzinger, J., Cissé, G., & Nauta, M. (2016). Disease burden due to gastrointestinal pathogens in a wastewater system in Kampala, Uganda. *Microbial Risk Analysis*, 4, 16–28.
<https://doi.org/10.1016/j.mran.2016.11.003>
- Gerba, C. P., & Pepper, I. L. (2019). Municipal Wastewater Treatment. In *Environmental and Pollution Science* (3rd ed., pp. 583–606). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00025-9>
- Haas, C. N., Rose, J. B., & Gerba, C. P. (2014). *Quantitative microbial risk assessment* (2nd ed.). Wiley.
- Havelaar, A. H., & Melse, J. M. (2003). *Quantifying public health risk in the WHO Guidelines for Drinking Water Quality*.
- Helsel, D. R. (2011). *Statistics for Censored Environmental Data using Minitab® and R* (M. Scott & V. Barnett (eds.); Second). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118162729>
- Howard, G., Pedley, S., & Tibatemwa, S. (2006). Quantitative microbial risk assessment to estimate health risks attributable to water supply: Can the technique be applied in developing countries with limited data? *Journal of Water and Health*, 4(1), 49–65.
<https://doi.org/10.2166/wh.2005.058>
- Hung, H. F., Kuo, Y. M., Chien, C. C., & Chen, C. C. (2010). Use of floating balls for reducing bacterial aerosol emissions from aeration in wastewater treatment processes. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1–3), 866–871. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.090>

- Kataki, S., Patowary, R., Chatterjee, S., Vairale, M. G., Sharma, S., Dwivedi, S. K., & Kamboj, D. V. (2022). Bioaerosolization and pathogen transmission in wastewater treatment plants: Microbial composition, emission rate, factors affecting and control measures. *Chemosphere*, 287(P3), 132180. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132180>
- Kelly, F. J., & Fussell, J. C. (2019). Improving indoor air quality, health and performance within environments where people live, travel, learn and work. *Atmospheric Environment*, 200(November 2018), 90–109. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.11.058>
- Labite, H., Lunani, I., Van Der Steen, P., Vairavamoorthy, K., Drechsel, P., & Lens, P. (2010). Quantitative microbial risk analysis to evaluate health effects of interventions in the urban water system of Accra, Ghana. *Journal of Water and Health*, 8(3), 417–430. <https://doi.org/10.2166/wh.2010.021>
- Lee, L. (2017). *Nondetects and Data Analysis for Environmental Data (R Package)*. R Foundation for Statistical Computing.
- Lim, K.-Y., Wu, Y., & Jiang, S. C. (2016). Assessment of Cryptosporidium and norovirus risk associated with de facto wastewater reuse in Trinity River, Texas. *Microbial Risk Analysis*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2016.11.002>
- Llorca, R. J. L., Soto, F. P., & Benavent, N. S. (2018). *Manual práctico para la evaluación del riesgo biológico en actividades laborales diversas*. Biogaval-Neo. Centro Territorial de Valencia del INVASSAT. https://invassat.gva.es/documents/161660384/161741765/Biogaval_neo_2018_cs/ea1b4c14-8033-4c8b-8779-c9efe5db45ac
- Lu, R., Frederiksen, M. W., Uhrbrand, K., Li, Y., Østergaard, C., & Madsen, A. M. (2020). Wastewater treatment plant workers' exposure and methods for risk evaluation of their exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111365>
- Medema, G. (2009). *Risk Assessment of Cryptosporidium in Drinking Water Risk Assessment of Cryptosporidium in Drinking Water*. World Health Organization, 134.

- Morales, E., Ibarra, G., Reyes, L., Barrantes, K., Achi, R., & Chacón, L. (2022). Disease burden from simultaneous exposure of *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. and land use vulnerability assessment in a Costa Rican drinking water system. *Microbial Risk Analysis*, 21(September 2021), 100213. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2022.100213>
- Naughton, C., & Rousselot, O. (2017). Activate sludge (Issue September). *Global Water Pathogens Project*. <http://www.waterpathogens.org/book/activated-sludge>
- Orner, K. D., Symonds, E. M., Madrigal-Solis, H., Orozco-Montoya, R. A., Fonseca-Sánchez, A., Verbyla, M. E., & Cairns, M. R. (2021). Holistically Managing Pathogens and Nutrients in Urbanizing Tropical Towns: Can Sanitation Technologies Create Safer Conditions for Beach Recreation? *ACS EST Water*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/acsestwater.0c00264>
- Oza, H. H., Lee, M. G., Boisson, S., Pega, F., Medlicott, K., & Clasen, T. (2022). Occupational health outcomes among sanitation workers: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 240, 113907. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113907>
- Patwary, M., Hossain, R., Shuvi, F., Ashraf, S., Sultana, R., & Alam, A. (2021). Health, Safety and Dignity of Sanitation Workers. *Annals of Work Exposures and Health*, 1–2. <https://doi.org/10.1596/32640>
- Petterson, S., Signor, R., Ashbolt, N., & Roser, D. (2006). QMRA methodology. In University of New South Wales.
- Rendtorff, R., & Holt, C. (1955). The Experimental Transmission of Human Intestinal Protozoan Parasites: *American Journal of Epidemiology*, 61(3), 321–325. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119756>
- Robertson, L. J. (2014). *Giardia duodenalis*. In *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks* (Second, pp. 375–405). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00019-6>

- Rojas, M. R., & Sánchez, L. R. (1999). Distribución de los fenotipos y genotipos de sistema Kell en la población de Costa Rica. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 16, 33–37. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29481999000100008
- Rose, J. B., Haas, C. N., & Regli, S. (1991). Risk assessment and control of waterborne giardiasis. *American Journal of Public Health*, 81(6), 709–713. <https://doi.org/10.2105/AJPH.81.6.709>
- Sampson, A., Owusu-Ansah, E. de G. J., Mills-Robertson, F. C., Ayi, I., Abaidoo, R. C., Hald, T., & Permin, A. (2017). Probabilistic quantitative microbial risk assessment model of farmer exposure to *Cryptosporidium* spp. in irrigation water within Kumasi Metropolis-Ghana. *Microbial Risk Analysis*, 6(June), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2017.06.001>
- Sano, D., Haas, C. N., & Rose, J. B. (2019). A QMRA Framework for Sanitation Treatment Decisions. Michigan State University. <http://www.waterpathogens.org/book/a-QMRA-framework-for-sanitation-treatment-decisions>
- Schmidt, P. J., & Emelko, M. B. (2011). QMRA and decision-making: Are we handling measurement errors associated with pathogen concentration data correctly? *Water Research*, 45(2), 427–438. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.042>
- Shen, X. Xin, Qiu, F. Zhou, Li, G. Xia, Zhao, M. Chuan, Wang, J., Chen, C., Zhao, L., Qi, J. J., Liu, H., Zhang, Y., He, X. Zhou, Wang, L., Feng, Z. Shan, & Ma, X. jun. (2019). A case control study on the prevalence of enterovirus in children's samples and its association with diarrhea. *Archives of Virology*, 164(1), 63–68. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-4021-5>
- Singh, N. K., Sanghvi, G., Yadav, M., Padhiyar, H., & Thanki, A. (2021). A state-of-the-art review on WWTP associated bioaerosols: Microbial diversity, potential emission stages, dispersion factors, and control strategies. *Journal of Hazardous Materials*, 410(November 2020), 124686. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124686>
- Solano, M., Morales, E., Chacón, L. M., Cordero, E., Reyes, L., Barrantes, K., & Achí, R. (2019). Low-cost internal controls for detection of *Giardia* cysts in water samples. *International Parasitology*, 71(April), 177–179. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.04.012>

- Soller, J. A., Eftim, S., Wade, T., Ichida, A., Clancy, J., Johnson, T., Schwab, K., Ramirez, G., Nappier, S., & Ravenscroft, J. (2016). Use of quantitative microbial risk assessment to improve interpretation of a recreational water epidemiological study. *Microbial Risk Analysis*, 1, 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2015.04.001>
- Symonds, E. M., Young, S., Verbyla, M. E., McQuaig-Ulrich, S. M., Ross, E., Jiménez, J. A., Harwood, V. J., & Breitbart, M. (2017). Microbial source tracking in shellfish harvesting waters in the Gulf of Nicoya, Costa Rica. *Water Research*, 111, 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.004>
- Szyłak-Szydłowski, M., Kulig, A., & Miałkiewicz-Pęska, E. (2016). Seasonal changes in the concentrations of airborne bacteria emitted from a large wastewater treatment plant. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 115, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.07.008>
- Teixeira, J. V., Miranda, S., Monteiro, R. A. R., Lopes, F. V. S., Madureira, J., Silva, G. V., Pestana, N., Pinto, E., Vilar, V. J. P., & Boaventura, R. A. R. (2013). Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(1), 59–72. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2533-0>
- Teunis, P. F. M., Le Guyader, F. S., Liu, P., Ollivier, J., & Moe, C. L. (2020). Noroviruses are highly infectious but there is strong variation in host susceptibility and virus pathogenicity. *Epidemics*, 32(June), 100401. <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2020.100401>
- Teunis, P. F. M., Moe, C. L., Liu, P., Miller, S. E., Lindesmith, L., Baric, R. S., Pendu, J. Le, & Calderon, R. L. (2008). Norwalk Virus: How Infectious is It? *Journal of Medical Virology*, 1476, 1468–1476. <https://doi.org/10.1002/jmv>
- Uhrbrand, K., Schultz, A. C., Koivisto, A. J., Nielsen, U., & Madsen, A. M. (2017). Assessment of airborne bacteria and noroviruses in air emission from a new highly advanced hospital wastewater treatment plant. *Water Research*, 112, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.046>

- US-EPA. (2005). Method 1623: Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA. US-EPA.
- US EPA. (1998). National Primary Drinking Water Regulations: Disinfectants and Disinfection Byproducts: 40 CFR 9, 141, 142. Federal Register of the United States Government, 63(241), 69390–69476. <https://www.federalregister.gov/documents/1998/12/16/98-32887/national-primary-drinking-water-regulations-disinfectants-and-disinfection-byproducts>
- Wang, H., Neyvaldt, J., Enache, L., Sikora, P., Mattsson, A., Johansson, A., Lindh, M., Bergstedt, O., & Norder, H. (2020). Variations among Viruses in Influent Water and Effluent Water at a Wastewater Plant over One Year as Assessed by Quantitative PCR and Metagenomics. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(24), 1–14. <https://doi.org/10.1128/AEM.2073-20>
- Westrell, T., Schönning, C., Stenström, T. a, & Ashbolt, N. J. (2004). Integration of QMRA and HACCP for management of pathogens in wastewater and sewage sludge treatment and reuse. *Water Science and Technology*, 50(2), 23–30.
- WHO. (2015). Enterovirus surveillance guidelines. WHO Regional Office for Europe.
- WHO. (2016a). Quantitative Microbial Risk Assessment: Application for Water Safety Management (World Health Organization (ed.)). World Health Organization. <https://doi.org/10.1002/9781118910030>
- WHO. (2016). Sanitation safety planning manual for safe use and disposal of wastewater, greywater and excreta (1st ed.). World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/171753>
- Yan, C., Leng, Y. Li, & Wu, J. Ting. (2021). Quantitative microbial risk assessment for occupational health of temporary entrants and staffs equipped with various grade PPE and exposed to microbial bioaerosols in two WWTPs. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 94(6), 1327–1343. <https://doi.org/10.1007/s00420-021-01663-5>

- Yezli, S., & Otter, J. A. (2011). Minimum Infective Dose of the Major Human Respiratory and Enteric Viruses Transmitted Through Food and the Environment. *Food and Environmental Virology*, 3(1), 1–30. <https://doi.org/10.1007/s12560-011-9056-7>
- Zaneti, R. N., Girardi, V., Spilki, F. R., Mena, K., Westphalen, A. P. C., da Costa Colares, E. R., Pozzebon, A. G., & Etchepare, R. G. (2021). Quantitative microbial risk assessment of SARS-CoV-2 for workers in wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 754, 142163. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142163>
- Zhang, M., Chen, X., Wang, W., Li, Q., & Xie, Z. (2022). Genetic characteristics of Coxsackievirus A6 from children with hand, foot and mouth disease in Beijing, China, 2017–2019. *Infection, Genetics and Evolution*, 106(October), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105378>

CUADROS

Cuadro 1.1. Escenarios de exposición en las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Escenarios	Escenario 1 - Operación	Escenario 2 - Mantenimiento	Escenario 3 - Visitantes
Actividades	Inspeccionar, monitorear, dar soporte, y mantenimiento en la PTAR para asegurar su operación	Soporte esporádico, mantenimiento, limpieza y servicios externos en las PTAR.	Visitantes, estudiantes e investigadores con acceso infrecuente a las PTAR que inspeccionan, muestrean y colectan información.
Exposición diaria (h/día)	3,0-4,5	3,0-6,0	0,5-3,0
Frecuencia de exposición (días/años)	173-185*	12-36**	3-12**

*Frecuencia de exposición (FE)= Días al año (DY) (365) - Días de fin de semana (96) - Profilaxis (P) (60) - Días de vacaciones (V) (entre 12 y 30) - Vacaciones (H) (entre 8 y 12).

**Rango de los días trabajados en la PTAR al año.

Cuadro 1.2. Unidades, valores, ecuaciones, distribuciones y fuentes de los parámetros del modelo de riesgo microbiano cuantitativo.

Parámetro	Unidades	Valores, distribuciones y/o ecuaciones	Fuente
Exposición			
Concentración de <i>Cryptosporidium</i> sp. (C <i>Cryptosporidium</i>) y <i>Giardia</i> sp. (C <i>Giardia</i>)	(oo)quistes/L	Uniforme (min y max estimado con análisis de datos censurados)	Este estudio
Concentración de Norovirus (C <i>Norovirus</i>) y enterovirus (C <i>Enterovirus</i>)	Número de copias/L	Uniforme (min y max estimado con análisis de datos censurados)	Este estudio
Volumen de agua accidentalmente ingerida (V)	L	Uniforme (0,001-0,005)	(Fuhrimann et al., 2016; Howard et al., 2006; Labite et al., 2010; Westrell et al., 2004)
Reducción de las mascarillas (R)	Porción de partículas	Estimación de punto (quirúrgica= 4×10^{-1} , N95= 5×10^{-2} , N100= 3×10^{-4})	(Das et al., 2021)

	ingeridas con el uso de mascarilla		
Dosis-respuesta			
$r_{Cryptosporidium}$		Triangular (min=0,00220, moda=0,0042, max=0,00852)	(DuPont et al., 1995)
$r_{Giardia}$		Triangular (min=0,009798, moda=0,01982, max=0,03582)	(Rose et al., 1991)
Probabilidad de infección por <i>Cryptosporidium</i> sp. y <i>Giardia</i> sp. (P_{inf})		$P_{inf} = 1 - e^{-rd}$	(Haas et al., 2014)
β Norovirus GI para SE ⁺ (más prevalente en Costa Rica)	-	Estimación de punto (3.96)	(Rojas & Sánchez, 1999; Teunis et al., 2020)
α Norovirus GI para SE ⁺ (más prevalente en Costa Rica)	-	Estimación de punto (0.948)	(Rojas & Sánchez, 1999; Teunis et al., 2020)
${}_1F_1$	-	Función hipergeométrica confluyente de Kummer	(Teunis et al., 2020)
Probabilidad de infección norovirus (P_{inf})	-	$P_{inf} = 1 - {}_1F_1(\alpha, \alpha + \beta, -dosis)$	(Teunis et al., 2020)
$K_{Enterovirus}$		Uniforme (min= 0,00291, max= 0,00562)	(Cliver, 1981)
Probabilidad de infección Enterovirus (P_{inf})		$P_{inf} = 1 - e^{-rk}$	(Haas et al., 2014)
Exposición en días por año (n)	Días	Uniforme por escenario	Este estudio (Table 1)
Años de vida ajustados por discapacidad (AVAD's)			
Razón de morbilidad (M)			
$M_{Cryptosporidium}$	Proporción	Estimación de punto (0,50)	(Casman et al., 2000)
$M_{Giardia}$	Proporción	Estimación de punto (0,45)	(Soller et al., 2016)
$M_{Enterovirus}$	Proporción	Estimación de punto (0,90)	(Havelaar & Melse, 2003)
Probabilidad de enfermar ($P_{enf inf}$)		$P_{enf} = P_a * M$	(Haas et al., 2014)
Probabilidad de enfermar para norovirus ($P_{enf inf}$)	-	$P_{ill inf\ of\ norovirus} = 1 - \left(1 + \frac{dosis}{\eta}\right)^{-r}$	(Carducci et al., 2018; Teunis et al., 2020)
η para norovirus GI y SE ⁺ (más prevalente en Costa Rica)	-	Point estimate (4.62x10 ⁻¹)	(Teunis et al., 2020)
r para norovirus GI y SE ⁺ (más prevalente en Costa Rica)	-	Point estimate (1.79x10 ¹)	(Teunis et al., 2020)

Probabilidad de resultado $P_{salida enf}$	-	Estimación de punto (0,9999)	(Haas et al., 2014; Havelaar & Melse, 2003; Petterson et al., 2006)
Duración (D_i)	Años	Estimación de punto (0,01973)	(Haas et al., 2014; Havelaar & Melse, 2003; Petterson et al., 2006)
Severidad (S_i)	-	Estimación de punto (0,067)	(Haas et al., 2014; Medema, 2009; Petterson et al., 2006)

FIGURAS

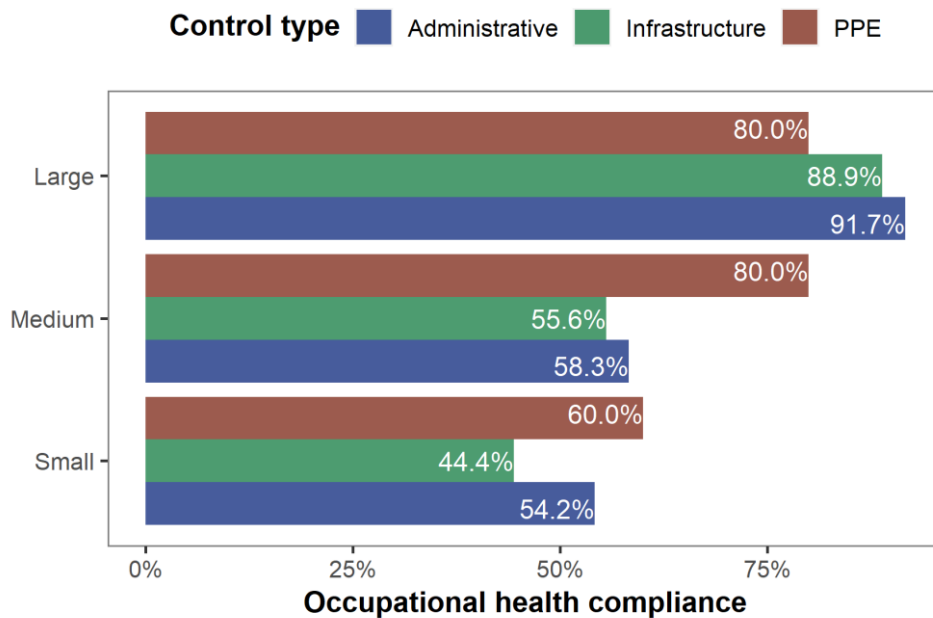
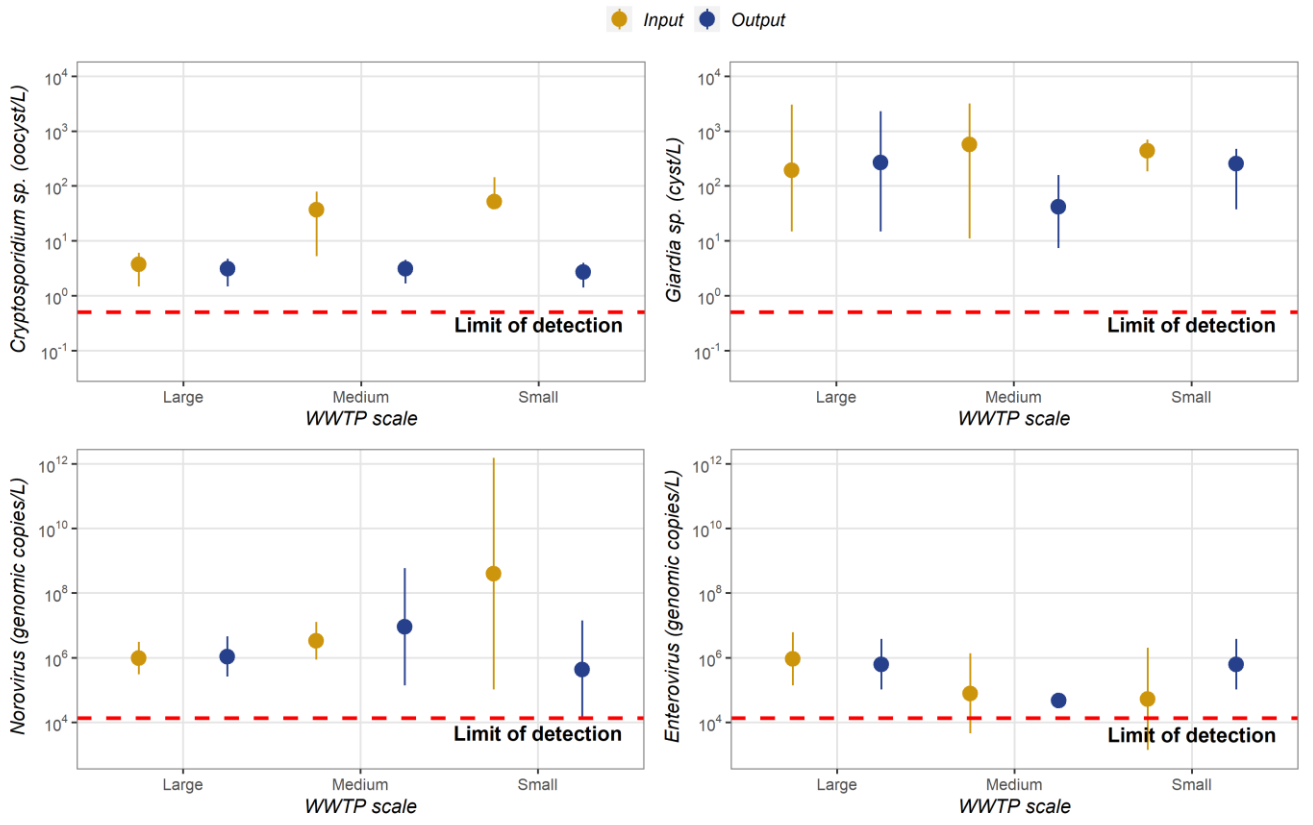


Fig. 1. Inspecciones de cumplimiento de las medidas de higiene en salud laboral en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales estudiadas (grande, mediana y pequeña).



Lower and upper interval limit at 95%

Fig. 2. Concentraciones medias, mínimas y máximas estimadas mediante análisis de supervivencia de *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. norovirus y enterovirus en las muestras de agua de las plantas de tratamiento de aguas residuales (véase la sección 2.2.3. Análisis estadístico para los detalles del cálculo).

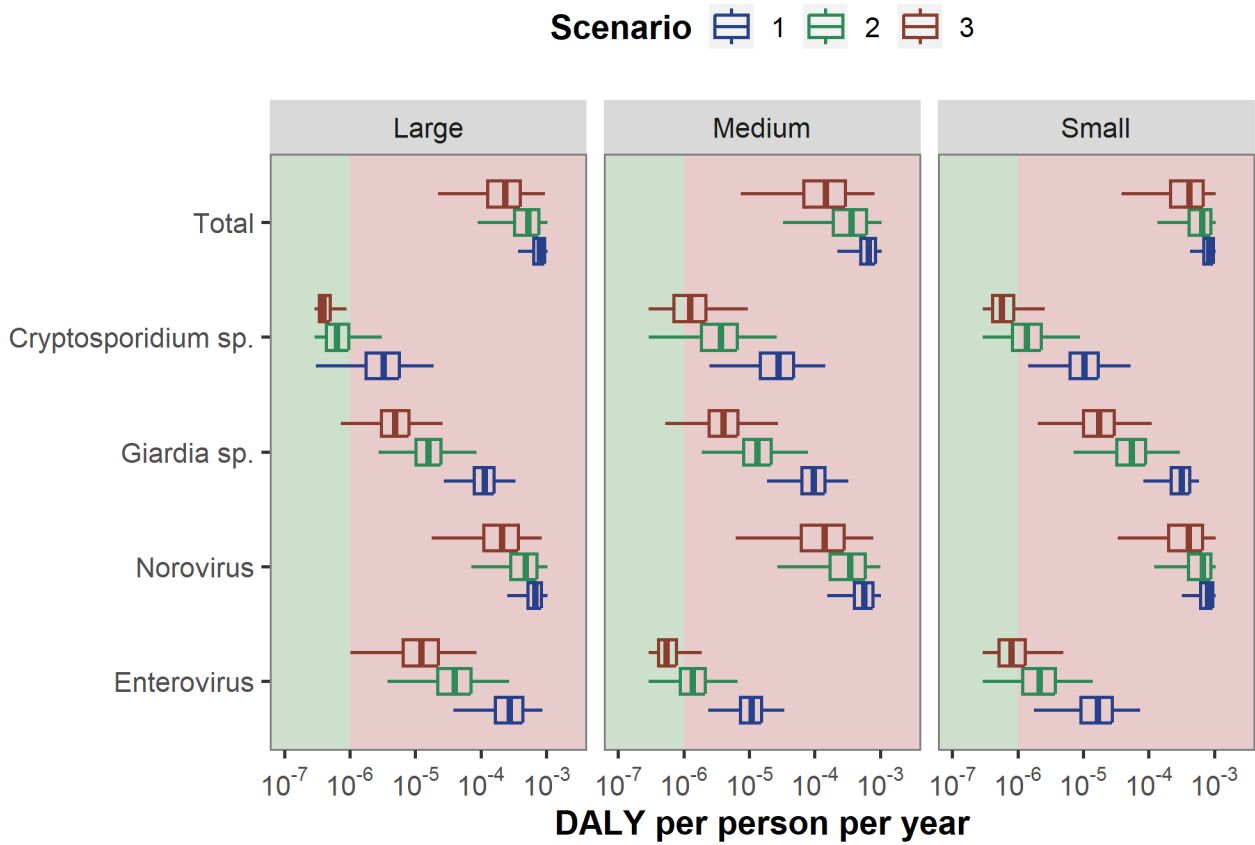


Fig. 3. AVAD por persona y año por escenarios de exposición para *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. norovirus y enterovirus basados en el consumo accidental de aguas residuales en las plantas de tratamiento de aguas residuales del estudio. Los boxplots representan los AVAD por persona y año por escenario; la zona verde marca el nivel de riesgo aceptable, y la roja representa el nivel de riesgo inaceptable.

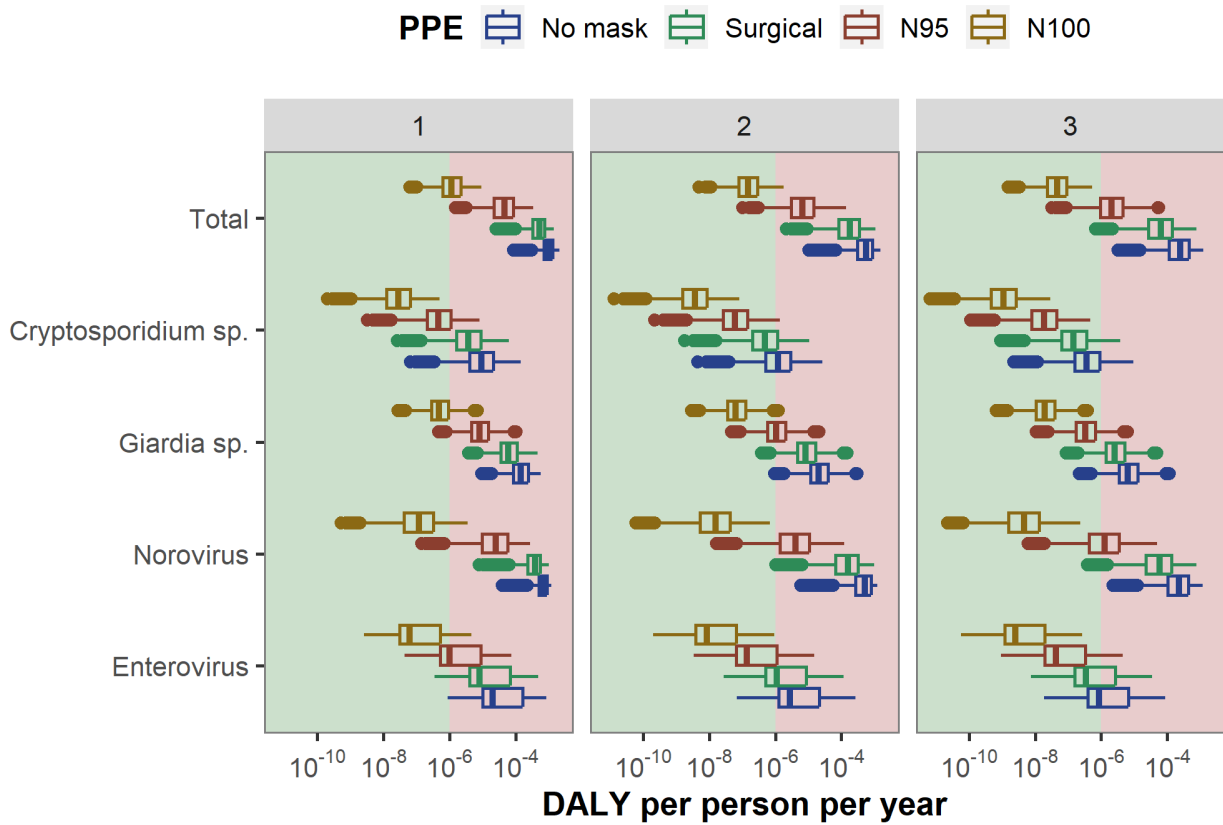


Fig. 4. AVAD para *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. norovirus y enterovirus basados en el consumo accidental de aguas residuales en los escenarios de exposición del estudio y la simulación del uso de equipos de protección individual (EPP). Los gráficos de caja representan los AVAD por persona y año según el tipo de EPP; la zona verde marca el nivel de riesgo aceptable y la roja representa el nivel de riesgo inaceptable.

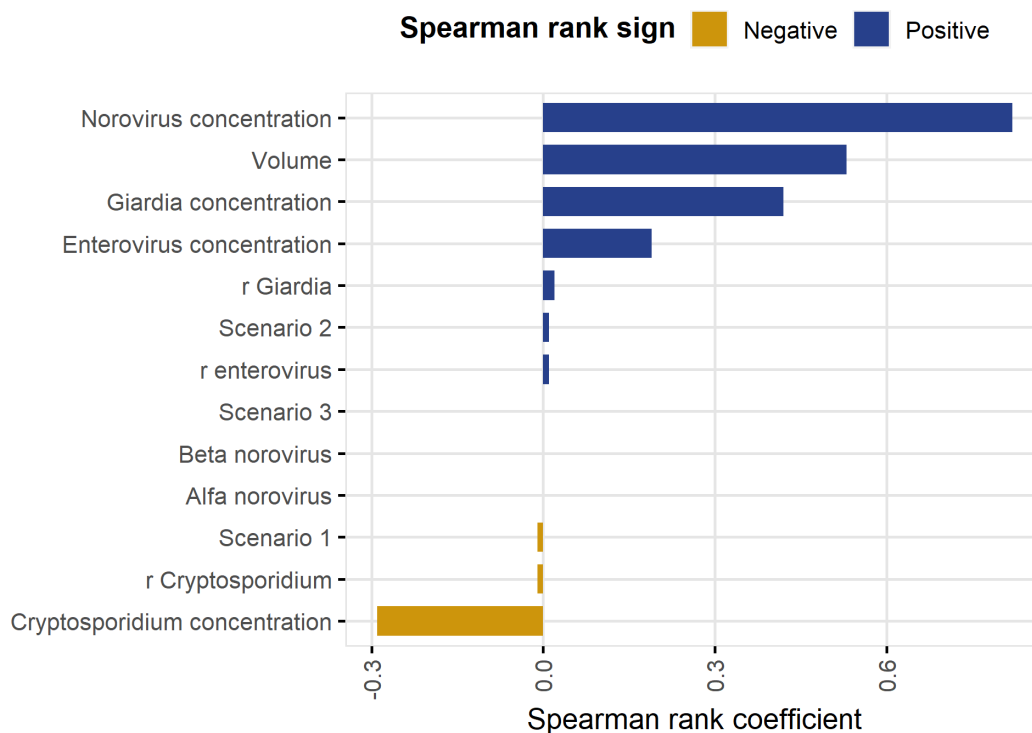


Fig. 5. Diagrama de tornado para mostrar las entradas de clasificación del modelo sobre la probabilidad de infección de riesgo combinada para los patógenos estudiados. Las barras muestran el coeficiente de rango de Spearman de las correlaciones.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Cuadro 1.S1. Instrumento de medidas de higiene ocupacional.

Medida	Si	No	No aplica
Dispone de ropa de trabajo	1	0	
Uso de ropa de trabajo	1	0	
Dispone de EPP	1	0	
Uso de EPP	1	0	
Se quitan las ropas y EPP al finalizar el trabajo	1	0	
Se limpian los EPP	1	0	
Se dispone de lugar para almacenar EPP	1	0	
Se controla el correcto funcionamiento de EPP	1	0	
Limpieza de ropa de trabajo por el empresario	1	0	
Se dispone de doble armarios	1	0	
Se dispone de aseos	1	0	
Se dispone de duchas	1	0	
Se dispone de sistema para lavado de manos	1	0	
Se dispone de sistema para lavado de ojos	1	0	
Se prohíbe comer o beber	1	0	
Se prohíbe fumar	1	0	
Se dispone de tiempo para el aseo antes de abandonar la zona de riesgo dentro de la jornada	1	0	
Suelos y paredes fáciles de limpiar	1	0	
Los suelos y paredes están suficientemente limpios	1	0	
Hay métodos de limpieza de equipos de trabajo	1	0	
Se aplican procedimientos de desinfección	1	0	
Se aplican procedimientos de desinsectación	1	0	

Se aplican procedimientos de desratización	1	0	
Hay ventilación general con renovación de aire	1	0	
Hay mantenimiento del sistema de ventilación	1	0	
Existe señal de peligro biológico	1	0	
Hay procedimientos de trabajo que minimicen o eviten la diseminación aérea de los agentes biológicos en el lugar de trabajo	1	0	
Hay procedimientos de trabajo que minimicen o eviten la diseminación de los agentes biológicos en el lugar de trabajo a través de fómites	1	0	
Hay procedimientos de gestión de residuos	1	0	
Hay procedimientos para el transporte interno de muestras	1	0	
Hay procedimientos para el transporte externo de muestras	1	0	
Hay procedimientos escritos internos para la comunicación de los incidentes donde se puedan liberar agentes biológicos	1	0	
Hay procedimientos escritos internos para la comunicación de los accidentes donde se puedan liberar agentes biológicos	1	0	
Han recibido los trabajadores la formación requerida	1	0	
Han sido informados los trabajadores sobre riesgos biológicos en su lugar de trabajo	1	0	
Se realiza vigilancia de la salud previa a la exposición de los trabajadores a agentes biológicos	1	0	
Se realiza periódicamente vigilancia de la salud	1	0	
Hay un registro y control de mujeres embarazadas	1	0	
Se toman medidas específicas para el personal especialmente sensible	1	0	
¿Se dispone de dispositivos de bioseguridad?	1	0	
¿Se utilizan dispositivos adecuados de bioseguridad?	1	0	
¿Existen y se utilizan en la empresa procedimientos para el uso adecuado de los dispositivos de bioseguridad?	1	0	

Fuentes: CDC, 2015; Llorca et al., 2018.

Cuadro 1.S1. *Giardia* sp. tasa de recuperación por sitio de captación en el DWS.

PTAR	Media (%)	Error típico	Desviación estándar
Grande	27,7	2,5	11,0
Mediana	33,3	2,4	9,5
Pequeña	21,4	2,9	12,4

Cuadro 1.S3. Volúmenes filtrados de aguas residuales para la detección de virus.

Fecha de muestreo	PTAR	Matriz	pH	Volumen filtrado (mL)
5/25/2020	Mediana	Entrada	3	100
5/25/2020	Mediana	Salida	3	100
5/26/2020	Pequeña	Entrada	3	100
5/26/2020	Pequeña	Salida	3	500
5/27/2020	Grande	Entrada	3	150
5/27/2020	Grande	Salida	3	150
6/17/2020	Pequeña	Entrada	3	150
6/17/2020	Pequeña	Salida	3	500
6/17/2020	Grande	Entrada	3	150
6/17/2020	Grande	Salida	3	150
6/25/2020	Mediana	Salida	3	400
6/25/2020	Mediana	Entrada	3	100

7/14/2020	Grande	Entrada	3	100
7/14/2020	Grande	Salida	3	100
7/17/2020	Mediana	Entrada	3	100
7/17/2020	Mediana	Salida	3	400
7/28/2020	Pequeña	Entrada	3	100
7/28/2020	Pequeña	Salida	3	100
8/21/2020	Mediana	Entrada	3	100
8/21/2020	Mediana	Salida	3	400
8/25/2020	Pequeña	Entrada	3	100
8/25/2020	Pequeña	Salida	3	400
8/25/2020	Grande	Entrada	3	100
8/25/2020	Grande	Salida	3	100
9/23/2020	Grande	Entrada	3	100
9/23/2020	Grande	Salida	3	100
9/23/2020	Pequeña	Entrada	3	100
9/23/2020	Pequeña	Salida	3	100
9/30/2020	Mediana	Entrada	3	100
9/30/2020	Mediana	Salida	3	100
10/2/2020	Mediana	Entrada	3	100
10/2/2020	Mediana	Salida	3	100
10/20/2020	Pequeña	Entrada	3	100
10/20/2020	Pequeña	Salida	3	100
10/22/2020	Grande	Entrada	3	100
10/22/2020	Grande	Salida	3	100
11/4/2020	Pequeña	Entrada	3	100
11/4/2020	Pequeña	Salida	3	100
11/18/2020	Grande	Entrada	3	100
11/18/2020	Grande	Salida	3	100
11/18/2020	Mediana	Entrada	3	100
11/18/2020	Mediana	Salida	3	100
12/10/2020	Mediana	Entrada	3	100
12/10/2020	Mediana	Salida	3	100
12/16/2020	Pequeña	Entrada	3	100
12/16/2020	Pequeña	Salida	3	100
12/16/2020	Grande	Entrada	3	100
12/16/2020	Grande	Salida	3	100
1/20/2021	Grande	Entrada	3	100
1/20/2021	Grande	Salida	3	100
1/21/2021	Mediana	Entrada	3	100
1/21/2021	Mediana	Salida	3	400
1/28/2021	Pequeña	Entrada	3	100
1/28/2021	Pequeña	Salida	3	200
2/10/2021	Grande	Entrada	3	100
2/10/2021	Grande	Salida	3	100
2/10/2021	Pequeña	Entrada	3	100
2/10/2021	Pequeña	Salida	3	100
2/11/2021	Mediana	Entrada	3	100
2/11/2021	Mediana	Salida	3	200

3/9/2021	Grande	Entrada	3	100
3/9/2021	Grande	Salida	3	100
3/11/2021	Mediana	Entrada	3	100
3/11/2021	Mediana	Salida	3	100
3/12/2021	Pequeña	Entrada	3	100
3/12/2021	Pequeña	Salida	3	100
4/13/2021	Grande	Entrada	3	100
4/13/2021	Grande	Salida	3	100
4/14/2021	Mediana	Entrada	3	100
4/14/2021	Mediana	Salida	3	100
4/21/2021	Pequeña	Entrada	3	100
4/21/2021	Pequeña	Salida	3	100
5/11/2021	Pequeña	Entrada	3	100
5/11/2021	Pequeña	Salida	3	100
5/11/2021	Grande	Entrada	3	100
5/11/2021	Grande	Salida	3	100
5/20/2021	Mediana	Entrada	3	100
5/20/2021	Mediana	Salida	3	100

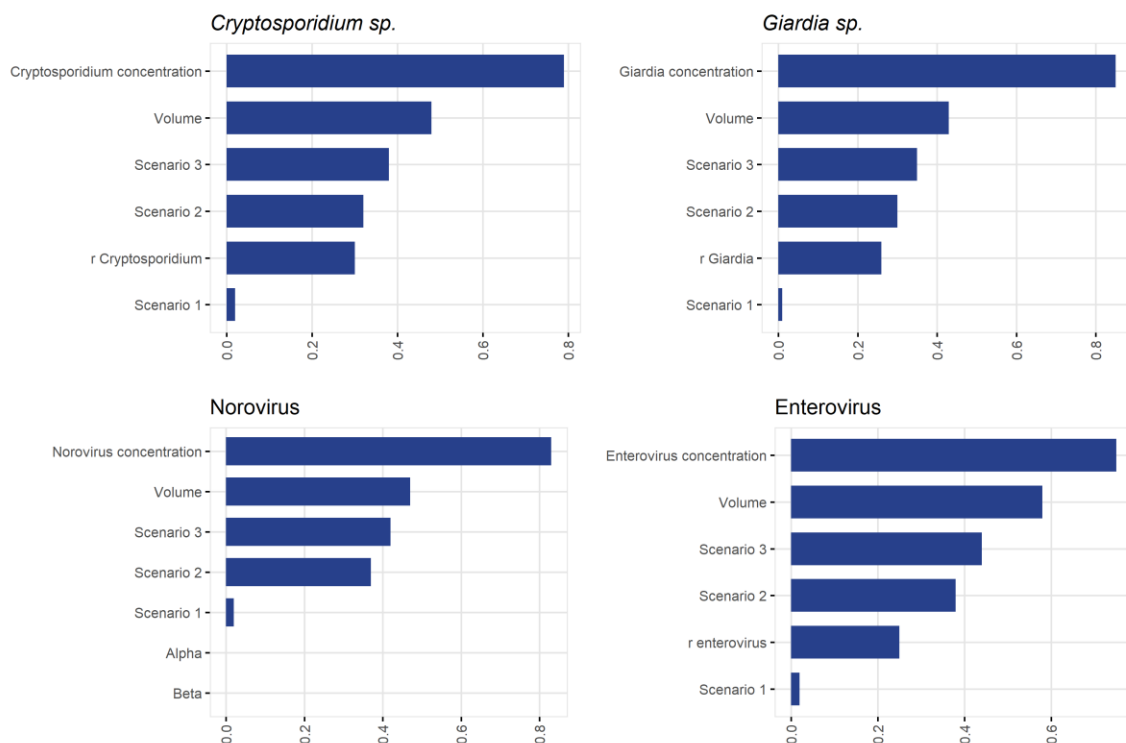


Fig S1. Gráfico de tornado para mostrar las entradas de clasificación del modelo sobre la probabilidad de infección de riesgo para cada patógeno estudiado. Las barras muestran el coeficiente de rango de Spearman de las correlaciones.

ARTÍCULO 2. Optimización de la evaluación simplificada de riesgo biológico ocupacional con R: un análisis de tres plantas de tratamiento de aguas residuales en Costa Rica

RESUMEN

RESUMEN. Introducción: Existen trabajos laborales con alto nivel de riesgo biológicos, entre ellos, la operación y mantenimiento de plantas de tratamiento de aguas residuales. Este estudio analiza la exposición microbiológica en plantas de tratamiento de aguas residuales mediante una Evaluación Simplificada de Riesgo Biológico (ESRB) automatizada con el lenguaje de programación R.

Métodos: Se llevaron a cabo inspecciones en tres plantas de distinto tamaño, y se recolectaron datos de indicadores fecales y polvo inhalable en zonas de trabajo y operación. Con estos datos, se desarrolló una herramienta automatizada en R para analizar, visualizar y reportar los resultados de la ESRB.

Resultados: Se detectaron indicadores fecales en todas las zonas y concentraciones de polvo inhalable por encima del límite recomendado en las zonas de trabajo. Las plantas medianas y pequeñas presentaron un riesgo biológico intolerable, necesitando medidas correctivas inmediatas. Por otro lado, la planta grande exhibió un nivel de riesgo intermedio, recomendándose medidas preventivas a corto plazo.

Conclusión: Los resultados destacan la importancia de implementar medidas correctivas y preventivas en las plantas de tratamiento de aguas residuales. La herramienta automatizada en R permitió una evaluación de riesgo eficiente y precisa, facilitando la identificación de riesgos ocupacionales y la mejora de las medidas de seguridad.

PALABRAS CLAVE

Riesgo biológico; evaluación de riesgo biológico; salud ocupacional; plantas de tratamiento de aguas residuales; lenguaje de programación R.

INTRODUCCIÓN

Los agentes biológicos, como microorganismos patógenos, material biogénico y residuos anatomopatológicos, son comunes en estos ambientes laborales (1,2). La pandemia de Covid-19 ha aumentado la atención en la evaluación y control de riesgos biológicos en el trabajo (3,4). Sin embargo, los desafíos en su evaluación y difusión de información en la salud ocupacional siguen presentes debido a la naturaleza estocástica de los procesos de salud-enfermedad y la distribución de los agentes biológicos en el ambiente (5,6).

Existen múltiples ocupaciones que presentan exposición a agentes biológicos tales como: atención en salud, procesamiento de alimentos de origen animal, crianza de animales, recolección de residuos sólidos y tratamiento de aguas residuales (7–14). Entre estas, la operación y mantenimiento de sistemas de tratamiento de aguas residuales es particularmente riesgosa debido a la producción y dispersión de aerosoles con altas cargas de microorganismos patógenos en el proceso de tratamiento (15). Las personas trabajadoras en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) pueden exponerse a aerosoles o superficies potencialmente contaminadas (16,17).

En las PTARs, labores que implican contacto directo con las aguas residuales como mantenimiento, reparación de maquinaria y/o limpieza aumentan la exposición a patógenos más allá de la inhalación e ingestión accidental de aerosoles (6,15). Además, variables en el espacio laboral como la infraestructura, conductas laborales, políticas administrativas y uso de equipos de protección personal (EPP) pueden modificar la exposición a agentes biológicos (5,18,19). Algunas soluciones efectivas para disminuir la exposición son el aislamiento de las fuentes de contaminación, soluciones tecnológicas y uso de EPP, pero su implementación en las PTARs no siempre es adecuada (20,21). Por su parte, los procesos llevados a cabo en las PTAR del estudio consisten en tratamiento primario (separación física de sólidos del caudal de aguas residuales) y secundario (degradación biológica por medio de lodos activados).

La evaluación del riesgo biológico en espacios laborales es importante para reconocer potenciales puntos de control y prevención (22). La metodología de evaluación simplificada es una

opción rápida y sencilla para estimar la exposición a agentes biológicos y valorar la gravedad de los daños (23). Incluye factores como vía de transmisión, vacunación, periodo de exposición y medidas higiénicas (24). Por ello, es adecuada en situaciones donde se requiere una evaluación exploratoria rápida (5). En particular, los procesos de tratamiento de aguas residuales requieren un alto grado de trabajo manual, lo que puede propiciar la ingestión accidental de aguas residuales (1).

Por otro lado, la automatización de las evaluaciones e informes en salud ocupacional puede resultar muy beneficioso, puesto que optimiza el tiempo de análisis al procesar y visualizar rápidamente los datos recogidos, aumentando la eficiencia y reduciendo la posibilidad de errores humanos (25). Además, una herramienta de evaluación automatizada permite una monitorización más efectiva y consistente de los factores de riesgo ocupacionales en el ambiente laboral (26). Esto conlleva a una respuesta más rápida a cualquier cambio en el nivel de riesgo, permitiendo la implementación inmediata de medidas correctivas o preventivas necesarias, facilita la comparación de resultados y protección de las personas trabajadoras (27).

En consideración de ello, se aplicó una evaluación simplificada de riesgo biológico (ESRB) en tres PTAR con diferentes tamaños de cobertura con gran variabilidad en sus procesos para probar la metodología en el contexto costarricense, donde no existen evaluaciones previas de riesgos biológicos ocupacionales para las personas que laboran en estas. En este proceso se construyó una herramienta en el lenguaje de programación R, con el fin de facilitar la aplicación del ESRB y estandarizar la generación de informes de esta metodología.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el nivel de riesgo biológico para los trabajadores de tres plantas de tratamiento con diferente tamaño de cobertura durante el año 2021. Además, crear una herramienta en el lenguaje de programación R para facilitar la aplicación de la ESRB junto con la visualización y reporte de los resultados obtenidos.

METODOLOGÍA

2.1. Sitio de estudio

Este estudio se realizó en tres plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) ubicadas en las regiones Central y Pacífico Central de Costa Rica, las cuales presentan diferentes tamaños de cobertura: grande (153 000 hab.), media (11 172 hab.), y pequeña (725 hab.). Todas las plantas de tratamiento aplican tratamiento primario y secundario convencional, incompleto en el caso de la PTAR grande. El tratamiento primario implica la separación física de sólidos del caudal de aguas residuales, mientras que el tratamiento secundario consiste en degradación biológica por medio de lodos activados (28).

2.2. Recolección de datos

2.2.1. Caracterización de la exposición laboral

Se realizó una ESRB en cada una de las tres PTAR utilizando la metodología propuesta por Llorca et al., (2018), que consiste en la ponderación del riesgo según las cualidades de la exposición: 1) Tipo de agente (en este estudio infecciones causadas por virus y parásitos entéricos), 2) Clasificación del daño potencial (D), 3) Vía de transmisión (T), 4) Tasa de incidencia de enfermedad gastrointestinal aguda donde se ubican las PTARs (I), 5) Vacunación de las personas trabajadoras contra el tipo de agente (en el caso de los agentes evaluados no hay vacunación, lo cual implica el mayor puntaje en este rubro) (V), 6) Frecuencia de realización de tareas de riesgo (F), y 7) Medidas higiénicas implementadas (H) (ver instrumento completo en el Apéndice 1). El nivel de riesgo biológico semicuantitativo (R) se clasificó mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$R = (D * V) + T + I + F + H \quad [1]$$

Para las medidas higiénicas, a diferencia de las demás variables, se aplicó una lista de chequeo, donde se asignó un valor en función del porcentaje de respuestas positivas (RP) (cumplimiento) y respuestas negativas (RN) (no cumplimiento) en el proceso de trabajo. El porcentaje de cumplimiento (PRP) descarta los rubros que no aplicaron. Su cálculo se realizó de la siguiente manera:

$$PRP = \frac{RP}{(RP + RN)} * 100$$

Según el PRP de la lista de chequeo se asigna una puntuación a H, siendo: < 50 % = 0, 50 - 79 % = -1, 80 - 95 % = -2 y > 95 % = -3. Una vez obtenidas H, se procede a la estimación de R por infecciones causadas por virus y parásitos entéricos, la cual, se categoriza de la siguiente manera según su puntaje obtenido: Aceptable (≤ 12), Requiere aplicación de medidas preventivas (12-17), y Riesgo intolerable - acciones correctivas inmediatas (> 17).

2.2.2. Medición de indicadores fecales y polvo inhalable

Se realizó un muestreo de indicadores fecales aire mediante la succión de aire exterior hacia un borboteador con 10 ml de solución amortiguadora (agua peptonada estéril con un pH 7,2). El aire succionado fluyó a través de la solución, promoviendo la retención de las partículas en el líquido (29,30). Para la succión se utilizó una bomba de succión marca SKC AirChek Touch modelo 220-5000TC con un flujo de 3 l/min. Simultáneamente, se realizó un muestreo de indicadores fecales en superficies, donde se colocó una plantilla de metal con un área interna de 25 cm². Seguidamente, se sumergió un hisopo estéril en los 10 ml de solución amortiguadora y se utilizó para limpiar el área interna de la plantilla, tras la limpieza de la superficie se agitó el hisopo en el tubo con la solución amortiguadora, este procedimiento se repitió tres veces (31,32). Para aire y superficies se colectaron simultáneamente dos muestras por PTAR, una en la zona de trabajo y otra en la zona de operación. Las muestras fueron colectadas durante 30 min en la jornada laboral diurna, entre las 6:00 a.m. y 12:00 p.m. Las muestras se almacenaron a 4 °C y se transportaron al laboratorio para su análisis en un periodo máximo de 24 h. Para el análisis de las muestras se utilizó la técnica de plaqueo por esparcido, donde se determinó la presencia o ausencia de coliformes fecales (CF) y *Escherichia coli* (31).

El muestreo de polvo inhalable se realizó en los mismos puntos utilizados para los indicadores fecales en aire. Para su medición se utilizó el método general de muestreo y análisis gravimétrico de aerosoles respirables, torácicos e inhalables de la Agencia Ejecutiva para la Salud y

Seguridad del Reino Unido (33). El muestreo y análisis se realizó según lo descrito por el Instituto de Medicina Ocupacional del Reino Unido con filtros de cloruro de polivinilo con 25 mm de diámetro y un tamaño de poro de 5 µm marca Whatman®, instalados en una bomba de muestreo personal con un flujo de 3 l/min de manera uniforme durante las 6 h de jornada laboral diurna, entre las 6:00 a.m. y 12:00 p.m. Las cabezas de muestreo con los filtros instalados fueron pesadas antes y después del muestreo, la masa de polvo inhalable fue definida por la diferencia entre estas mediciones con el método descrito por la HSE (33).

2.3. Programación de herramienta y análisis de datos

La ESRB, el análisis de datos y la visualización de datos fue llevada a cabo mediante la programación de un archivo formato Markdown con el lenguaje de programación R (<https://cran.r-project.org/>) (Figura 1). De esta manera, fue posible la generación de informes automatizados y reproducibles. La entrada para las funciones fueron los datos recolectados en campo con el instrumento de la ESRB (5). La herramienta de manera automatizada realiza el filtrado y compresión de datos que devuelve cálculo del puntaje del nivel de riesgo biológico semicuantitativo, la categorización de riesgo y gráficos de mosaico de las medidas higiénicas por tipo de control: administrativo, infraestructura y EPP. La herramienta, una base de datos aleatoria para prueba y el README del cuaderno se encuentran disponibles de manera abierta en: https://github.com/ericmoralesmora/git_biorisk. La intención de compartir libremente el código de la herramienta es para su aplicación en otros escenarios de riesgo biológico y la automatización de reportes tras el proceso de inspección.

RESULTADOS

En las PTAR evaluadas, todas presentaron niveles de riesgo inaceptables, donde la grande presentó el menor riesgo en comparación con la media y pequeña (Tabla 1). Este riesgo se debe, principalmente a factores como la transmisión aérea y por superficies, generación de aerosoles, alta frecuencia de actividades en áreas de generación de aerosoles y la falta de vacunas para virus y parásitos entéricos. En cuanto a la generación de aerosoles, se detectaron indicadores fecales (CF y *E.*

coli) en las zonas de trabajo y operación en las PTAR en aire y superficies, con excepción de *E. coli* que no se encontró en el aire (Tabla 1). Adicionalmente, las zonas de trabajo de las tres PTAR presentaron concentraciones de polvo inhalable por encima de los límites laborales recomendados, particularmente notable en la PTAR grande, mientras que las áreas de operación se mantuvieron dentro de los límites aceptables de 4 mg/m³ (valor umbral promedio ponderado en el tiempo - TLV-TWA - , por sus siglas en inglés).

Evaluación medidas higiénicas administrativas: Se observó el mayor cumplimiento en la PTAR grande (91,7%). Sin embargo, se encontraron incumplimientos en la limpieza de ropa de trabajo tras la jornada y protección de personal sensible (Figura 2). En las PTARs de escala media y pequeña se detectaron incumplimientos en transporte de muestras, medidas preventivas (consumo de cigarrillo, alimentos o bebidas), procedimientos de higiene, información y comunicación de riesgos relacionados a agentes biológicos. El cumplimiento general fue de 58,3% en la planta media y 54,2% en la pequeña.

Evaluación medidas higiénicas infraestructura: Se presentaron diferentes niveles de cumplimiento entre las tres PTARs. La planta grande tuvo el mayor cumplimiento (88,9%), seguida de la media (55,6%) y la pequeña (44,4%). Todas incumplieron aspectos como el uso de equipos de bioseguridad, limpieza de áreas de trabajo y monitoreo de contaminación biológica (Figura 3). La planta media carece de duchas de seguridad, mientras que la pequeña no tiene dispositivos de seguridad para emergencias ni infraestructura para limpieza y desinfección. Solo la planta grande cuenta con sistemas de ventilación, puesto que las otras dos se encuentran al aire libre.

Evaluación medidas higiénicas equipo de protección personal: El mayor cumplimiento se observó en las PTAR grande y media (80%), y el menor en la PTAR pequeña (50%) (Figura 4). La PTAR grande mostró un incumplimiento general en la limpieza y monitoreo de EPP por parte del empleador. En las PTARs mediana y pequeña, no se evidenció el uso de EPP durante actividades de alto riesgo que involucran exposición a aguas residuales. Adicionalmente, en la PTAR pequeña no se observó monitoreo de EPP y ni cambio de ropa de los trabajadores al finalizar la jornada.

En general, las medidas administrativas, de infraestructura y EPP se cumplieron parcialmente en las tres PTARs, con el mayor cumplimiento en la PTAR grande y el menor en la PTAR pequeña. Los principales ámbitos para mejorar se encontraron en los controles administrativos e infraestructurales, que son prioridades antes de implementar el uso de EPP.

DISCUSIÓN

Los resultados de la ESRB mostraron que la clasificación del riesgo biológico en las tres PTAR estudiadas es inaceptable, por lo tanto, se requieren medidas correctivas y preventivas para reducirlo. La documentación de las medidas higiénicas en cada PTAR se mostró que los controles administrativos e infraestructurales tienen el menor grado de cumplimiento en las plantas pequeñas y medianas (Tabla 1 y Figuras. 2, 3 y 4). Esto no se alinea con la jerarquía ideal de medidas de control, desde la más deseable a la menos deseable: eliminación, sustitución, soluciones tecnológicas, soluciones administrativas y uso de equipo de protección personal (21). En este caso, la eliminación o sustitución de la fuente del agente no es posible, ya que el objetivo final del proceso laboral es la purificación de las aguas residuales, que es el principal insumo de trabajo. Por lo tanto, las soluciones tecnológicas en la infraestructura o directamente la aplicación de medidas administrativas son las dos más recomendadas y con mayor oportunidad de mejora. Los factores administrativos, como los procedimientos de prevención y limpieza del ambiente de trabajo y la modificación de conductas, tienen un gran potencial de mejora (Figura 2).

En cuanto a las medidas higiénicas de infraestructura en las PTARs, se observaron deficiencias en el uso de dispositivos de bioseguridad, limpieza y sistemas de respuesta a accidentes, principalmente en las plantas medianas y pequeñas (Figura 3). A pesar de esto, la presencia de indicadores fecales en el aire y las superficies en las zonas de trabajo y operaciones requieren medidas alternativas para la contención y aislamiento de las fuentes de contaminación microbiológica (Figura 3). Las medidas comunes para la contención de bioaerosoles incluyen la luz ultravioleta para la desinfección, inactivación térmica, radiación de microondas, ventilación forzada, filtración de aire o aislamiento de la fuente (aguas residuales) (20).

A pesar de la implementación de medidas de control administrativo e infraestructura, la naturaleza del peligro biológico requiere el uso EPP, ya que la posibilidad de contacto directo con aguas residuales es alta, especialmente en tareas de riesgo como el mantenimiento y operación (19). En este sentido, se detectó el uso discontinuo o no uso de EPP en las plantas de tratamiento, junto con un mantenimiento y monitoreo de su funcionamiento deficiente (Figura 4).

La aplicación de estrategias de evaluación del riesgo biológico en ambientes laborales permite reconocer potenciales fuentes para la mejora y aplicación de la técnica en otros contextos con alto riesgo biológico con el fin de evitar y prevenir la exposición (34). Sumado a ello, la automatización en la evaluación del riesgo biológico ocupacional por medio de visualizaciones y reportes automáticos incrementa su eficiencia dado que le enriquece en términos de análisis y detección temprana de cambios en los niveles de riesgo (25). Esta mejora es crucial para la comparación de datos efectiva a lo largo del tiempo y entre instalaciones. Al contar con una plataforma común de reportes y análisis estas comparaciones se facilitan sustancialmente y disminuyen la subjetividad de la interpretación de resultados (26,27).

Cabe mencionar que la aplicación de la ESRB puede presentar limitaciones para la proyección del impacto de medidas preventivas y correctivas (24). Sin embargo, es una técnica útil para realizar una evaluación exploratoria rápida del riesgo biológico que permita la valoración de análisis y mediciones de mayor complejidad. Adicionalmente, identifica la presencia de medidas higiénicas con potencial de mejorar, lo cual, señala de manera sencilla acciones correctivas a realizar. Finalmente, la aplicación de técnicas para la evaluación de peligros y riesgos biológicos resulta relevante, puesto que previo a la pandemia por Sars-CoV-19, la evaluación de riesgo biológico en espacios ocupacionales tenía un alcance limitado e incluido en las evaluaciones tradicionales de peligros debidos a sustancias químicas tóxicas y especiales. La ESRB tiene limitaciones pero ofrece una útil evaluación rápida del riesgo biológico y la identificación de mejoras higiénicas (24). Además, señala de manera sencilla acciones correctivas a realizar y actualmente su relevancia ha crecido debido a la pandemia por Sars-CoV-19.

LIMITACIONES

Aunque la ESRB proporciona una rápida evaluación del riesgo biológico en ambientes laborales, puede tener limitaciones para proyectar el impacto a largo plazo de las medidas preventivas y correctivas. Adicionalmente, la investigación se centró en plantas de tratamiento de aguas residuales específicas, clasificadas por su escala, lo que puede limitar la generalización de los resultados. Finalmente, la eficiencia de la automatización de la evaluación de riesgos mediante R depende del nivel de habilidad y experiencia del usuario con este lenguaje de programación, aun cuando el archivo Markdown provee el código listo para ejecutar su modificación para adaptarlo a cada contexto requiere al menos de un conocimiento básico en el lenguaje de programación.

CONCLUSIONES

Este estudio reveló un riesgo biológico inaceptable en las plantas de tratamiento de aguas residuales evaluadas, que amerita urgentes de medidas correctivas. Por otro lado, la automatización de la evaluación mediante el lenguaje de programación R mostró ser eficaz para la detección temprana de riesgos, la identificación de mejoras, reproducibilidad coherente de la evaluación y disminución de periodo de evaluación, resaltando su relevancia en la gestión de riesgos biológicos ocupacionales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Corrao CRN, Mazzotta A, La Torre G, De Giusti M. Biological risk and occupational Health. *Ind Health*. 2012;50(4):326–37.
2. Viegas C, Viegas S, Quintal A, Täubel M, Sabino R. Exposure to Microbiological Agents in Indoor and Occupational Environments. Vol. 148. Swintzerland: Springer International Publishing; 2017. 148–162 p.
3. Brisolara KF, Maal-Bared R, Sobsey MD, Reimers RS, Rubin A, Bastian RK, et al. Assessing and Managing SARS-CoV-2 Occupational Health Risk to Workers Handling Residuals and Biosolids.

- Sci Total Environ [Internet]. 2021;774:145732. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145732>
4. Zaneti RN, Girardi V, Spilki FR, Mena K, Westphalen APC, da Costa Colares ER, et al. Quantitative microbial risk assessment of SARS-CoV-2 for workers in wastewater treatment plants. Sci Total Environ [Internet]. 2021;754:142163. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142163>
 5. Llorca RJL, Soto FP, Benavent NS. Manual práctico para la evaluación del riesgo biológico en actividades laborales diversas [Internet]. Llorca RJL, editor. Biogaval-Neo. Valencia, España: Centro Territorial de Valencia del INVASSAT; 2018. 44 p. Available from: https://invassat.gva.es/documents/161660384/161741765/Biogaval_neo_2018_cs/ea1b4c14-8033-4c8b-8779-c9efe5db45ac
 6. Yan C, Leng Y li, Wu J ting. Quantitative microbial risk assessment for occupational health of temporary entrants and staffs equipped with various grade PPE and exposed to microbial bioaerosols in two WWTPs. Int Arch Occup Environ Health [Internet]. 2021;94(6):1327–43. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00420-021-01663-5>
 7. Wu JY, Lau EHY, Lu ML, Guo C, Guo ZM, Yuan J, et al. An occupational risk of hepatitis E virus infection in the workers along the meat supply chains in Guangzhou, China. One Heal [Internet]. 2022;14(2022):100376. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100376>
 8. Deepnarain N, Nasr M, Amoah ID, Enitan-Folami AM, Reddy P, Stenström TA, et al. Impact of sludge bulking on receiving environment using quantitative microbial risk assessment (QMRA)-based management for full-scale wastewater treatment plants. J Environ Manage. 2020;267(December 2019).
 9. Amoah ID, Kumari S, Bux F. A probabilistic assessment of microbial infection risks due to occupational exposure to wastewater in a conventional activated sludge wastewater treatment plant. Sci Total Environ [Internet]. 2022;843(March):156849. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156849>

10. Bianchi FP, Vimercati L, Mansi F, De Nitto S, Stefanizzi P, Rizzo LA, et al. Compliance with immunization and a biological risk assessment of health care workers as part of an occupational health surveillance program: The experience of a university hospital in southern Italy. *Am J Infect Control* [Internet]. 2020;48(4):368–74. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2019.09.024>
11. González Acevedo R, Cácia Rojas E. Exposición y control del riesgo biológico en el personal de enfermería de la Clínica de Urgencias de Bucaramanga. *Boletín Virtual*. 2018;7–5(23).
12. Uhrbrand K, Schultz AC, Koivisto AJ, Nielsen U, Madsen AM. Assessment of airborne bacteria and noroviruses in air emission from a new highly-advanced hospital wastewater treatment plant. *Water Res* [Internet]. 2017;112:110–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.046>
13. Rachiotis G, Tsovili E, Papagiannis D, Markaki A, Hadjichristodoulou C. Are municipal solid waste collectors at increased risk of Hepatitis A Virus infection? A Greek cross-sectional study. *Infez Med*. 2016;24(4):299–303.
14. Corrao CRN, Del Cimmuto A, Marzuillo C, Paparo E, La Torre G. Association between waste management and HBV among solid municipal waste workers: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Sci World J*. 2013;2013.
15. WHO. Sanitation safety planning manual for safe use and disposal of wastewater, greywater and excreta [Internet]. 1st ed. Switzerland: World Health Organization; 2016. 156 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/171753>
16. Teixeira J V., Miranda S, Monteiro RAR, Lopes FVS, Madureira J, Silva G V., et al. Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. *Environ Monit Assess*. 2013;185(1):59–72.
17. Carducci A, Donzelli G, Cioni L, Federigi I, Lombardi R, Verani M. Quantitative microbial risk assessment for workers exposed to bioaerosol in wastewater treatment plants aimed at the choice and setup of safety measures. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(7).

18. CDC. Guidance for Reducing Health Risks to Workers Handling Human Waste or Sewage [Internet]. Sanitation & Hygiene. 2023. Available from: https://www.cdc.gov/healthywater/global/sanitation/workers_handlingwaste.html
19. Rim KT, Lim CH. Biologically hazardous agents at work and efforts to protect workers' health: A review of recent reports. *Saf Health Work* [Internet]. 2014;5(2):43–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.shaw.2014.03.006>
20. Singh NK, Sanghvi G, Yadav M, Padhiyar H, Thanki A. A state-of-the-art review on WWTP associated bioaerosols: Microbial diversity, potential emission stages, dispersion factors, and control strategies. *J Hazard Mater* [Internet]. 2021;410(2021):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124686>
21. Cherrie, J. W., Howie, R. M., & Semple, S. (2010). *Monitoring for Health Hazards at Work (Fourth)*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781444323313>
22. Hernández Calleja A. Agentes biológicos. Evaluación simplificada. *Inst Nac Segur e Hig en el Trab* [Internet]. 2009;1–6. Available from: <https://www.insst.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/821a921/833web.pdf>
<http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/821a921/833web.pdf>
23. Comisiones Obreras de Madrid. Método y análisis en la Evaluación del Riesgo Biológico [Internet]. Madrid, España: Secretaría De Salud Laboral De Ccoo de Madrid; 2020. Available from: http://www.saludlaboralmadrid.es/guia_riesgos_biologicos.pdf
24. Contreras Velásquez Z, Ramirez Leal P. Comparación de métodos utilizados en la valoración del riesgo biológico. *Rev la Asoc Española Espec en Med en el Trab*. 2019;28(2):91–108.
25. Yang L, Lu K, Diaz-Olivares JA, Seoane F, Lindecrantz K, Forsman M, et al. Towards Smart Work Clothing for Automatic Risk Assessment of Physical Workload. *IEEE Access*. 2018;6:40059–72.

26. Leso V, Fontana L, Iavicoli I. The occupational health and safety dimension of Industry 4.0. *Med Lav.* 2018;110(5):327–38.
27. Sau A, Bhakta I. Screening of anxiety and depression among the seafarers using machine learning technology. *Informatics Med Unlocked* [Internet]. 2019;16(December 2018). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.imu.2018.12.004>
28. Gerba CP, Pepper IL. Municipal Wastewater Treatment. In: *Environmental and Pollution Science*. 3rd ed. Elsevier Inc.; 2019. p. 583–606. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-814719-1.00022-7>
29. Chinivasagam HN, Blackall PJ. Investigation and application of methods for enumerating heterotrophs and *Escherichia coli* in the air within piggery sheds. *J Appl Microbiol.* 2005;98(5):1137–45.
30. Galán Madruga D, Ruíz Boada F, Díaz López G. Metodología para la toma de muestra de microorganismos altamente patógenos en las matrices ambientales aire, agua y suelo/sedimento [Internet]. España: Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología de la Nación; 2018. Available from: <http://publicaciones.isciii.es>
31. Baird R, Eaton A, Rice E, Bridgewater L. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 23rd ed. Bair R, Eaton A, Rice E, Bridgewater L, editors. Washintong, D.C: American Public Health Association (APHA); 2017. 9(89)-9(96).
32. Salfinger Y, Tortorello M. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 15 th. APHA (DEX-252); 2015.
33. HSE. General methods for sampling and gravimetric analysis of respirable, thoracic and inhalable aerosols MDHS14. 2019;1–13. Available from: <http://www.hse.gov.uk/pubns/mdhs/pdfs/mdhs14-4.pdf>
34. Lara Icaza JD. Caracterización del riesgo biológico por accidentes laborales en el personal de salud de un centro ambulatorio en Guayaquil-Ecuador. *Rev Colomb Salud Ocup.* 2020;9(1):6073.

CUADROS

Tabla 1. Descripción del riesgo e indicadores de contaminación fecal y química en el ambiente de trabajo de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Variable	PTAR	Valor	Interpretación
Evaluación simplificada de riesgo biológico			
Nivel de riesgo biológico semicuantitativo	<i>Grande</i>	17	Requiere medidas preventivas a corto plazo
	<i>Media</i>	18	Requiere acciones correctivas inmediatas
	<i>Pequeña</i>	18	Requiere acciones correctivas inmediatas
Indicadores fecales en aire			
Coliformes fecales en la zona de trabajo	<i>Grande</i>	Positivo	Presencia de coliformes fecales en el aire
	<i>Media</i>	Positivo	Presencia de coliformes fecales en el aire
	<i>Pequeña</i>	Negativo	Ausencia de coliformes fecales en aire
Coliformes fecales en la zona de operaciones	<i>Grande</i>	Positivo	Presencia de coliformes fecales en el aire
	<i>Media</i>	Negativo	Ausencia de coliformes fecales en aire
	<i>Pequeña</i>	Positivo	Presencia de coliformes fecales en el aire
<i>Escherichia coli</i> en la zona de trabajo	<i>Grande</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en aire
	<i>Media</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en aire
	<i>Pequeña</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en aire
<i>E. coli</i> en la zona de operaciones	<i>Grande</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en aire
	<i>Media</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en aire
	<i>Pequeña</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en aire
Indicadores fecales en superficies			
Coliformes fecales en la zona de trabajo	<i>Grande</i>	Positivo	Presencia de coliformes fecales en las superficies
	<i>Media</i>	Negativo	Ausencia de coliformes fecales en superficies
	<i>Pequeña</i>	Positivo	Presencia de coliformes fecales en las superficies
Coliformes fecales en la zona de operaciones	<i>Grande</i>	Positivo	Presencia de coliformes fecales en las superficies
	<i>Media</i>	Negativo	Ausencia de coliformes fecales en superficies
	<i>Pequeña</i>	Positivo	Presencia de coliformes fecales en las superficies
<i>E. coli</i> en la zona de trabajo	<i>Grande</i>	Positivo	Presencia de <i>E. coli</i> las superficies
	<i>Media</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en superficies
	<i>Pequeña</i>	Positivo	Presencia de <i>E. coli</i> las superficies
<i>E. coli</i> en la zona de operaciones	<i>Grande</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en superficies
	<i>Media</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en superficies
	<i>Pequeña</i>	Negativo	Ausencia de <i>E. coli</i> en superficies
Polvo inhalable en aire			
Polvo inhalable en la zona de trabajo	<i>Grande</i>	16.83 mg/m³	Supera el TLV-TWA
	<i>Media</i>	8.89 mg/m³	Supera el TLV-TWA
	<i>Pequeña</i>	7.18 mg/m³	Supera el TLV-TWA
Polvo inhalable en la zona de operaciones	<i>Grande</i>	-0.02 mg/m ³	No supera el TLV-TWA
	<i>Media</i>	2.43 mg/m ³	No supera el TLV-TWA
	<i>Pequeña</i>	-0.08 mg/m ³	No supera el TLV-TWA

No borrar esta línea en blanco

FIGURAS

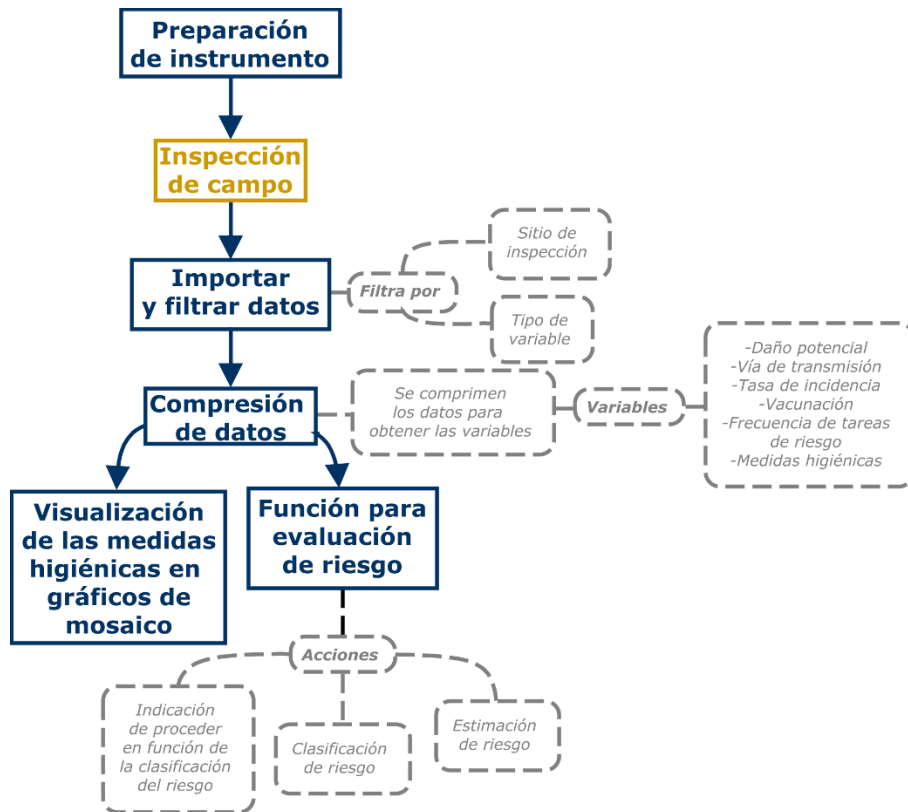


Figura 1. Diagrama de flujo para la aplicación de la evaluación simplificada de riesgo biológico automatizado con el lenguaje de programación R y con la herramienta de Markdown. Azul (flujo de la herramienta analítica), amarillo (inspección de campo), gris (generalidades de la herramienta analítica).

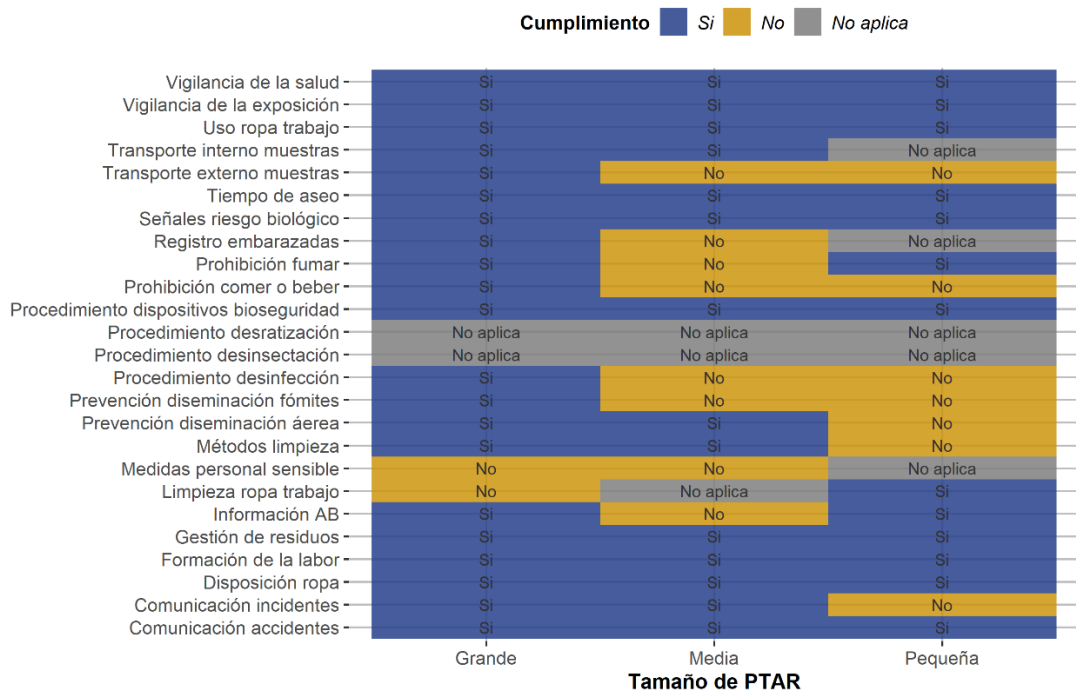


Figura 2. Cumplimiento de medidas higiénicas administrativas en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico.

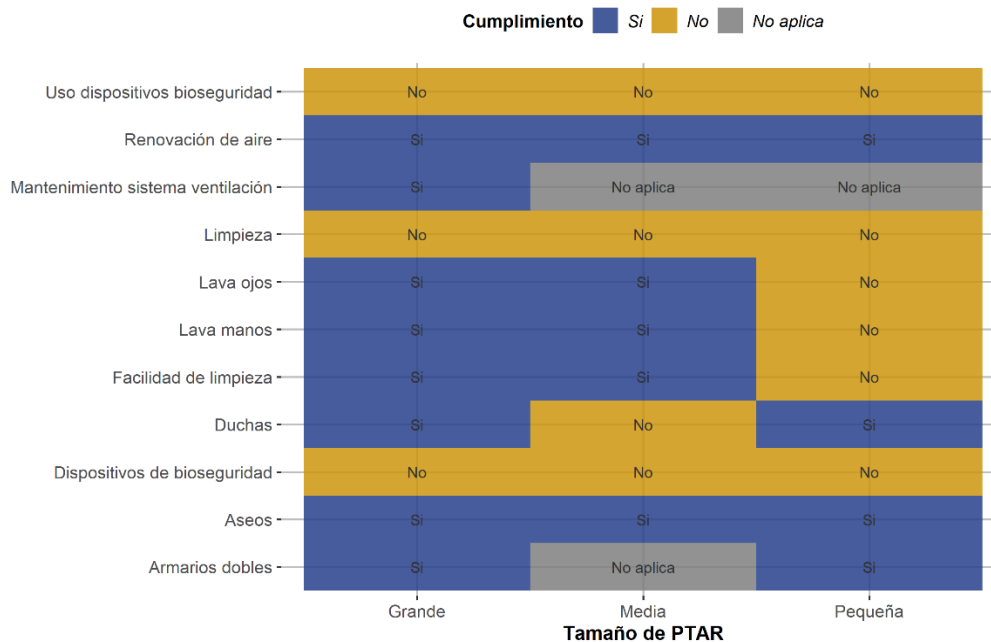


Figura 3. Cumplimiento de medidas higiénicas en la infraestructura en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico.

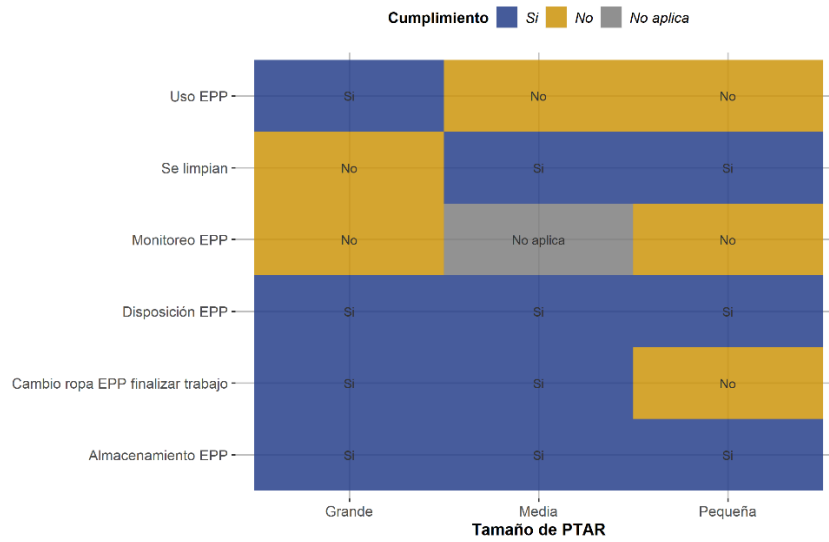


Figura 4. Cumplimiento de medidas higiénicas en el equipo de protección personal en las tres plantas de tratamiento de aguas residuales en estudio, según la aplicación de evaluación simplificada de riesgo biológico.

ANEXOS

Anexo 1. Instrumento para la caracterización, identificación de peligros, exposición y medidas de control**.

Planta de tratamiento:						Fecha de inspección:		Hora inicio:			
Persona responsable de la inspección:								Hora fin:			
Número de trabajadores en la planta:											
Número de trabajadores en contacto con aguas residuales:											
Etapa del proceso*	Evento peli-groso	Peli-gro	Ruta de exposi-ción	Contro-les utili-zados	Controles suficien-tes	Puesto de trabajo	Ocurren-cia	Severi-dad	Riesgo semi-cuantita-tivo***	Clasifica-ción de riesgo***	Observacio-nes
									0		

**Ejemplo de aplicación*

***Basado en Sanitation safety planning manual for safe use and disposal of wastewater, greywater and excreta (OMS, 2016a).*

****Clasificación según el Anexo 2.*

Anexo 2. Escalas de cuantificación instrumento para la caracterización, identificación de peligros, exposición y medidas de control (ver Anexo 1).

Descriptor		Descripción
Ocurrencia		
1	Muy improbable	No ha ocurrido en el pasado y es altamente improbable que suceda
2	Improbable	No ha ocurrido en el pasado, pero en circunstancias excepcionales podría ocurrir
3	Posible	Puede haber ocurrido en el pasado y bajo circunstancias regulares puede ocurrir
4	Probable	Se ha observado en el pasado y es probable que ocurra
5	Casi certero	A menudo se ha observado en el pasado y es casi certero que ocurrirá
Severidad		
1	Insignificante	El peligro o evento peligroso resultante no causa o causará un efecto en salud despreciable comparado con estados basales de salud
2	Menor	El peligro o evento peligroso resultante puede causar efectos menores en salud (e.g. irritación, náuseas, jaqueca)
4	Moderado	El peligro o evento peligroso resultante puede causar efectos en salud autolimitados o enfermedades menores (e.g. diarrea, vomito, infecciones respiratorias menores)
8	Mayor	El peligro o evento peligroso resultante potencialmente puede causar enfermedad o perjuicios (e.g. malaria, diarrea crónica, desordenes neurológicos, fracturas), y/o implicaciones legales o reglamentarias
16	Catastrófico	El peligro o evento peligroso resultante puede resultar en enfermedad o perjuicios serios, e incluso la muerte (e.g. envenenamiento severo, quemaduras severas); y/o investigaciones legales por entes reguladores

** Basado en *Sanitation safety planning manual for safe use and disposal of wastewater, greywater and excreta (OMS, 2016a)*.

Anexo 3. Entrevista estructura a las personas encargadas en salud ocupacional de las plantas de tratamiento de Los Tajos, André Chalé y El Roble.

Nombre:

Fecha:

Planta de tratamiento a cargo:

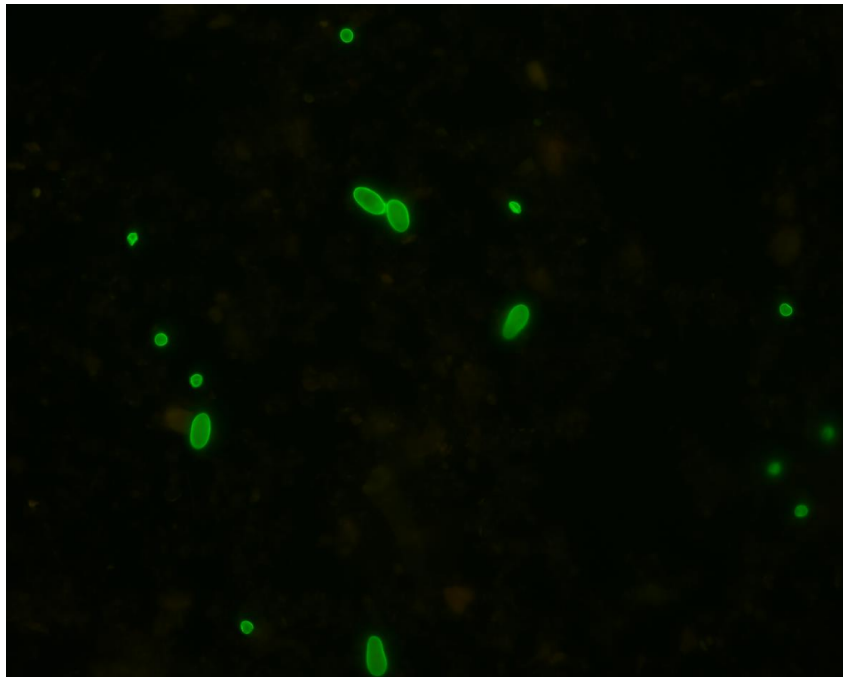
Hora:

1. **¿Cómo describiría la salud ocupacional en la planta de tratamiento?**
2. **¿Existe un programa vigente de salud ocupacional?**
3. **¿Se realizan capacitaciones en salud ocupacional y prevención de enfermedades infecciosas al personal de la planta?**
4. **¿Cuáles son las temáticas de las capacitaciones y con qué frecuencia se realizan?
(Ejecutar solo si la pregunta 2 fue afirmativa)**
5. **¿Cuál es la antigüedad y edad de las personas trabajadoras?**
6. **¿Existe un plan de vacunación para las personas trabajadoras de la planta?**
7. **¿Cuántas personas están vacunadas y con qué vacunas?**
8. **Por puesto de trabajo ¿Cuál es el equipo de protección personal recomendado para las personas trabajadores?**
9. **¿Podría mostrarme las marcas y modelos de los equipos de protección personal?**
10. **¿Existe monitoreo del uso adecuado de los equipos de protección personal?**
11. **¿Se implementan medidas alternativas al uso de equipos de protección personal para evitar la exposición a agentes biológicos?**
12. **¿Hay personal subcontratado o externo al instituto que ingresa a la planta?**
13. **¿Con qué frecuencia y qué actividades realizan? (Si la respuesta 10 fue afirmativa)**
14. **¿Estas personas externas reciben capacitación antes de realizar sus actividades? (Si la respuesta 10 fue afirmativa)**
15. **¿Se monitorea y verifica el uso de equipos de protección personal para externos al instituto? (Si la respuesta 10 fue afirmativa)**

Anexo 4. Cuadro para la descripción del proceso de trabajo y condiciones laborales.

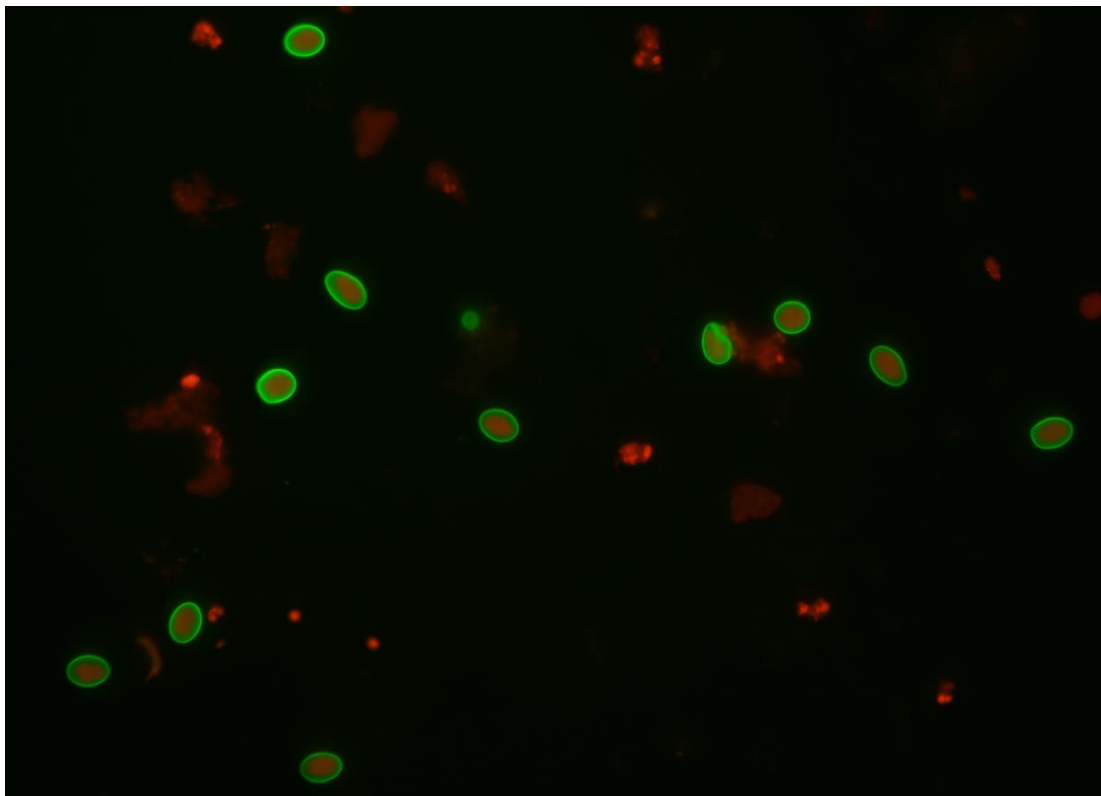
Lugar de trabajo		<i>Proceso</i>	
		<i>Descripción de la operación</i>	
Fuerza de trabajo		<i>Descripción del puesto de trabajo</i>	
		<i>Análisis de tareas</i>	
		<i>Número de trabajadores</i>	
Agente		<i>Efectos sobre la salud</i>	
Controles existentes		<i>Límites de exposición, condiciones ambientales y de seguridad</i>	
	Evaluaciones pasadas y resultados		
	Historial de exposición		
	Datos de exposiciones ambientales		
	Datos de monitoreo biológico		

Anexo 5. Fotografías de agentes biológicos identificados en los muestreos de las plantas de tratamiento de aguas residuales



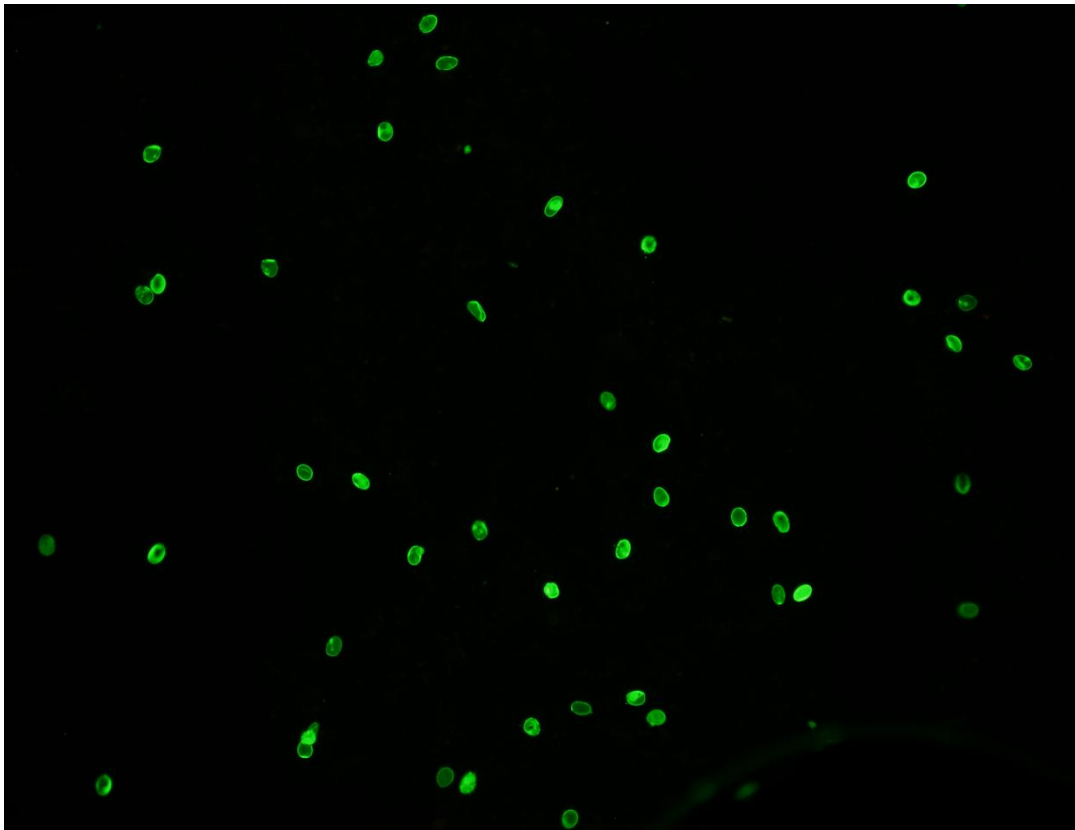
Anexo 5.1. Control de fluorescencia de *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp.

Objetivo de observación 40X.

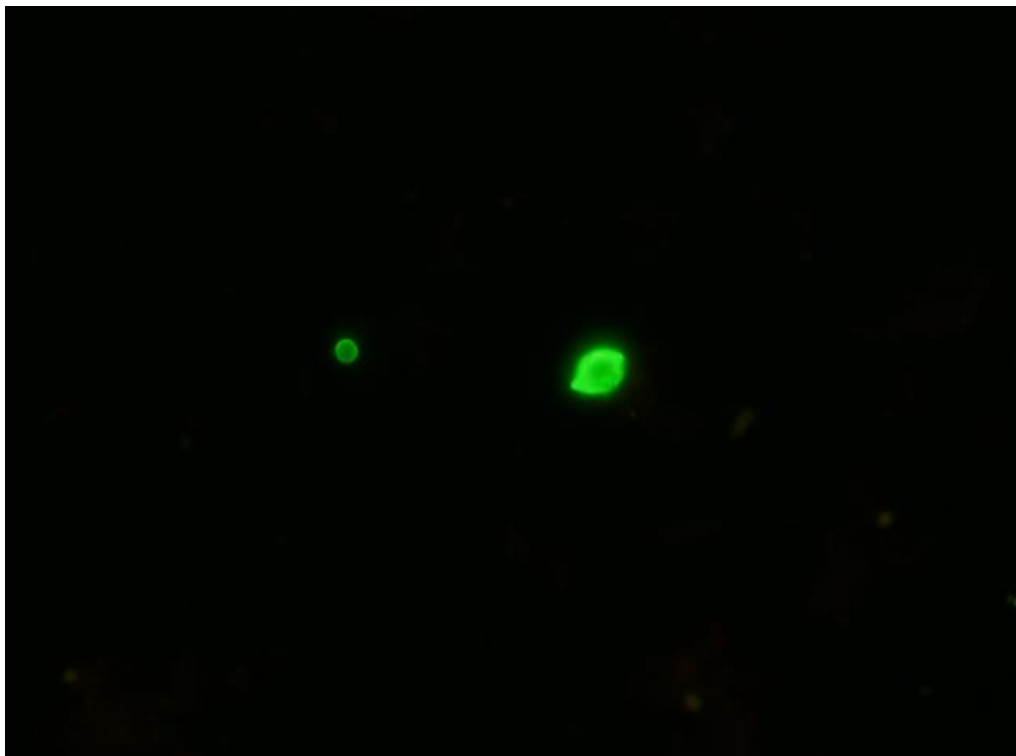


Anexo 5.2. Control interno de calidad con *Giardia* teñida con carbol-fucsina. Objetivo de observación

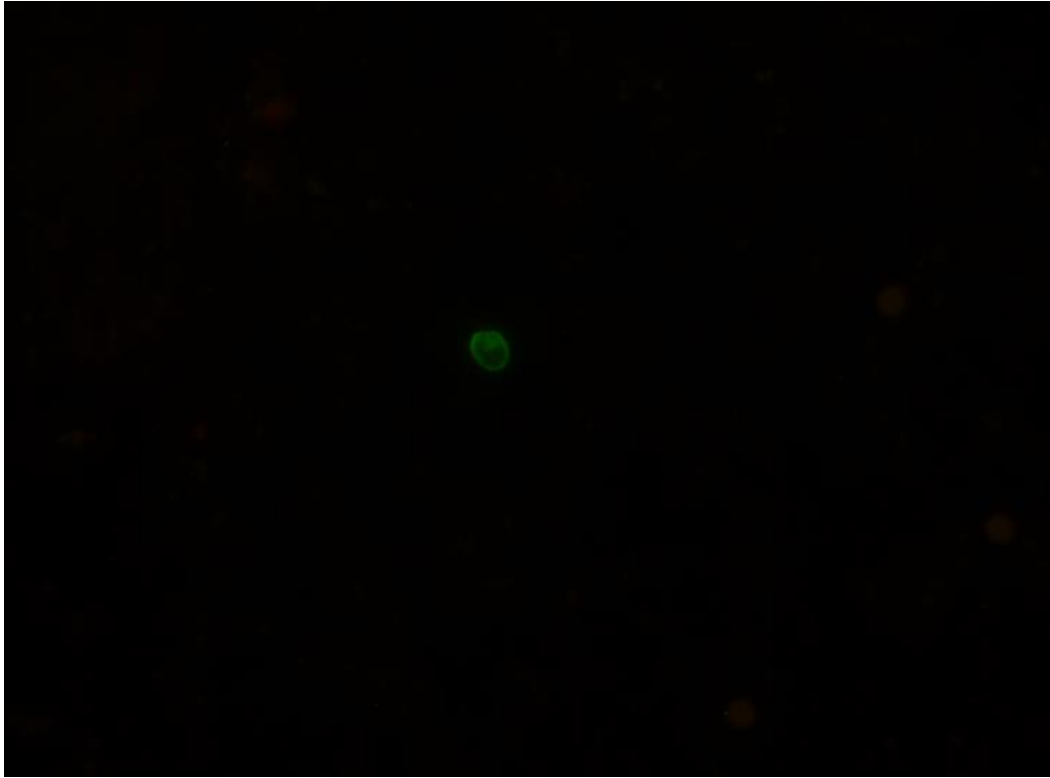
40X.



Anexo 5.3. *Giardia* sp. muestra planta de tratamiento Los Tajos. Objetivo de observación 20X.



Anexo 5.4. *Cryptosporidium* sp. y *Giardia* sp. muestra planta de tratamiento André Chalé. Objetivo de observación 40X.



Anexo 5.5. *Cryptosporidium* sp. muestra planta de tratamiento Los Tajos, Objetivo de observación 40X.

Anexo 6. Requisitos e instrucciones de la revista científica donde se sometió el artículo 1 (en proceso de revisión)



MICROBIAL RISK ANALYSIS

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

- **Description** p.1
- **Abstracting and Indexing** p.1
- **Editorial Board** p.1
- **Guide for Authors** p.3



ISSN: 2352-3522

DESCRIPTION

The peer-reviewed journal *Microbial Risk Analysis* accepts articles dealing with the study of risk analysis applied to microbial hazards. Manuscripts should at least cover any of the components of risk assessment (risk characterization, exposure assessment, etc.), risk management and/or risk communication in any microbiology field (clinical, environmental, food, veterinary, etc.). This journal also accepts article dealing with predictive microbiology, vector-borne disease risks, risk related to epizootic studies of emerging diseases and plant diseases, quantitative microbial ecology, mathematical modeling, risk studies applied to microbial ecology, quantitative microbiology for epidemiological studies, statistical methods applied to microbiology, systematic reviews and meta-analysis to generate information, evidence and data that can be used in microbial risk assessment, and laws and regulatory policies aimed at lessening the risk of microbial hazards. Work focusing on risk studies of viruses, parasites, microbial toxins, antimicrobial resistant organisms, genetically modified organisms (GMOs), and recombinant DNA products are also acceptable.

ABSTRACTING AND INDEXING

Science Citation Index Expanded
BIOSIS Previews
Biological Abstracts

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Omar Oyarzabal, University of Vermont Extension South Burlington Office, South Burlington, Vermont, United States

Associate Editor

M. Nauta, Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark

Editorial Board

A. Adkin, Food Standards Agency, London, United Kingdom

F. Barker, Monash University, Clayton, Victoria, Australia

R.L. Buchanan, University of Maryland at College Park, College Park, Maryland, United States

F. Butler, University College Dublin, Dublin, Ireland

D. De Medici, National Institute of Health, Roma, Italy

A. Fazil, Public Health Agency of Canada, Ottawa, Ontario, Canada

S. Foley, National Center for Toxicological Research, Jefferson, Arkansas, United States
P. Gale, Animal and Plant Health Agency, Addlestone, United Kingdom
U.A. Gonzales-Barron, Mountain Research Center, Braganca, Portugal
A.H. Havelaar, University of Florida, Gainesville, Florida, United States
V. Horigan, Animal and Plant Health Agency, Addlestone, United Kingdom
S. Jiang, University of California Irvine, Irvine, California, United States
D.W. Kim, Hanyang University College of Pharmacy, Ansan, Korea, Republic of
D. Mistic, University of Belgrade, Belgrade, Serbia
J. Mitchell, Michigan State University, East Lansing, Michigan, United States
J.F. Schijven, National Institute of Public Health and the Environment, The Netherlands
P. Schmidt
M.E. Schoen, Soller Environmental LLC, Berkeley, California, United States
J. Soller, Soller Environmental LLC, Berkeley, California, United States
N. Van Abel, National Public Health Institute, Washington, United States
B. Wang, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska, United States
M.H. Weir, The Ohio State University Division of Environmental Health Sciences, Columbus, Ohio, United States

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Types of articles

RESEARCH PAPERS are contributions describing original research, including theoretical exposition.

SHORT COMMUNICATIONS are contributions describing original research but with 3000 words or less.

REVIEW ARTICLES are in-depth, critical reviews of current topics of important for the audience of Microbial Risk Analysis. Before preparing and submitting a review article, authors are encouraged to discuss the topic with the Editor-In-Chief.

LETTERS TO THE EDITOR are contributions limited to 600 words and five (5) references.

Comment or Reply papers should be submitted under the article type "Letters to the editor" and should have an article title in the below format.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the

manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

This journal offers authors a choice in publishing their research: Open access and Subscription.

For subscription articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <https://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations

(please consult <https://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <https://www.elsevier.com/permissions>.

For open access articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <https://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <https://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights. For more information on author rights for:

Subscription articles please see <https://www.elsevier.com/journal-authors/author-rights-and-responsibilities>.
Open access articles please see <https://www.elsevier.com/OAauthoragreement>.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Open access

Please visit our Open Access page from the Journal Homepage for more information.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/mran/>

PREPARATION

It is recommended that manuscripts contain at least a title page, short title, abstract, highlights, keywords, introduction, material and methods, results and discussion.

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review.](#)

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Please use continuous line and page numbers for the manuscript. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <https://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

LaTeX

You are recommended to use the Elsevier article class `elsarticle.cls` (<http://www.ctan.org/tex-archive/macros/latex/contrib/elsarticle>) to prepare your manuscript and BibTeX (<http://www.bibtex.org>) to generate your bibliography.

For detailed submission instructions, templates and other information on LaTeX, see <https://www.elsevier.com/latex>.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Short Title or Running Head

The title page should include a running title of approximately 80 characters, excluding spaces. The running title is a shortened version of the title of the manuscript.

Highlights

Highlights are a short collection of bullet points that convey the core findings of the article. Highlights are mandatory and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <https://www.elsevier.com/authors/journal-authors/highlights> for examples.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should contain 400 words or less and state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References

should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of six (6) keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes. Examples of keywords are: Beta Poisson model, DALY, recycled water, consumer practices, most probable number, HACCP.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Glossary

Please supply, as a separate list, the definitions of field-specific terms used in your article.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <https://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Embedded math equations

If you are submitting an article prepared with Microsoft Word containing embedded math equations then please read this ([related support information](#)).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Illustration services

[Elsevier's Author Services](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Text graphics

Text graphics shall be placed separately at the end. If you are working with LaTeX and have such features embedded in the text, these can be left. See further under Electronic artwork.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables shall be placed on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

If you do wish to format the references yourself, the references should be arranged according to the following example:

Text: Indicate references by number(s) or by authors in line with the text, but the reference number(s) must always be given. Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples: Reference to a journal publication: [1] Baranyi, J., 2002. Stochastic modeling of bacterial lag phase. *Int. J. Food Microbiol.* 73, 203-206.

Reference to a book: [2] Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book: [3] Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article. In: B.S. Jones, R.Z. Smith (eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, pp. 281-304.

Reference to Internet document: [4] EPA. Microbial Risk Assessment Guideline-Pathogenic Microorganisms with Focus on Food and Water [Internet]. EPA 2012. Available: <http://www.epa.gov/raf/files/mra-guideline-final.pdf>.

Reference to report: [5] Vander Giessen, J., Van de Giessen, A., Braks, M., 2010. Emerging zoonoses: Early warning and surveillance in the Netherlands. Report No.: 3302144002. National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands.

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references can be listed either first alphabetically, then chronologically, or vice versa.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999)... Or, as demonstrated (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 600 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a personalized link providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). This link can also be used for sharing via email and social networks. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/booklets>).

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>



Contents lists available at ScienceDirect

Microbial Risk Analysis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mran



A novel approach to biological risk surveillance in occupational hygiene: A case study on the use of quantitative microbial risk assessment to determine occupational risks for wastewater treatment plants workers in Costa Rica

Eric Morales^{a,b,*}, Andrei Badilla^{c,d}, Pablo Rivera^c, Ernesto Alfaro^c, Erin M. Symonds^e, Kenia Barrantes^a, Clemens Ruepert^f, Jennifer Crowe^f, Luz Chacón^a

^a Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica, Costa Rica

^b Escuela de Tecnologías en Salud, Universidad de Costa Rica, Costa Rica

^c Laboratorio Nacional de Aguas (LNA), Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados, San José, Costa Rica

^d Department of Civil & Environmental Engineering & Earth Sciences, University of Notre Dame, Notre Dame, IN 46656, USA

^e Southern Methodist University, USA

^f Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET), Universidad Nacional, Costa Rica

ARTICLE INFO

Keywords:

Occupational QMRA
DALY
Field surveillance
Wastewater treatment
Wastewater pathogens

ABSTRACT

Wastewater treatment is essential for preventing infectious diseases and water pollution. To perform this process, workers operate and maintain wastewater treatment plants (WWTPs); thus, they are exposed to the many pathogens in domestic wastewater. Consequently, it is necessary assess occupational exposure to pathogens in WWTPs. Quantitative microbial risk assessment (QMRA) is an approach for estimating the risk posed by a specific pathogen which can be useful for occupational hygiene assessments of biological risk. In this study, we applied QMRA, informed by occupational field surveillance, to estimate the potential risk for WWTP workers. Furthermore, we used simulations to test additional control strategies such as personal protective equipment (PPE). The QMRA was conducted for three WWTPs in Costa Rica with data collected between May 2020 and May 2021. Observation in each workplace showed a need for more consistent application of risk reduction strategies in the work environment, especially in behavior, infrastructure, and use of appropriate PPE. *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp., norovirus, and enterovirus genus were measured and detected in the WWTPs, and the treatment performance was unsatisfactory. As a result, the total health disease burden was higher than the benchmark for drinking water recommended by WHO (1.00×10^{-6} DALY per person per year) by between one and three magnitudes orders in all WWTPs for the three exposure scenarios (operation, maintenance, and visitors). The simulation demonstrated that using PPE could reduce the estimated disease burden by nearly two orders of magnitude. Still, this control measure did not reach a level below the benchmark risk (less than 1.00×10^{-6} DALY per person per year) for the WWTP workers. This study highlights the importance of using PPE with other control measures, such as automation or barriers, to isolate exposure sources. However, this study employed an uncommon approach in occupational health and hygiene, which combined field inspections, survival analysis, and QMRA, using field surveillance to understand the occupational environment and potential exposure routes, which is crucial for hazard identification and risk assessment. In addition, exposure modeling and QMRA were used to simulate different control scenarios, providing a robust estimate of potential risks associated with occupational exposure.

1. Introduction

Domestic wastewater treatment contributes to building habitable spaces and protects the population from infectious illnesses by reducing

microbial pollution before the environmental wastewater effluent discharges (Gerba and Pepper, 2019). However, the workers involved in operating and maintaining wastewater treatment plants (WWTP) are at risk of contact with biological agents (Corrao et al., 2012; Hung et al.,

* Corresponding author at: Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
E-mail address: eric.morales@ucr.ac.cr (E. Morales).

<https://doi.org/10.1016/j.mran.2023.100262>

Received 16 December 2022; Received in revised form 24 April 2023; Accepted 8 May 2023

Available online 11 May 2023

2352-3522/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.

2.2. Hazard identification and exposure assessment

Inspections (direct observation, workers' reports, and manager interviews) were conducted to describe the occupational hazards during the work shift at each WWTP. The inspections included hygiene measures recommended by the simplified biohazard assessment method and the Centers for Disease Control and Prevention of the United States (See Supplemental Information for details, Table S1) (CDC, 2022; Llorca et al., 2018). These hygiene measures were confirmed with manager interviews, including questions regarding occupational health measures, worker training, and personal protective equipment (PPE) use. The occupational hygiene measures were classified into administrative, infrastructure, and PPE. The compliance percentage score is based on the inspections performed through the presence/absence of basic biological hygiene measures; the ideal compliance is 100%.

Direct observation was performed during the entire working day and recorded in the instrument provided by WHO (2016b). Based on these data, the exposure scenarios for inhalable bioaerosols were defined for three types of individuals that might be exposed (exposure scenarios): operation workers, maintenance workers, and visitors (Table 1). Scenario 1 (operation) consists of continuous labor of inspection, monitoring, support, and/or maintenance during the entire work shift – 6 h/day. Scenarios 2 (maintenance workers) and 3 (visitors) required partial or sporadic entry into the WWTPs with less exposure during the working day. Hours of exposure per day and frequency of days per year are detailed in Table 1.

2.3. Pathogens sampling, detection, and quantification

A total of 78 wastewater samples were collected at the WWTPs monthly from May 2020 to May 2021 following the (Baird et al., 2017) protocols. Thirteen samples for the output and thirteen for the input were collected per each WWTPs, twenty-six samples in total from each WWTP. All samples were stored on ice and analyzed in the laboratory. *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp., norovirus, and enterovirus genus concentrations were analyzed for each wastewater sample. The following paragraphs describe the analytical procedure for each pathogen.

2.3.1. *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp

The wastewater samples were concentrated using Al₂(SO₄)₃-flocculation, as Karanis et al. (2006) described: 1 L from the influent and 5 L of effluent were processed for each sampling round. Before the concentration, the samples were inoculated with 100 µL (1 cyst/µL) of stained *Giardia* cysts (Solano et al., 2019) to estimate their respective recovery rate (See Supplemental Information for details, Table S2). After the concentration process, *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. detection were done using immunomagnetic separation (Dynal GC-Combo® system, Dynal Biotech ASA, Oslo, Norway) as per the manufacturer's instructions. The purified samples were stained with fluorescein isothiocyanate conjugated to monoclonal anti-*Cryptosporidium* and anti-*Giardia* antibodies (CeLLabs Pty Ltd., Australia). The entire volume of the concentrated samples (approximately 150 µL) was analyzed by fluorescence microscopy at a wavelength of 515±25 nm using an Olympus® CLX model BX43F. According to Method 1623's criteria, (oo) cysts were counted when presenting typical protozoan characteristics (size and morphology) and brilliant apple-green fluorescence (US, 2005), and the seed cysts showed the same fluorescence and pink background color.

2.3.2. Norovirus and enterovirus

Viral detection was conducted using the nitrocellulose membrane filtration absorption/elution technique described by Symonds et al. (2017). First, a 100–500 mL wastewater sample was concentrated (See Supplemental Information for details, Table S3). Then, according to the manufacturer's instructions, the RNA extraction from the concentrated samples was performed using RNeasyPower Water Kit (Qiagen).

Table 2
Quantitative microbial risk model parameter units, values, equations, distributions, and sources.

Parameter	Units	Values, distributions, and/or equation	Source
Exposure			
<i>Cryptosporidium</i> sp. (C <i>Cryptosporidium</i>) and <i>Giardia</i> sp. (C <i>Giardia</i>) concentration	(oo)cyst/L	Uniform (min and max estimate with censored data analysis)	This study
Norovirus (C <i>Norovirus</i>) and enterovirus (C <i>Enterovirus</i>) concentration	Number of copies/L	Uniform (min and max estimate with censored data analysis)	This study
Volume of water accidentally ingested (V)	L	Uniform (0.001–0.005)	(Fuhrmann et al.; Howard et al., 2006; Labite et al., 2010; Westrell et al., 2004)
Mask reductions (R)	Proportion of particles ingested using the mask	Point estimate (surgeon= 4 × 10 ⁻¹ , N95= 5 × 10 ⁻² , N100= 3 × 10 ⁻³)	(Das et al., 2021)
Dose-response			
r <i>Giardia</i>	–	Triangular (min=0.009798, mode=0.01982, max=0.03582)	(Rose et al., 1991)
Probability of infection <i>Giardia</i> sp. (P _{inf})	–	$P_{inf} = 1 - e^{-r \cdot dose}$	(Haas et al., 2014)
P <i>Cryptosporidium</i>	–	Point estimate (0.739)	(Messner and Berger, 2016)
Probability of infection <i>Cryptosporidium</i> sp. (P _{inf})	–	$P_{inf} = P * (1 - e^{-dose})$	(Messner and Berger, 2016)
β Norovirus GI for SE ⁺ (most prevalent in Costa Rica)	–	Point estimate (3.96)	(Léon Sánchez et al., 1999; Teunis et al., 2020)
α Norovirus GI for SE ⁺ (most prevalent in Costa Rica)	–	Point estimate (0.948)	(Léon Sánchez et al., 1999; Teunis et al., 2020)
₁ F ₁	–	Kummer's confluent hypergeometric function	(Teunis et al., 2020)
Probability of infection norovirus (P _{inf})	–	$P_{inf} = 1 - {}_1F_1(\alpha, \alpha + \beta, -dose)$	(Teunis et al., 2020)
K _{Enterovirus}	–	Uniforms (min= 0.00291, max= 0.00562)	(Cliver, 1981)
Probability of infection enterovirus (P _{inf})	–	$P_{inf} = 1 - e^{-k \cdot dose}$	(Haas et al., 2014)
Exposure days per year (n)	Days	Uniform per scenario	This study (Table 1)
Disability-adjusted life years (DALY's)			
Morbidity ratio (M)			
M <i>Cryptosporidium</i>	Proportion	Point estimate (0.50)	(Casman et al., 2000)
M <i>Giardia</i>	Proportion	Point estimate (0.45)	(Soller et al., 2016)
M <i>Enterovirus</i>	Proportion	Point estimate (0.90)	(Havelaar and Melse, 2003)
Probability of illness (P _{ill})	–	$P_{ill} = P_a * M$	(Haas et al., 2014)
Probability of illness for norovirus (P _{ill})	–	$P_{ill} = P_{inf} \cdot \eta$	(Carducci et al., 2018; Teunis et al., 2020)
η for norovirus GI and SE ⁺ (most prevalent in Costa Rica)	–	Point estimate (4.62 × 10 ⁻¹)	(Teunis et al., 2020)

(continued on next page)

Table 2 (continued)

Disability-adjusted life years (DALY's)			
r for norovirus GI and SE ⁺ (most prevalent in Costa Rica)	–	Point estimate (1.79 × 10 ¹)	(Teunis et al., 2020)
Probability of an outcome $P_{outcome}$	–	Point estimate (0.9999)	(Haas et al., 2014; Havelaar and Melse, 2003; Petterson et al., 2006)
Duration (D_i)	Years	Point estimate (0.01973)	(Haas et al., 2014; Havelaar and Melse, 2003; Petterson et al., 2006)
Severity (S_i)	–	Point estimate (0.067)	(Haas et al., 2014; Medema, 2009; Petterson et al., 2006)

Subsequently, cDNA was synthesized using the SuperScript™ IV First-Strand Synthesis System (ThermoFisher Scientific, MA, USA). Norovirus (G1) and enterovirus (A, B, C, D) were quantified using reverse transcription qPCR (RT-qPCR) as recommended by US EPA Method 1615 (Fout et al., 2015). The primers and probes used for the PCR were:

-Norovirus:

NorGIAF: 5' GCCATGTTCCGTTGGATG 3'.

NorGIAR: 5' TCCTTAGACGCCATCATCAT 3'.

NorGIAP: 5' 6FAM-TGTGGACAGGAGATCGCAATCTC-TAMRA 3'.

-Enterovirus:

EntF: 5' CCTCCGGCCCTGAATG 3'.

EntR: 5' ACCGGATGGCCAAATCCAA 3'.

EntP: 5' 6FAM-CGGA ACCGACTACTTTGGGTGTCCTG-TAMRA 3'.

A gblock gene fragment (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, USA) that contained the genomic region of interest was used to construct RT-qPCR standard curves for both assays. The standard curve dilutions ranged from 1×10^7 to 1×10^1 copies/2 μ L. Efficiencies and R² averages for the tested genes were 110% and 0.986 for norovirus, 80.81%, and 0.999 for enterovirus. In this work, the limits of quantification and detection for each gene were the minimum concentration (dilution) detected with a standard curve using triplicates. For both assays, 1×10^2 copies/2 μ L was established as the qPCR limit of detection. Therefore, the assay limits were established as 2.39×10^4 copies/L.

2.4. Statistical analysis of pathogen measurements

Descriptive statistics such as mean, standard deviation, and interval limits were calculated using nonparametric methods for this study's left-censored data to pathogen concentrations (non-detectable observations). The selection of the analysis technique was determined by the size of the datasets ($n=26$ per WWTP, $n=78$ total) and the proportion of left-censored observations (Helsel, 2011). All descriptive analyses were performed using maximum likelihood estimation with the package NADA from statistical language R (version 4.1.2. www.r-project.org) following the censored data methods described by Lee (2017). In addition, the Peto-Prentice test was used to assess the null hypothesis that there was no significant difference between the two analysis groups: (1) influent and effluent concentrations and (2) WWTPs concentrations. For all statistical tests, $\rho=0.05$ was defined.

2.5. Exposure assessment

The exposure assessment aimed to estimate the dose of the studied pathogens in the exposure scenarios defined by the hazard identification analysis (Section 2.1 and Table 1). Pathogen exposure routes were delimited, quantified, and characterized as recommended by Haas et al.

(2014); WHO (2016a). Initially, the pathogen exposure pathway was defined by functions of the nature of work and work time in each WWTP. As a result, pathogen exposure routes were modeled for each of the three previously determined scenarios: (1) operation workers, (2) maintenance workers, and (3) visitors (Table 1). Furthermore, for the exposure assessment, all the (oo)cysts and viral particles were assumed to be infectious in for the risk analysis. Additionally, pathogen reductions were simulated by mask type: surgical, N95, and N100 (Table 2). The daily pathogen dose was calculated using the following equation:

$$d = C * V * R * k_d \quad (1)$$

where, d = daily dose of the pathogen per person ((oo)cyst/day/L or genome copies/day/L), C = concentration of detectable pathogens in water ((oo)cyst/L or genome copies/L), V = volume of wastewater accidentally ingested (L/day/person), R = mask use reductions, k_d = mean decay rate (day^{-1}) (See Table 2 for parameters details).

2.6. Estimates of microbial risk of illness

The model was implemented using the statistical language R (version 4.1.2. www.r-project.org) for all the calculations, estimations, and visualizations. The risk assessment was performed using a Monte Carlo simulation with 10,000 iterations for each exposure scenario following the recommendations of Haas et al. (2014) (See Table 2 for parameters, equation details, and references). In this study, we used dose-response parameters for the accidental ingestion route of the workers considering the variations in their exposure time and labor (Table 1). Additionally, we simulated the risk with three different types of masks to assess possible PPE options for the workers. As a result, the probability distribution of the dose, risk of infection (daily and annual), and disease burden were obtained for all the exposure scenarios and mask use simulations. Finally, the DALY per person per year in the studied exposure scenarios was plotted using a box plot of the distributions and areas of the acceptability levels of risk.

The risk is defined by the probability of an adverse effect in an organism, system, or population caused under specified circumstances by exposure to an agent (pathogens in this study) (US EPA, 2011). As consequence thereof, the models used to estimate the microbial risk were based on the measurement of pathogen dose with health effects that are inferred using known mathematical dose-response relationships (Carducci et al., 2018). In this study, to estimate the probability of daily infection, the exponential model was used for *Giardia* sp. and enterovirus, while fractional Poisson was used for *Cryptosporidium* sp. and a Beta-Poisson model was used for norovirus (see Table 2 for parameters and equation details). Also, the combined daily risk (P_{comb}) for simultaneous exposure to all pathogens was estimated as proposed by Teunis et al. (1997), and the probability addition theorem using the following equation (Table 2):

$$P_{comb} = P_{i(g)} + P_{i(c)} + P_{i(n)} + P_{i(e)} - (P_{i(g)}P_{i(c)}P_{i(n)}P_{i(e)}) \quad (2)$$

where, $P_{i(g)}$ =*Giardia* sp. probability of infection, $P_{i(c)}$ =*Cryptosporidium* sp. probability of infection, $P_{i(n)}$ =norovirus probability of infection, $P_{i(e)}$ =enterovirus probability of infection.

The annual risk of infection per person per year was considered as multiple exposures to the studied pathogens using the theorem of independence from probability as Haas et al. (2014) recommended:

$$P_a = 1 - \prod_{i=1}^N (1 - P_i)^n \quad (3)$$

where, P_a = probability of annual infection by each pathogen and combined per person, P_i = probability of daily infection by pathogen per person, n = period over the assumption of constant daily infection probability per year (Tables 1 and 2).

The probability of annual infection was used to estimate the proba-

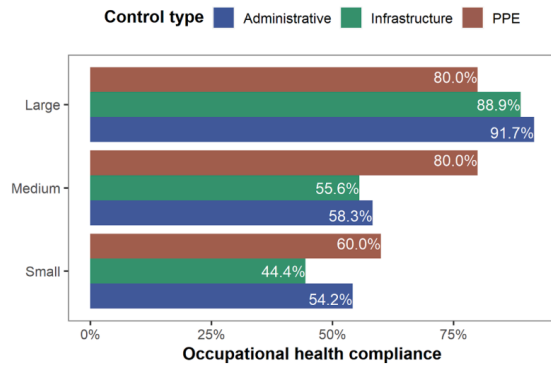


Fig. 1. Occupational health compliance with hygiene measures inspections in the three studied WWTPs (large, medium, and small).

bility of illness (P_{illinf}). The probability of illness is the conditional probability of the health outcome given an infection (Chen et al., 2021). This study used the probability of symptomatic gastroenteritis cases for each pathogen (Haas et al., 2014). For norovirus, we selected the SE+ parameter values proposed by Teunis et al. (2020) for the probability of illness, based on its high prevalence in Costa Rica (84.2% of the population) (Léon Sánchez et al., 1999). This combination of host susceptibility and norovirus GI and SE+ characteristics provides the most suitable approach for risk estimation.

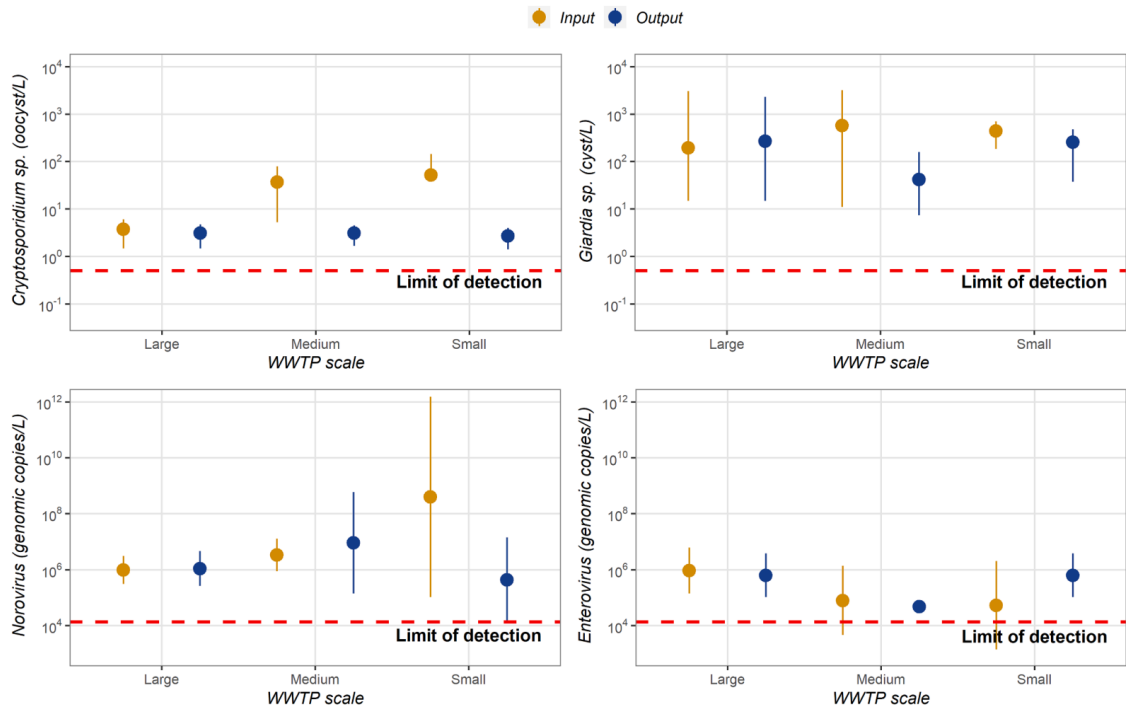
Disability-adjusted life years (DALYs) represent one year of healthy life lost for each disability or early death by some specific effect (Develeeschauwer et al., 2016). This metric translates the risk of disease burden as a global health burden per case of illness (Pettersen et al., 2006). A DALY in this study was mathematically defined as:

$$DALY = \sum_{i=1}^N P_{illinf} * P_{outcome|ill} * D_i * S_i \quad (4)$$

where, P_{illinf} = probability of illness, $P_{outcome|ill}$ = probability of an outcome (i) for a given illness, D_i = duration of the consequence in years (7.2 days/year) (Havelaar and Melse, 2003), S_i = severity weighting for the outcome (0.067) (see Table 2 for parameters and equation details) (Medema, 2009).

2.7. Model sensitivity analysis

Sensitivity analysis was performed to estimate the influence of each input parameter on the annual combined calculated probability of infection. First, the Spearman rank correlation coefficient was calculated between each input parameter and the estimated annual combined risk, following the methodology described by Haas et al. (2014). In addition, the relative impact was determined for the inputs on the computed output, and the relative importance of individual components was ascertained (Haas et al., 2014).



Lower and upper interval limit at 95%

Fig. 2. Estimated mean, minimum, and maximum concentrations by survival analysis of *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. norovirus, and enterovirus in the water samples of wastewater treatment plants (see Section 2.4. Statistical analysis for the calculation details).

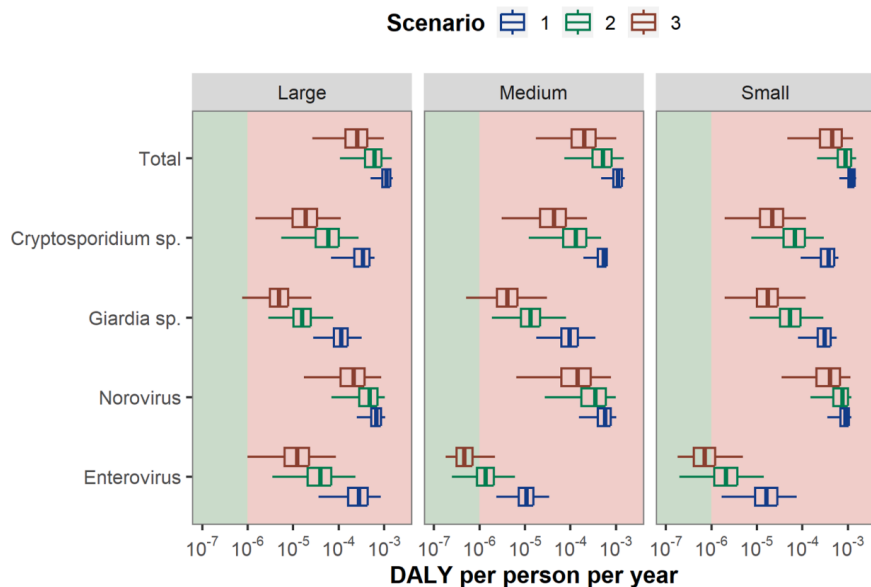


Fig. 3. DALYs per person per year by exposure scenarios for *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. norovirus, and enterovirus based on accidental wastewater consumption in the study's wastewater treatment plants. The boxplots represent DALYs per person per year by scenario; the green area marks the level below the benchmark risk level, and the red represents the level above the benchmark risk level.

3. Results and discussion

3.1. Occupational conditions and hazard identification

The study classified each WWTP's compliance into three hygiene measures categories: administrative, infrastructure, and PPE. The administrative controls at the large WWTP did not adjust space and labor for sensitive or vulnerable workers such as pregnant women, people with particular risk factors, or disabilities who work or visit the plant. Likewise, the medium size WWTP, made no adjustments for vulnerable workers and additionally lacked: security measures, protocols for external transport of wastewater samples and disinfection, prevention of pathogen dissemination by fomites and air, workers training about biological agents, and policies prohibiting smoking, eating, or drinking in the WWTP. The small plant presented all the previously mentioned issues, and additionally, lacked protocols for cleaning methods and communication of incidents protocols (Fig. 1). Regarding infrastructure controls, the main non-compliances in the three WWTPs were related to the absence and not use of biosecurity devices (sensors to detect biological agents), lack of cleaning of the space, and lack of emergency attention devices (eyewash, safety showers, and security washbasins). The large WWTP presented the highest compliance score apart from PPE use (mean compliance= 80.0%), whereas the small WWTP presented the lowest compliance in the three types of control (mean compliance= 52.9%). Finally, deficiencies were observed in all three sites regarding the use, surveillance, and cleaning of the PPE (this included masks, clothes, glasses, and boots), especially in hazardous activities such as infrastructure cleaning, maintenance, inspection, and sample collection.

The inspections detected diverse hazard sources in the three WWTPs (Fig. 1). The main hazard sources for the WWTP workers are hand-mouth contact, fecal-oral route (eating, drinking, or smoking), touching the face with contaminated hands, and working without PPE in environments with bioaerosols and surfaces polluted with wastewater (Dannoun and Nouban, 2021). In addition, organizational factors and

infection control training are fundamental to implementing prevention among workers to decrease the risk of infection (Corrao et al., 2012). In this study, the inspection of compliance with hygiene measures (administrative, infrastructure, and PPE) allowed the definition of more precise exposure scenarios to increase the practical application of the QMRA simulations of occupational health conditions improvement (Table 1 and Fig. 1) (Arroyave et al., 2021). Furthermore, the inspection of occupational health conditions was useful in identifying potential hazard sources and confirming the potential exposure to biological agents before QMRA application (Table 1 and Fig. 1). Previous studies in low- and middle-income countries have observed non-compliance with occupational health conditions for wastewater workers, particularly related to surveillance and infrastructure (Oza et al., 2022). Others have documented the need to improve occupational health conditions in WWTPs particularly related to PPE, training, health insurance, surveillance, effective policies, and regulations (Patwary et al., 2021). In this respect, the improvements needed in the WWTPs included in this study present similar deficiencies and need urgent improvements, especially related to behavioral factors, infrastructure factors, and the consistency in the proper use and maintenance of PPE.

3.2. Pathogen concentrations

All the studied pathogens were detected in each of the three WWTPs. Specifically, in the 78 total samples for each pathogen analyzed, the percentages of positive samples were as follows: *Cryptosporidium* sp. (65%), *Giardia* sp. (99%), norovirus (74%), and enterovirus (55%). For *Cryptosporidium* sp., the estimated highest concentration was detected at the input of the medium size WWTP (7.89×10^1 oocyst/L). Meanwhile, the lowest was detected at the input of the large WWTP (1.47×10^0 oocyst/L), and the mean reduction was 0.5-log (Fig. 2). Non-significant differences in the *Cryptosporidium* sp. concentrations were observed between the WWTPs ($p=0.10$) as well as the inputs-outputs of the treatment process at each plant (large $p=0.70$, medium $p=0.06$, small $p=0.40$). In the case of *Giardia* sp., the highest and lowest estimated

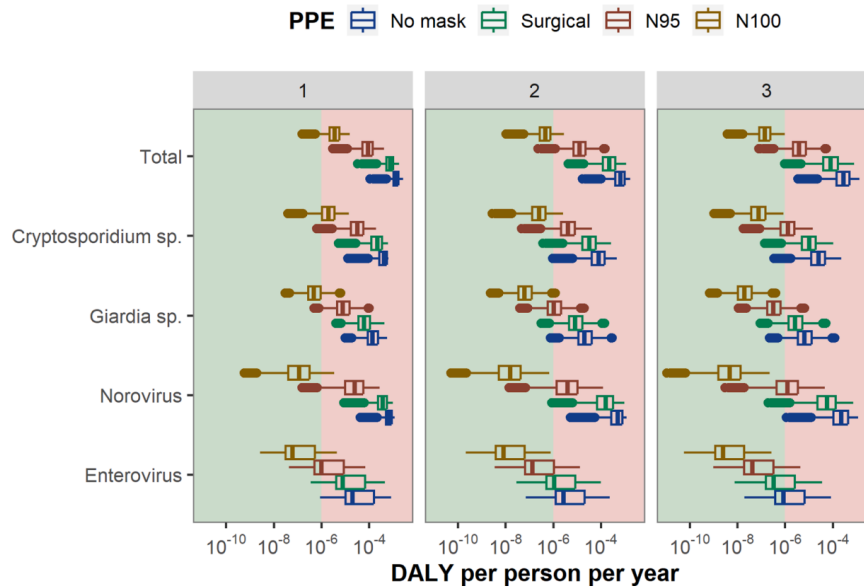


Fig. 4. DALYs for *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. norovirus, and enterovirus based on accidental wastewater consumption in the study's exposure scenarios and personal protective equipment (PPE) use simulation. The boxplots represent DALYs per person per year by scenario; the green area marks the level below the benchmark risk level, and the red represents the level above the benchmark risk level.

concentrations were detected in the medium WWTP (3.19×10^3 cyst/L at the input and 7.35×10^0 oocyst/L at the output, respectively), and the mean reduction was 0.25-log (Fig. 2). Non-significant differences of concentrations were observed between the WWTPs ($p=0.6$) and between inputs-outputs of the treatment process (large $p=0.60$, small $p=0.10$) except for the medium-scale ($p<0.001$).

The highest norovirus concentrations were observed at the input of the small WWTP (1.50×10^{12} copies/L), the lowest at the output of the medium (1.04×10^4 copies/L), and the mean reduction was 1-log. Significant differences were observed between the concentrations of the three WWTPs ($p<0.001$) (Fig. 2). On the other hand, non-significant differences were observed between the inputs-outputs of the treatment process (large $p=0.90$, small $p=0.50$) except for the medium-scale ($p=0.03$). The highest enterovirus genus concentrations were at the input of the large WWTP (6.03×10^6 copies/L) and the lowest at the input of the small (1.37×10^3 copies/L), and the mean reduction was 1-log. Significant differences were observed between the concentrations of the three WWTPs ($p<0.001$). Finally, non-significant differences were observed in the inputs-outputs of the treatment process (large $p=0.60$, small $p=0.07$) except on the medium-scale ($p=0.02$). The detection of viral pathogens using molecular methods such as qPCR could not differentiate between infectious and non-infectious viral particles. Therefore, lower concentrations of viral genomes in wastewater effluent does not necessarily indicate a reduction in the actual presence of infectious viruses in WWTPs. Nevertheless, limited viral (genome) reduction was observed and is no surprise given the limited secondary treatment employed at the studied WWTPs (Naughton and Rousselot, 2017). Our results showed a lower viral reduction compared to that reported by Wang et al. (2020) (3.5 to 4.5-log) in WWTPs using qPCR (Wang et al., 2020). However, it should be noted that the treatment processes described in Wang et al. (2020), study included both chemical and biological advanced processes, such as conventional activated sludge systems, biofilm processes for nitrification and denitrification,

and sedimentation.

Therefore, the non-difference between input-output for protozoa and virus could reveal the low capacity of pathogen reduction of the WWTPs studied (Fig. 2). Regarding concentration levels, our study found that *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. presented ranges similar to those previously described for domestic WWTPs (between 10^{-1} to 10^2 (oo) cyst) (Gerba and Pepper, 2019). For, norovirus, the concentrations we detected were in presented a similar range to other the previously described for domestic WWTPs (between 10^{-1} to 10^9 copies/L), except for the small WWTP (10^5 to 10^{12} copies/L) (Eftim et al., 2017). Finally, the enteroviruses concentrations presented higher ranges than typically reported in domestic WWTPs (between 10^1 and 10^2 copies/L; 5-log higher) (Gerba and Pepper, 2019).

3.3. Risk assessments for *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp., norovirus, and enterovirus and possible interventions to reduce risk of illness

The total health disease burden of gastroenteritis was higher than the benchmark recommended for drinking water by WHO (1.00×10^{-6} DALY per person per year) in the three exposure scenarios between one and three orders of magnitude in all three WWTPs (Table 1 and Fig. 3) (WHO, 2016a). Norovirus presented the highest DALY per person per year (mean scenario 1= 8.50×10^{-4} , mean scenario 2= 7.26×10^{-4} , and mean scenario 3= 4.51×10^{-4}), followed by *Cryptosporidium* sp. (mean scenario 1= 0.03×10^{-4} , mean scenario 2= 1.03×10^{-4} , and mean scenario 3= 3.56×10^{-5}) in all the exposure scenarios representing the most significant portion of the total DALYs. Finally, enterovirus genus presented the lowest disease burden (mean scenario 1= 1.14×10^{-4} , mean scenario 2= 1.81×10^{-5} , and mean scenario 3= 5.82×10^{-6}) and was the only pathogen with a level below the benchmark in at least two scenarios (scenario 3-visitors) (Fig. 3). In our study, the exposure scenarios modulated the results that suggest the relevance of the exposure time and frequency on the risk level, but this is not the only exposure factor to be considered for risk control. For example, in the case of enterovirus, the exposure scenario changes the

risk classification between below and above of the benchmark (Fig. 3). In contrast, the risk was above the benchmark for *Giardia* sp., *Cryptosporidium* sp., and norovirus in all scenarios. Thus, complementary control measures such as automatization of processes and barriers to isolate the agents' source are highly recommended in the studied WWTPs that usually contain high concentrations of pathogens, as we described in this study (Fig. 2) (Chen et al., 2021; Teixeira et al., 2013; Yan et al., 2021).

Some model parameters drive the global disease burden more than others; for example, variables such as pathogens of concern, high wastewater concentrations, and exposure parameters can significantly vary the level of risk (Sano et al., 2019). In our study, the disease burden levels for the different exposure scenarios were between one to three orders of magnitude higher than the benchmark. However, the decision to include norovirus elevated the total risk level due to its high concentrations in the three WWTPs. In addition, its particularities in dose-response patterns, host susceptibility variations, aggregation patterns in water, or detection methods can vary the risk of infection (Atmar et al., 2014; Lim et al., 2016; Teunis et al., 2008, 2020). Therefore, we adopted the infectivity and pathogenicity considerations that Teunis et al. (2020) recommended as the most suitable option.

The variability in exposure scenarios presented a challenge in comparing risk levels across different studies in occupational environments. It can be difficult to determine whether the estimated risk is similar in other studies due to differences in factors such as scenario definitions, water characteristics, and pathogens studied (Beamer et al., 2015; Carducci et al., 2016, 2018; Chen et al., 2021; de Matos Nascimento et al., 2020; Fuhrmann et al., 2019; Sampson et al., 2017; Yan et al., 2021). Nonetheless, as Carducci et al. (2016) described, the present results can be helpful in an occupational setting to establish exposure limits and risk control options regarding pathogens concentration, exposure times, or preventive actions.

In a simulated risk-reduction intervention, the use of PPE reduced the risk; the best option was the N100 mask because it reduced the risk to a level below the benchmark for scenarios 2-maintenance, and 3-visitors, but not for scenario 1-operation (Fig. 4). The mask use simulation had the greatest influence on enterovirus genus and smallest influence on norovirus. Still, the total risk, in general, was above the benchmark even with mask use. Meanwhile, the combined effect of PPE use and the frequency of exposure (scenarios) modified the level of risk observed in the present simulations by two orders of magnitude (Table 1 and Fig. 4). Despite the reductions by scenarios and mask use, the high concentrations of the pathogen in the studied WWTPs require alternative risk controls, as previously mentioned. Also, the epidemiologic conditions of the region imply a higher occupational risk for the studied pathogens considering their high prevalence.

Other studies based on bacterial QMRA with WWTP workers found risk levels below the benchmark after using PPE (N95 mask) with the reduction of almost two magnitude orders (Chen et al., 2021; Yan et al., 2021). Our study results show the same difference between no mask and N95 mask use, but the risk classification does not change with these reductions (below-above the benchmark) (Fig. 4). The modeled use of PPE as an occupational control measure showed significant risk reductions in our study and previous studies, especially with the N95 and N100 masks, with the potential to safeguard the health of the wastewater workers from infections. Thus, previous studies highly recommend mask use as PPE to prevent infection in occupational environments as WWTPs (Das et al., 2021; Kelly and Fussell, 2019).

Using QMRA in occupational environments is a valuable tool to simulate potential exposure scenarios and evaluate the control measures based on risk estimation benchmarks, which cannot be achieved using traditional occupational health assessment tools. Furthermore, the QMRA approach is helpful in the context of occupational hygiene, where the biological risk assessment is usually carried out with qualitative or semiquantitative tools that are limited in their ability to define the level of risk and the potential impact on the control measures with accuracy as

was performed in the present study (Carducci et al., 2016, 2018). However, despite these advantages, the combined use of the QMRA and conventional inspection of occupational environments allow an even more accurate assessment of the hazard sources, exposure, and level of risk, allowing for improved decision-making for occupational health.

It is relevant to mention that the complete elimination of the health risk in all the scenarios is impossible. Additionally, the dose-response models for the different illness mechanisms and the limited focus on specific pathogens in the wastewater can underestimate or overestimate the risk (Haas et al., 2014; Teixeira et al., 2013). Measures such as uncertainty control, the use of different methods such as Monte Carlo simulations, statistical survival analysis methods, and the use of field inspections to define the exposure route with more precision are just some strategies to improve the model (Chen et al., 2021; Lee, 2017; Petterson et al., 2006; Schmidt and Emelko, 2011; Yan et al., 2021). Meanwhile, the QMRA modeling can be improved by studying a new dose-response approach closest to the wastewater treatment workers or validating other approaches, such as Bayesian inference, to build the QMRA model (Yan et al., 2021). As a limitation of this study, the direct measurement of pathogens in the air was not feasible. In addition, the study focused on a limited group of agents, which may not account for other potential hazards that could impact occupational health. Despite these limitations, the field surveillance approach used in this study provided valuable insights into the occupational environment and the potential exposure routes for the studied agents, which is essential for the identification of hazards and exposure assessment. The study also used a combination of exposure modeling and QMRA, which allowed for the simulation of different control scenarios. As a result, it provided a robust estimate of the potential risks associated with occupational exposure.

3.4. Sensitivity analysis

Sensitivity analysis describes the relative impact of the computed Monte Carlo model inputs described as distributions on the estimated risk (output) (Haas et al., 2014). In this study, the pathogen concentrations (environmental factors) and the accidentally ingested volume were the most significant input on the risk estimations (Fig. 5). This result agrees with other studies of QMRA in WWTPs. Considering the high microbial concentrations in the wastewater, even low accidental ingestion volume implied a high infection risk (Chen et al., 2021; Fuhrmann et al., 2019). The most influential parameter in the total risk of illness model (including all the pathogens) is the norovirus concentration (rank corr 0.72). Followed by behavioral factors such as accidentally ingested volume of wastewater (rank corr 0.65). The third controlling factors were *Giardia* sp. concentration (rank corr. 0.33). Otherwise, *Cryptosporidium* sp. concentrations showed the lowest influence over the total risk estimation (rank. corr. -0.02). This pattern can be explained by the combine probabilities properties, where the final probability is a product of high values (the norovirus has a higher risk) (Figs. 3 and 4). For example, in the risk estimation, the highest contributor was norovirus, and consequently, it presents the most significant influence in the combined infection risk calculation. On the other hand, *Cryptosporidium* sp. showed the lowest influence in the combined infection risk. The pathogen concentration is the most influential factor in the individual risk estimation (rank. corr: 0.86 *Cryptosporidium* sp., 0.78 *Giardia* sp., 0.79 norovirus, 0.90 enterovirus) (see Fig S1. for more details). Accidental ingested was the second most influential factor for individual risk estimations (rank corr. 0.33–0.53). These results suggest that the primary source of the risk was the pathogens concentrations in the wastewater, followed by behavioral factors such as accidental ingestion and the undetermined influence of the dose-response parameters. Thus, one recommended intervention strategy is to reduce the pathogens' concentrations or isolate the agents' source to reduce the major risk component (Fuhrmann et al., 2019). Finally, the exposure scenarios are moderately influenced by the

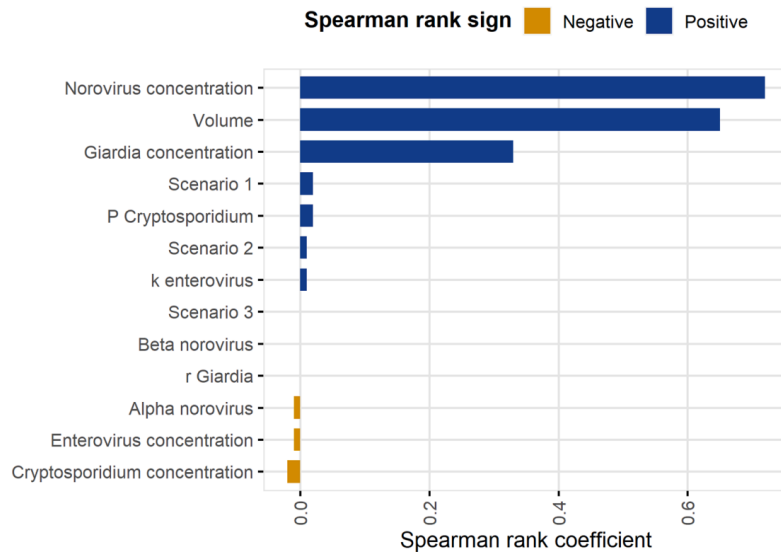


Fig. 5. Tornado plot to display the ranking inputs of the model over the combined risk infection probability for the studied pathogens. The bars show the correlations Spearman rank coefficient.

individual pathogen risk estimations (rank. corr. 0.01–0.44). Even though the scenarios showed variable influence on individual and combined risks, considering them assists in identifying targeted improvement actions to reduce risk levels based on critical factors such as pathogen concentrations and ingestion volumes (Yan et al., 2021).

4. Conclusion

This study used field inspections to assess the occupational environment and define exposure scenarios for workers in wastewater treatment plants (WWTPs). Results showed that occupational exposure to the studied pathogens is hazardous during the entire treatment process, and the annual disease burden exceeds the benchmark defined by WHO for drinking water (1.00×10^{-6} DALY per person per year) (2016a). Modeling exposure factors such as frequency, periods, and personal protective equipment (PPE) use was valuable in determining risk in occupational environments, contributing to better risk control and decision-making.

In contrast with the typical semi-quantitative or qualitative risk evaluations commonly used in Latin America, our risk estimation approach involved using QMRA informed with context-specific data on hazards and exposure. Furthermore, it leveraged left-censored data techniques (e.g., survival analysis) to appropriately characterize pathogen distributions. Finally, the QMRA framework described was used to assess potential risk management options. In addition to identifying interventions to reduce risk, this study contributes to the global QMRA literature and is the first QMRA on occupational risk in Costa Rica.

CRedit authorship contribution statement

Eric Morales: Conceptualization, Project administration, Formal analysis, Methodology, Data curation, Visualization, Funding acquisition, Writing – original draft. **Andrei Badilla:** Conceptualization, Project administration, Formal analysis, Data curation, Methodology, Funding acquisition. **Pablo Rivera:** Conceptualization, Project administration, Data curation, Formal analysis, Methodology, Visualization, Funding acquisition. **Ernesto Alfaro:** Conceptualization, Project

administration, Formal analysis, Data curation, Methodology, Funding acquisition. **Erin M. Symonds:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Writing – original draft. **Kenia Barrantes:** Conceptualization, Formal analysis, Data curation, Methodology. **Clemens Ruepert:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Supervision, Writing – original draft. **Jennifer Crowe:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Supervision, Writing – original draft. **Luz Chacón:** Conceptualization, Project administration, Formal analysis, Methodology, Data curation, Supervision, Funding acquisition, Writing – original draft.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

We recognize the Vice-rectory of Research at the University of Costa Rica (Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica) and National Water Laboratory (LNA), Costa Rican Institute of Aqueducts and Sewers for funding and supporting our research.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.mran.2023.100262](https://doi.org/10.1016/j.mran.2023.100262).

References

- Arroyave, W.D., Mehta, S.S., Guha, N., Schwingl, P., Taylor, K.W., Glenn, B., Radke, E.G., Vilahur, N., Carreón, T., Nachman, R.M., Lunn, R.M., 2021. Challenges and recommendations on the conduct of systematic reviews of observational epidemiologic studies in environmental and occupational health. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 31 (1), 21–30. <https://doi.org/10.1038/s41370-020-0228-0>.
- Atmar, R.L., Opekun, A.R., Gilger, M.A., Estes, M.K., Crawford, S.E., Neill, F.H., Ramani, S., Hill, H., Ferreira, J., Graham, D.Y., 2014. Determination of the 50% human infectious dose for Norwalk virus. *J. Infect. Dis.* 209 (7), 1016–1022. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit620>.

- Baird, R., Eaton, A., Rice, E., Bridgewater, L., 2017. Standard Methods for the examination of water and wastewater, 23rd ed. American Public Health Association (APHA).
- Beamer, P.L., Plotkin, K.R., Gerba, C.P., Sifuentes, L.Y., Koenig, D.W., Reynolds, K.A., 2015. Modeling of human viruses on hands and risk of infection in an office workplace using micro-activity data. *J. Occup. Environ. Hyg.* 12 (4), 266–275. <https://doi.org/10.1080/15459624.2014.974808>.
- Betancourt, W.Q., Shulman, L., 2017. Polioviruses and other enteroviruses. *Global Water Pathog. Project*. <https://doi.org/10.14321/waterpathogens.15>.
- Bruni, E., Simonetti, G., Bovone, B., Casagrande, C., Castellani, F., Riccardi, C., Pomata, D., Di Filippo, P., Federici, E., Buiaelli, F., Uccelletti, D., 2020. Evaluation of bioaerosol bacterial components of a wastewater treatment plant through an integrate approach and *in vivo* assessment. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17 (1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijerph17010273>.
- Carducci, A., Donzelli, G., Cioni, L., Federigi, I., Lombardi, R., Verani, M., 2018. Quantitative microbial risk assessment for workers exposed to bioaerosol in wastewater treatment plants aimed at the choice and setup of safety measures. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15 (7). <https://doi.org/10.3390/ijerph15071490>.
- Carducci, A., Donzelli, G., Cioni, L., Verani, M., 2016. Quantitative microbial risk assessment in occupational settings applied to the airborne human adenovirus infection. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13 (7). <https://doi.org/10.3390/ijerph13070733>.
- Casman, E.A., Fischhoff, B., Palmgren, C., Small, M.J., Wu, F., 2000. An integrated risk model of a drinking-water-borne cryptosporidiosis outbreak. *Risk Anal. Off. Publ. Soc. Risk Anal.* 20 (4), 495–511. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.204047>.
- CDC, WHO., 2015. Enterovirus surveillance guidelines: guidelines for enterovirus surveillance in support of the Polio Eradication Initiative. World Health Organization. Regional Office for Europe. In: Enterovirus surveillance guidelines. WHO Regional Office for Europe. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/344375WHO>.
- Certad, G., Viscogliosi, E., Chabé, M., Caccio, S.M., 2017. Pathogenic mechanisms of cryptosporidium and giardia. *Trends Parasitol.* 33 (7), 561–576. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.02.006>.
- Chacón, L., Barrantes, K., Santamaría-Ulloa, C., Solano, M., Reyes, L., Taylor, L., Valiente, C., Symonds, E.M., Achí, R., 2020. A somatic coliphage threshold approach to improve the management of activated sludge wastewater treatment plant effluents in resource-limited regions. *Appl. Environ. Microbiol.* 86 (17), 1–16. <https://doi.org/10.1128/AEM.00616-20>.
- Chalmers, R.M., 2014. Cryptosporidium. *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition*. Elsevier, pp. 287–326. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00016-0> (Second).
- fei Chen, Y., huan, Yan, C., Yang, Y., Ma, J., 2021. Quantitative microbial risk assessment and sensitivity analysis for workers exposed to pathogenic bacterial bioaerosols under various aeration modes in two wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.* 755, 142615. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142615>.
- Cliver, D.O., 1981. Experimental infection by waterborne enteroviruses. *J. Food Prot.* 44 (11), 861–865. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-44.11.861>.
- Corrao, C.R.N., Mazzotta, A., La Torre, G., De Giusti, M., 2012. Biological risk and occupational health. *Ind. Health* 50 (4), 326–337. <https://doi.org/10.2486/indhealth.MS1324>.
- da Silva Poló, T., Peiró, J.R., Mendes, L.C.N., Ludwig, L.F., de Oliveira-Filho, E.F., Bucardo, F., Huynen, P., Melin, P., Thiry, E., Mauroy, A., 2016. Human norovirus infection in Latin America. *J. Clin. Virol.* 78, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.03.016>.
- Dada, A.C., Gyawali, P., 2020. Quantitative microbial risk assessment (QMRA) of occupational exposure to SARS-CoV-2 in wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.*, 142989 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142989>.
- Dannoun, Y., Nouban, F., 2021. Occupational health hazards and risk assessments in wastewater treatment plant. *Int. J. Adv. Eng. Sci. Appl.* 2 (2), 21–25. <https://doi.org/10.47346/ijaesa.v2i2.83>.
- Das, S., Sarkar, S., Das, A., Das, S., Chakraborty, P., Sarkar, J., 2021. A comprehensive review of various categories of face masks resistant to Covid-19. *Clin. Epidemiol. Glob. Health* 12, 2213–3984. <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2021.100835>.
- de Matos Nascimento, A., de Paula, V.R., Dias, E.H.O., da Costa Carneiro, J., Otenio, M. H., 2020. Quantitative microbial risk assessment of occupational and public risks associated with bioaerosols generated during the application of dairy cattle wastewater as biofertilizer. *Sci. Total Environ.* 745, 140711 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140711>.
- Develeeschauer, B., McDonald, S., Haagsma, J., Praet, N., Havelaar, A., Speybroeck, N., 2016. The DALY Calculator - Graphical User Interface for Probabilistic DALY Calculation in R.
- DuPont, H.L., Chappell, C., Sterling, C.R., Okhuysen, P.C., Rose, J.B., Jakubowski, W., 1995. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *N. Engl. J. Med.* 332 (13), 1204. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.2576.1204-a>.
- Eftim, S.E., Hong, T., Soller, J., Boehm, A., Warren, I., Ichida, A., Nappier, S.P., 2017. Occurrence of norovirus in raw sewage – a systematic literature review and meta-analysis. *Water Res.* 111, 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.017>.
- Fout, G.S., Cashdollar, J.L., Varughese, E.A., Parshionkar, S.U., Grimm, A.C., 2015. EPA method 1615. Measurement of enterovirus and norovirus occurrence in water by culture and RT-qPCR. I. collection of virus samples. *J. Vis. Exp.* 2015 (97), 1–7. <https://doi.org/10.3791/52067>.
- Guidance For Reducing Health Risks to Workers Handling Human Waste or Sewage, 2022. Center for Disease Control and Prevention website. https://www.cdc.gov/healthywater/global/sanitation/workers_handlingwaste.htmlCDC.
- Fuhrmann, S., Nauta, M., Winkler, M., 2019. Disease Burden Due to Gastroenteritis Infections Among People Living Along Wastewater Reuse System In Hanoi, Vietnam. In: Rose, J.B., Jiménez-Cisneros, B. (Eds.), *Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management* (Global Water Pathogen Project). Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO. <https://doi.org/10.14321/waterpathogens.68> (S. Petterson and G. Medema (eds) Part 5 Case Studies).
- Fuhrmann, S., Winkler, M.S., Stalder, M., Niwagaba, C.B., Babu, M., Kabatereine, N.B., Halage, A.A., Utzinger, J., Cissé, G., Nauta, M., 2016. Disease burden due to gastrointestinal pathogens in a wastewater system in Kampala, Uganda. *Microbiol. Risk Anal.* 4, 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2016.11.003>.
- Gerba, C.P., Pepper, I.L., 2019. Municipal wastewater treatment. *Environmental and Pollution Science*, 3rd ed. Elsevier Inc, pp. 583–606. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00025-9>.
- Haas, C.N., Rose, J.B., Gerba, C.P., 2014. *Quantitative Microbial Risk Assessment*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc.
- Havelaar, A.H., & Melse, J.M. (2003). Quantifying public health risk in the WHO guidelines for drinking water quality. A burden of disease approach. In RIVM report 734301022.
- Hamilton, K.A., Ahmed, W., Rauh, E., Rock, C., McLain, J., Muenich, R.L., 2020. Comparing microbial risks from multiple sustainable waste streams applied for agricultural use: Biosolids, manure, and diverted urine. *J. Environ. Sci. Health* 14, 37–50. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.01.003>.
- Helsel, D.R., Scott, M., Barnett, V., 2011. Statistics for Censored Environmental Data using Minitab® and R. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118162729> (Second).
- Howard, G., Pedley, S., Tibatemwa, S., 2006. Quantitative microbial risk assessment to estimate health risks attributable to water supply: can the technique be applied in developing countries with limited data? *J. Water Health* 4 (1), 49–65. <https://doi.org/10.2166/wh.2005.058>.
- Hung, H.F., Kuo, Y.M., Chien, C.C., Chen, C.C., 2010. Use of floating balls for reducing bacterial aerosol emissions from aeration in wastewater treatment processes. *J. Hazard. Mater.* 175 (1–3), 866–871. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.090>.
- Karanis, P., Sotiariadou, I., Kartashev, V., Kourenti, C., Tsvetkova, N., Stojanova, K., 2006. Occurrence of Giardia and Cryptosporidium in water supplies of Russia and Bulgaria. *Environ. Res.* 102 (3), 260–271. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.05.005>.
- Kataki, S., Patowary, R., Chatterjee, S., Vairale, M.G., Sharma, S., Dwivedi, S.K., Kamboj, D.V., 2022. Bioaerosolization and pathogen transmission in wastewater treatment plants: microbial composition, emission rate, factors affecting and control measures. *Chemosphere* 287 (P3), 132180. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132180>.
- Kelly, F.J., Fussell, J.C., 2019. Improving indoor air quality, health and performance within environments where people live, travel, learn and work. *Atmos. Environ.* 200 (November 2018), 90–109. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.11.058>.
- Labite, H., Lunani, I., Van Der Steen, P., Vairavamoorthy, K., Drechsel, P., Lens, P., 2010. Quantitative microbial risk analysis to evaluate health effects of interventions in the urban water system of Accra, Ghana. *J. Water Health* 8 (3), 417–430. <https://doi.org/10.2166/wh.2010.021>.
- Lee, L., 2017. *Nondetects and Data Analysis For Environmental Data (R Package)*. R Foundation for Statistical Computing.
- León Sánchez, R., Marín Rojas, R., Morales Cordero, A., 1999. Distribución de los fenotipos y genotipos de sistema Kell en la población de Costa Rica. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas* 16, 33–37. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29481999000100008.
- Lim, K.Y., Wu, Y., Jiang, S.C., 2016. Assessment of Cryptosporidium and norovirus risk associated with de facto wastewater reuse in Trinity River, Texas. *Microbiol. Risk Anal.* 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2016.11.002>.
- Llorca, R.J.L., Soto, F.P., Benavent, N.S., Llorca, R.J.L., 2018. Manual práctico para la evaluación del riesgo biológico en actividades laborales diversas. Biogaval-Neo. Centro Territorial de Valencia del INVASSAT. https://invassat.gva.es/document/s/161660384/161741765/Biogaval_neo_2018_cs/ealb4c14-8033-4c8b-8779-c9ef55db45ac.
- Lu, R., Frederiksen, M.W., Uhrbrand, K., Li, Y., Østergaard, C., Madsen, A.M., 2020. Wastewater treatment plant workers' exposure and methods for risk evaluation of their exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 205 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111365>.
- Medema, G., 2009. Risk assessment of cryptosporidium in drinking water risk assessment of cryptosporidium in drinking water. *World Health Organization (I). WHO*.
- Messner, M.J., Berger, P., 2016. Cryptosporidium infection risk: results of new dose-response modeling. *Risk Anal.* 36 (10), 1969–1982. <https://doi.org/10.1111/risa.12541>.
- Morales, E., Ibarra, G., Reyes, L., Barrantes, K., Achí, R., Chacón, L., 2022. Disease burden from simultaneous exposure of *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. and land use vulnerability assessment in a Costa Rican drinking water system. *Microbiol. Risk Anal.* 21 (September 2021), 100213 <https://doi.org/10.1016/j.mran.2022.100213>.
- Naughton, C., Rousselot, O., 2017. Activate Sludge (Issue September). *Global Water Pathogens Project*. <http://www.waterpathogens.org/book/activated-sludge>.
- Orner, K.D., Symonds, E.M., Madrigal-Solis, H., Orozco-Montoya, R.A., Fonseca-Sánchez, A., Verbyla, M.E., Cairns, M.R., 2021. Holistically managing pathogens and nutrients in urbanizing tropical towns: can sanitation technologies create safer conditions for beach recreation? *ACS EST Water*. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.0c00264>.
- Oza, H.H., Lee, M.G., Boisson, S., Pega, F., Medlicott, K., Clasen, T., 2022. Occupational health outcomes among sanitation workers: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 240, 113907. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113907>.

- Patwary, M., Hossain, R., Shui, F., Ashraf, S., Sultana, R., Alam, A., 2021. Health, safety and dignity of sanitation workers. *Ann. Work Expo. Health* 1–2. <https://doi.org/10.1596/32640>.
- Petterson, S., Signor, R., Ashbolt, N., Roser, D., 2006. QMRA Methodology. University of New South Wales (Issue April).
- Rendtorff, R., Holt, C., 1955. The experimental transmission of human intestinal protozoan parasites. *Am. J. Epidemiol.* 61 (3), 321–325. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119756>.
- Robertson, L.J., 2014. *Giardia duodenalis*. Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition. Elsevier, pp. 375–405. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00019-6> (Second).
- Rose, J.B., Haas, C.N., Regli, S., 1991. Risk assessment and control of waterborne giardiasis. *Am. J. Public Health* 81 (6), 709–713. <https://doi.org/10.2105/AJPH.81.6.709>.
- Sampson, A., Owusu-Ansah, E., de, G.J., Mills-Robertson, F.C., Ayi, I., Abaidoo, R.C., Hald, T., Permin, A., 2017. Probabilistic quantitative microbial risk assessment model of farmer exposure to *Cryptosporidium* spp. in irrigation water within Kumasi Metropolitan-Ghana. *Microbial. Risk Anal.* 6 (June), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2017.06.001>.
- Sano, D., Haas, C.N., Rose, J.B., 2019. A QMRA Framework for Sanitation Treatment Decisions. Michigan State University, Michigan. <http://www.waterpathogens.org/book/a-QMRA-framework-for-sanitation-treatment-decisions>.
- Schmidt, P.J., Emelko, M.B., 2011. QMRA and decision-making: are we handling measurement errors associated with pathogen concentration data correctly? *Water Res.* 45 (2), 427–438. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.042>.
- Shen, X., Qiu, F., Li, G., Zhao, M., Wang, J., Chen, C., Zhao, L., Qi, J.J., Liu, H., Zhang, Y., He, X., Wang, L., Feng, Z., Ma, X., 2019. A case control study on the prevalence of enterovirus in children samples and its association with diarrhea. *Arch. Virol.* 164 (1), 63–68. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-4021-5>.
- Singh, N.K., Sanghvi, G., Yadav, M., Padhiyar, H., Thanki, A., 2021. A state-of-the-art review on WWTP associated bioaerosols: microbial diversity, potential emission stages, dispersion factors, and control strategies. *J. Hazard. Mater.* 410 (2021), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124686>.
- Solano, M., Morales, E., Chacón, L.M., Cordero, E., Reyes, L., Barrantes, K., Achi, R., 2019. Low cost internal controls for detection of *Giardia* cysts in water samples. *Int. Parasitol.* 71 (April), 177–179. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.04.012>.
- Soller, J.A., Eftim, S., Wade, T., Ichida, A., Clancy, J., Johnson, T., Schwab, K., Ramirez, G., Nappier, S., Ravenscroft, J., 2016. Use of quantitative microbial risk assessment to improve interpretation of a recreational water epidemiological study. *Microbial. Risk Anal.* 1, 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2015.04.001>.
- Symonds, E.M., Young, S., Verbyla, M.E., McQuaig-Ulrich, S.M., Ross, E., Jiménez, J.A., Harwood, V.J., Breitbart, M., 2017. Microbial source tracking in shellfish harvesting waters in the Gulf of Nicoya, Costa Rica. *Water Res.* 111, 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.004>.
- Szylak-Szydłowski, M., Kulig, A., Miałkiewicz-Pęska, E., 2016. Seasonal changes in the concentrations of airborne bacteria emitted from a large wastewater treatment plant. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 115, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.07.008>.
- Teixeira, J.V., Miranda, S., Monteiro, R.A.R., Lopes, F.V.S., Madureira, J., Silva, G.V., Pestana, N., Pinto, E., Vilar, V.J.P., Boaventura, R.A.R., 2013. Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. *Environ. Monit. Assess.* 185 (1), 59–72. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2533-0>.
- Teunis, P.F.M., Le Guyader, F.S., Liu, P., Ollivier, J., Moe, C.L., 2020. Noroviruses are highly infectious but there is strong variation in host susceptibility and virus pathogenicity. *Epidemics* 32 (June), 100401. <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2020.100401>.
- Teunis, P.F.M., Medema, G.J., Kruidenier, L., Havelaar, A.H., 1997. Assessment of the risk of infection by *Cryptosporidium* or *Giardia* in drinking water from a surface water source. *Water Res.* 31 (6), 1333–1346. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00387-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00387-9).
- Teunis, P.F.M., Moe, C.L., Liu, P., Miller, S.E., Lindesmith, L., Baric, R.S., Pendu, J.L., Calderon, R.L., 2008. Norwalk Virus: how Infectious is It? *J. Med. Virol.* 1476, 1468–1476. <https://doi.org/10.1002/jmv>.
- Uhrbrand, K., Schultz, A.C., Koivisto, A.J., Nielsen, U., Madsen, A.M., 2017. Assessment of airborne bacteria and noroviruses in air emission from a new highly-advanced hospital wastewater treatment plant. *Water Res.* 112, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.046>.
- US EPA. (2005). Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in Water by Filtration/IMS/FA. In US EPA. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-07/documents/epa-1623.pdf>.
- US EPA. (1998). National Primary Drinking Water Regulations: Disinfectants and Disinfection Byproducts: 40 CFR 9, 141, 142. *Federal Register of the United States Government*. Document number 98-32887. In US EPA. <https://www.federalregister.gov/documents/1998/12/16/98-32887/national-primary-drinking-water-regulations-disinfectants-and-disinfection-byproducts>.
- US EPA. (2011). Exposure factors handbook. In Office of Research and Development, Washington (Issue September 2011). <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=236252>.
- Wang, H., Neyvaldt, J., Enache, L., Sikora, P., Mattsson, A., Johansson, A., Lindh, M., Bergstedt, O., Norder, H., 2020. Variations among viruses in influent water and effluent water at a wastewater plant over one year as assessed by quantitative PCR and metagenomics. *Appl. Environ. Microbiol.* 86 (24), 1–14. <https://doi.org/10.1128/AEM.2073-20>.
- Westrell, T., Schönning, C., Stenström, T.A., Ashbolt, N.J., 2004. Integration of QMRA and HACCP for management of pathogens in wastewater and sewage sludge treatment and reuse. *Water Sci. Technol.* 50 (2), 23–30.
- WHO, 2016a. Quantitative Microbial Risk Assessment: Application for Water Safety Management. World Health Organization. <https://doi.org/10.1002/9781118910030> (World Health Organization (ed.)).
- WHO, 2016b. Sanitation Safety Planning Manual For Safe Use and Disposal of wastewater, Greywater and Excreta, 1st ed. World Health Organization <https://apps.who.int/iris/handle/10665/171753>.
- Yan, C., Leng, Y.L., Wu, J.T., 2021. Quantitative microbial risk assessment for occupational health of temporary entrants and staffs equipped with various grade PPE and exposed to microbial bioaerosols in two WWTPs. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 94 (6), 1327–1343. <https://doi.org/10.1007/s00420-021-01663-5>.
- Yezli, S., Otter, J.A., 2011. Minimum infective dose of the major human respiratory and enteric viruses transmitted through food and the environment. *Food Environ. Virol.* 3 (1), 1–30. <https://doi.org/10.1007/s12560-011-9056-7>.
- Zanetti, R.N., Girardi, V., Spilki, F.R., Mena, K., Westphalen, A.P.C., da Costa Colares, E. R., Pozzebon, A.G., Etchepare, R.G., 2021. Quantitative microbial risk assessment of SARS-CoV-2 for workers in wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.* 754, 142163 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142163>.
- Zhang, M., Chen, X., Wang, W., Li, Q., Xie, Z., 2022. Genetic characteristics of Coxsackievirus A6 from children with hand, foot and mouth disease in Beijing, China, 2017–2019. *Infect. Genet. Evol.* 106 (October), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105378>.

Anexo 8. Requisitos e instrucciones de la revista científica donde se sometió el artículo 2 (en proceso de revisión).

23/5/23, 9:53

Envíos | Medicina y Seguridad del Trabajo



[Inicio](#) / [Envíos](#)

Envíos

El registro y el inicio de sesión son necesarios para enviar elementos en línea y para comprobar el estado de los envíos recientes. [Ir a Iniciar sesión](#) a una cuenta existente o [Registrar](#) una nueva cuenta.

Lista de comprobación para la preparación de envíos

Como parte del proceso de envío, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores/as aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

✓	La petición no ha sido publicada previamente, ni se ha presentado a otra revista (o se ha proporcionado una explicación en «Comentarios al editor»).
✓	La carta de presentación se ha introducido como un texto en el campo «Comentarios al editor».
✓	La página del título se ha elaborado según las plantillas para la elaboración de originales de la revista.
✓	El cuerpo del artículo no contiene los nombres de los autores ni sus centros de trabajo y se ha elaborado según las plantillas para la elaboración de originales de la revista.
✓	El texto cumple con los requisitos y normas de estilo indicados en las Normas para autoras/es.
✓	En el paso 3 "Introducir los metadatos del envío" se deben consignar todos los autores con su filiación y dirección de email.
✓	Si se aporta material sujeto a copyright o que se necesite de previa autorización para su publicación, se deberá adjuntar las autorizaciones correspondientes como archivos anexos.

Directrices para autores/as

1. Requisitos generales

1.1. Adherencia al estilo Vancouver

Esta revista se adhiere al estilo Vancouver, formalmente conocido como «recomendaciones de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas: escribir y editar para publicaciones biomédicas elaborados por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas», cuyo texto oficial se encuentra disponible en: <http://www.icmje.org/recommendations/>

La falta de atención de tales recomendaciones, así como de las presentes normas, producirá un retraso en el proceso editorial y puede ser causa de la inaceptación del trabajo.

1.2. Originalidad de los trabajos

No se aceptarán trabajos publicados anteriormente ni presentados al mismo tiempo a otra revista. Sí pueden ser considerados trabajos presentados previamente como comunicación a congresos siempre que ésta haya sido parcial y el trabajo desarrolle o extienda el objeto de la investigación.

Podrán admitirse trabajos que hayan sido publicados parcialmente (por ejemplo: la metodología empleada, parte de los resultados, la revisión bibliográfica previa, etc.), siempre que se haga constar claramente, tal circunstancia, en el texto de la publicación.

1.3. Ética en los estudios y experimentos

Cuando se presenten estudios realizados en seres humanos, se indicará que han sido autorizados por el Comité Ético de Investigación Clínica correspondiente y en todo caso se garantizará el cumplimiento de la Declaración de Helsinki de 1975, con sus sucesivas revisiones. En especial se deberá informar que los datos de pacientes se han obtenido tras la firma de un consentimiento informado cuando éste sea necesario. Del mismo modo, los autores deberán declarar que se han seguido los protocolos establecidos por sus respectivos centros sanitarios para acceder a los datos de las historias clínicas a los fines de poder realizar este tipo de publicación con finalidad de investigación/divulgación para la comunidad científica.

Cuando se realicen experimentos con animales, se revelará si se han seguido las directrices de la institución o de un consejo de investigación nacional o internacional; o si se ha tenido en cuenta alguna

ley nacional sobre cuidados y usos de animales de laboratorio.

1.4. Autoría

Sólo figuran como autores aquellas personas que hayan contribuido intelectualmente de forma sustancial al desarrollo del trabajo, según las recomendaciones de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas ([Ver política de contribución de autorías](#)).

1.5. Conflicto de interés

Los autores de cualquier trabajo remitido a la revista tienen la responsabilidad de reconocer y declarar la existencia de conflicto de intereses de tipo económico o de otro tipo que pudiera suponer un sesgo del trabajo. Además de en la carta de presentación, en el texto del artículo se debe especificar todas las ayudas económicas recibidas que han hecho posible la realización del trabajo así como otras relaciones de tipo económico o personal relacionadas con la misma.

La no existencia de conflicto de interés también debe reflejarse en el texto del artículo.

1.6. Uso de lenguaje inclusivo

Esta revista realiza una constante labor para favorecer la igualdad de género, por lo que sugiere seguir las recomendaciones de lenguaje inclusivo contenidas en nuestra [política de igualdad de género](#).

2. Normas de preparación y envío de los trabajos

Los manuscritos, en **castellano o inglés**, deben elaborarse según las plantillas utilizadas por esta revista ([Descargar plantillas](#)) y remitirse por vía electrónica a través de la página Web de la revista ([Medicina y Seguridad del Trabajo](#)). En dicha web también se podrá realizar el seguimiento del proceso editorial.

En los siguientes enlaces se ofrece una sencilla explicación de como registrarse y enviar un artículo:

[Tutorial para registrarse en la revista >>](#)

[Tutorial para enviar un artículo a la revista >>](#)

2.1. Tipos de contribuciones

Med Segur Trab. Publica los siguientes tipos de trabajos:

Editorial: Reservadas principalmente a la difusión de temas relacionados con la revista o aquellos que sean considerados de especial interés o actualidad. Se escribirán a petición del comité editorial.

Original y original breve: Trabajos de investigación cuantitativa o cualitativa. Deben seguir la estructura: introducción, método, resultados y discusión.

Revisión: Artículo de recopilación y análisis de la literatura científica. Se recomienda utilizar técnica sistemática y el mismo esquema que para los originales.

Especial: Artículo que desarrolla nuevos aspectos, tendencias y opiniones. Esta sección dará cabida a los artículos relacionados con las nuevas tecnologías de la comunicación y del área telemática que no puedan seguir la estructura propuesta para los trabajos originales. Su estructura es libre.

Notas clínicas: Esta sección tiene como objeto comunicar experiencias de la práctica profesional en los diversos ámbitos de la salud, que contengan componentes novedosos y relevantes para el ejercicio profesional. No es necesario que el texto se estructure formalmente, pero deberá guardar la lógica narrativa (introducción, desarrollo de la experiencia, conclusiones).

Notas metodológicas: Esta sección incluye artículos breves sobre nuevos métodos analíticos, diseño de estudios o técnicas de recogida de información aplicables a la investigación en la prestación de servicios de salud, en el domicilio u hospital. No es necesario que el texto se estructure formalmente, pero deberá guardar la lógica narrativa (introducción, exposición del método, aplicación práctica, conclusiones).

Carta al director/a: Observación científica o de opinión sobre trabajos publicados recientemente en la revista, así como otros temas de relevante actualidad.

Es preceptivo que los trabajos cumplan con las siguientes características:

Estructura y extensión orientativa de los artículos					
Tipo de artículo	Resumen	Cuerpo del artículo	Palabras	Tablas y figuras	Referencias
Editorial	No	Libre	2000	2	15

Original	OMRyC* 250 palabras	IMRyD**	4000	6	35
Original breve	OMRyC* 150 palabras	IMRyD**	2000	2	15
Revisión	OMRyC* 250 palabras	IMRyD**	6000	6	100
Especial	250 palabras	Libre	4000	6	35
Notas clínicas	150 palabras	IDC#	1200	2	10
Notas metodológicas	150 palabras	IEAC##	1200	2	10
Carta	No	Libre	500	1	5

* Estructura: Objetivo, Método, Resultado y Conclusión.

** Estructura: Introducción, Método, Resultados y Discusión.

Estructura: Introducción, Desarrollo de la experiencia, Conclusiones

Estructura: Introducción, Exposición del método, Aplicación práctica, Conclusiones.

La revista no establece una sección de conclusiones en los artículos originales y en las revisiones. Las mismas se escribirán en el último párrafo de la Discusión.

2.2. Guía de estilo y formato

Todos los trabajos deberán constar, como mínimo, de estos tres componentes: la Carta de presentación, la Página del título y el Cuerpo del artículo. Además, los autores podrán añadir Anexos con información adicional.

Carta de presentación

Se trata de un texto que se introducirá en el campo «Comentarios para el editor» del paso 1. En dicho texto se incluirá:

- El título y tipo de artículo.
- Que el trabajo no ha sido publicado previamente, que ha sido publicado parcialmente o que ha sido comunicado previamente a un congreso. En los dos últimos supuestos deben adjuntar referencia completa que permita su localización. Una breve declaración en este sentido deberá ser incluida también en la página del título.
- Que el trabajo no se encuentra en proceso de revisión en ninguna otra revista.
- Que se han obtenido las adecuadas autorizaciones para la reproducción de material ya publicado (si es el caso) y que se entregarán al comité editorial de la revista toda vez que el trabajo haya sido aceptado para publicación.
- Posibles conflictos de interés o su inexistencia.
- Becas o apoyos económicos recibidos para la investigación de la que deriva el artículo.
- Indicación y justificación de la necesidad de un proceso rápido de publicación por la especial actualidad de la investigación o la rápida obsolescencia de los datos.

Página del título

Se elaborará empleando las [plantillas para manuscritos](#) y contendrá:

Título del artículo. Debe ser lo más breve, claro e informativo posible y debe describir adecuadamente el contenido del trabajo. Tendrá una extensión máxima de 15 palabras. Si el estudio se centra en un grupo de población específico (solo mujeres u hombres, personas mayores...) se debe mencionar dicho grupo de población en el título. Debe evitarse el uso de acrónimos, códigos y símbolos que no sean de uso habitual (el título debe estar escrito en inglés y español).

Nombre y afiliación de los autores. Indique el nombre y apellidos de cada uno de los autores y asegúrese de que los proporciona en la forma ortográfica correcta y según la firma bibliográfica de cada autor. Cada autor llevará una llamada con números arábigos en superíndice remitiendo a su filiación (nombre del/de la/s institución/es, los departamento/s o centros y el país). Debe incluir el

ORCID. No debe indicar el grado académico ni la categoría profesional de los autores. Se incluirá el correo electrónico de todos los autores. Se recomienda un número máximo de seis autores, y en caso de que el número sea mayor, se justificará la necesidad de ese número de contribuciones.

Autor de correspondencia. Indique claramente quién se responsabilizará de recibir la correspondencia durante todo el proceso de evaluación y publicación del artículo, así como posteriormente a su publicación. Se deberá facilitar el correo electrónico.

Financiación. Deben reconocerse las ayudas económicas y materiales que haya podido tener el estudio, e indicar el organismo, la agencia, la institución o la empresa, y el número de proyecto, convenio o contrato. En caso de no contar con financiación externa se hará constar «Sin financiación».

Conflictos de intereses. Debe declarar de los posibles conflictos de intereses de cada una de las personas firmantes. Los conflictos de intereses pueden ser laborales, de investigación, económicos o morales. El comité editorial podrá requerir que esta declaración de conflictos se amplíe o detalle al máximo cuando lo considere oportuno. De la misma manera, si no hay ningún conflicto de intereses deberán hacerlo constar explícitamente con la palabra "Ninguno".

Otras declaraciones. Debe declarar que todos los autores han aprobado el manuscrito final y que el manuscrito no se ha enviado ni totalmente ni en partes a otras revistas a la vez que a Ars Pharmaceutica.

Cuerpo del artículo

En este documento no deberá aparecer ninguna información que pueda facilitar la identificación de ninguno de los autores, se elaborará empleando las [plantillas para manuscritos](#) y contendrá:

Título del artículo. Debe ser lo más breve, claro e informativo posible y debe describir adecuadamente el contenido del trabajo. Tendrá una extensión máxima de 15 palabras. Si el estudio se centra en un grupo de población específico (solo mujeres u hombres, personas mayores...) se debe mencionar dicho grupo de población en el título. Debe evitarse el uso de acrónimos, códigos y símbolos que no sean de uso habitual (el título debe estar escrito en inglés y español).

Resumen / Abstract. El resumen debe proporcionar el contexto o los antecedentes para la investigación y en él se debe mencionar su propósito, los procedimientos básicos (selección de sujetos para el estudio, métodos observacionales y analíticos), los hallazgos principales (aportando los tamaños de efectos específicos y su importancia estadística, si es posible) y las conclusiones principales. La estructura y número de palabras varía según el tipo de artículo. En el caso de los

originales el resumen debe ser estructurado con los apartados Objetivo, Método, Resultados y Conclusiones.

El resumen debe figurar en español y en inglés y deben ser traducciones completas y exactas.

Palabras clave / key words. Aparecerán después del resumen en español e inglés) en el idioma correspondiente. Se deben incluir un mínimo de 3 y un máximo de 6 palabras clave a fin de complementar la información contenida en el título y ayudar a identificar el trabajo en las bases de datos bibliográficas. Deben emplearse términos equivalentes a los de la lista de Descriptores en Ciencias de la Salud (Medical Subjects Headings, MeSH) del Index Medicus (disponible en www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html). Puede consultarse la equivalencia entre los términos en español (Descriptores en Ciencias de la Salud, DeCS) disponible en <https://decs.bvsalud.org/E/homepagee.htm>.

Texto principal. Los trabajos Originales, Originales breves y Revisiones deben ir divididos en los siguientes apartados:

Introducción: Será lo más breve posible, tratando de justificar la necesidad del trabajo que se presenta. Conviene centrar el problema con datos actuales. Deberá citarse solamente la bibliografía indispensable. No se incluirán datos o conclusiones del trabajo que se publica. En el último párrafo de la introducción figurará el objetivo (o los objetivos) del trabajo.

Métodos: Se referirá al ámbito donde se ha realizado la investigación, el período o duración, las características de la población estudiada, el criterio de selección empleado y las técnicas utilizadas, describiendo con precisión cómo se llevó a cabo el estudio, tipo de diseño utilizado, criterios de inclusión y exclusión, pautas de tratamiento, análisis estadístico, etc., proporcionando los detalles suficientes para que la experiencia pueda repetirse sobre la base de la información aportada.

En el caso de las revisiones es imprescindible describir lo más detalladamente posible la búsqueda bibliográfica realizada, las fuentes de obtención de los datos (bases de datos bibliográficas), términos de interrogación empleados, los criterios de inclusión y exclusión de los trabajos, el método de evaluación de la calidad de las evidencias encontradas y las técnicas de valoración del resultado que se considera.

Resultados: Describen los hallazgos obtenidos con los materiales y métodos referidos, detallándose tanto los hallazgos positivos como los negativos. Los datos pueden mencionarse en el texto o en forma de tablas o figuras. No deben repetirse en el texto los datos de las tablas o figuras. Se resaltarán sólo las observaciones importantes que contesten al objetivo del estudio.

Discusión: Debe interpretar los resultados, resaltando los aspectos nuevos e importantes del trabajo y las conclusiones que de ellos se derivan. Debe relacionar las observaciones que se describen con otros estudios pertinentes. Los autores pueden exponer sus propias opiniones sobre el tema. Se debe discutir el significado y la aplicación práctica de los resultados, la relación con publicaciones similares y comparación en las áreas de acuerdo y desacuerdo, las indicaciones y directrices para futuras investigaciones y las consideraciones sobre posibles limitaciones del estudio.

Por el contrario, debe evitarse que la discusión se convierta en una revisión del tema y que se repitan los conceptos que hayan aparecido en la introducción. Tampoco deben repetirse los resultados del trabajo. Se evitarán las afirmaciones gratuitas y las no apoyadas en los datos o en el conocimiento existente.

Se indicarán también las posibles limitaciones del estudio que puedan condicionar la interpretación de los resultados.

La revista no establece una sección de conclusiones en los artículos originales y en las revisiones. Las mismas se escribirán en el último párrafo de la Discusión.

Agradecimientos: Esta sección debe recoger las ayudas materiales y económicas, de cualquier índole, recibidas. Se indicará el organismo, institución o empresa que las otorga y, en su caso, el número de proyecto que se le asigna. Igualmente, debe figurar la ayuda técnica, el soporte de equipos, la colaboración académica (consultas) u otra ayuda financiera (becas o premios).

Toda persona, física o jurídica, mencionada debe conocer y consentir su inclusión en este apartado.

Conflicto de interés: Además de indicarlo en la carta de presentación, se hará constar en el texto del artículo la existencia, o no, de conflicto de interés. En este apartado también se mencionará toda relación económica o personal que pueda influir en la actuación de editores y revisores.

Bibliografía: Se citarán sólo aquellos trabajos que tengan relación con alguna sección del manuscrito. Es responsabilidad de los autores la adecuada revisión bibliográfica del conocimiento previo en el tema de su investigación. Los revisores considerarán especialmente que toda la bibliografía relevante ha sido valorada. Preferiblemente, las comunicaciones y los datos no publicados no se citarán, sino que se hará referencia a ellos en el texto.

Se utilizarán las abreviaturas de las revistas indicadas en la US National Library of Medicine para Medline/PubMed. Cuando se trate de una revista no incluida en Medline/PubMed se pondrá el nombre completo de la revista, sin abreviar.

La bibliografía se presentará según el orden de aparición en el texto del cuerpo del artículo, tablas o figuras, con la correspondiente numeración correlativa en caracteres arábigos. En los casos en que la cita se coloque junto a un signo de puntuación, la cita precederá al signo.

En el texto, se deben indicar los números de las citas que irán compuestos en superíndice y entre paréntesis ([ver plantillas para manuscritos](#)).

El formato y estilo de citación debe seguir rigurosamente las recomendaciones de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas. Los ejemplos de citación pueden consultarse en: https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Siempre que sea posible se indicará, al final de la referencia bibliográfica, el número DOI de la misma.

Tablas: incluirán numeración de la tabla con números arábigos, que se citará en el texto en orden correlativo; título de la tabla en la parte superior y abreviaturas, siglas o explicaciones en la parte inferior. Excepcionalmente, las tablas de gran tamaño podrán ocupar más de una hoja. El contenido deberá ser autoexplicativo y los datos que se incluyan no deben repetirse ni en el texto ni en otras tablas o figuras.

Figuras: Las figuras incluirán todo tipo de material no tabular, imágenes, (morfología, algoritmos, histogramas, gráficas, etc.) y se citarán, mediante números arábigos, en el texto en orden correlativo. Se remitirán con resolución suficiente y alta calidad. Las leyendas o pies de figuras se escribirán inmediatamente debajo de la figura, indicando el número que les corresponde en caracteres arábigos. En el caso de fotografías de pacientes, estarán realizadas de forma que éstos no sean identificables. Se presentarán, preferiblemente, en formato JPEG o PNG.

Cifras y fracciones decimales: Se recomienda el uso del punto como signo separador de los decimales, aunque la coma sigue siendo igualmente válida, de modo que puede escribirse tanto 10.5 como 10,5 para la cantidad de 'diez y medio'.

Las cifras menores que la unidad deben tener un cero antes del separador decimal (Ej: 0.2 y no .2).

El signo adecuado para facilitar la lectura de números con más de cuatro dígitos es el espacio. Por ejemplo: 30 000. No se recomiendan con esta función ni el punto (30.000) ni la coma (30,000).

Notas al pie / Notas al final: No se deben utilizar notas al pie o notas finales.

Anexos

Si dispone de material suplementario que sea necesario para el entendimiento del trabajo a publicar, elabore con él archivos independientes que se enviarán como archivos anexos.

Si se aporta material sujeto a copyright o que se necesite de previa autorización para su publicación, se deberá adjuntar las autorizaciones correspondientes como archivos anexos.

Si los autores lo estiman conveniente, pueden adjuntar las figuras y tablas también en archivos independientes.

Aviso de derechos de autor/a

Aquellos autores/as que tengan publicaciones con esta revista, aceptan los términos siguientes:

- a. Los autores/as conservarán sus derechos de autor y garantizarán a la revista el derecho de primera publicación de su obra, el cuál estará simultáneamente sujeto a la Licencia de reconocimiento de [Creative Commons 4.0 BY-NC-SA](#) que permite a terceros compartir la obra siempre que se indique su autor y su primera publicación esta revista.
- b. Los autores/as podrán adoptar otros acuerdos de licencia no exclusiva de distribución de la versión de la obra publicada (p. ej.: depositarla en un archivo telemático institucional o publicarla en un volumen monográfico) siempre que se indique la publicación inicial en esta revista.
- c. Se permite y recomienda a los autores/as difundir su obra a través de Internet (p. ej.: en archivos telemáticos institucionales o en su página web) antes y durante el proceso de envío, lo cual puede producir intercambios interesantes y aumentar las citas de la obra publicada. (Véase [El efecto del acceso abierto](#)).
- d. Los autores han respetado la [política de autoría](#) de esta revista.

Declaración de privacidad

Los nombres y direcciones de correo-e introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines declarados por esta revista y no estarán disponibles para ningún otro propósito u otra persona.

Idioma

[Español \(España\)](#)

[English](#)

[Enviar un artículo](#)

Información

[Para lectores/as](#)

[Para autores/as](#)

[Para bibliotecarios/as](#)



Scientific Electronic Library Online

Número actual

[ATOM 1.0](#)

[RSS 2.0](#)

[RSS 1.0](#)