

**EL *Cryptosporidium parvum* EN EL RECURSO AGUA: MÉTODOS DE
DETECCIÓN, TRATAMIENTOS Y SU IMPACTO EN LA SALUD PÚBLICA –
REVISIÓN**

LEIDY PAOLA DIAZ CAICEDO

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL
GIRARDOT**

2020

**EL *Cryptosporidium parvum* EN EL RECURSO AGUA: MÉTODOS DE
DETECCIÓN, TRATAMIENTOS Y SU IMPACTO EN LA SALUD PÚBLICA –
REVISIÓN**

LEIDY PAOLA DIAZ CAICEDO

Trabajo de grado para optar por el título de Ingeniera Ambiental

Directora Trabajo de Grado:

DIANA CAROLINA VEGA ROMERO

Ingeniera Ambiental y Sanitaria

Esp. En saneamiento ambiental

MEng. En Ingeniería Civil

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

GIRARDOT

2020

Contenido

Dedicatoria	
Agradecimientos	VII
Capítulo 1.....	9
Introducción	9
Justificación	10
Objetivos	12
Objetivo General	12
Objetivos específicos	12
Estado del arte	12
Marco metodológico	16
Capítulo 2.....	18
Generalidades de <i>Cryptosporidium parvum</i> y su infección conocida como criptosporidiosis.....	18
Aspectos históricos	18
Taxonomía	22
Aspectos de su biología	27
Capítulo 3.....	30
Implicaciones en la Salud Pública por la presencia de <i>Cryptosporidium parvum</i> en el recurso agua	30
Distribución geográfica y Manifestaciones clínicas	30
Epidemiología e Inmunobiología	32
Prevención y control	33
Capítulo 4.....	35
Presencia <i>Cryptosporidium parvum</i> en el medio acuoso, métodos de detección y tratamiento	35
Agua apta para consumo humano	35
Aguas de uso recreacional.....	35
Aguas residuales	36
Métodos de detección	37
Métodos de tratamiento.....	42
Capítulo 5.....	56
Análisis comparativo de la norma vigente, respecto a la concentración de <i>Cryptosporidium parvum</i> en muestras de agua en diferentes países.....	56

Capítulo 6.....	62
Reflexiones	62
Relación costo - beneficio de los métodos de detección y tratamiento de <i>Cryptosporidium parvum</i> en agua residual, potable y recreacional	62
El impacto ambiental que representa la presencia de <i>Cryptosporidium parvum</i> en el recurso hídrico - Casos de estudio	64
Capítulo 7.....	66
Comportamiento en el tiempo del estudio científico de la presencia del <i>Cryptosporidium parvum</i> en el medio acuoso.....	66
Capítulo 8.....	72
Conclusiones	72
Capítulo 9.....	75
Recomendaciones	75
Bibliografía	9

Lista de Tablas

Tabla 1	25
Tabla 2	60
Tabla 3	63

Cuadros

Cuadro 1 Descripción taxonómica familia Cryptosporiidae (Botero et al., 1986)	23
Cuadro 2 Valores CT para la inactivación por ozono (USEPA, 1991).....	50
Cuadro 3 Representación porcentual de inactivación de microorganismos y virus en agua potable (Ramirez, s.f.)	51

Figuras

Figura 1 Esquema del ciclo de vida del <i>Cryptosporidium spp.</i> Copyright 2012 por Rojas Cruz.....	28
Figura 2 Descripción del proceso de coagulación para el tratamiento de agua aplicando cloruro férrico. Copyright 2017 por Cordero Ayala.	43

Figura 3 Proceso de desinfección de agua por método de ultrafiltración (UF) en una planta de tratamiento convencional y una planta doméstica. Copyright 2013 - 2018 por LEPSA & OSMOFILTER.....	44
Figura 4 Esquema del proceso de tratamiento de agua por micro filtración en filtros industriales que remueven partículas de tamaños mayores a 0.1 a 10 micras. Copyright 2017 por Grupo agua.....	45
Figura 5 Esquema de aplicación del método de desinfección por cloración con cloro gaseoso. Copyright 2017 por Reindesa.....	47
Figura 6 Proceso de electrolisis para la generación de Hipoclorito sódico. Copyright 2014 por Gratacós.	48
Figura 7 Esquema del proceso del método de desinfección con ozono y detalles de la generación de ozono al interior de la planta generadora. Copyright 2017 - 1998 por Reindesa, & Deininger et al.....	49
Figura 8 Esquema del proceso de aplicación del método de desinfección con rayos ultravioleta en el interior de la cámara reflectante y su efecto en el ADN de virus, bacterias y protozoos. Copyright 2010 por Blog Agua Purificación.....	52
Figura 9 Modelo económico y practico del método de desinfección del agua por radiación solar o también conocido como SODIS nombrado por la OMS. Copyright 2007 por National Academy of Sciences.....	54
Figura 10 Esquema conceptual de acoplamiento entre las tecnologías de fotocátalisis (solar) y de tratamiento biológico. Copyright 2015 por Blanco et al.....	55

Gráficas

Gráfica 1, Principales temas de publicación en la base de datos Scopus, sobre <i>Cryptosporidium spp.</i> (Scopus, 2020).	67
Gráfica 2. Tipos de documentos elegidos y publicados con más frecuencia por los autores sobre <i>Cryptosporidium spp.</i> (Scopus, 2020).	68
Gráfica 3. Documentos publicados por año sobre <i>Cryptosporidium spp.</i> en la base de datos Scopus (Scopus, 2020).	69
Gráfica 4. Países industrializados con mayor número de publicaciones en Scopus sobre <i>Cryptosporidium spp.</i> (Scopus, 2020).	70
Gráfica 5. Principales países Latinoamericanos con publicaciones sobre <i>Cryptosporidium spp.</i> en Scopus (Scopus, 2020).	71
Gráfica 6. Universidades Colombianas con publicaciones en Scopus sobre <i>Cryptosporidium spp.</i> (Scopus, 2020).	71

A mi esposo y mi familia que pintan mi vida de colores.

Agradecimientos

En primer lugar agradezco a Dios por acompañarme a lo largo de mi carrera y mi vida, por guiarme, darme sabiduría, paciencia y por darme la oportunidad de seguir aprendiendo cada día de mi vida.

A mi familia por su apoyo, por sus consejos, por su voz de aliento que nunca me ha faltado y no me deja rendir y por todos los valores con los que me formaron.

Igualmente agradezco a mi esposo por su compañía y apoyo durante mi carrera en cada noche de traspaso, en cada caída y en cada victoria.

A la Universidad de Cundinamarca y cada docente que aportó en mi carrera profesional.

Mi más sincero agradecimiento a la docente Ing. Diana Carolina Vega Romero, directora de este Trabajo de Grado, por ser la primera en creer en él, por su apoyo, por su disposición, interés, tiempo, paciencia y por su rigor durante la redacción de este trabajo. Ha sido un privilegio contar con sus conocimientos y ayuda.

Finalmente, agradezco a todas las personas en general que colaboraron directa e indirectamente con la realización de este trabajo y/o durante mi carrera

Capítulo 1

Introducción

Cryptosporidium parvum, es un protista que fue reconocido como un patógeno humano de importancia a mediados de la década de los 80's durante la fase inicial de la epidemia del SIDA (Ongerth et al., 2018), su presencia es más frecuente en lugares con problemas de infraestructura en el tratamiento de agua potable, en aguas recreacionales, como ríos, lagos y piscinas, en la eliminación de aguas residuales o cuando existe un estrecho contacto con animales (Neira, 2005). Igualmente, este parásito se ha encontrado en las heces de 1% a 3% de los habitantes de los países desarrollados (Europa y América del Norte), en el 5% de los países asiáticos, en el 10% de los países africanos y en el 40% de los países de Sudamérica (Ontario, 2015).

En efecto, es causante de la criptosporidiosis una infección transmitida por vía fecal – oral y caracterizada por presentar como principal síntoma la diarrea acuosa, el mayor brote producido por esta enfermedad se dio en 1993 en Milwaukee ciudad del estado Wisconsin - Estados Unidos, afectando a 403.000 personas, entre los cuales se encontraron hospedadores inmunocomprometidos que desencadenaron formas graves de la infección (Cicirello et al, 1997). Así las cosas, monitorear y estudiar la presencia de *Cryptosporidium* es de vital importancia debido a la escasa investigación que se le ha dado al tema y a que el parásito es resistente al tratamiento del agua con cloro, difícil de filtrar, y ubicuo en muchos animales (Guerrant, 1997).

Es por ello, que la presente monografía recopila información sobre los métodos de detección del *Cryptosporidium parvum* en aguas residuales, en el agua potable y en aguas de

uso recreacional. Igualmente, se identificaron los tratamientos existentes para su eliminación en los diferentes tipos de agua, a su vez, se realizó un análisis comparativo de la normatividad vigente en diferentes países relacionada con su presencia en el medio acuoso. Adicionalmente, se realizó un análisis estadístico sobre el comportamiento del interés que ha tenido la comunidad científica y académica en el tema, dicho análisis se efectuó en el mes de febrero del 2020 usando información publicada desde el descubrimiento del protozoo en el año 1985 hasta el año 2019.

Justificación

Según el Instituto Nacional de Salud en Colombia, para el año 2019 los casos de enfermedades diarreicas agudas han presentado un incremento del 16% con respecto al año 2018, así mismo detalla en el boletín epidemiológico de la semana 20 el acumulado de 1.505.483 casos reportados de mortalidad por Enfermedades Diarreicas Agudas (EDA); el grupo que presenta el mayor número de casos es el de los menores entre 1 a 4 años con 226.727 casos (INS, 2019), los cuales corresponden al 3,2 % de la población Colombiana. Generalmente, la diarrea acuosa es un síntoma característico de la Criptosporidiosis una infección producida por el parásito *Cryptosporidium parvum*, es autolimitada en personas inmunocompetentes pero que puede cronificarse y ser mortal en enfermos inmunocomprometidos (Fontán, 2011).

De hecho, la Criptosporidiosis en Colombia no está incluida dentro del Sistema de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA), por lo tanto no es de notificación obligatoria y no se hace vigilancia en salud pública de ningún tipo (Hernández-Gallo et al, 2017), es por ello que se puede especular que esta dolencia puede ser la causa de las diarreas que a diario no se diagnostican en el país. Por otro lado, son muy pocos los estudios desarrollados en el país sobre esta enfermedad, el primero de ellos en los años 80 y en la presente década solo se han publicado tres reportes de brotes. De

igual forma, en el territorio Nacional se ha demostrado una prevalencia del parásito en 32.3% de los niños inmunocompetentes y 42% en niños con compromiso del sistema inmune por cáncer (Velasco et al, 2009).

En efecto, la normatividad en el país relacionada con la detección y control del *Cryptosporidium* en el agua es frágil, prueba de ello está en la Resolución 2115 del 2007 que reglamenta la calidad del agua para consumo humano, en ella se contempla la posible presencia del parásito, sin embargo, no registra técnicas definidas para su detección y no hace obligatorio el reporte del mismo, en realidad según la norma los parámetros microbiológicos que se tienen en cuenta para el Índice de Riesgo de la calidad del agua para consumo humano – IRCA son el *Escherichia Coli* y *Coliformes Totales*. Por su parte, la Resolución 631 del 2015 dicta el análisis y reporte microbiológico únicamente respecto a los Coliformes termotolerantes presentes en los vertimientos puntuales de aguas residuales a cuerpos de aguas superficiales.

Caso similar ocurre, con el agua de uso recreacional donde la Resolución 1618 del 2010 solo expresa las unidades de la concentración de *Cryptosporidium* (N° de Ooquistes/por cada 1000 m³ de agua), sin embargo, no define un valor máximo permitido y solo reglamenta su análisis una vez al año en piscinas de uso comunitario. Finalmente, es importante decir que actualmente no existe tratamiento para esta infección, por ende, es importante prevenir la transmisión del parásito. Por otro lado, en Colombia son muy pocos los estudios y casos documentados sobre las infecciones dadas por *Cryptosporidium*, por esta razón, en la presente monografía se revisaron los efectos que produce el parásito en la salud humana, su visión en la normatividad y los métodos de detección y tratamiento que existen para su presencia en el medio acuoso, de este modo contribuir al conocimiento del impacto que este ejerce el parásito en la salud pública.

Objetivos

Objetivo General

Estudiar el impacto que ejerce en la salud pública la presencia del *Cryptosporidium parvum* en el recurso agua, mediante una revisión bibliográfica.

Objetivos específicos

Indicar las afectaciones a la salud humana ocasionadas por el *Cryptosporidium parvum*.

Estudiar los métodos de detección del *Cryptosporidium parvum* en medio acuoso.

Identificar los tratamientos existentes para la eliminación del *Cryptosporidium parvum* en el tratamiento de agua residual, potable y recreacional.

Comparar la normatividad vigente en diferentes países, respecto a la concentración del *Cryptosporidium parvum* en muestras de agua.

Estado del arte

El *Cryptosporidium* es un protozooario, parásito unicelular que vive en los intestinos de los animales y humanos, este patógeno microscópico causa una enfermedad llamada Criptosporidiosis. La forma inactiva del *Cryptosporidium*, llamada oocysto es excretada en las heces fecales (excremento) de las personas o animales infectados, estos oocystos tienen una pared protectora resistente, por ende, sobreviven bajo una gran variedad de condiciones ambientales (Avery et al, 2000), haciéndolos invulnerables a la mayoría de procesos de

desinfección química y tratamiento convencional de aguas (Hoogenboezem, 2001). Pertenecen al grupo de entero-patógenos, por ende, son organismos nativos del tracto digestivo humano y de muchos animales que al ser expulsados en las heces, contaminan el suelo y las fuentes de agua superficiales por arrastre de la lluvia, así como las aguas subterráneas, por filtración; donde los humanos son infectados al ingerir el agua contaminada (Xiao et al., 2001; USEPA, 2004).

Entretanto, su ciclo de vida encierra ooquistes maduros e inmaduros, esporozoítos, trofozoítos, esquizontes tipo I (de primera generación), esquizontes tipo II (de segunda generación), merontes o gamontes, merozoítos, progametocitos que son los precursores de las células sexuales diferenciadas, llamadas microgametocitos y macrogametocitos además de cigotos (Fayer, 2004). Seguidamente, estos cigotos resultantes pasan por una última fase de desarrollo (esporogonia), que culmina con la producción de ooquistes; el *Cryptosporidium* presenta dos tipos funcionales de ooquistes: a) infectantes, de pared gruesa, con 4 esporozoítos desnudos (sin esporoquiste) - eliminados con las heces fecales; b) ooquistes de pared delgada, involucrados en la auto-infección intestinal (Grinberg et al, 2016).

Por consiguiente, su infección ocurre una vez ingerido el ooquiste y se desarrolla en el tracto digestivo, cumple todo su ciclo de vida y posteriormente los ooquistes infectivos son eliminados por las heces (Casemore, 1991 y Romero, 2007), su vía de transmisión es por aguas y por alimentos contaminados por *Cryptosporidium*, se transmite bien sea de persona a persona o animal-persona (zoonosis), de manera fecal-oral (Morrison et al. 2008). Cabe resaltar, que este parásito tiene una baja dosis infectante sólo 9 a 1042 ooquistes pueden causar la enfermedad (Smith et al. 2007).

En ese orden de ideas, *Cryptosporidium* es un género de la familia Ciyptosporidiidae, suborden Eimeriina, orden Eucoccidiida, subclase Coccidia, clase Sporozoa, phylum

Apicomplexa, relacionado taxonómicamente con Isospora, Toxoplasma y Sarcocystis en los 80's (Tzipori, 1983; Levine et al, 1980). Más adelante, en el año 1907 Ernest Edward Tyzzer nombró el género *Cryptosporidium* y describió la especie tipo, *muris Cryptosporidium*, al encontrarlo en las glándulas gástricas de ratones de laboratorio, cinco años más adelante observó etapas similares en el intestino de los ratones dando origen al nombre *Cryptosporidium parvum*, esta especie difiere de la especie tipo, ya que infecta el intestino delgado en lugar del estómago, debido a que sus ooquistes son más pequeños (Tyzzer de 1912).

Posteriormente, el *Cryptosporidium* pasó por períodos en los que una multitud de especies fueron reconocidas, seguida de una racionalización y una reducción a lo que tenemos ahora con más de 30 especies citadas (Thompson et al, 2016), las especies válidas para el *Cryptosporidium* ahora incluyen un número de 13 especies (Xiao et al, 2004). Donde las especies *C. parvum* y *C. hominis* se encuentran más frecuentemente involucradas en infecciones en el hombre (90%) (Rosales, et al., 2012).

Por otro lado, la especie *Cryptosporidium parvum* antes de su descripción en humanos, se consideraba únicamente patógeno de animales domésticos (vacas, cerdos, gatos, pavos, etc.) (Becerril, 2004), fue en el año 1976 que se identificó como el agente causante de la infección humana, Criptosporidiosis, la cual en el año 2015 se convirtió en la cuarta causa de muerte entre los niños menores de la edad de 5 años (White, 2010). Así las cosas, los métodos fenotípicos y genotípicos demostraron la presencia de dos tipos de *C. parvum*: el genotipo 1 ocurre exclusivamente en personas naturalmente infectadas y el genotipo 2 presente en ganado vacuno y también en personas, siendo el responsable de la transmisión zoonótica de la enfermedad (McLaughlin et al, 2000; Corinne et al, 1999).

Precisamente, la multiplicación del parásito en el epitelio intestinal produce atrofia de las vellosidades, hiperplasia de las criptas e infiltración de células mononucleares en la lámina propia (Chalmers et al, 2010) generando en el huésped una diarrea por mala absorción. Otros síntomas relevantes de la Criptosporidiosis son las náuseas, vómitos y fiebre (Satoskar et al., 2009). En paciente inmunodeprimidos la infección es crónica, progresiva y, a veces, mortal, los síntomas son inicialmente similares a los de los huéspedes no competentes pero conforme al tiempo se convierte en una enfermedad más grave y puede extenderse a otros sitios (Chappell et al, 1995).

Así las cosas, la proliferación de *Cryptosporidium*, en el medio natural se encuentra asociada a la ineficacia de los sistemas de tratamiento de aguas: tanto la depuración de aguas residuales como la potabilización de agua para consumo humano, tratamientos que no suponen un obstáculo excesivo para la supervivencia de los quistes del protozoo (Doménech, 2003). Lo anterior, cobra importancia al resaltar que el agua es un importante medio de transmisión, ya que un hallazgo reciente destaca el potencial de los biofilms acuáticos para actuar como reservorios del parásito y además proporcionarían un ambiente rico en nutrientes donde el *Cryptosporidium* puede multiplicarse y desarrollarse (Koh et al., 2013). De igual forma, intercede su dispersión y la elevada resistencia que poseen los ooquistes a los tratamientos comunes de potabilización, ya que se requiere como mínimo una concentración mayor de 80 mg/ L de cloro libre para su destrucción (Korich et al. 1990), cantidad que se excede del límite máximo permitido en la normatividad que reglamenta el agua apta para consumo humano.

Marco metodológico

De acuerdo al objetivo general de: **“Estudiar el impacto que ejerce en la salud pública la presencia del *Cryptosporidium parvum* en el recurso agua, mediante una revisión bibliográfica”** se registró en una monografía de tipo compilatoria, los efectos que produce el parásito en la salud humana, los métodos para su detección y tratamiento en el agua y su visión en la normatividad. Lo anterior siguiendo la metodología documentada en el libro “Guía para preparar monografías” de los autores Ezequiel Ander – Egg y Pablo Valle, al mismo tiempo, revisando bibliografía de diferentes países del mundo de los últimos diez años hasta el año 2019.

A continuación, se describe los métodos de análisis de la información y las actividades a desarrollar que se emplearon para obtener el contenido de la monografía en las siguientes fases:

Fase I: Recopilación de la información

En primer lugar, se realizó un bosquejo de los temas a tratar, posibles títulos y subtítulos. Se usó como fuente primaria de información la base de datos Scopus (Elsevier) desde allí se consiguieron los artículos científicos de revisión, comunicaciones cortas, entre otros documentos que tratan el tema investigado. Al mismo tiempo, aprovechando las funciones de filtración para la información con las que cuenta la base de datos se sintetizaron los resultados de búsqueda, usando como criterio de selección los documentos pioneros en la investigación del tema. Por otro parte, se usó el aplicativo Mendeley el cual como gestor bibliográfico funcionó como un sistema para la gestión de la información y citas bibliográficas, lo cual facilitó el análisis cualitativo en la investigación.

Fase II: Análisis de la información

En segundo lugar, para el análisis cualitativo se estructuró una matriz clasificatoria por filas y columnas, este formato permite hacer distinciones de algún tipo sobre el tema específico entre los resultados de búsqueda. A partir de lo anterior, se generaron elementos críticos propios del autor, característicos de la monografía de compilación los cuales integraron los capítulos del documento. Posteriormente, se aprovechó la funcionalidad “analizar los datos de búsqueda” que ofrece el navegador científico Scopus, con esta información se graficó en Excel y se analizó de forma estadística el comportamiento del interés que ha tenido el tema en la comunidad científica y académica del mundo a través del tiempo; logrando determinar la cantidad de estudios documentados en Colombia, el autor más citado, el tipo de publicación más usado, entre otras variables.

Capítulo 2

Generalidades de *Cryptosporidium parvum* y su infección conocida como criptosporidiosis

Aspectos históricos

En 1907, Ernest Edward Tyzzer, médico, patólogo y parasitólogo estadounidense, dio los primeros pasos a la investigación del *Cryptosporidium*. Sus observaciones iniciales descubrieron que las glándulas gástricas de un domesticado (variedad común de ratones) con frecuencia contenía un parásito distinto, que él llamó *Cryptosporidium Muris* (Tyzzer, 1907). Después de que Tyzzer identificó este nuevo género de parásitos, también encontró otra nueva especie aislada de los intestinos de los ratones, la cual nombró *Cryptosporidium Parvum* (Tyzzer, 1912). Fue así, como equipado con solo un microscopio de luz, Tyzzer fue capaz de delinear y caracterizar en minutos y con minuciosos detalles, la morfología y la secuencia de las etapas del ciclo de vida asexual y sexual de este organismo, que son apenas visibles bajo el microscopio de luz.

Ahora bien, a pesar de que las condiciones de trabajo para la época no eran las mejores y la tecnología usada no era la más avanzada, los aportes de Tyzzer sobre la descripción de estos dos géneros de *Cryptosporidium*, se mantuvieron vigentes en el tiempo hasta el punto de definir, en su mayor parte, lo que actualmente conocemos acerca de la biología e historia de vida del parásito (Tzipori & Widmer, 2008). Sin embargo, este no fue reconocido como patógeno hasta 1955, después de un brote de diarrea en una parvada de pavos; para luego posteriormente observarse la infección principalmente en terneros y corderos (Carey et al., 2004).

Más tarde, casi 70 años después del descubrimiento del *Cryptosporidium* y la infección que causaba, nombrada Criptosporidiosis, seguía sin considerarse como amenaza alguna para los

animales o humanos, a causa de que fue catalogada como infrecuente e insignificante que se producía en el intestino de los vertebrados y causó poca o ninguna enfermedad (Tzipori & Widmer, 2008). Asimismo, el avance en la investigación de este parásito y su infección era insuficiente, tanto así que desde la década de 1970 y hasta 1990, se pensó que *Cryptosporidium* prevalecía únicamente en dos especies; una de ellas, fue *C. muris*, que infecta la mucosa gástrica de mamíferos y produce grandes oocistos, y la otra *C. parvum*, que infecta a todos los mamíferos y produce ooquistes más pequeños (Tzipori et al., 1980 citado en Khan et al., 2017).

Por otro lado, el primer caso reportado de Criptosporidiosis en humanos se presentó en 1976, en dos pacientes con diarrea acuosa, fue entonces que, con importantes observaciones, se escribieron los primeros informes de infección en seres humanos. Posteriormente, en 1978 se confirmó la existencia de ooquistes y su excreción en las heces, haciendo su identificación el método clave para el diagnóstico de la enfermedad. Pronto, *Cryptosporidium* fue considerado uno de los patógenos a nivel de vía entérica más comunes en el mundo y su significación clínica y su distribución generalizada empezaron a ser reconocidos (Tzipori & Widmer, 2008).

Más adelante, entre 1980 y 1983, el microbiólogo estadounidense Saul Tzipori y otros científicos, publicaron una serie de artículos científicos en los que llevaron a cabo un amplio trabajo de laboratorio e investigaciones de campo sobre la Criptosporidiosis. En estos experimentos de transmisión cruzada, utilizaron aislados de *Cryptosporidium* obtenidos de un ternero, un cordero, un humano y un ciervo y, a partir de estos, infectaron animales recién nacidos (ratones, ratas, cobayas, lechones, terneros y corderos) y demostraron que, al contrario de lo que se sostenía anteriormente, los aislados de *Cryptosporidium* en mamíferos carecen de especificidad de huésped. En consecuencia, estas observaciones pusieron en tela de juicio el

nombramiento de especies según el origen del huésped y reflejaron la naturaleza zoonótica de este parásito (Tzipori & Widmer, 2008).

En ese mismo periodo de tiempo, conocido como los 80's, Tzipori comenzó a usar la técnica de Coloración de Giemsa para diagnosticar un caso humano de *Cryptosporidiosis* intestinal por medio de muestras de material fecal. Luego, Henriksen & Pohlenz (1981) introdujeron la técnica de Ziehl-Neelsen, la cual se considera un método confiable para diagnosticar *Cryptosporidium* al proporcionar una magnífica tinción diferencial con un alto grado de sensibilidad; este método se usó para diferenciar los ooquistes del parásito de las levaduras presentes en las materias fecales pues los primeros son resistentes al ácido-alcohol, a diferencia de los hongos que no lo son (Botero et al., 1986).

Al mismo tiempo, en esta década con la aparición del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), por el año 1982 se empezó a asociar la Criptosporidiosis con el SIDA, pues se informó el caso de un hombre homosexual con dicha infección, y en tan solo un año, ya se había informado de otros 50 casos (Tzipori & Widmer, 2008). La infección entre los pacientes con VIH / SIDA era tan fatal y potencialmente mortal que la Criptosporidiosis se presentó como uno de los agentes que definen el SIDA antes del descubrimiento del virus. Sin embargo, la introducción de la terapia anti-retroviral (HAART) influyo en la caída precipitada de la prevalencia de Criptosporidiosis en pacientes VIH positivo (Khan et al., 2017).

En adelante, se presentaron grandes eventos de infección colectiva por *Cryptosporidium* en agua contaminada en diferentes partes del mundo, especialmente dos generaron una alarma suficiente para reconocer el alcance que podría tener este parásito, ya que por el contrario de lo que se pensaba, para ese entonces, la criptosporidiosis no era una infección esporádica y tendría

mucha trascendencia en la salud pública. El primer suceso ocurrió en el Reino Unido (R.U.) en 1989, después de que un brote de base acuosa de criptosporidiosis en Swindon y Oxfordshire, afectará a unas 5.000 personas. Es así como el gobierno del R.U estableció que un grupo de expertos en *Cryptosporidium* examinara los suministros en agua (Tzipori & Widmer, 2008).

Más tarde, un segundo evento, y el de mayor impacto a gran escala, tuvo lugar en territorio Norteamericano, en 1993 en Milwaukee, Estados Unidos, más de 400.000 personas resultaron infectadas, produciendo más de 100 muertes, debido a que el suministro de la ciudad se contaminó con aguas servidas durante las lluvias de primavera y los sistemas de filtración no funcionaron correctamente (Pearson, 2020). Fue un hecho, sin precedente en la historia de la salud pública y la ingeniería sanitaria de los Estados Unidos, tanto así que puso en alerta al Departamento de Salud y a la Agencia de Protección al Ambiente de ese país (EPA) (Garza et al., 2002).

Por consiguiente, MacKenzie et al., en 1994 aseguró que aunque los brotes asociados con el agua potable y aguas de recreo se registraron en la década de 1980 hasta la actualidad, el reconocimiento de la definición de *Cryptosporidium* como problema de salud pública se produjo en 1993 con el registro de este gran brote (citado en Fayer, 2004). Más adelante, en el año 2002 Arcay (citado en de la Parte et al., 2005), mencionó que *Cryptosporidium* actúa como agente ubicuo en la naturaleza debido a asociaciones ecológicas y al agua como su principal agente de diseminación. En consecuencia, a partir de estos acontecimientos se ha incrementado los esfuerzos para documentar las implicaciones que estos brotes generan en la salud pública.

Por su parte, en Colombia la primera investigación realizada para el hallazgo de criptosporidiosis en humanos, tuvo lugar en 1985 donde seis laboratorios de Medellín, analizaron

muestras fecales diarreicas. Este estudio determinó la prevalencia de *Cryptosporidium* en un grupo de 400 muestras de materia fecal de consistencia blanda o líquida, utilizando métodos de detección con la coloración de Ziehl-Neelsen modificado. La conclusión de este estudio determinó que, del total de las 400 muestras estudiadas, se encontraron 10 positivas para *Cryptosporidium*, resultando una prevalencia del 2.5%. Aunque no se conoció los causantes de la infección, esta investigación estableció los primeros pasos de la exploración del parásito en Colombia (Ángel et al., 1985).

En la actualidad, se han reportado al menos 325 brotes de enfermedad por protozoos parásitos asociados con el agua, de los cuales 165 son pertenecientes a *Cryptosporidium parvum*, con un porcentaje de 50.8%, respectivamente. Los brotes en América del Norte y Europa representaron el 93% de todos los informes y casi dos tercios de los brotes ocurrieron en América del Norte. Más del 30% de todos los brotes se documentaron en Europa, y el Reino Unido representa el 24% de los brotes en todo el mundo (Karanis et al., 2007). En este mismo orden de ideas, en Colombia la última encuesta nacional de parasitismo intestinal en la población escolar para los años 2012-2014, informa que *Cryptosporidium* tiene una frecuencia de 0,5% en el país. Actualmente, estos siguen siendo considerados parásitos oportunistas de importancia en la salud pública a nivel internacional (Sánchez et al., 2017).

Taxonomía

En cuanto a la descripción taxonómica del *Cryptosporidium* es un parásito protozoario apicomplexano; refiriéndose a que pertenece a un extenso grupo de protistas exclusivamente endoparásitos de animales (Adl et al., 2012). Todas sus especies se clasifican taxonómicamente dentro de la familia Cryptosporidiidae, suborden Eimeriorina, orden Eucoccidiorida, subclase

Coccidiasina y clase Coccidia es así como, 11 especies se reconocen actualmente dentro del género *Cryptosporidium* (Carey et al., 2004).

Cuadro 1 Descripción taxonómica familia Cryptosporiidae (Botero et al., 1986)

TAXONOMÍA DE CRYPTOSPORIDIIDAE			
Protozoa			
Phylum Sarcomastigophora	Phylum Apicomplexa	Phylum	Phylum Ciliophora
		Orden Eucoccidiida	
		Suborden Eimeriia	Suborden Haemosporina
			Plasmodium sp.
	Familia Sarcocystidae	Familia Eimeriidae	Familia Cryptosporidiidae
Pneumocistis Carinii	Sarcocystis sp. Toxoplasma gondii	Eimeria sp. Isospora belli	Cryptosporidium

En la actualidad, las especies nombradas de *Cryptosporidium* que se consideran especies válidas incluyen ahora *C. andersoni* (ganado), *C. Bailey* (pollo y otras aves), *C. canis* (perros), *C. felis* (gatos), *C. galli* (aves), *C. hominis* (seres humanos), *C. meleagridis* (aves y seres humanos), *C. molnari* (peces), *C. muris* (roedores y algunos otros mamíferos), *C. parvum* (rumiantes y seres humanos), *C. wrai* (conejiillos de indias), *C. saurophilum* (lagartos y serpientes), y *C. serpentis* (serpientes y lagartos). Otros morfológicamente distintos a

Cryptosporidium spp. se han encontrado en peces, reptiles, aves, y mamíferos, pero no han sido nombrados (Xiao et al., 2004).

De lo anteriormente mencionado, cabe resaltar que *C. Parvum* es la especie más ampliamente difundida, infecta 155 especies de mamíferos siendo el ganado doméstico su principal reservorio (Fayer, 2004) y además tiene la capacidad de infectar a humanos. Adicionalmente, se ha confirmado la existencia de dos tipos de ooquistes, el primero responsable de la transmisión de un reservorio a otro y el segundo responsable de un ciclo de autoinfección en el hospedador infectado, a través del reciclaje continuo de los esporozoitos que salen de los ooquistes de pared delgada. Asimismo, se encontró que, en su taxonomía, a diferencia de otros parásitos del grupo Apicomplexa, como Plasmodium, Toxoplasma y Eimeria, carece de la mayoría de los genes nucleares y de los genomas del complejo apical y mitocondrial (Chacín, 2007).

Por otra parte, en los últimos años se han encontrado diferentes rasgos de *Cryptosporidium* que lo diferencian de los coccidios. Así las cosas, Chacín (2007) menciona estudios recientes que demuestran la habilidad del parásito de reproducirse sin necesidad de células huésped, hallando una estrecha relación con el grupo protista Gregario. Fue entonces, que se descubrió erróneo el concepto que lo definía como intracelular obligado, pues se pensaba que únicamente era capaz de multiplicarse en una célula hospedadora adecuada, según lo definido por Avendaño, (2018). En igual sentido, en un manuscrito de Ryan et al., (2016), se menciona que a raíz de diferentes investigaciones microscópicas, estudios moleculares, genéticos y datos bioquímicos que datan desde el año 1998 hasta el 2016, realizados por un grupo amplio de expertos, existe una similitud entre *Cryptosporidium* y la gregarinas.

De igual manera, en el mismo documento citando a Cavalier, (2014), se menciona que estos hallazgos sirvieron de base para la reclasificación formal del género *Cryptosporidium* de la subclase Coccidios, clase Coccidiomorpha a una nueva subclase, definida como Cryptogregarina, dentro de la clase Gregarinomorpha. Estos autores, afirman que esta información no ha sido impugnada por la literatura, por ende *Cryptosporidium* es oficialmente una Gregarina.

Asimismo, Ryan et al., (2016), establecen un cuadro comparativo basado en la literatura, con las similitudes entre las dos especies de acuerdo a diferentes propiedades de las mismas:

Tabla 1

Similitudes entre Cryptosporidium y especies Gregarine

<i>Propiedades</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Gregarinas</i>
<i>Ciclo vital</i>	Monoxeno	Monoxeno
<i>Localización en el huésped</i>	Ocurre en el borde en cepillo del enterocito intestinos	Ocurre en el borde en cepillo del enterocito intestinos
<i>Ubicación Epicelular</i>	Si	En algunas especies (Gregarinoidea)
<i>Orgánulo alimentador</i>	Epimerite	Mucrón o epimerite
<i>Mizocitosis-como de alimentación (citoplasma del huésped es tomada por el documento adjunto parásito)</i>	Si	Si
<i>Desarrollo extracelular</i>	Si	Si
<i>Capacidad para intracelular o replicación asexual extracelular (merogonia) de Trofozoítos</i>	Si	Si

<i>Ondulantes epicytic pliegues que cubre la superficie de la extracelular etapas</i>	Si	Descrito para otras especies pertenecientes a Terragregarina
<i>Presencia de parasitiphorous sac / vacuola</i>	Doble membrana	Multi-membranoso de Ditypanocystis especies
<i>Presencia de apicoplasto</i>	Ausente	En su mayoría ausente
<i>Syzygy (de extremo a extremo de emparejamiento para la reproducción)</i>	Presente	Presente
<i>Capacidad de los esporozoitos / zoitos desarrollar directamente en las etapas sexuales sin merogonia</i>	Correspondiente a <i>C. parvum</i>	Urosporoidea (anteriormente eugregarines)
<i>Ooquistes de auto-infeccioso</i>	Si	Reportado en garnhami Triboliocystis y tribolii Farinocystis
<i>No. de esporozoitos / ooquistes</i>	Cuatro	Cuatro en muchas especies
<i>Presencia de los orgánulos complejos apicales como anillos conoide y polares en esporozoitos</i>	Si	Reportado en Mattesia Grandis

Nota: Tomada de Ryan, (2016).

En efecto, la taxonomía de *Cryptosporidium*, como la taxonomía de la mayoría de los organismos, sigue siendo fluida. Aunque se pueden introducir nuevos criterios en el futuro, el marco taxonómico discutido anteriormente debería ser útil para guiarnos a minimizar la creación de nombres no válidos para las especies (Xiao et al., 2004). Es así, como se podría pensar que la

taxonomía no varía constantemente, sino se van encontrando nuevas especies esto gracias al desarrollo de nuevas investigaciones, estudios moleculares y avances tecnológicos que facilitan su identificación.

Xiao et al. (2004) mencionan que ya no podemos describir nuevas especies de *Cryptosporidium* basadas sólo en descripciones morfológicas o estudios de desarrollo. Debido a que la mayoría de los animales pueden ser infectados naturalmente con múltiples especies de *Cryptosporidium* y para evitar la confusión en la identidad de los parásitos implicados, será clave definir distintas diferencias genéticas entre las especies para denominar las que serían las nuevas especies de *Cryptosporidium*.

En ese mismo orden de ideas, Chacín (2007), en una investigación clínica menciona una teoría a cargo de Thompson et al. (2005), donde existiría una coevolución del parásito-hospedador en el género *Cryptosporidium*, resaltan que los hospedadores relacionados genéticamente albergan con frecuencia formas relacionadas del parásito. Sin embargo, en algunos casos, el huésped actual no define la especie en particular que evolucionó. Igualmente, prueban la hipótesis usando como ejemplo la especie *C. meleagridis*, la cual originalmente fue un parásito de mamíferos que luego se estableció en aves. Lo anterior, posiblemente dado a la estrecha relación, anteriormente mencionada que tiene *Cryptosporidium* con las gregarinas. Por ello, este género puede abarcar una gran variedad de especies y los reservorios pueden incluir vertebrados inferiores y aun invertebrados (Hijawi NS et al., 2004).

Aspectos de su biología

Se ha establecido, que la vida del *Cryptosporidium* en el medio ambiente se da en forma de ooquistes, en su interior contienen cuatro esporozoitos los cuales forman el cigoto del

parásito, estos tienen un ciclo de vida monoxeno, es decir que todas las etapas de su desarrollo, sexual y asexual, se completan dentro del tracto gastrointestinal de un único huésped (Luján & Garbossa, 2008). De igual forma, este término se refiere a que este ciclo de vida se divide en 6 etapas: desenquistación o exquistación (liberación de esporozoitos infectantes), merogonia (multiplicación asexual), gametogonia (formación de gametos), fertilización, formación de la pared del ooquiste y esporogonia (formación de esporozoitos), (Vasquez G. et al., 1986).

Ciclo de vida del *Cryptosporidium spp.*

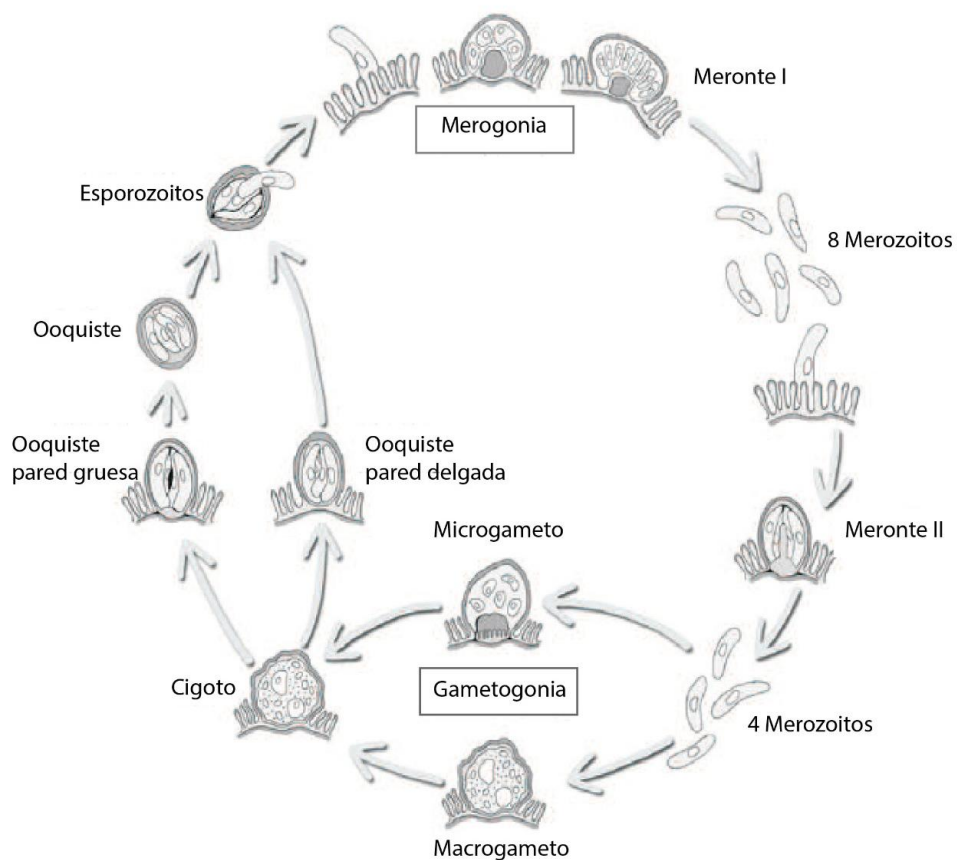


Figura 1 Esquema del ciclo de vida del *Cryptosporidium spp.* Copyright 2012 por Rojas Cruz.

En cuanto a su vía de infección, puede ser transmitido persona a persona, de forma fecal a oral, zoonótica y a través del consumo de agua y alimentos contaminados de estos organismos (Efstratiou et al., 2017). Cuando se ingiere por vía fecal-oral, el oocisto viaja a través de la luz del intestino hasta el intestino delgado, donde los esporozoitos son liberados por exquistación. Para luego, adherirse al epitelio intestinal, allí son envueltos por la membrana apical de la célula huésped, permitiendo que el parásito se multiplique asexualmente (Di & Tonelli, 2016). Dicha exquistación, es necesaria para colonizar al huésped, esta se produce cuando el quiste se expone a la acción de un pH bajo y secreciones pancreáticas (Anderson, 2005). La Criptosporidiosis suele tener un período de incubación que oscila entre una a dos semanas y su duración es variable, de 8 a 20 días, no obstante hay casos de individuos inmunocompetentes o inmunodeficientes en los que la enfermedad se extiende indefinidamente hasta provocar la muerte (García, S. et al., 2014).

En definitiva, *Cryptosporidium* ha desarrollado la capacidad de sobrevivir en múltiples ambientes, incluidos acuáticos fríos, pues su dosis de infección es baja, tiene una gran resistencia a la desinfección de los ooquistes, su capacidad auto infectiva es alta y su ciclo de vida es rápido, la producción de ooquistes pueden llegar a cantidades que van desde los 2 mil hasta los 20 mil millones diarios. Por lo tanto, después de ser arrojados al ambiente los esporozoitos mueren, mientras que los ooquistes pueden permanecer latentes más de un año en agua o en suelo húmedo, convirtiéndose en una gran amenaza de contaminación de agua potable a nivel mundial (Karanis et al., 2007 & Garza, & Morales, 2002).

Capítulo 3

Implicaciones en la Salud Pública por la presencia de *Cryptosporidium parvum* en el recurso agua

Distribución geográfica y Manifestaciones clínicas

La infección humana por *C. parvum* es cosmopolita, existe en todos los continentes, en países industrializados y tercermundistas, y en áreas urbanas y rurales (Chacín, 1995). Por consiguiente, *Cryptosporidium* debería ser considerado como un parásito de especial atención e interés para la investigación, debido a que su gran capacidad de infección puede suponer un riesgo tanto para los habitantes de países en vía de desarrollo y desarrollados. De la misma manera, no se debería subestimar su poder de alcance y afectación, precisamente, según un reciente estudio formulado por “Global Burden of Disease Study” en el año 2015 (citado por Khan et al., 2017), se estimó que la criptosporidiosis representó aproximadamente el 12.1% de las muertes a nivel mundial entre los niños menores de 5 años y se catalogó como la cuarta causa de muerte entre los niños de esa misma edad.

En cuanto a la distribución geográfica de la enfermedad, en el caso de EEUU anualmente se declaran entorno de 8.500 casos de criptosporidiosis, sin embargo, la cifra de infectados puede ascender a 748.000 casos. Lo anterior, en base a un análisis de los casos reportados entre el periodo de los años 1995 - 2012 (Painter et al., 2016). En ese mismo orden de ideas, Kotloff et al., (2013, citado por Khan et al. 2017), con un estudio prospectivo de casos y controles de enfermedad diarreica en lactantes y niños pequeños, confirmó estas cifras al determinar que en Estados Unidos, *Cryptosporidium* infecta a 750,000 personas cada año y por ende, es considerada como la segunda causa principal de diarrea y muerte en niños.

Por otro lado, Khan et al. (2017) entre otras cosas, en una recopilación de las posturas de diferentes autores frente a este tema, menciona, que en África subsahariana, el 93% de las 64.818 muertes reportadas en 2015 fueron principalmente de niños menores de 5 años infectados con *Cryptosporidium*; mientras que, en África mediterránea, la tasa de mortalidad por diarrea de 2010 en niños menores de cinco años fue significativamente menor. Sin embargo, a partir de lo anterior realiza un análisis considerando que esta cifra tan baja se debe a una vigilancia deficiente, un diagnóstico insuficiente o una mala contabilidad de los casos reportados. Entretanto, se han confirmado tasas altas de infección en diferentes países como: Corea con 22%, Chile con 19.3%, Guatemala con 20.4%, 22% en Nueva zelandia y 29.6 % en México (Chom, 1993; Blanco, 1998; Mercado, 1992; Wiata, 1985; Miller, 1994 Citado por Chacín, 1995).

En latinoamérica se ha establecido las siguientes cifras de prevalencia: en Brasil se determinó en un 18,7 %; en Argentina del 3,9 %; Costa Rica 4,3 %; Venezuela 10,8 %; Ecuador 11,2 %, Guatemala 13,8 %; 16,7% en Haití, y en Colombia de 33,2 % (Solarte et al., 2006 citado en García, S. et al., 2014).

Mientras tanto, Avendaño (2018) en una contribución al conocimiento de la criptosporidiosis en regiones Colombianas a partir de aislados en animales, reportó que en residentes de Cali, Medellín, Bucaramanga y Bogotá, más del 83% presentaron anticuerpos séricos frente a *Cryptosporidium*. En igual sentido, estudios coprológicos revelaron que la prevalencia del protozoo en la población infantil es muy variable en diversas zonas geográficas, en representación de ello, están los departamentos de Cundinamarca donde la cifra asciende al 7%, Santander con un 40 a 42% o Arauca con 46,8% (Carreño y col., 2005; de Arango y col., 2006; Bayona y col., 2011, citado por Avendaño, 2018), valores que son muy superiores a los

observados en niños del Amazonas por microscopía (1,9%) y qPCR (1.8%) (Sánchez y col., 2017, citado por Avendaño, 2018).

Epidemiología e Inmunobiología

En los últimos años, la presencia de *Cryptosporidium* en medio acuoso se ha convertido en un notable riesgo en la salud pública de todo el mundo; aunque nadie está exento de padecer Criptosporidiosis, las poblaciones en vía de desarrollo son las más vulnerables de adquirir la infección. Lo anterior, debido a factores como la deficiencia en el tratamiento de agua potable, aguas residuales y de uso recreacional, adicionalmente, la desnutrición y padecer de inmunodeficiencia, son hechos que intervienen en que se convierta en un riesgo mayor. Asimismo, los expertos han diferenciado un grupo catalogado como de alto riesgo de padecer esta enfermedad, entre los integrantes que constituyen este grupo podemos encontrar individuos inmunocomprometidos, portadores de VIH, niños en guarderías, viajeros a lugares endémicos, criadores de ganado vacuno, personas en contacto con perros, gatos u otras mascotas (contaminados con el protozoo), practicantes de natación y enfermeras (García, S. et al., 2014).

Desde una perspectiva clínica, la criptosporidiosis suele estar acompañada de síntomas que van de leves a severos, dependiendo de varios factores como la edad del huésped, el estado inmunológico, la nutrición, la genética y el lugar de la infección (Morris et al., 2019). Esta sintomatología incluye principalmente diarrea acuosa profusa, seguida dolor abdominal tipo cólico y, con menor frecuencia, náuseas, anorexia, fiebre de bajo grado y malestar general (Pearson, 2020). Con relación, a la que la dosis infecciosa para un humano adulto es relativamente baja, sólo alrededor de 10 ooquistes, es un riesgo epidemiológico altamente significativo (Chalmers, 2010 citado por Polus et al., 2014).

Ahora bien, para el diagnóstico médico de criptosporidiosis, se usa con frecuencia las heces u otras muestras de fluidos corporales, las cuales son remitidas a laboratorios especializados. Es así como, la presencia del parásito, suele ser confirmada con distintos métodos; entre los más efectivos se encuentran la técnica de identificación con ácido - alcohol, determinada por la resistencia de los ooquistes a la decoloración. Otro método, es el enzimoimmunoensayo, usado para detectar el antígeno de *Cryptosporidium* en las heces; este es más sensible que el examen microscópico en busca de ooquistes (de la Parte et al., 2005). Por último, está la microscopía de contraste de fase o con tinción con técnicas de Ziehl-Neelsen y Kinyounm, reconocidas por su alta eficiencia (Pearson, 2020), y otras como Giemsa, Auramina-Rodamina y Safranina, definidas como menos específicas (Ángel et al., 1985).

En la actualidad, no se dispone de un fármaco que sea realmente eficaz para el tratamiento de la criptosporidiosis en humanos y animales. Sin embargo, según de la Parte (2005), se han utilizado antibióticos y quimioterápicos, coccidiostáticos, antivíricos, antidiarreicos, inmunoterapia e inmunomoduladores para contrarrestar los síntomas. Así como también, se encuentran recetas médicas con espiamicina, paromomicina, azitromicina y roxitromicina. Generalmente, la prescripción más común en pacientes sin sida y con infección persistente es la Nitazoxanida; No obstante, en los pacientes con SIDA, la reconstitución inmunitaria con terapia antirretroviral es fundamental, acompañada con altas dosis de Nitazoxanida (Pearson, 2020).

Prevención y control

Ciertamente, al no existir una vacuna o tratamiento 100% eficaz contra la infección, autores como Avery et al.(2003), recomiendan rigurosidad en prácticas como el lavado de las manos vigorosamente con agua y jabón antes de comer, preparar o servir alimentos, después de

ir al baño, cambiar pañales, tocar animales o limpiar sus excrementos, supervisar el lavado de manos en niños y evitar tomar agua de lagos, arroyos u otros cuerpos de agua superficial no tratada, o de uso recreacional, son las mejores acciones que se pueden hacer para evitar contraer y difundir la criptosporidiosis y otras enfermedades.

Por su parte, Pearson (2020) aconseja algunos métodos de descontaminación de agua fiables, que se pueden aplicar en casa como lo son; La ebullición del líquido durante 1 minuto (3 minutos a alturas > 2.000 m [6.562 pies]) y segundo, usar filtros con poros $\leq 1 \mu\text{m}$ (especificados como “1 micrón absoluto” o certificados bajo el Estándar Internacional del NSF/ANSI número 53 o 58), pues se ha confirmado que estos eliminan efectivamente los ooquistes de *Cryptosporidium*.

En síntesis, *Cryptosporidium* ha demostrado tener las características taxonómicas, morfológicas y epidemiológicas necesarias para dejar graves afectaciones a la salud humana y ambiental al afectar las fuentes de abastecimiento, influyendo así, en la disminución del recurso. Lo anterior, debido a que su principal vehículo de transmisión es el agua y tiene alta resistencia a métodos de tratamiento de desinfección del líquido, logrando alcanzar a una mayor cantidad de personas. Por ello, es imprescindible que los estudios e investigaciones se centren en ofrecer una solución efectiva en la eliminación de protozoos como *Cryptosporidium* en el agua, ya sea para consumo, de uso recreacional o vertimientos finales de agua residual.

Capítulo 4

Presencia de *Cryptosporidium parvum* en el medio acuoso, métodos de detección y tratamiento

Agua apta para consumo humano

Se ha demostrado, que los cambios estacionales tienen un papel importante en la contaminación del agua en fuentes superficiales, especialmente en los períodos de tiempo donde hay mayor precipitación (Gennarri-Cardoso et al. 1996, citado en Baquer et al. 2018). Es así, que los números de ooquistes aumenta, concurrente con las estaciones de lluvia debido al lavado de las heces de ganado bovino que contiene dichos ooquistes, llevándolos hasta el agua de ríos y lagos (Tsushima et al., 2003, citado en Baquer et al. 2018). En ese mismo orden de ideas, los ríos y lagos contaminados por ooquistes, pueden conducir a la aparición de enfermedades transmitidas por el agua (Morgan-Ryan et al., 2002).

Por otro lado, Baquer et al. (2018) también menciona esta estrecha relación, entre, la acumulación de residuos de vaca en el campo y su flujo por escorrentía durante la temporada de lluvias, dando lugar a la contaminación fuentes de agua superficial. Asimismo, asocia la contaminación por el parásito en el agua potable, al agrietamiento y rotura de tuberías de abastecimiento entre las plantas de tratamiento y las casas, especialmente en las áreas que son campos agrícolas.

Aguas de uso recreacional

Con la influencia que ejerce hoy en día mantener un estilo de vida saludable, la popularidad de la natación ha aumentado. Por ello, es importante mencionar que en un país como

Estados Unidos, en los últimos años, más de 10.000 personas fueron identificados en 31 lugares de adquirir criptosporidiosis en aguas de recreo (Fayer et al., 2000). Por otro lado, una vez introducido en piscinas, los ooquistes de *Cryptosporidium* pueden sobrevivir muchos días o semanas infectando a otros nadadores (Tangermann, 1991).

Fayer, (2004) atribuye estos casos de contagio en aguas de recreo, a la combinación de la materia fecal frecuente, la resistencia de los ooquistes a la desinfección por cloro y a la baja dosis infecciosa del parásito. De la misma manera recomienda, que para reducir la transmisión en aguas de recreo los operadores de piscinas, la salud pública y los usuarios deben trabajar juntos. Otros autores también recomiendan, que es necesario que el público en general y en particular las personas inmunocomprometidas, entiendan sobre las enfermedades de transmisión asociadas al agua recreativa, adicionalmente, recomiendan adoptar hábitos sanos de natación por ejemplo, no nadar cuando están enfermos con diarrea, no tragar agua de la piscina, una mejor higiene, necesarios para reducir el riesgo de transmisión de patógenos (Corona, 2002).

Aguas residuales

En Latinoamérica, se ha reportado la presencia del protozoo en aguas residuales, donde, a través de estudios se han encontrado: hasta 62 ooquistes de *Cryptosporidium spp.* por litro en Argentina, y de 0 a 680 ooquistes de *Cryptosporidium spp.* por litro en Brasil (Calderón E., 2002; Coutinho EW, 2002 - citado por Alarcón, 2005). En efecto, este ha sido de los temas menos indagados en la literatura, sin embargo, al considerar que es común el uso de las fuentes superficiales para la disposición final de este tipo de vertimientos y que en muchas ocasiones no reciben ningún tipo de tratamiento de depuración, su presencia se considera como un riesgo

sanitario latente, adicionalmente, el comportamiento del parásito en el ambiente, llevaría a pensar que en un futuro afectaría la disponibilidad del recurso hídrico.

Métodos de detección

La identificación de *Cryptosporidium* en el agua, suele ser un procedimiento complejo; existen numerosos métodos de concentración y detección de protozoarios entéricos en medio acuoso, que, aplicados en conjunto con los métodos moleculares y cultivo celular, permiten determinar de manera eficiente y sensible las especies y genotipos asociados con enfermedades en humanos (Betancourt & Querales, 2008). En representación de lo anterior, los siguientes son los métodos de detección más nombrados en la literatura:

Antes de su detección, las muestras de agua sospechosa de contaminación con *Cryptosporidium* objeto de análisis, pasan por un procedimiento de recolección y posible captura del parásito, para después dar lugar a la identificación del mismo. De la Parte et al. (2005), indican que se puede usar el método de concentración de los microorganismos en muestras por técnica de flotación y después identificarlos con métodos de detección como microscopía de contraste de fase o métodos de tinción. Por otro lado, Kalinová et al. (2018), en una investigación hecha en aguas de estanques de peces y reservorios de la región de Nitra, Eslovaquia, señalan que como procedimiento para determinar la presencia de *Cryptosporidium*, se podría examinar agua recogida en botellas de vidrio estéril, para luego filtrar la muestra a través de microfiltros de membrana a base de mezcla de acetato de celulosa y nitrato de celulosa y, así finalmente, detectarlo a través de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

En cuanto, a la técnica de **filtración con membrana de celulosa** de 0,45 μm de porosidad, utilizada para el reconocimiento de ooquistes de *Cryptosporidium* en aguas naturales.

Padilla, (2014) explica que este método consiste en la identificación de parásitos teniendo en cuenta aspectos de su morfología y tinción. En cuanto a, los aspectos a tener en cuenta son; su forma esférica, su doble pared, su tamaño de 4 a 5 micrómetros, la presencia de cuatro esporozoitos desnudos en su interior y una estructura esférica roja brillante y pequeña, que son sólo observables con la tinción de Kinyoun.

A su vez, Alarcón et al. (2005) describen el método 1623, propuesto por EPA, para recuperación y detección de *Cryptosporidium*, nombrado como la técnica de **filtración**. A partir de este método, estos autores plantean evaluar la presencia del protozoo en estaciones de muestreo, donde primero, se filtran las muestras de agua a través de un filtro Envirocheck®Gelman, posteriormente, se adiciona el eluyente dentro del filtro y se agita por un solo costado. Este eluido se transfiere a tubos de centrífuga y se repite el procedimiento para trabajar por el costado contrario, a continuación, se centrifuga de nuevo, reuniendo todo el sedimento en un solo tubo, posteriormente, se toma una muestra del sedimento y se centrifuga, resultando en la formación de tres fases. En la interfase, es donde se encuentran las formas quísticas, por ello, se depositan en otro tubo de centrífuga y se le lavan con PBS centrifugando, para finalmente, hacer su montaje y lectura.

Otro procedimiento análogo, es el método ISO 15553: 2006, aplicable para la detección y enumeración de oocistos de *Cryptosporidium spp.* y quistes de *Giardia spp* en aguas superficiales, subterráneas, aguas tratadas, aguas minerales, piscinas y aguas recreativas (ISO 15553, 2006 & Efstratiou et al., 2017). El proceso de ISO 15553, se constituye en tres partes: 1. La concentración de la muestra de agua, seguida, de una reducción de su volumen, de esta manera se retienen los ooquistes y quistes, luego se concentra el agua usando filtración por cartucho y elución, terminando con centrifugación a baja velocidad.

Continuando, el paso número 2. Es una purificación y una mayor concentración, aquí los oocistos y los quistes se aíslan usando separación inmunomagnética, los ooquistes y quistes se unen a perlas paramagnéticas recubiertas con anticuerpos específicos, las perlas se separan del material en partículas no deseado usando un imán y luego los ooquistes y quistes se disocian de las perlas con ácido y se neutralizan con álcali antes de la inmunotinción. Finalizando, con el paso 3. Detección de *Cryptosporidium*, los organismos se marcan con anticuerpo monoclonal (mAb) conjugado con un fluorocromo, generalmente isotiocianato de fluoresceína (FITC). Luego se examina cada muestra para detectar la presencia de oocistos de *Cryptosporidium* marcados y quistes de Giardia utilizando microscopía de epifluorescencia y contraste de interferencia diferencial (ISO 15553, 2006).

En cambio, según Swaffer et al. (2014), el método PCR reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) es de los métodos más usados para la identificación de *Cryptosporidium*, pues, proporciona una alta detección de presencia o ausencia en función de los marcadores genéticos aplicados, independientemente de la naturaleza infecciosa de los ooquistes, por lo cual, es considerado el método más sensible. Asimismo, la técnica PCR, según el Instituto Nacional de Salud de Colombia (2018), es una herramienta que se basa en la amplificación de una secuencia específica de ácidos nucleicos de los microorganismos de interés, usada en el diagnóstico por biología molecular, que busca el análisis de agentes biológicos en función de las características de su información genética.

Por otro lado, Adeyemo et al. (2018) describen los métodos basados en la **observación microscópica**, los cuales se han utilizado ampliamente para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* en agua. Como muestra, de ellos está la **microscopía óptica**, la cual, determina las características morfológicas del parásito, no obstante, solo con estos datos no se puede formar

la base para la identificación y diferenciación de *Cryptosporidium*, por lo que necesita la ayuda de diferentes procedimientos de tinción para distinguir claramente los ooquistes.

Con el mismo propósito, Betancourt & Querales (2008) explican la **microscopía de inmunofluorescencia**, la cual consiste en utilizar anticuerpos monoclonales o policlonales conjugados con isotiocianato de fluoresceína (ITFC). Donde, los anticuerpos monoclonales (1 clon de linfocitos B) de tipo IgG1 son los más eficientes, ya que poseen mayor avidez y especificidad que los anticuerpos policlonales (diferentes líneas de células B) u otras clases de anticuerpos monoclonales. Según Arnedo et al. (2008), esta técnica ha sido recomendada para detección del parásito en aguas residuales por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos, debido a su alta sensibilidad.

Por otro lado, autores como Luján & Garbossa (2008) & Arnedo et al. (2008) señalan las técnicas de **coloración** como las más empleadas para el análisis de la presencia de *Cryptosporidium* en agua, que, en muchos casos les da fiabilidad a las metodologías de observación morfológica. Estos autores afirman, que aunque existen distintas técnicas de tinción como Dimetilsulfóxido, Giemsa, Auramina- Rodamina, Safranina, Azul de metileno, Ácido peryódico de Schiff, coloración de Gram, Metenamina de plata y Nigrosina; actualmente los más usados son las técnicas de Ziehl-Neelsen y Kinyoun.

Así las cosas, **Ziehl-Neelsen** es un método de detección, usado para la identificación de bacterias ácido-alcohol resistente (BAAR). Autores como de la Parte et al. (2005), señalan que Ziehl-Neelsen facilita la identificación de *Cryptosporidium*, porque diferencia los ooquistes de las levaduras, que tienen forma y tamaño similar; debido a que los ooquistes se tiñen de rojo por ser ácido-alcohol resistentes, mientras que las levaduras no toman esta coloración. Este proceso

de tinción consiste en combinar fucsina fenicada con verde de malaquita y un calentamiento de la muestra; para que el colorante atraviese la membrana celular, generando una coloración roja de los ooquistes frente al tono verde-azulado del resto de la preparación (Avendaño, 2018). No obstante, Adeyemo et al. (2018) advierten que para esta técnica se requieren analistas experimentados para la interpretación de los resultados y que se desarrolla bajo un procedimiento lento (tardando aproximadamente entre 30 a 45 minutos por muestra).

En contraste, la técnica **Kinyoun o técnica Ziehl-Neelsen modificada**, según Arnedo et al. (2008) se fundamenta en la capacidad que tiene la fucsina básica fenolada en disolver, la pared gruesa quística que presenta el parásito constituida por ácidos grasos, es por ello, que a diferencia de la Ziehl-Neelsen original, en esta no usa calor para teñir los ooquistes del coccidio intestinal, ya que retienen el colorante a pesar de ser tratados con ácidos y alcoholes. En este método se utiliza como colorante la fucsina básica fenolada, luego el ácido y contratiñendo con azul de metileno, al ser la fucsina, un colorante específico para este tipo de parásito, los ooquistes de *Cryptosporidium* se tiñen de color rojo púrpura sobre un fondo de color azul.

Para terminar, otra de las técnicas, es la detección por Enzimoimmunoensayos, cuyo principio se basa en la interacción del antígeno (Ag) y el anticuerpo (Ac), utilizando la técnica ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) para determinar con una gran sensibilidad microorganismos como *Cryptosporidium* en el agua. ELISA utiliza anticuerpos marcados con una enzima (generalmente la peroxidasa) para visualizar la reacción Ag-Ac. El proceso de este modelo es, primero, el Ac específico para el Ag de interés se encuentra adsorbido en un soporte sólido sobre el cual se añadirá la muestra biológica. En el caso de que en dicha muestra se encuentre el Ag, quedará capturado en la placa y será puesto en evidencia tras la adición de otro Ac específico conjugado con la enzima, el cual genera un producto detectable.

Por último, se añade el sustrato incoloro que, por acción de la enzima, dará un producto coloreado observable a simple vista y cuantificable mediante un espectrofotómetro (Hernández et al., 2013).

Métodos de tratamiento

Se creería, que la eliminación de microorganismos en el agua, está cubierta por los métodos de tratamiento convencional; como lo son la coagulación, floculación, sedimentación, filtración y desinfección. Autores como Avery et al., (2003) aseguran que estos métodos son los de mayor uso, sin embargo, teniendo en cuenta lo expuesto a lo largo del documento, donde se ha determinado que la presencia de *Cryptosporidium*, se da en forma de ooquistes de tamaños muy pequeños, que logran incluso atravesar los medios de filtrado y con una alta resistencia al cloro, da lugar a considerar otras alternativas o métodos con mayor eficiencia en el tratamiento.

Es por ello, que a través de estudios, autores como Abramovich et al. (2004) han analizado la efectividad de distintos coagulantes para la optimización de la eliminación de *Cryptosporidium* en el proceso de potabilización del agua. Según la investigación, el coagulante con resultados más satisfactorios fue el **cloruro férrico** trabajado con dos procedimientos distintos; con y sin el agregado de polímero no iónico que en este caso uso la poliacrilamida. Aunque ambos casos se reportaron buenos resultados, los coeficientes de variación obtenidos demostraron que cuando se utilizó el cloruro férrico con el polímero, disminuyó más efectivamente la turbiedad, además detectaron un mayor promedio y una menor variabilidad en la eliminación de ooquistes. Asimismo, la poliamina cuaternaria el agregado de polielectrolito (producto de la polimeración de epíclorhidrina y 1,3 dicloro 2 propanol) mejoró la calidad del

floc facilitando la retención de los parásitos en su estructura, lo que conduciría a una mayor confiabilidad en su remoción.



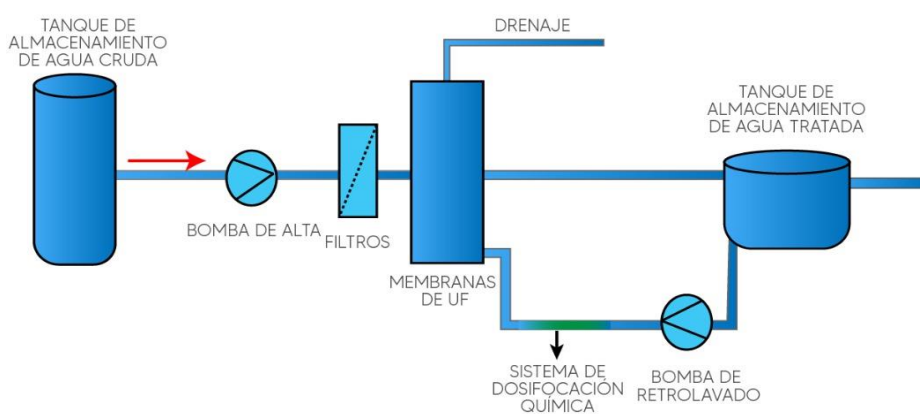
Figura 2 Descripción del proceso de coagulación para el tratamiento de agua aplicando cloruro férrico. Copyright 2017 por Cordero Ayala.

Existen métodos más avanzados derivados de la filtración que, a pesar de ser más costosos, ha generado mejores resultados en la calidad del tratamiento del agua. Prueba de esto, es la **Ultrafiltración (UF)**, que según Valero et al. (2018), se ha mostrado como una tecnología robusta y compacta, capaz de trabajar con agua de distintos orígenes y características, manteniendo siempre una calidad constante y correcta del flujo de permeado, y reduciendo la dosificación de reactivos químicos. Estos autores demostraron lo anterior a través de un estudio en una planta potabilizadora de agua en España, donde probaron UF con agua decantada y agua cruda. Los resultados que obtuvieron fueron, para agua decantada, una reducción de turbidez del

69,1±13,4%, eliminando también los parámetros microbiológicos y parte del aluminio residual procedente del proceso de coagulación; en agua cruda, la reducción de turbidez ha sido del 91,1±4,5%. Adicionalmente, obtuvieron una desinfección física con reducción de bacterias y protozoos en el flujo de permeado.

PROCESO DE TRATAMIENTO DE AGUA POR ULTRAFILTRACIÓN (UF)

UF en planta de tratamiento



UF doméstica

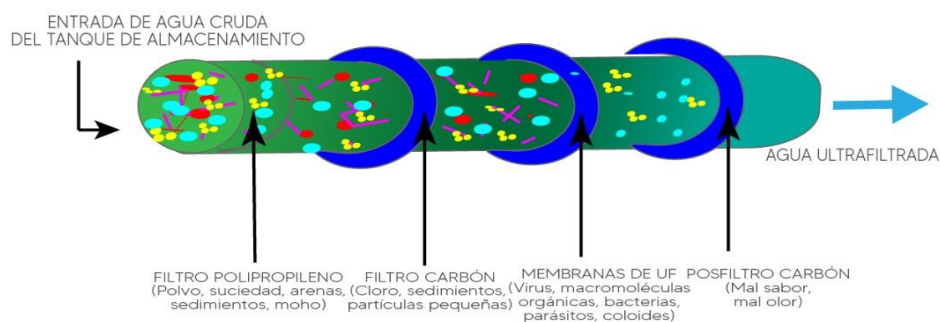


Figura 3 Proceso de desinfección de agua por método de ultrafiltración (UF) en una planta de tratamiento convencional y una planta doméstica. Copyright 2013 - 2018 por LEPSA & OSMOFILTER.

En el mismo sentido, Mourato (1998) describe que las técnicas de membranas de **microfiltración** (MF) y nanofiltración (NF) se están usando cada vez más en el campo del agua potable. Afirma, que en el caso de algunas aplicaciones, las membranas MF remueven oocistos

de *Cryptosporidium*, asimismo actúan en la remoción de la turbiedad mediante la microfiltración y el tratamiento de agua salobre o con color mediante la nanofiltración. Mourato, destaca que estos métodos necesitan poco requerimiento de energía, además, tienen un efecto de barrera absoluta para microorganismos, un menor requerimiento de cloro para la desinfección y un uso reducido de productos químicos (en caso de que se usen). No obstante, la MF y NF, no son métodos frecuentemente discutidos en las investigaciones y estudios, por lo que podría deducirse que su uso no es muy habitual.

PROCESO DE TRATAMIENTO DE AGUA POR MICROFILTRACIÓN

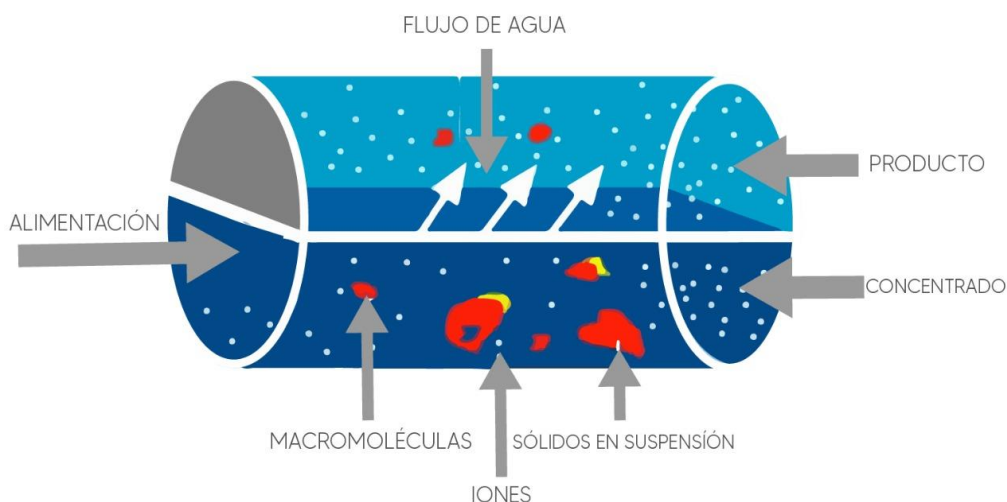


Figura 4 Esquema del proceso de tratamiento de agua por micro filtración en filtros industriales que remueven partículas de tamaños mayores a 0.1 a 10 micras. Copyright 2017 por Grupo agua.

Por otro lado, la **cloración**, que puede llevarse a cabo suministrando cloro gaseoso, hipoclorito de sodio o dióxido de cloro, es usado frecuentemente en aguas residuales y recreacionales, pues elimina algunas bacterias pero no le causa daño a parásitos como

Cryptosporidium (Rojas & Orta, 2002), por ello, podría vincularse más como un método de desinfección complementario, que principal. En una investigación hecha por Pereira et al. (2008), donde comparan la eficacia de cloro, dióxido de cloro y ozono, en la inactivación de *Cryptosporidium parvum* en aguas de Paraná, en el sur de Brasil. Los resultados que obtuvieron demostraron que el ozono es el más eficaz en este estudio, puesto que había alcanzado 99.9% de inactivación del protozoo, contrario a los resultados en agua tratada con procesos de filtración y cloración, pues los resultados demostraron presencia de un 54% de ooquistes de *Cryptosporidium*, demostrando que el ácido hipocloroso y el dióxido de cloro como los métodos que presentan la más baja eficacia en la inactivación del parásito.

La ventaja principal del dióxido de cloro es que mejora el gusto y el olor, y reduce la formación de subproductos orgánicos, como los trihalometanos (THM). Además, el dióxido de cloro resulta efectivo en un amplio rango de valores de pH y como desventajas están el hecho de que no existe un equipo estándar de generación de dióxido de carbono y no se puede analizar de manera adecuada el dióxido de carbono y sus sub-productos (Deininger et al., 1998). En cuanto, al hipoclorito de sodio un gran potencial bactericida, sin embargo, tiene la desventaja de poseer una alta citotoxicidad (Balandrano, 2010). Para terminar, en cuanto almacenamiento el cloro gaseoso presenta mayores ventajas, pero puede suponer un riesgo para el personal que lo aplica frente a la posibilidad de presentarse fugas indetectables, peligrosas teniendo en cuenta la alta toxicidad del producto.

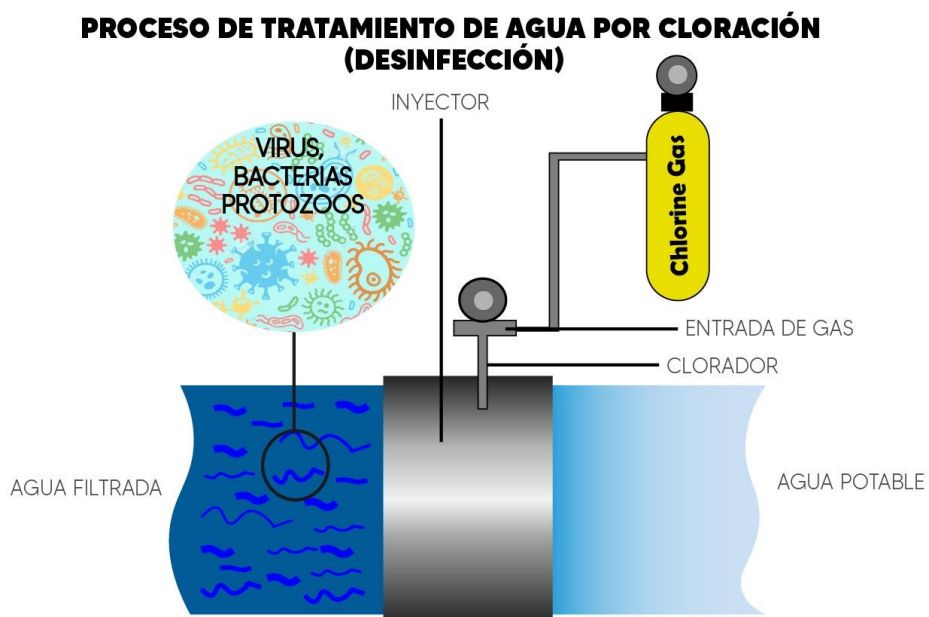


Figura 5 Esquema de aplicación del método de desinfección por cloración con cloro gaseoso. Copyright 2017 por Reindesa.

Otras alternativas al hipoclorito sódico son las tabletas de dicloroisocianurato sódico, ampliamente utilizadas desde hace décadas en la desinfección de agua a nivel industrial, comercial, doméstico e incluso recreacional (Fontán, 2011). A su vez, también existe el proceso de generación electrolítica de cloro la cual se basa, en términos generales, en la electrólisis de una disolución de cloruro sódico o sal común en agua (salmuera). Este se da a través de un proceso de electrólisis donde se introduce una solución de cloruro sódico, que se obtiene simplemente disolviendo sal en agua, se da la siguiente reacción química: $\text{Cl}_2 + 2 \text{NaOH} \leftrightarrow \text{NaOCl} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$ cloro (gas) + hidróxido sódico \leftrightarrow hipoclorito sódico + cloruro sódico + agua y finalmente, se obtiene una mezcla de Hipoclorito sódico de baja concentración, aproximadamente al 0,8% (Gratacós, 2014).

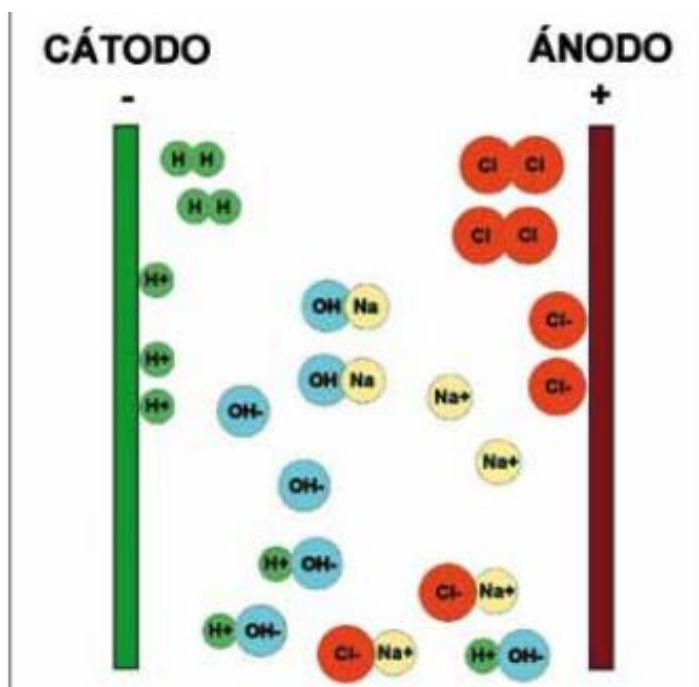


Figura 6 Proceso de electrolisis para la generación de Hipoclorito sódico. Copyright 2014 por Gratacós.

Por otro lado, Deininger et al. (1998) argumentan que la desinfección del agua con **ozono**, aunque es poco frecuente por sus elevados costos, resulta ser uno de los métodos más efectivos para la eliminación de *Cryptosporidium* y otros parásitos en el agua. El sistema de ozonización del agua funciona a través de tres componentes: Un generador de ozono, un contacto de ozono y, por último, un dispositivo de destrucción de ozono, donde este es liberado. El gas liberado por los contactores de ozono generalmente excede los límites permisibles por la norma, por lo que el ozono restante se tiene que reciclar o destruir. Lo anterior, debido a que como el ozono puede convertirse en un contaminante que perjudica la calidad del aire y al ser un oxidante fuerte, el contacto frecuente y con altas dosis reacciona con el tejido humano, afectando los ojos, nariz y pulmones, produciendo dificultades para respirar.

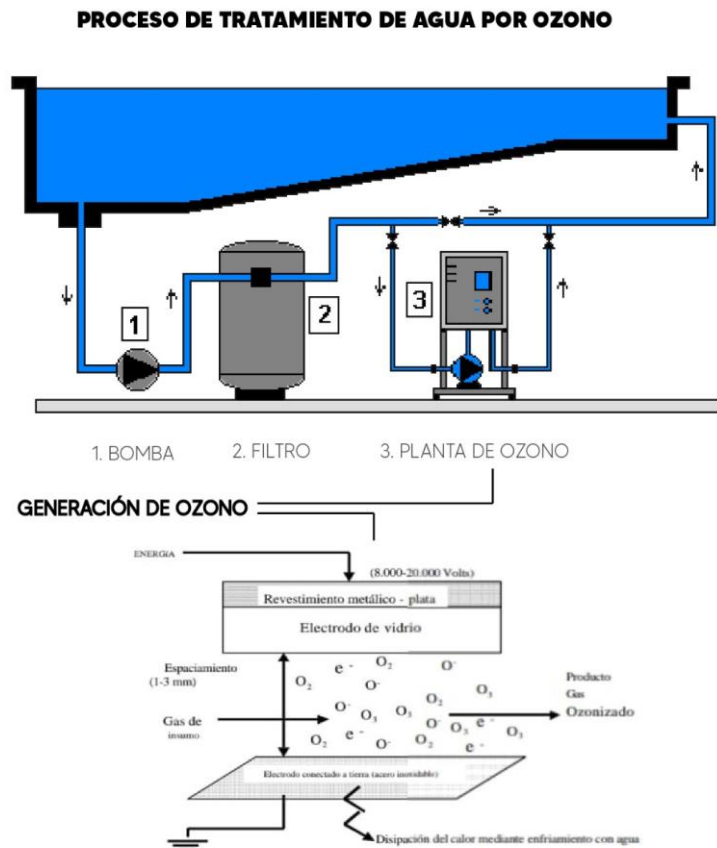


Figura 7 Esquema del proceso del método de desinfección con ozono y detalles de la generación de ozono al interior de la planta generadora. Copyright 2017 - 1998 por Reindesa, & Deininger et al.

Deininger et al. (1998), demostraron su efectividad por medio de un estudio, donde describen en forma detallada el proceso de ozonización y, a modo de ejemplo, muestran la reconversión del proceso de tratamiento en la ciudad de Ann Arbor, Michigan, EEUU, donde se construyó una planta de ozonización de agua. Fue así, como llegaron a la conclusión de que a partir de la instalación del proceso con ozono, la calidad del agua de Ann Arbor había mejorado enormemente, inclusive, fue considerada la de mejor sabor de Michigan, tanto así, que esperan que cumpla cualquier reglamento presente y futuro, sin importar la cantidad de compuestos orgánicos que tenga. Para el estudio, los autores tomaron los valores de concentración de ozono

por tiempo (CT) para la inactivación de virus y microorganismos patógenos como la Giardia tomados del documento de orientación para la potabilización del agua de la EPA

Cuadro 2 Valores CT para la inactivación por ozono (USEPA, 1991).

<i>Unidad de medida de reducción</i>	Temperatura (°C)				
	5	10	15	20	25
<i>Inactivación de microorganismos</i>					
0,5 log	0,32	0,23	0,16	0,12	0,08
1,0 log	0,63	0,48	0,32	0,24	0,16
1,5 log	0,95	0,72	0,48	0,36	0,24
2,0 log	1,3	0,95	0,63	0,48	0,32
2,5 log	1,6	1,2	0,79	0,6	0,4
3,0 log	1,9	1,4	0,95	0,72	0,48
<i>Inactivación de virus</i>					
2,0 log	0,6	0,5	0,3	0,25	0,15
3,0 log	0,9	0,8	0,5	0,4	0,25
4,0 log	1,2	1,0	0,6	0,5	0,3

Es preciso señalar, que CT corresponde al producto de la concentración residual de desinfectante en el tiempo de contacto tomado en minutos, sus unidades de medida son mg/l/m. Por otro lado, la reducción de los microorganismos se expresa en logaritmos decimales, por ende, les corresponde un porcentaje de reducción los cuales se detallan a continuación:

Cuadro 3 Representación porcentual de inactivación de microorganismos y virus en agua potable (Ramirez, s.f.)

LOG INACTIVACIÓN	% DE INACTIVACIÓN
0.0	0.00
0.5	68.38
1.0	90.00
2.0	99.00
3.0	99.90
4.0	99.99
5.0	99.999
6.0	990.000

Finalmente, están los procesos de oxidación avanzada, Fontán Sainz (2012) los define como aquéllos que implican la formación de radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) cuyo potencial de oxidación es muy superior al de otros agentes oxidantes tradicionales (ozono, peróxido de hidrógeno, dióxido de cloro y cloro). Estos radicales hidroxilo, son capaces de mineralizar diferentes compuestos como CO_2 , e iones inorgánicos, sin limitaciones importantes de concentración o cambio de fase, y simultáneamente inactivar una alta proporción de microorganismos patógenos presentes en el agua, como *Cryptosporidium* (Sánchez Ortega, 2017).

La producción de los radicales hidroxilos se puede obtener mediante diferentes métodos, entre ellos se encuentran: $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, O_3/UV , peroxidación catalítica con sistemas de reacción Fenton, fotocatalisis con semiconductores (como TiO_2 y ZnO) así como sólidos activos, sonólisis, sono-foto-catalisis, peroxidación catalítica en fase húmeda (PCFH) y las diferentes combinaciones entre éstos métodos (Sánchez Ortega, 2017).

PROCESO DE TRATAMIENTO DE AGUA POR RAYOS ULTRAVIOLETA

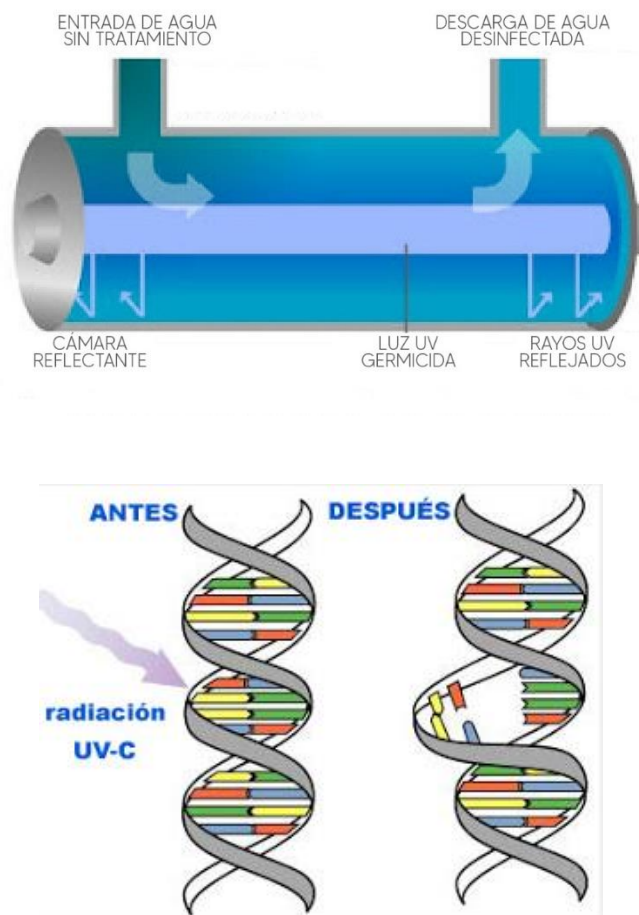


Figura 8 Esquema del proceso de aplicación del método de desinfección con rayos ultravioleta en el interior de la cámara reflectante y su efecto en el ADN de virus, bacterias y protozoos. Copyright 2010 por Blog Agua Purificación.

En otros términos, Rojas & Orta (2002), establecen el funcionamiento de UV de la siguiente manera: los microorganismos reciben la radiación ultravioleta y la absorben, enseguida, esta radiación destruye el ADN de los mismos logrando inactivar su patogenicidad. Wright & Cairns (2004), definen la luz UV como la porción del espectro electromagnético que se encuentra entre los rayos X y la luz visible, entrando en la inactivación de microorganismos como resultado del daño fotoquímico a sus ácidos nucleicos. Asimismo, mencionan que la UV

puede usarse tanto en la desinfección de agua potable, aguas residuales y aguas industriales de varias calidades, pues brinda una desinfección efectiva sin generar subproductos problemáticos.

De igual manera, es importante conocer las limitaciones de la oxidación avanzada, como por ejemplo su elevado costo, especialmente en lo que respecta a su inversión, operación y aplicación al ozono y la radiación ultravioleta; así como, posibles formaciones de subproductos de reacciones indeseables, en algunos casos; necesitan de tiempos de reacción elevados en algunos procesos y, por último, esta tecnología depende de mano de obra especializada para usarse (Monge et al., 2018).

En síntesis, la oxidación avanzada es un proceso eficiente en el tratamiento de aguas, ya que promueve la destrucción de compuestos químicos orgánicos peligrosos (Wright & Cairns, 2004), reduciendo el color y olor que estas sustancias dejan en el agua (Deiningner, s.f). De tal manera, que en los últimos años los procesos de oxidación avanzada se han revelado como una tecnología destacada al acelerar los procesos de oxidación, logrando ser aplicados en numerosas áreas de descontaminación y desinfección (Klavarioti y col., 2009 citado en Fontán Sainz, 2012).

Entre otro de los métodos a usar para la desinfección del agua, está la radiación solar, donde la Asociación de Sistemas Integrados de Energía Rural (INRESA), dependiente de la Universidad de las Naciones Unidas, en un estudio realizado en 1985 comprobaron la efectividad de la desinfección solar del agua. Según las conclusiones de dicho estudio, “si la intensidad de radiación solar supera los 500 W/m^2 durante 5 horas y siempre que la contaminación del agua no exceda de 1000 Coliformes fecales/100 ml; el agua sería desinfectada efectivamente (Fontán, 2011). Así mismo, la Organización Mundial de la Salud sugiere la implementación de metodologías caseras para el tratamiento del agua como el método de desinfección solar

“SODIS” (UV más calor) que consiste en exponer el agua envasada en botellas transparentes al sol mínimo 6 horas en el tejado de los hogares (EcoINVENTOS, 2017).

PROCESO DE TRATAMIENTO DE AGUA POR RADIACIÓN SOLAR

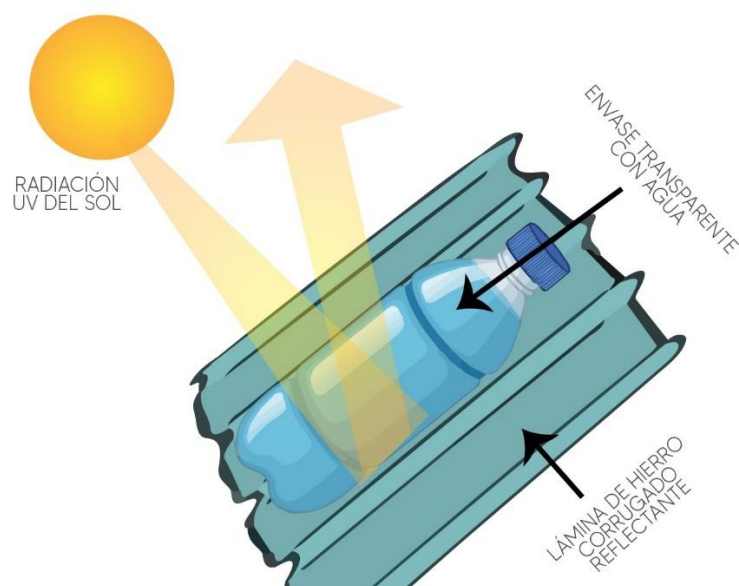


Figura 9 Modelo económico y práctico del método de desinfección del agua por radiación solar o también conocido como SODIS nombrado por la OMS. Copyright 2007 por National Academy of Sciences.

De igual manera, otros autores como Abeledo et al., (2019) determinaron en un estudio la eficacia del proceso foto-Fenton para inactivar los parásitos protozoarios emergentes como el *Cryptosporidium* en agua destilada bajo la luz solar natural. En el proceso de foto-Fenton, se utilizaron altas concentraciones de $\text{Fe}^{2+} / \text{H}_2\text{O}_2$ (20 / 50 mg L^{-1}), bajos valores de pH (≤ 5.5) y largos tiempos de exposición (4 y 6 h) para obtener buenas tasas de inactivación de los oocistos de *C. parvum* en agua destilada (Abeledo et al., 2019). También existe un método ampliamente usado llamado fotocatalisis heterogénea, el cual usa dióxido de titanio como catalizador. En este, la energía solar se transforma en energía química, actuando más rápido en la desinfección del agua. En la actualidad, se han diseñado sistemas para concentración de fotocatalisis como los

colectores Cilindro-Parabólico Compuestos (CPC), los cuales han resultado ser una de las mejores opciones para tratar el agua, pues están constituidos por una superficie reflectante que sigue una forma involuta alrededor de un reactor cilíndrico para tubos de vacío (Blanco et al., 2015).

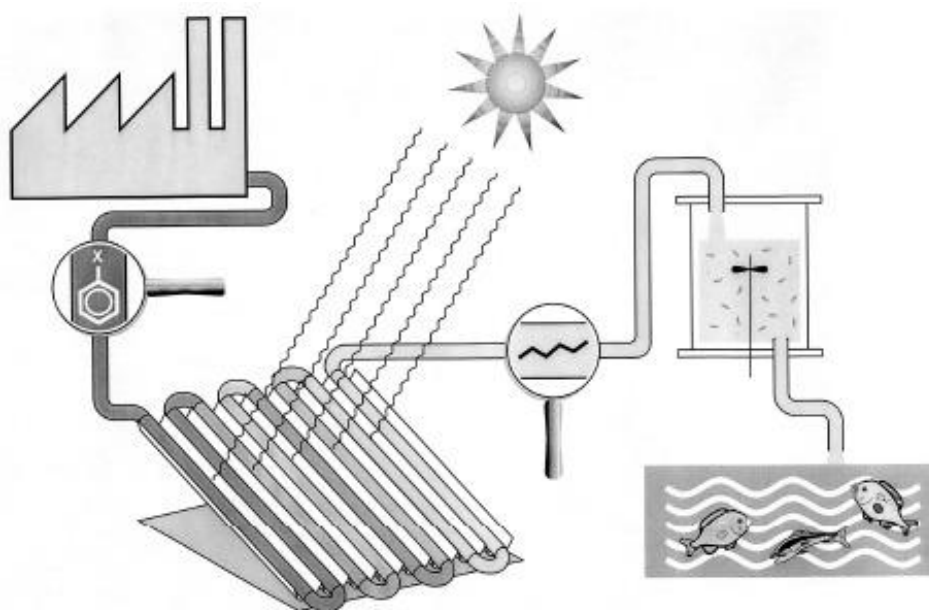


Figura 10 Esquema conceptual de acoplamiento entre las tecnologías de fotocatalisis (solar) y de tratamiento biológico. Copyright 2015 por Blanco et al.

Capítulo 5

Análisis comparativo de la norma vigente, respecto a la concentración de *Cryptosporidium parvum* en muestras de agua en diferentes países

En Estados Unidos, la normatividad, en cuanto a la calidad del agua, está regulada por la Agencia de Protección Ambiental (EPA), quien desarrolló el ICR (Rol de Recopilación de Información) en un esfuerzo por monitorear la ocurrencia de protozoos como *C. parvum* en el suministro de agua. El ICR, requiere que los prestadores del servicio de agua potable que atienden a más de 100,000 personas recopilen datos sobre la calidad del agua específica de contaminantes microbiológicos, desinfectantes y subproductos desinfectantes, monitoreando de manera rutinaria sus suministros de agua y proporcionando estos datos a la EPA (Carey et al., 2004 & Balderram et al., 2017). Asimismo, la EPA exige que se requiere un nivel de tratamiento mínimo del 99,00 % (2 log) para la eliminación e inactivación de *Cryptosporidium spp.* (USEPA 2014 citado Balderram et al., 2017).

La EPA, también establece el uso de 2 métodos de identificación, donde el procedimiento US EPA 1622, se usan para analizar las aguas crudas y tratadas para detectar la presencia de ooquistes de *C. parvum*, y el método US EPA 1623 es empleado para la detección simultánea de *Cryptosporidium* y *Giardia*. Así pues, el US EPA 1623 resulta ser el más adoptado, probablemente, debido a que reemplazó la separación inmunomagnética, por el uso del gradiente de densidad Percoll-sacarosa, a causa del alto costo que esta representaba (Sánchez Ortega, 2017 & Alarcón et al., 2005).

En la Unión Europea, la norma aplicada es la publicación de la Directiva 98/83/CE del Consejo, de 3 de Noviembre, relativa a la calidad de las aguas de consumo humano establece el

Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de calidad del agua y las instalaciones para la captación del agua para el consumo humano, así como establece responsabilidades y competencias, controles que se han de realizar, parámetros y valores analíticos que debe tener el agua para considerarla apta para el consumo, en el decreto real se establecen los criterios para los parámetros microbiológicos, sin embargo, la normativa no establece ningún valor máximo permitido o de obligatorio cumplimiento para *Cryptosporidium* (ELIKA, 2004).

Entre tanto, la legislación europea no obliga a desinfectar el agua, lo deja a criterio de cada estado miembro, no obstante, la legislación de Abastecimiento de Agua (Calidad del Agua) que está en vigor desde Junio de 1999, requiere a las compañías suministradoras de agua que realicen muestreos diarios para verificar que la cantidad de ooquistes de *Cryptosporidium* y que sea menor de 1 por cada 10 litros de agua. (Hunter, 2000 - citado en ELIKA, 2004). Este continente, es el gestor el método ISO 15553: 2006, aplicable para la detección y enumeración de oocistos de *Cryptosporidium spp.* y quistes de *Giardia spp* en aguas superficiales, subterráneas, aguas tratadas, aguas minerales, piscinas y aguas recreativas (ISO 15553, 2006 & Efstratiou et al., 2017), debido a que su implementación no es obligatoria de acuerdo a la norma, no se aplica en todos los países Europeos.

En el Reino Unido, la regulación vigente dictada en 1999 es la que establece el monitoreo diario de *Cryptosporidium* en aguas tratadas. Dicha regulación requiere un nivel máximo de 10 ooquistes por cada 100 litros (Betancourt & Querales, 2008). Adicionalmente, hacen una predicción del riesgo de enfermedad indicando un riesgo anual de unos pocos por 10.000 a unos pocos por millón, dependiendo de la purificación de 3-5 Log de inactivación del protozoo o que igual a decir un 99.99% - 99.999% de inactivación (Hoornstra y Hartog 2003

citado en Balderrama et al., 2017). Por otro lado, la Inspección de Agua Potable del Reino Unido (DWI), da acreditación al método de tinción Crypto-Cel FITC, producida por Cellabs, para la detección de oocistos de *Cryptosporidium* en muestras fecales y ambientales. Este es un test de inmunofluorescencia in vitro, el cual tiñe una amplia gama de *Cryptosporidium spp*, cumpliendo así los requisitos de la regulación DWI (Carey et al., 2004 & TCS Biosciences, 2020).

Otra normativa establecida en el Reino Unido es la evaluación cuantitativa del riesgo microbiológico (QMRA), la cual se utiliza para complementar la verificación tradicional de la seguridad del agua potable a través de la ausencia de bacterias indicadoras. Sin embargo, el beneficio completo de QMRA a menudo no se logra debido a la falta de datos apropiados sobre el destino y el comportamiento de los patógenos (Smeets et al., 2007). Según lo investigado, en el Reino Unido, no se encontró registro de la normativa para análisis microbiológicos de *Cryptosporidium* en aguas residuales. De la misma manera, para la reglamentación en piscinas, el Real Decreto 742/2013, de 27 de septiembre, establece los criterios técnico-sanitarios de las piscinas pero no contempla la detección del parásito en ninguno de sus ítems.

Para el caso, de América Latina muchos investigadores usan con frecuencia el método de identificación de la US EPA 1623, pero solo aplican algunos de sus pasos y modifican otros, con el fin de minimizar los costos de sus investigaciones de acuerdo con los objetivos de cada estudio (Sánchez Ortega, 2017). A nivel de América del Sur, Colombia y Brasil (Portaria MS 2914/2011. Regulation. Ministério da saúde. Brasília-DF) son los únicos países que han implementado leyes para regular la calidad del agua en relación con la presencia de estos parásitos (Ospina et al., 2018).

Según la norma N° 2914 del año 2011 del Ministerio de Salud Brasileño, donde define los procedimientos de control y vigilancia de la calidad del agua para consumo humano y su estándar de potabilidad. En el Artículo 31. Inciso 1. Establece que cuando la media aritmética de la concentración de *Cryptosporidium spp.* es mayor o igual a 3.0 ooquistes / L en los puntos de captura de agua, se recomienda obtener métodos de filtración rápida con una turbidez menor o igual a 0.3 NTU en el 95% (noventa y cinco por ciento) de las muestras mensuales o el uso de un proceso de desinfección que logre la misma eficiencia al eliminar los oocistos de *Cryptosporidium spp.* En este mismo artículo, en el inciso 2 establece que la concentración promedio de *Cryptosporidium spp.* debe calcularse considerando un número mínimo de 24 (veinticuatro) muestras recolectadas uniformemente durante un período mínimo de un año y máximo de dos años. De la misma manera, en el Art. 49. Se estableció el plazo máximo de 24 (veinticuatro) meses, contados a partir de la fecha de publicación de esta Regla Administrativa (en el año 2011), para que las entidades sujetas a la aplicación de esta ordenanza promuevan lo necesaria para su cumplimiento, en lo que concierne al monitoreo de los parámetros de sabor y olor, saxitoxina, quistes de *Giardia spp.* y ooquistes de *Cryptosporidium spp.* En cuanto, a la normatividad relacionada con la vigilancia y control de la presencia de *Cryptosporidium* en aguas residuales y recreativas, no se encontraron resultados en la investigación.

Colombia, cuenta con una amplia y clara legislación en cuanto a la regulación de la calidad del agua, claro, en comparación a otros países del mundo. En ella, se exige el cumplimiento y reporte de los parámetros de la calidad para el agua potable, los vertimientos de aguas residuales y de uso recreacional. La Resolución 2115 de 2007 dictamina el cumplimiento de la presencia de microorganismos en agua potable y en aguas objeto de captación para tratamiento, asimismo, existen otra serie de normas nacionales asociadas a la verificación y

regulación aplicadas por los prestadores del servicio (Tabla 2) (INS, 2018). Sin embargo, a pesar de la claridad de la normativa, **son pocos los prestadores de servicio de acueducto que realizan los análisis respectivos en la frecuencia establecida, para cumplir con estos estamentos** (Ospina et al., 2018).

Tabla 2

*Legislación colombiana asociada a la calidad del agua en relación con la presencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.**

Legislación	Generalidad
Decreto 1575 mayo 09 de 2007	Por el cual se establece el sistema para la protección y control de la calidad del agua para consumo humano
Resolución 2115 junio 22 de 2007	Por medio del cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano.
Resolución 4716 noviembre 18 de 2010	Mediante el cual se establecen las condiciones para elaborar los mapas de riesgo la calidad del agua para consumo humano
Resolución 0811 marzo 5 de 2008	Por medio del cual se definen los lineamientos a partir de los cuales la autoridad sanitaria y las personas prestadoras, concertadamente definirán en su área de influencia los lugares y puntos de muestreo para el control y la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano en la red de distribución

Nota: Tomada de Castillo & Osorio et al., (2018)

Sin embargo, la legislación solo centra su atención en microorganismos como el *Escherichia coli* y Coliformes totales, tanto así, que definen sus concentraciones máximas permisibles y validan las técnicas para su detección. Para *Cryptosporidium* la resolución se queda corta, aunque en ella se define el valor aceptable de ooquistes (cero (0) por volumen fijado según la metodología aplicada) presentes en las muestras de agua, aún no se especifica una técnica de rastreo. De la misma manera, su presencia no es contemplada para el cálculo del

Índice de Riesgo de la Calidad del Agua para consumo humano – IRCA, considerándolo de reporte no obligatorio, donde los prestadores del servicio tiene la flexibilidad de efectuar su análisis una vez por año en las fuentes de captación y bimestral en el agua tratada.

Por otra parte, la disposición final de las Aguas Residuales de origen doméstico e industrial, el Ministerio del Medio Ambiente Colombiano mediante la Resolución 631 del 2015; establece los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de agua superficiales y a los sistemas de alcantarillado público. Contemplando, la presencia de microorganismos como es el caso de los Coliformes termotolerantes, producto de las excretas humanas y/o de animales. Sin embargo, en dicha resolución no se tiene en cuenta el análisis de la existencia de *Cryptosporidium spp* en este tipo de agua, lo que puede representar un riesgo de contaminación de las fuentes receptoras.

Finalizando, un caso similar ocurre con las aguas de uso recreacional, reglamentadas por la Resolución 1618 del 2010, esta tiene por objeto establecer las características físicas, químicas y microbiológicas con los valores aceptables que debe cumplir el agua contenida en estanques de piscinas y estructuras similares de recirculación, la frecuencia de control y vigilancia de la calidad del agua que debe realizar el responsable y la autoridad sanitaria, así como el instrumento básico de la calidad de la misma. Sin embargo, en los parámetros microbiológicos, solo menciona las unidades de medida de la presencia del *Cryptosporidium* dadas en ooquistes por cada 1000 cm³ de agua, sin establecer un valor máximo permisible para su presencia. A su vez, tampoco define una frecuencia del muestreo para el análisis del parásito, en donde, solo lo determina para el caso de las piscinas comunitarias (una vez al año).

Capítulo 6

Reflexiones

Relación costo - beneficio de los métodos de detección y tratamiento de *Cryptosporidium parvum* en agua residual, potable y recreacional

En términos de costo - beneficio, la identificación de *Cryptosporidium* ha estado limitada, pues la mayoría de métodos presentan dificultad para su uso, precisamente, debido a los altos costos y a los requerimientos de equipos y personal especializados, tanto para la toma de muestras, en las que se requieren varios litros de agua, hasta en su manipulación y su posterior análisis (Domènech, 2013 & Alarcón et al., 2005). Como muestra de ello, Xiao et al. (2018), expresan que el método US 1623 de EPA, es decir la técnica por filtración, tiene un costo tan elevado que ha restringido su uso en la mayoría de los países en desarrollo.

De la misma forma, Adeyemo et al. (2018) realizaron un análisis de costos de algunos de algunos métodos mencionados anteriormente. Por ejemplo, exponen que la detección por inmunofluorescencia ha sido criticada por ser costosa e invasiva (Rivera & Reinel, 2015), pues abarca mucho tiempo de análisis, necesita mano de obra intensiva y requiere de un alto nivel de experiencia analítica para identificar el parásito (LeChevallier et al., 2003 citado en Adeyemo et al., 2018). Sin embargo, el beneficio de esta técnica, que mejoraría su relación con los costos, es que la aplicación es mucho más precisa que los métodos tradicionales.

En contraste, métodos de tinción como Kinyoun y Ziehl-Neelsen, resultaron con los costos más bajos, por lo que su uso es más frecuente. Arnedo et al. (2008) se refiere a Kinyoun, con respecto a otras coloraciones permanentes como menos compleja, los tiempos de coloración son más cortos y los reactivos que requiere son menores, por lo tanto su aplicación permite llegar

a un diagnóstico rápido a menores costos. En cuanto a Ziehl-Neelsen, Adeyemo et al. (2018) aseguran que por tratarse de una técnica clásica y simple, resulta ser de bajo costo y adecuado para el cribado de gran número de muestras.

Otra técnica de bajo costo, es la técnica de PCR, según Sánchez Ortega (2017) puede implicar bajos costos económicos, si se considera beneficios como su capacidad de analizar un gran número de muestras en un corto tiempo, potencial para eliminar resultados falsos positivos encontrados mediante las técnicas de microscopía, diferenciación entre especies y genotipos, así como también pueden proporcionar información respecto a la viabilidad de los quistes/ooquistes.

En cuanto, a los métodos de tratamiento, Deininger (s.f), establece una relación entre el precio, la dosis y el costo que genera algunos métodos de tratamiento en el agua. La **Tabla 3**, muestra los costos relativos (en centavos de dólar) por cada 1000 m³ y representativos de los productos químicos usados en las plantas de tratamiento de agua e indica claramente que el cloro es un desinfectante mucho más barato, sin embargo es el menos efectivo para eliminar *Cryptosporidium*. Por el contrario, aunque el ozono parece ser más costoso, es más eficiente que los demás productos y actúa en dosis bajas (Pereira et al, 2008).

Tabla 3

Relación productos químicos y costos relativos en el tratamiento de agua

Producto químico	Precio Unitario ¢\$/kg	Dosis mg/L	Costo/1000m3 Agua \$
Ozono	0,50	3	6
Cloro	0,10	4	2
Coadyuvante de coagulación	0,80	1	3

Nota: Tomada de Deininger (s.f)

En cuanto, a los costos del proceso de desinfección por UV Wright & Cairns (2004) concluyen que, según la EPA (1996), los costos de usar UV son mucho menores que los correspondientes al uso de ozono o cloro con un promedio de 1,08 centavos de dólar/m³ 2, 07 centavos de dólar/m³ a una dosis de 40 mWs/cm² para caudales comprendidos entre 64 LPM y 6.913 m³/día, concluyendo, que cuando no se requiere un desinfectante residual los costos totales son menores. Finalmente, Mourato (1998) realizó una evaluación económica preliminar para comparar los costos de la técnica Nanofiltración, con otras convencionales (coagulación y filtración) y determinó que la NF resultaba menos costosa que estos tratamientos convencionales.

El impacto ambiental que representa la presencia de *Cryptosporidium parvum* en el recurso hídrico - Caso de estudio

Alarcón et al., (2005) realizaron un recuento y determinación de viabilidad de los protozoos *Giardia spp.* y *Cryptosporidium spp.* en aguas potables y residuales en la cuenca alta del río Bogotá, lo consideraron importante debido a que en Colombia se conoce poco sobre la presencia y la concentración de estos parásitos en aguas. Enuncian, que estudios realizados en el río Bogotá durante el 2003 y el 2004 por la Universidad Javeriana, donde evaluaron la calidad microbiológica del agua del río, reportaron concentraciones de *Cryptosporidium spp.* en la cuenca alta, con valores entre 0 y 100 ooquistes por litro. En el caso de estudio de Alarcón et al., (2005), la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* fue mayor a la de *Giardia spp.*, coincidiendo con los estudios que muestran que los ooquistes de *Cryptosporidium spp.* son más resistentes a condiciones ambiental es adversas (OMS, 1998 - citado por Alarcón et al., 2005).

Alarcón et al., (2005) atribuyen la procedencia de los parásitos a: basuras, excretas de origen humano y de animales que se crían en la zona y desechos orgánicos, especialmente, en las

zonas rurales de los municipios. En las cabeceras municipales, el mayor aporte de contaminación proviene de vertimientos de aguas residuales domésticas y mataderos sin sistemas de tratamiento. Es por ello, que el incremento de la implementación de sistemas de tratamiento de aguas residuales en el territorio se debe considerar importante, influye en la salud, el bienestar de la población y la preservación del medio ambiente. En definitiva, el hecho de que se detecte la presencia de este parásito en las aguas del río Bogotá, supone un riesgo potencial para las comunidades aledañas que en algunos casos se abastecen del mismo para su consumo o para efectuar riegos en los cultivos, lo cual generaría una problemática en cuanto a salud pública se refiere.

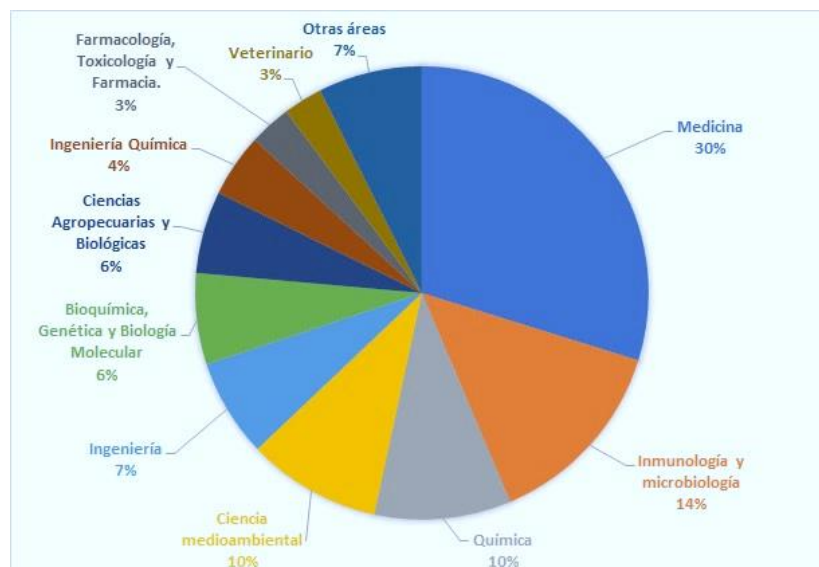
Capítulo 7

Comportamiento en el tiempo del estudio científico de la presencia del *Cryptosporidium parvum* en el medio acuoso

Este análisis estadístico se fundamenta, en una investigación cuantitativa realizada en la base de datos Scopus (Elsevier), la cual fue la principal fuente de información y documentación para realizar esta monografía. Allí, se reunieron datos de cada elemento muestreado, sobre el desarrollo investigativo que ha tenido *Cryptosporidium*, a través del tiempo a cargo de la comunidad científica desde el año de su descubrimiento en 1985 al año 2019, de esta manera, se logró efectuar su correspondiente análisis.

Áreas académicas y temas a tratar

Cabe resaltar, que el área de medicina es la de mayor número de publicaciones en la base de datos (Scopus), con 3.656, ocupando el 30% de todos los documentos (Ver gráfica 1), lo que podría significar que existe una mayor preocupación por la ocurrencia de la infección (criptosporidiosis) en humanos y un afán por encontrar un tratamiento más eficaz para esta. Mientras tanto, las ramas que contemplan el estudio de *Cryptosporidium* y su comportamiento en el medio ambiente, incluyendo el agua, son; la química, las ciencias medioambientales, la Ingeniería e Ingeniería ambiental, juntas abarcan un porcentaje del 31%, con 3.779 documentos publicados (Ver gráfica 1). Además, es importante mencionar que se ha extendido la temática de *Cryptosporidium*, hasta incorporar ramas como farmacología y las ciencias agropecuarias.



Gráfica 1. Principales temas de publicación en la base de datos Scopus, sobre *Cryptosporidium spp.* (Scopus, 2020).

Tipo de documentos publicados

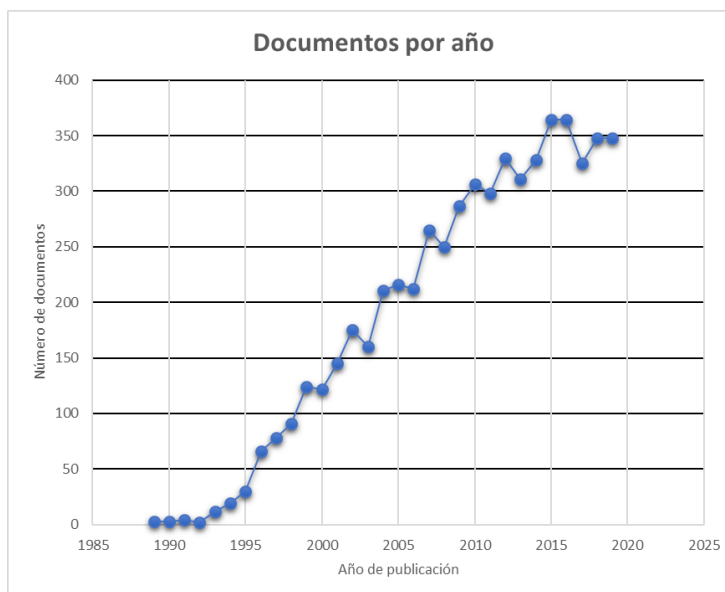
El artículo, es el tipo de documento más publicado en Scopus con 4.070 publicaciones, seguido de la revisión y el capítulo de libro que lo siguen con 973 y 380 documentos publicados respectivamente, a su vez, otros tipos de publicaciones como la revisión de conferencia (1), la errata (3) y la encuesta corta (29) son de menor elección, por los autores (Ver gráfico 2). A partir, de estas cifra se puede deducir que el área científica está a la vanguardia con investigaciones y estudios sobre *Cryptosporidium spp.* Se puede considerar importante, que exista esta amplitud de documentos por tipo y temáticas para recopilar la información suficiente y así permitir generar más conocimientos sobre la materia.



Gráfica 2. Tipos de documentos elegidos y publicados con más frecuencia por los autores sobre *Cryptosporidium spp.* (Scopus, 2020).

Publicaciones por año

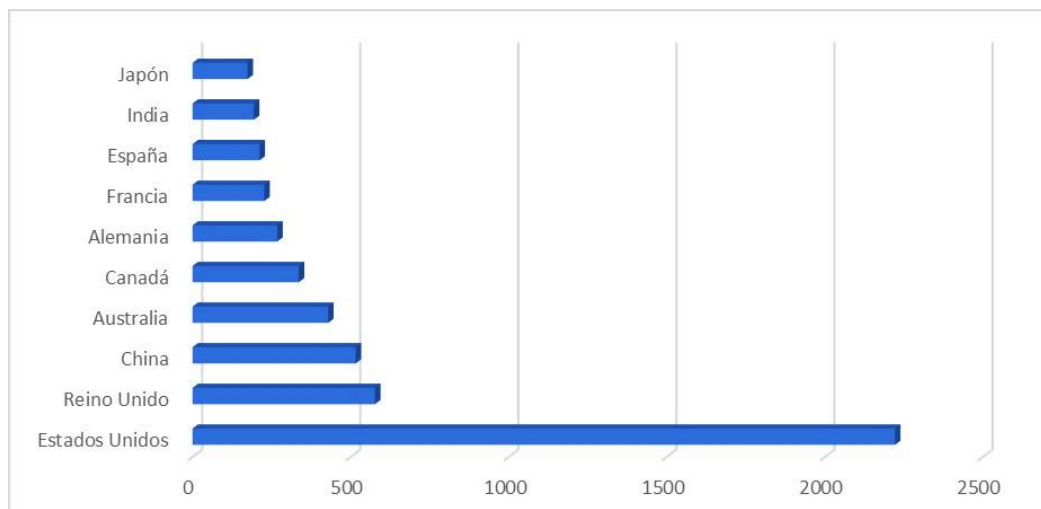
El año de inicio de las publicaciones en Scopus, coincide con la fecha del descubrimiento del parásito, igualmente, la recopilación de documentos se da al tiempo en que *Cryptosporidium* comenzó a ser un considerado la causa de grandes brotes de diarrea, más exactamente en el años 1985. Sin embargo, el año 1992 no representó un progreso en el estimado de las publicaciones, pues por año solo se logró recolectar 2 o 3 de ellas. Fue hasta el año 1999, que se dio un gran avance en la investigación, cuando a partir de ahí se publicaron más de 100 documentos por año. El pico más alto en el avance de la investigación se dio en el año 2015, para luego efectuarse una relevante disminución en las publicaciones hasta llegar al año 2019, en la última década, el número se ha mantenido en más de 300 publicaciones anuales (Ver gráfica 3).



Gráfica 3. Documentos publicados por año sobre *Cryptosporidium spp.* en la base de datos Scopus (Scopus, 2020).

Países industrializados con más publicaciones

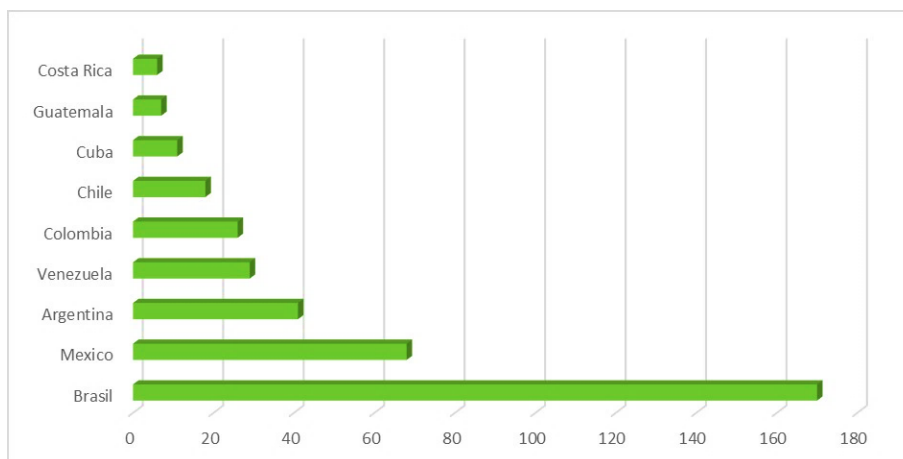
Los países que encabezan son Estados Unidos con 2.222 documentos, Reino Unido con 577 y China con 516 (Ver gráfica 4). Cabe resaltar, que los demás países que preceden esta lista también son países desarrollados, a excepción de India. Esto podría significar que la investigación y el monitoreo de *Cryptosporidium* en países en vía de desarrollo es escaso, a causa, de la relación con el costo de los métodos de detección del parásito, posiblemente, debido a que estas Naciones no tienen el capital de un país de primer mundo para desarrollar este tipo de estudios.



Gráfica 4. Países industrializados con mayor número de publicaciones en Scopus sobre *Cryptosporidium spp.* (Scopus, 2020).

Publicaciones en Latinoamérica

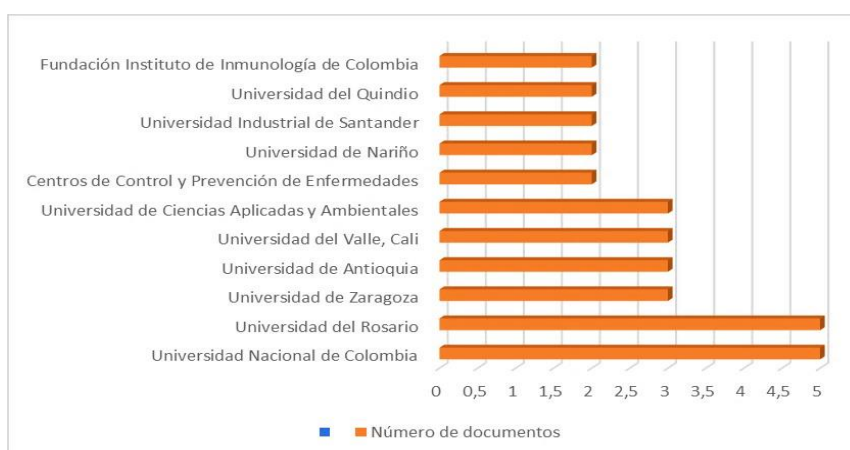
Según la estadística, Brasil es el mayor aportante de documentos de *Cryptosporidium spp.* en Latinoamérica, con un total de 170 publicaciones. México le sigue con 68 documentos, Argentina con 41 y Colombia, ocupa el puesto quinto de los países latinoamericanos contando con 26 publicaciones en Scopus (Ver gráfica 5). A excepción de Brasil, que su número de investigaciones podría asemejarse al de un país de primer mundo, las demás naciones Latinoamericanas tienen muy pocos documentos, quizás las causas provienen de la falta de presupuesto para realizar estudios y un posible desinterés, al no considerar a *Cryptosporidium* como una amenaza.



Gráfica 5. Principales países Latinoamericanos con publicaciones sobre *Cryptosporidium spp.* en Scopus (Scopus, 2020).

Principales Instituciones Académicas Colombianas con publicaciones

En este caso, la Universidad Nacional y la Universidad de Rosario lideran la lista de publicaciones sobre *Cryptosporidium*, contando con 5 documentos cada una. Otras Instituciones Colombianas poseen de 3 a 2 documentos, dichas investigaciones se ha realizado en el año 2000 al 2019 (Ver gráfica 6).



Gráfica 6. Universidades Colombianas con publicaciones en Scopus sobre *Cryptosporidium spp.* (Scopus, 2020).

Capítulo 8

Conclusiones

En definitiva, *Cryptosporidium Parvum* es la especie más ampliamente difundida, infectando especies animales de mamíferos donde el ganado doméstico se convierte en su reservorio, además, debido a su naturaleza zoonótica tiene la capacidad de infectar a seres humanos. Su infección, puede generar graves efectos en la salud de pacientes inmunocomprometidos y a nivel mundial es la cuarta causa de muerte en niños menores de 5 años, sin contar los posibles daños que esta genere a largo plazo y que aún no existe un tratamiento médico que la trate en su totalidad.

Entre tanto, existen una variedad amplia de métodos para la detección de *Cryptosporidium* en el agua, sin embargo, la implementación de estas metodologías ha estado limitada, pues la mayoría de ellos presentan dificultad para su uso, precisamente, debido a los altos costos que infieren su aplicación y a los requerimientos de equipos y personal especializados. Por consiguiente, el método de detección de Kinyoun es el de mayor adopción en el mundo, debido a que sus tiempos de coloración son más cortos y los reactivos que requiere son menores, por lo tanto su aplicación permite llegar a un diagnóstico rápido a menores costos.

En Colombia, el Instituto Nacional de Salud (2018), determina la presencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.*, mediante el protocolo US 1623 recomendado por la EPA, tanto en muestras de agua tratada como de agua sin tratar; debido a que este protocolo permite determinar el recuento de ooquistes/Litro y quistes/Litro para el caso de la *Giardia*. Es posible, que la implementación de este método se deba a que en términos de costos y tiempo, es más rentable medir estos dos parásitos en simultáneo, debido a que es frecuente la presencia de

ambos en el agua. Por otro lado, en el país el laboratorio de la Universidad Pontificia Bolivariana fue pionero en los años 80's en realizar la detección del protozoo en el agua, bajo los lineamientos de la norma NTC-ISO/IEC 17025.

Por otro parte, el ser *Cryptosporidium* un parásito intracelular no obligado, supone un problema para la industria del agua, ya que al ser más resistente a su eliminación incrementaría los costos en el tratamiento al tener que implementar otras alternativas al proceso. Es preciso decir, que afortunadamente la tecnología avanza a pasos agigantados generando procesos con mayor eficiencia en la eliminación de ooquistes del parásito. Muestra de ello, es la aplicación de Radiación Ultra violeta que puede usarse tanto en la desinfección de agua potable, como en el tratamiento de aguas residuales y aguas industriales de varias calidades, pues brinda una desinfección efectiva en un 99% sin generar subproductos problemáticos. Sin embargo, los tratamientos de filtración avanzada como la Ultrafiltración son mucho más económicos y no suponen un problema al tratar caudales de gran proporción.

En cuanto, al control y vigilancia de la presencia del *Cryptosporidium* en medio acuoso, es evidente que aún no es tomada en serio en diferentes países del mundo, posiblemente debido a la falta de investigación en el tema, prueba de ello, es la reglamentación pobre y confusa con la que cuentan. En comparación, la legislación Colombiana que aunque carece de rigor en su cumplimiento, cuenta con una estructura clara. De la misma manera, que los otros países investigados esta no establece una reglamentación sobre la eliminación del parásito en aguas de piscinas y en aguas residuales, así como la concentración máxima permitida para el parásito.

En conclusión, la presencia de este tipo de protozoos en el agua se puede convertir en un problema de salud pública, afectando desde animales, seres humanos e incluso la disponibilidad

del recurso hídrico. En Colombia, *Cryptosporidium* tiene una frecuencia de 0,5% en el país, un dato relativamente bajo tratándose de un país en vía de desarrollo, lo que llevaría a pensar que esta información, se deba a falencias en la investigación de los casos de infección, logrando estos que no sean atribuidos al parásito.

Capítulo 9

Recomendaciones

Reiterando, la Criptosporidiosis es una infección que puede amenazar la seguridad de la salud pública en todo el mundo, si no se le presta el interés adecuado, así las cosas, el tratamiento del agua suele ser un punto clave para evitar que *Cryptosporidium* infecte, aún más teniendo en cuenta que en muchos países en vía de desarrollo, el agua no recibe un tratamiento adecuado que elimine este parásito, por los altos costos que implica su desinfección.

De acuerdo a lo anterior, se recomienda usar métodos alternativos y económicos para potabilizar el recurso, tales como la radiación solar, que se considera abundante, gratis, renovable en la mayoría de los países en vías de desarrollo y con un funcionamiento simple como el de rellenar botellas transparentes de plástico de tereftalato de polietileno (PET) con agua contaminada y exponerlas al sol durante un tiempo mínimo de 6 horas antes de su consumo (Fontán, 2011) una medida que desde el año 2005, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda su empleo en situaciones de emergencia (OMS/UNICEF, 2005)

Otros métodos recomendados, seguros, efectivos y de bajo costo, son la ebullición, si se aplica correctamente, destruye o inactiva todas las clases de patógenos hídricos; la filtración, que elimina partículas en suspensión y al menos algunos microorganismos presentes en el agua, entre los filtros más usados y baratos están los de cerámica, carbón activado y los biológicos de arena. Por último, otro método altamente usado, tanto a nivel industrial, comercial, doméstico e incluso recreacional, son las tabletas de dicloroisocianurato sódico (Fontán, 2011), son altamente efectivas, sin embargo hay que tener en cuenta que pueden generar problemas en los ecosistemas

acuáticos, por ello es importante velar porque este producto no llegue a alcantarillas o aguas superficiales.

Finalmente, recomendar a los entes reguladores competentes de mantener óptima la calidad del recurso agua que; el *Cryptosporidium spp.* sea sujeto de investigación para ser considerado como parámetro microbiológico de gran importancia. Por otro lado, invitar al gobierno nacional a fortalecer la investigación en las instituciones educativas, con el fin de generar protocolos de detección e innovar en tecnologías de tratamientos económicos y viables que sirvan para prevenir este tipo de infecciones en la salud de la población Colombiana, además de aportar conocimiento al mundo sobre estos temas.

Bibliografía

- Abramovich, B., Lura, M. C., Carrera, E., Gilli, M. I., Haye, M. A., & Vaira, S. (2004). Acción de distintos coagulantes para la eliminación de *Cryptosporidium* spp. en el proceso de potabilización del agua. *Revista Argentina de Microbiología*, 36(2), 92–96.
- Abeledo L., M. J., Polo L., M. I., Ares M., E., & Gómez C., H. (2019). Inactivation of the waterborne pathogen *Cryptosporidium parvum* by photo-Fenton process under natural solar conditions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 253, 341–347.
<https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.04.049>
- Adeyemo, F. E., Singh, G., Reddy, P., & Stenström, T. A. (2018). Los métodos para la detección de *Cryptosporidium* y *Giardia*: De microscopía a las herramientas basadas en ácidos nucleicos en los regímenes clínicos y ambientales. *Acta Tropica*, 184(April 2017), 15–28.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.01.011>
- Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., Brown, M. W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., Gall, L. Le, Lynn, D. H., McManus, H., Mitchell, E. A. D., Mozley-Stanridge, S. E., Parfrey, L. W., ... Spiegel, F. W. (2012). The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(5), 429–493. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2012.00644.x>
- Agua Purificación. (2 de enero, 2010). Esquema de la aplicación de rayos ultravioleta para desinfección de agua. TRATAMIENTO DE AGUA POR RAYOS ULTRAVIOLETA. [Figura en un Blog]. Recuperado 15 de Marzo de 2020: <http://agua-purificacion.blogspot.com/2010/01/tratamiento-de-agua-por-rayos.html>
- Alarcón, M. A., Beltrán, M., Cárdenas, M. L., & Campos, M. C. (2005). Recuento y determinación de viabilidad de *giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en aguas potables y residuales en la cuenca alta del río Bogotá. *Biomédica*, 25(3), 353.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.v25i3.1360>
- Aldeyarbi, H. M., Abu, M. T., & Karanis, P. (2016). *Cryptosporidium* y criptosporidiosis: la perspectiva africana.
- Almeida, A., Joao, M., Soares, A., Delgado, M. D. L., Figueiredo, J., Silva, E., Castro, A., & Correia, J. M. (2010). Presencia de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia duodenalis* en muestras de agua potable en el norte de Portugal. *Corea J Parasitol*, 48, 43–48.
- Ángel, V. E., Franco, L., Jaramillo, J. C., Medina, L. A., Ochoa, F. L., Vélez, A. M., Botero, D., & Vásquez, I. H. (1985). Criptosporidiosis en Medellín. Prevalencia de *cryptosporidium* en muestras fecales diarreicas en 6 laboratorios de Medellín, estudio de 10 casos. *Biomédica*, 5(3–4), 53. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v5i3-4.1902>
- Arnedo, I., Bracho, M., Díaz-Suárez, O., & Botero, L. (2008). Técnicas para la detección de *cryptosporidium* sp. en sistemas de tratamiento de agua residual. *Kasmera*, 36(2), 120–128.

- Avendaño, C. E. (2018). Contribución al conocimiento de la criptosporidiosis en diferentes regiones de Colombia a partir de aislados procedentes de humanos y diversas especies animales. Universidad de Zaragoza. 303. <http://zaguan.unizar.es>
- Avery, B. K., Lemley, A., & Hornsby, A. G. (2003). *Cryptosporidium* : Un Patógeno Transmitido por el Agua. Universidad de Florida, EEUU, 1–6.
- Balderrama C., A. P., Gortáres M., P., Álvarez, L. H., Ulloa M., R. G., Leyva S., L. A., & Díaz T., L. M. (2017). Perspectives of Quantitative Risk Assessment Studies for *Giardia* and *Cryptosporidium* in Water Samples. *Water, Air, and Soil Pollution*, 228(5). <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3333-5>
- Baqer, N. N., Hammood, A. H., Hassan, K. F., & Hassan, E. S. A. (2018). Detección de parásitos transmitidos por el agua en el agua potable de Bagdad. Ministerio de Ciencia y Tecnología, Dirección de Agua y Medio Ambiente, Irak., 12, 1–6.
- Balandrano-Pinal, F. (2010). Soluciones para Irrigación en Endodoncia: Hipoclorito de Sodio y Gluconato de Clorhexidina. *Revista Científica Odontológica*, 3(1). Recuperado de <http://revistaodontologica.colegiodontistas.org/index.php/revista/article/view/358/498>
- Becerril M. (2004). *Parasitología Médica de las Moléculas a la Enfermedad* McGraw-Hill Interamericana; pp. 145: 237-245.
- Betancourt, W. Q., & Querales, L. J. (2008). *Parásitos Protozoarios Entéricos en Ambientes Acuáticos: Métodos de Concentración y Detección*. Interciencia.
- Blanco J., Malato S., Estrada C., Bandala E., Gelover S., L. T. (2015). Purificación de Aguas por Fotocatálisis Heterogénea: Estado del Arte. Eliminación de Contaminantes Por Fotocatálisis Heterogénea, 39. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002005000200009>
- Carey, C. M., Lee, H., & Trevors, J. T. (2004). Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research*, 38(4), 818–862. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.012>
- Casemore, D.P. (1990). Epidemiological Aspects of Human *Cryptosporidiosis*. *Water Sci Technology*. 24(2): 157-164.
- Castillo Castañeda, A. C. (2018). Guía para la vigilancia por laboratorio de *Giardia* Y *Cryptosporidium* en muestras de agua. Instituto Nacional de Salud Colombia, 1–27.
- Castillo C., A. C., & Osorio A., L. K. (2018). Informe Técnico de la vigilancia por el laboratorio de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* sp. en aguas. Instituto Nacional de Salud, Colombia, 1–23.
- Chacín B., L. (2007). *Cryptosporidium* : Filogenia y taxonomía. *Investigación Clínica*, 48(1): 1-4
- Chacín B., L. (1995). *Cryptosporidiosis* en humanos. Revisión. *Investigación Clínica*, January 1995, 36(4): 207-250.

- Chalmers, R. M., Davies, A. P. (2010). Minireview: clinical criptosporidiosis. *Experimental Parasitology*, 124(1), 138–46.
- Chappell, C. L., Okhuysen, P. C., Langer-curry, R. C., Lupo, P. J., Widmer, G., & Tzipori, S. (2015). *muris* Cryptosporidium : Infectividad y enfermedad en voluntarios sanos adultos. *Sociedad Americana de Medicina Tropical e Higiene Muris*, 92(1), 50–55.
- Cicirello H. G., Kehl K.S., Addiss D.G., Chusid M.J., Glass R.I., David J.P., Havens P.L., (1997). Criptosporidiosis in children during a massive waterborne outbreak in Milwaukee, Wisconsin: clinical, laboratory and epidemiologic finding. *Epidemiol Infect* 119(1):53-60.
- Cordero Ayala, L. (2017). Agua Análisis de Alimentos Licenciatura en Ciencia y Tecnología de Alimentos Bioq. Gilda Revelant - ppt descargar. Ilustración proceso de coagulación con cloruro férrico. [Figura] Recuperado el 15 marzo del 2020, en <https://slideplayer.es/slide/10188742/>
- Corona V., B, Samuelson A, Rennecker JL, Marinas BJ. (2002). Inactivación de ooquistes de *Cryptosporidium parvum* con ozono y cloro libre. *Res agua.*; 36: 4053-63.
- Corinne, S L et al. (1999). Molecular epidemiology of criptosporidiosis outbreaks and transmission in British Columbia, Canada. pp. 61: 63-9
- De la Parte, P., M., Bruzual, E., Brito, A., & Hurtado, M. (2005). *Cryptosporidium* spp. y Criptosporidiosis. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(1), 06–14.
- Deininger, R. A., Skadsen, J., Stanford, L., & Myers, A. G. (1998). Dióxido de cloro. Trabajo presentado en el Simposio OPS: Calidad de Agua, Desinfección Efectiva. Universidad de Michigan, EEUU. http://ecoclean.pe/spanish/ecosalud/pdf/1465850664_77.pdf
- Deininger, R. A., Skadsen, J., Stanford, L., & Myers, A. G. (1998). Desinfección del agua con ozono. Trabajo presentado en el Simposio OPS: Calidad de Agua, Desinfección Efectiva. Universidad de Michigan, EEUU.
- Deininger, R. A., Skadsen, J., Stanford, L., & Myers, A. G. (1998). Esquema de generación de ozono en el interior de la planta generadora. [Figura]. Trabajo presentado en el Simposio OPS: Calidad de Agua, Desinfección Efectiva. Universidad de Michigan, EEUU.
- Di Genova, B. M., & Tonelli, R. R. (2016). Estrategias de infección de parásitos intestinales de patógenos y respuestas de células huésped. 1–16.
- Domènech, J. (2013). *Cryptosporidium* y *Giardia*, problemas emergentes en el agua de consumo humano. *Offarm*, 22, 5.
http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13055926&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v22n11a13055926pdf001.pdf&ty=76&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es
- EcoInventos. (30 de septiembre, 2017). El método más barato y eficaz para desinfectar el agua. España. Ecoinventos. <http://ecoinventos.com/desinfeccion-solar/>

- Efstratiou, A., Ongerth, J., & Karanis, P. (2017). Evolución de monitoreo para Giardia y Cryptosporidium en agua. *Water Research*, 123, 96–112. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.042>
- EPA. (2005a). Method 1622: Cryptosporidium in Water by Filtration/IMS/FA. Office of Water (4607).
- EPA. (2005b). Method 1623: Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA. Office of Water (4607).
- Fayer, R., Morgan, U., & Upton, S. J. (2000). Epidemiology of Cryptosporidium: Transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, 30(12–13), 1305–1322. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00135-1](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00135-1)
- Fayer, R. (2004). Cryptosporidium: A water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology*, 126(1-2 SPEC.ISS.), 37–56. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.004>
- Fontán S., M. (2011). *Cryptosporidium en la Desinfección Solar del Agua de Bebida*. Universidad Santiago de Compostela, España, 202.
- Gratacós, J., M. (2014). Generadores de cloro por electrólisis de salmuera con tecnología de célula con membrana. *Tecnoagua*. <https://www.tecnoagua.es/media/uploads/noticias/documentos/procesos-y-sistemas-generadores-cloro-electrolisis-salmuera-tecnoagua-es.pdf>
- García, S., E., Valladares, C., B., Talavera, R., M., & Velázquez, O., V. (2014). Cryptosporidiosis. Importancia en salud pública. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*.
- Garza M., V., & Morales V., M. (2002). Agua y salud: cryptosporidium parvum, agente causal de una nueva enfermedad relacionada con el agua. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 3(1).
- Grinberg A., Widmer G. Invited Review. (2016). Cryptosporidium within-host genetic diversity: systematic bibliographical search and narrative overview. *International Journal for Parasitology*; 46(8):465–471.
- Guerrant, R. L. (1997). La criptosporidiosis: Una amenaza emergente, altamente infecciosa. *Universidad de La Escuela de Medicina de Virginia*, 3(1), 51–57.
- Guy, R. A., & Horgen, P. A. (2004). Cryptosporidium parvum. *Encyclopedia of Medical Genomics and Proteomics*, 309–314. <https://doi.org/10.1081/e-emgp-120020838>
- Harp, J. A. (2003). Cryptosporidium and host resistance: historical perspective and some novel approaches. *Animal Health Research Reviews*, 4(1), 53–62. <https://doi.org/10.1079/ahrr200352>
- Henriksen, S. A., & Pohlenz, J. F. (1981). Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. In *Acta veterinaria Scandinavica* (Vol. 22, Issues 3–4, pp. 594–596).

- Hernández G., N., Hernández F., L. J., & Cortés., J. A. (2017). Criptosporidiosis y «Una Salud». *Revista de Salud Pública*, 20(1), 138–143. <https://doi.org/10.15446/rsap.v20n1.69959>
- Hernández, H. F., Peña, Y. P., Chiroles, R., S., Rodríguez B., A. M., Gallardo D., J., & Milián S., Y. (2013). Métodos inmunológicos utilizados en la identificación rápida de bacterias y protozoarios en aguas. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 51(1), 84–96.
- Hoogenboezem W, Ketelaars H., A.M, Medema G.J, Rijs G.,B,J, Schijven J.,F. (2001). *Cryptosporidium and Giardia: occurrence in sewage, manure and surface water*. Holanda: Editorial RIWA publishing; p.24-5.
- Huamán C., C. E. (2018). Uso de materiales orgánicos como filtros en el tratamiento de aguas residuales provenientes de granjas porcícolas. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Facultad De Zootecnia.
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2019). Boletín epidemiológico de la semana 20 del 12 al 18 de mayo de 2019. Morbilidad por Enfermedad Diarreica Aguda. <https://www.ins.gov.co/buscador->
- International Organization for Standardization. (2006). ISO 15553 Water quality — Isolation and identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water. 13.
- Kalinová, J., Valenčáková, A., Hatalová, E., Danišová, O., Trungelová, M., & Hromada, R. (2018). Occurrence of *Cryptosporidium* in the water basins of nitra region, slovakia. *Acta Tropica*, 179, 36–38. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.12.019>
- Karanis, P., Kourenti, C., & Smith, H. (2007). Transmisión por el agua de parásitos protozoarios : una revisión global de los brotes y las lecciones aprendidas. *Journal of Water and Health*, 5, 1–18. <https://doi.org/10.2166/wh.2006.002>
- Khan, A., Shaik, J. S., & Grigg, M. E. (2017). Genómica y epidemiología molecular de *Cryptosporidium* especies. *Acta Tropica*, 184, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.10.023>
- Koh, W., Clode, P. L., Monis, P., Thompson, R. C. A. (2013). Multiplication of the waterborne pathogen *Cryptosporidium parvum* in an aquatic biofilm system. *Parasites & Vectors*, 6(1), 270.
- Korich D. G., Mead J. R., Madore M. S., Sinclair N. A. y Sterling C. R. (1990). Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium* viability. *Appl. Environ. Microbiol*; pp. 56, 1423-1428.
- Latif, B., & Rossle, N. F. (2015). La criptosporidiosis en niños con diarrea en tres países asiáticos: Una revisión. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(11), 885–888. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.021>

- LEPSA. (2013). Ultra Filtración - Plantas de Tratamiento de Agua Potable. Ilustración proceso de desinfección con ultra filtración (UF) en plantas convencionales. [Figura]. Recuperado 15 de marzo de 2020: <http://www.lepsa.com/tratamiento-agua-potable-ultra-filtracion.html>
- Limaheluw, J., Medema, G., & Hofstra, N. (2019). An exploration of the disease burden due to *Cryptosporidium* in consumed surface water for sub-Saharan Africa. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 222(5), 856–863. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.04.004>
- Llu, L., Wang, Y., Cralk, S., James, W., Shu, Z., Narain, R., & Liu, Y. (2019). Eliminación de *Cryptosporidium* sustitutos en filtración directa de agua potable. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 181, 499–505. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.05.065>
- Luján, N., & Garbossa, G. (2008). *Cryptosporidium*: cien años después. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42(2), 195–201.
- MacKenzie, W. R., Kazmierczak, J. J., & Davis, J. P. (1995). An outbreak of cryptosporidiosis associated with a resort swimming pool. *Cambridge University Press*, 8(5), 55.
- Manore, A. J. W., Harper, S. L., Aguilar, B., Weese, J. S., & Shapiro, K. (2018). Comparación de los ciclos de congelación-descongelación para la extracción de ácidos nucleicos y la detección molecular de *Cryptosporidium parvum* y *Toxoplasma gondii* ooquistes en matrices ambientales. *Journal of Microbiological Methods*, 156, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.11.017>
- McJunkin, F.E. (1988). Agua y salud Humana. En: Noriega ed. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Organización Mundial de la Salud (OMS); Limusa. México; p. 113-38.
- McLaughlin, S. J., Kalita, P. K., & Kuhlenschmidt, M. S. (2013). Destino de *Cryptosporidium parvum* oocistos dentro de suelo, agua, y el medio ambiente de la planta. *Journal of Environmental Management*, 131, 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.017>
- Ministério da Saúde, Brasil. (2012). Portaria MS no 2.914/2011 Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.
- Ministerio de Sanidad, Reino Unido. (2012). Proyecto de Real Decreto , por el que se establecen los criterios técnico sanitarios de las piscinas . 1–13. <https://www.boe.es/buscar/pdf/2013/BOE-A-2013-10580-consolidado.pdf>
- Mohanram, A., Ray, C., Harvey, R. W., Metge, D. W., Ryan, J. N., Chorover, J., & Eberl, D. D. (2010). Comparación de transporte y fijación comportamientos de *Cryptosporidium parvum* ooquistes y microesferas-ooquistes tamaño siendo advección mineralógicamente a través de diferentes medios poroso granular. *Water Research*, 44(18), 5334–5344. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.06.015>
- Monge, S., Silva, A., & Bengoa, C. (2018). Manual técnico sobre procesos de oxidación avanzada aplicados al tratamiento de aguas residuales industriales. <http://triton-cyted.com/wp-content/uploads/2019/04/Manual-sobre-oxidaciones-avanzadas.pdf>

- Morgan Ryan, M., Abbie Fall, L. A., Nawal Hijjawi, W., Sulaiman, I., Fayer, R., Thompson, R. C., Olson, M., Lal, A., & Xiao, L. (2002). The journal of eukaryotic microbiology. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 49(6), 433–440. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00098.x>
- Morris, A., Robinson, G., Swain, M. T., & Chalmers, R. M. (2019). *Cryptosporidium* Las muestras en las heces de Salud Pública. *Frontiers in Public Health*. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00360>
- Morrison, L., Mallon, M.; Smith, H.; Macleod, A.; Xiao, L.; Tait, A. (2008). The population structure of the *Cryptosporidium parvum* population in Scotland: A complex picture. *Infection, Genetics and Evolution*. 8:121-129.
- Mourato, D. (1998). *Microfiltración y Nanofiltración en el área de agua potable*. ZENON Environmental Inc. Burlington, Ontario, Canadá.
- Muñoz, G., Hernández, N., López B., E., Luna, J. C., Zamora, A., Lora S., F., & Gómez M., J. E. (2019). Evaluación de la seguridad de alimentos y protozoos riesgo en los restaurantes escolares en Armenia, Colombia. *Journal of Food Safety*, 1–9.
- Neira O, P. (2005). Acerca de *Cryptosporidium* spp en Chile. *Revista Médica de Chile*, 133(7), 847–849. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872005000700014>
- Ongerth, J. E., & Karanis, P. (2018). *Cryptosporidium* y *Giardia* en el agua, características clave y los principios básicos para monitoreo y análisis de datos. *MDPI*, 1–7.
- Ongerth, J. E., Plutzer, J., & Karanis, P. (2018a). *Cryptosporidium* y *Giardia* - Los niveles y Distribución de Aguas. *MDPI*, 1–7.
- Ontario Ministry of Health and Long-Term Care. (2015). *Criptosporidiosis*. *Infectious Diseases Protocol*. Ontario: Queen’s Printer for Ontario; p. 3-4.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2004). *Relación del agua, el saneamiento y la higiene con la salud HECHOS Y CIFRAS - *actualización de noviembre de 2004* http://www.who.int/water_sanitation_health/WSHFact-Spanish.pdf?ua=1
- Organización Mundial de la Salud (OMS) Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF). (2005). *Water for Life: Making it Happen..* Recuperado 15 de febrero de 2020 http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp2005/en
- Osmofilter. (2018). *Tratamiento integral del agua. Proceso de desinfección por ultra filtración (UF) en planta casera. [Figura]*. Recuperado 15 de Marzo de 2020: http://www.osmofilter.com/es/domestico_ultrafiltracion
- Padilla Tapía, H. M. (2014). *Giardia* y *Cryptosporidium* en aguas superficiales de los canales San Romualdo y Las Mercedes utilizados para la potabilización en Lambayeque y Chiclayo. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú.

- Pearson, R. D. (2018). Criptosporidiosis Fisiopatología Epidemiología Signos y síntomas. Manual MSD Versión Para Profesionales, 4–7. <https://doi.org/10.1017/S0950268815003131>.Signos
- Pereira, J., Oliveira, A., De Oliveira, M. B., Schuchard, W., Osaki, C., Alcantara de Castro, E., Clara, R., & Vanete T., P. (2008). Comparación de la eficacia de cloro, dióxido de cloro, ozono y en la inactivación de *Cryptosporidium parvum* en agua de Paraná, sur de Brasil. *Appl Biochem Biotechnol*, 464–473.
- Pereira, S. J., Ramírez, N. E., Xiao, L., & Ward, L. A. (2002). Patogénesis de humanos y bovinos *Cryptosporidium parvum* gnotobióticos en cerdos. 4096, 715–718.
- Plutzer, J., & Karanis, P. (2016). Neglected a base de agua, protozoos, parásitos y su detección en agua. *Acta Biomaterialia*, 7061(15), 1–43. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.010>
- Polus, M., & Kocwa-Haluch, R. (2014). Ingeniería de Protección del Medio. 40.
- Puech, M. C., Anulyt, J. M. M., Lesjak, M., Shaw, N., Watson, L. G. J. M., Salud, D. De, Comunitaria, M., Hospital, W., & Nsw, W. (2019). Un brote en todo el estado de la criptosporidiosis en Nueva Gales del Sur asociada con la natación en las piscinas públicas. 389–396.
- Ramirez, F., (Sin fecha). El agua potable: El factor CT. España. Recuperado 15 de Marzo de 2020: http://www.wlaguapotable.com/El_factor_CT.pdf
- Ramírez, F. (s.f.) Esquema de cloración con cloro gaseoso para desinfección del agua. El agua potable. España. [Figura]. Recuperado 15 de Marzo de 2020: <http://www.elaguapotable.com/cloracion1.htm>
- Reindesa. (2017). Esquema de desinfección de piscinas mediante Ozono. [Figura]. Recuperado 15 Marzo 2020: <https://www.reindesa.com/blog/limpieza-y-desinfeccion-de-piscinas-mediante-ozono/>
- Rivera, O., & Vásquez A., L. R. (2006). Informe de un caso clínico en Popayán, Cauca. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 21(3), 1–5.
- Rojas Cruz, C. (2012). *Cryptosporidium* spp : UN PARÁSITO EMERGENTE ASOCIADO A DIARREA. Esquema del ciclo de vida del *Cryptosporidium* spp. [Figura]. *Revista Gastrohnp*, 14(3), S20–S24.
- Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana: Bases Etiológicas de la Enfermedad Infecciosa y Parasitarias*. 3era Edición.
- Rosales, L. & Henríquez, C. (2012). Especies de *Cryptosporidium* en pacientes inmunodeficientes e inmunocompetentes de Valparaíso. *Revista chilena de infectología versión impresa* ISSN 0716-1018. *Rev. chil. infectol.* vol.29 no.1

- Rojas V., N., & Orta De Velásquez, T. (2002). Avances en la desinfección de aguas residuales para eliminar huevos de helmintos y otros microorganismos. En *Ingeniería Sanitaria Ambiental* (Issue Enero-Febrero N°60, p. 8).
- Ryan, U., & Hijjawi, N. (2015). Los nuevos desarrollos en *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, 45(6), 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.01.009>
- Ryan, U., Paparini, A., Monis, P., & Hijjawi, N. (2016). Es oficial - *Cryptosporidium* es un gregarine: ¿Cuáles son las implicaciones para la industria del agua? *Water Research*, 105(16), 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.09.013>
- Sánchez, A., Muñoz, M., Gómez, N., Tabares, J., Segura, L., Salazar, Á., Restrepo, C., Ruíz, M., Reyes, P., Qian, Y., Xiao, L., López, M. C., & Ramírez, J. D. (2017). Epidemiología molecular de *Giardia*, *Blastocystis* y *Cryptosporidium* entre los niños indígenas de la cuenca del Amazonas colombiano. *Frontiers in Microbiology*, 1–14.
- Sánchez Ortega, C. A. (2017). Detección y caracterización molecular de los parásitos de interés en salud pública: *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis*, *Toxoplasma gondii* y *Entamoeba histolytica*, en agua cruda y tratada de cuatro plantas potabilizadoras del Departamento de Nariño, Colombia. Universidad Nacional de Colombia.
- Scopus Elsevier. (2020). Scopus preview - Welcome to Scopus. Recuperado 12 enero 2020. <https://www.scopus.com/home.uri>
- Shields, J., Gleim, E., & Beach, M. (2008). Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* intestinales en piscinas, Atlanta, Georgia. *Emerging Infectious Diseases*, 14(6), 948–950.
- Smeets, P. W. M. H., van Dijk, J. C., Stanfield, G., Rietveld, L. C., & Medema, G. J. (2007). How can the UK statutory *Cryptosporidium* monitoring be used for quantitative risk assessment of *cryptosporidium* in drinking water? *Journal of Water and Health*, 5(SUPPL. 1), 107–118. <https://doi.org/10.2166/wh.2007.140>
- Sotiriadou, I., Pantchev, N., Gassmann, D., & Karanis, P. (2013). Molecularización de *Giardia* y *Cryptosporidium* de los perros y gatos. *EDP Sciences*.
- Sterk, A., Schijven, J., de Roda Husman, A. M., & de Nijs, T. (2016). Efecto del cambio climático en la segunda vuelta de las *Campylobacter* y *Cryptosporidium* de la tierra a las aguas superficiales. *Water Research*, 95, 90–102. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.005>
- Swaffer, B. A., Vial, H. M., King, B. J., Daly, R., Frizenschaf, J., & Monis, P. T. (2014). La investigación de la fuente de agua *Cryptosporidium* de concentración, las especies y las tasas de infectividad durante la lluvia-escorrentía en una cuenca de captación de usos múltiples. *Water Research*, 67, 310–320. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.055>

- Swaffer, B., Abbott, H., King, B., Linden, L. Van Der, & Monis, P. (2018). La comprensión infecciosa humana *Cryptosporidium* riesgo en las cuencas de abastecimiento de agua potable. *Water Research*, 138, 282–292. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.063>
- Tangermann, R., Gordon, S., Wiesner, P. y Kreckman, L. (1991). Un brote de criptosporidiosis en una guardería en Georgia. *Revista estadounidense de epidemiología*, 133 (5), 471-476.
- Tarazona, R., Blewett, D. A., & Carmona, D. (1998). *Cryptosporidium parvum* infección en ratones infectados experimentalmente: infección dinámica y efecto de inmunosupresión. 101–107.
- TCS pearson. (2020). *Crypto-Cel FITC Stain for Cryptosporidium Oocysts*. Recuperado 20 Febrero 2020. <https://www.tcsbiosciences.co.uk/crypto-cel.php?genre=food>
- Tetley, L., Brown, S. M. A., McDonald, V., & Coombs, G. H. (1998). Ultrastructural analysis of the sporozoite of *Cryptosporidium parvum*. *Microbiology*, 144(12), 3249–3255. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-12-3249>
- Thompson, R. C. A., Koh, W. H., & Clode, P. L. (2016). *Cryptosporidium* - ¿Qué es? In *Food and Waterborne Parasitology* (Vol. 4, pp. 54–61). <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.08.004>
- Thompson, R. C. A., & Ash, A. (2015). Epidemiología molecular de *Giardia* y *Cryptosporidium* infecciones. In *Infection, Genetics and Evolution* (Vol. 40, pp. 315–323). <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.09.028>
- Thompson, R. C. A., & Ash, A. (2019). Epidemiología molecular de *Giardia* y *Cryptosporidium* infecciones - ¿Qué hay de nuevo? In *Infection, Genetics and Evolution* (Vol. 75). <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103951>
- Tyzzer, EE (1907). Un esporozoo que se encuentra en las glándulas pépticas del ratón común. *Actas de la Society for Experimental Biology and Medicine* , 5 (1), 12-13.
- Tyzzer, E.E, (1912). *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Protistenkunde skin files* 26, 394-412.
- Tzipori, S., & Griffiths, J. K. (1998). Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*. *Advances in Parasitology*, 40, 5–36. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60116-5](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60116-5)
- Tzipori, Saul, & Widmer, G. (2008). Una retrospectiva de cien años en la criptosporidiosis. *Trends in Parasitology*, 24(4), 184–189. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.01.002>
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). (1989). *Environmental Protection Agency, U.S.A. Guidance Manual for Compliance with the Filtration and Disinfection requirements for Public Water Systems Using Surface Water Sources*. USA.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). (2004). *Environmental Protection Agency, U.S.A. Risk assessment evaluation for concentrated animal feeding operations*.

Office of Research and Development National Risk Management Research Laboratory.
Cincinnati, OH, USA.

- Valero, F., Emiliano, P., Garrote, R., Rodríguez, M. Á., Neculau, M., Vartolomei, F., & Rodríguez, J. J. (2018). La Ultrafiltración como etapa de mejora en una ETAP convencional. 1, 23–25.
- Vásquez G., I. H., Restrepo, M., & Botero, D. (1986). Cryptosporidiosis. *Biomédica*, 6.
- Velasco B, Benitez C. (2009). Infección por *Cryptosporidium* spp. en pediatría. Colombia. *Revista Gastrohnp*; 11(3):148-155
- Vermeulen, L. C., van Hengel, M., Kroeze, C., Medema, G., Spanier, J. E., van Vliet, M. T. H., & Hofstra, N. (2018). *Cryptosporidium*, las concentraciones en los ríos de todo el mundo.. *Water Research*, 149, 202–214. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.069>
- Vitoria M., I., Castro H., J. A., Esteban, J. G., & Otero R., C. (2013). Agua para biberones y parásitos patógenos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32(3), 206–207. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.09.022>
- White, A.C., Jr., (2010). *Cryptosporidiosis and the ears of the hippopotamus*. *Clin Infect Dis*; pp. 50, 1373-1374.
- Wright, H. B., & Cairns, W. L. (2004). *Luz Ultravioleta*. 1–28.
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., & Upton, S. J. (2004). *Cryptosporidium* Taxonomía : Avances recientes e implicaciones. 17(1), 72–97.
- Xiao, L., Morgan, U. M., Fayer, R., Thompson, R. C. A., & Lal, A. A. (2000). *Cryptosporidium* systematics and implications for public health. *Parasitology Today*, 16(7), 287–292. [https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(00\)01699-9](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(00)01699-9)
- Xiao, L., Morgan, U. M., Limor, J., Escalante, A., Arrowood, M., Shulaw, W., Thompson, R. C., Fayer, R., Fayer, R., & Lal, A. A. (1999). La diversidad genética dentro de *Cryptosporidium parvum* y relacionado *Cryptosporidium* especies. 65(8), 3386–3391.
- Xiao, L. Singh, J. Limor, T. K. Graczyk, S. Gradus, and A. Lal. (2001). Molecular characterization of *Cryptosporidium* oocysts in samples of raw surface water and wastewater. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 1097-1101.
- Xiao, S., Zhang, Y., Zhao, X., Sun, L., & Hu, S. (2018). Presence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* in recreational lake water in Tianjin, China: A preliminary study. *Scientific Reports*, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20902-3>

