

Revisión de tema

Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano

Pathogens and microbiological indicators of the quality of water for human consumption

Patógenos e Indicadores microbiológicos da qualidade da água pro consumo humano

Sandra Ríos-Tobón¹; Ruth M. Agudelo-Cadavid²; Lina A. Gutiérrez-Builes³

¹ Doctora en Salud Pública (Candidata), Microbióloga. Universidad de Antioquia. Colombia. Correo: sandra.riost@udea.edu.co

² Doctora en Ingeniería, Ingeniera Sanitaria. Universidad de Antioquia. Colombia. Correo: ruth.agudelo@udea.edu.co

³ Doctora en Ciencias Básicas Biomédicas, Microbióloga. Universidad Pontificia Bolivariana. Colombia. Correo: lina.gutierrezb@upb.edu.co

Recibido: 04/04/2016. Aprobado: 31/01/2017. Publicado en línea 15/02/2017

Citación sugerida: Ríos-Tobón S, Agudelo-Cadavid RM, Gutiérrez-Builes LA. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. Rev. Fac. Nac. Salud Pública, 2017; 35(2): 236-247. DOI: 10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08

Resumen

Las mejoras en el suministro de agua son oportunidades para solucionar problemas de Salud Pública. De ahí la importancia de establecer modelos de evaluación y gestión integral que garanticen su calidad. Actualmente hay múltiples metodologías para detectar la contaminación microbiana del agua. Sin embargo, los elevados costos que representan, los tiempos de análisis y aislamiento en cultivo de microorganismos, han sido obstáculo para establecer la calidad microbiana del agua para consumo humano. El uso de microorganismos bioindicadores de calidad del agua disminuye los costos y facilita la implementación de medidas eficientes de tratamiento, control del agua y de enfermedades asociadas a su transmisión. El objetivo de la revisión fue describir los principales indicadores microbiológicos empleados para la evaluación del agua potable, como elementos clave para proponer un nuevo esquema de

monitoreo en Colombia. Los resultados permiten considerar como bioindicadores, además de las bacterias y protozoos establecidos en la norma, algunos agentes microbianos como virus u otras bacterias y parásitos. Por otro lado indican la necesidad de establecer valores de referencia y definir los microorganismos a emplear con base en evaluaciones específicas de la situación microbiana del agua en monitoreos de validación, operación y verificación. Esta revisión aporta información importante para la actualización de la norma colombiana con base en el conocimiento de estándares internacionales, nacionales y locales.

-----*Palabras clave:* calidad del agua, agua potable, contaminación del agua, enfermedades relacionadas con el agua, indicadores de contaminación

Abstract

Upgrading water supplies is an opportunity to resolve health care problems. Thus, this shows the importance of establishing comprehensive evaluation and management models to guarantee quality. Currently, there are numerous methodologies to detect microbial water contamination. Nevertheless, the high cost, which analysis time and isolation in microorganism cultures represent, has been an obstacle to establish microbial water quality for human consumption. The use of microorganisms that are bio indicators of water quality decreases costs and facilitates the implementation of efficient treatment measures, water control and control of diseases associated to transmission. The objective of the review was to describe the main microbiological indicators used to evaluate drinking water as key items to

propose a new monitoring schema in Colombia. Results reflect the need to consider some microbial agents that were previously not considered like viruses and other bacteria and parasites, bio indicators, in addition to bacteria and protozoans already established in the norm. On the other hand, they indicate the need to establish reference values and define the microorganisms, which will be used based on specific evaluations of the microbial situation of the water in monitoring to validate, operate and verify. This review contributes important information to update Colombian norms based on knowledge of international, national and local standards.

-----*Keywords:* Water quality, drinking water, water pollution, water-related diseases, pollution indicators

Resumo

As melhoras na provisão da água são chances para solucionar dificuldades na saúde pública. Daí o relevo de estabelecer modelos de avaliação e gestão integral que garantissem a sua qualidade. Atualmente ha múltiplas metodologias para detecção da contaminação microbiana na água. Contudo os elevados custos que representam, os tempos de análises e isolamento em cultivo dos microrganismos tem sido barragem para estabelecer a qualidade microbiana da água para ingesta humana. Ser utente dos micro-organismos bio indicadores da qualidade da água diminui os custos e ameniza a implementação de medidas eficientes de tratamento, controle da água e das doenças associadas a sua transmissão. O propósito da revisão foi descrever os mais relevantes indicadores microbiológicos empregados pra avaliação da água potável, como elementos chave para

propor um novo esquema de monitoramento na Colômbia. Os resultados espelham considerar como bio indicadores, além das bactérias e os protozoários já estabelecidos na norma, alguns agentes microbianos não considerados, como vírus ou outras bactérias e parasitos. Por um outro lado, assinalam a necessidade de estabelecer valores de referencia e definir os microrganismos dos quais serão utentes com base nas avaliações específicas da situação microbiana da água nos monitoramentos de validação, operação e verificação. Esta revisão verba informação a relevar pra atualização da normatividade colombiana baseada no conhecimento dos padrões internacionais, nacionais e locais.

-----*Palavras chave:* Qualidade da água, água potável, contaminação da água, doenças envolvidas com a água, indicadores da poluição

Introducción

El agua potable, definida como “adecuada para el consumo humano y para todo uso doméstico habitual, incluida la higiene personal”, es libre de microorganismos causantes de enfermedades. Las posibles consecuencias de la contaminación microbiana para la salud son tales que su control debe ser objetivo primordial y nunca debe comprometerse [1].

La presencia o aumento de bacterias, parásitos, virus y hongos en el agua surge usualmente por efecto directo o indirecto de cambios en el medio ambiente y en la población tales como urbanización no controlada, crecimiento industrial, pobreza, ocupación de regiones antes deshabitadas, y la disposición inadecuada de excretas humanas y animales. Los cambios relacionados con las actividades antropogénicas se ven reflejados directamente en el entorno y, por consiguiente, en el recurso hídrico. Las principales

actividades que favorecen la contaminación de aguas son las agropecuarias como movilización de animales, cultivos, abonos orgánicos mal procesados y disposición inadecuada de aguas residuales que afectan la calidad microbiológica de las fuentes de agua [2].

Aunque la presencia de microorganismos de transmisión hídrica no está limitada a una región específica en el mundo, o a su nivel de desarrollo [1], los problemas de desplazamiento, la respuesta ineficiente de los servicios de salud, la poca inversión de los Estados en la garantía de la potabilización del agua para toda la población, la falta de control de brotes y la falta de intervención de los sistemas de salud pública, favorecen la propagación, incidencia, morbilidad y mortalidad asociada a enfermedades relacionadas con el agua de consumo, principalmente en países en vía de desarrollo [1-3].

La falta de garantías en la seguridad del recurso hídrico hace que la comunidad quede expuesta al riesgo de brotes de enfermedades relacionadas con el

agua. Evitarlos es particularmente importante dado que el agua como vehículo tiene gran potencial de infectar simultáneamente a gran proporción de la población. La vigilancia y control del agua para consumo humano está definida como la “evaluación y examen, de forma continua y vigilante, desde el punto de vista de la Salud Pública, de la inocuidad y aceptabilidad de los sistemas de abastecimiento de agua de consumo” [1]. Incluye conocer la calidad del agua en sus fuentes y sistemas de potabilización, identificar los microorganismos y las formas parasitarias macroscópicas presentes en ella, con el fin de establecer medidas de intervención y conservación del recurso hídrico y, por tanto, evitar la propagación de contaminantes y enfermedades transmitidas por el agua a la población [1-3].

Esta vigilancia exige el uso de herramientas diagnósticas para identificar los organismos presentes; sin embargo, hay gran limitación para determinar la totalidad de agentes involucrados en su contaminación, tanto en las fuentes de abastecimiento como en los sistemas de tratamiento del agua. Esta dificultad aumenta por los costos elevados de las herramientas diagnósticas y el uso de tecnologías especializadas que requieren alta inversión inicial [4, 5]. Es importante, por lo tanto, conocer los agentes microbianos patógenos y no patógenos presentes en el agua con el fin de definir posibles indicadores microbiológicos de calidad, cuyo uso simplifica en gran medida las actividades de campo y laboratorio y son un principio de aceptación universal en la evaluación de la seguridad microbiana de los sistemas de abastecimiento de agua [6].

Metodología

Revisión de tema de los principales patógenos microbianos transmitidos por el agua, y los posibles bioindicadores de calidad del agua para consumo humano. Se buscó responder a la pregunta de investigación: ¿cuáles son los principales bioindicadores microbiológicos de calidad del agua potable reportados en la literatura? Se seleccionaron artículos originales en la literatura en los cuales se describiera alguno de los diferentes tipos de microorganismos indicadores de calidad en el agua, sin restricción de lugar. Se incluyeron artículos en inglés y español publicados entre enero de 2000 y noviembre de 2015. Se excluyeron los artículos de revisión, protocolos y capítulos de libro.

La búsqueda de artículos en las bases de datos Pubmed, Springerlink y Science Direct se realizó usando los términos de búsqueda seleccionados con base en los DeCs [Descriptor de Ciencias de la salud]. Estos fueron: “bacteria”, “virus”, “protozoa”, “parasites”, unidos por el conector AND con los términos *water quality*, *drinking water*, *water pollution*, *water based diseases* y *pollution indicators*.

Resultados

Indicadores microbiológicos de calidad del agua

Los indicadores microbiológicos de calidad del agua son organismos que tienen un comportamiento similar a microorganismos patógenos cuya procedencia, concentración, hábitat y reacción a factores externos es la de la mayoría. Su presencia determina la existencia de patógenos y permite comparar sus reacciones a cambios de pH y temperatura o aplicación de medios físicos o químicos de desinfección, con la ventaja de ser más fácilmente cultivables o identificables, y económicamente factibles. Requieren la identificación y cuantificación de microorganismos por índices de diversidad ajustados a intervalos que califican la calidad del agua y, aunque la información microbiológica obtenida a partir de su análisis no reemplaza los análisis fisicoquímicos, reduce costos y aporta información en el monitoreo de la calidad del agua [7].

Estos indicadores deben cumplir requerimientos para ser establecidos como tal: estar ausentes en agua no contaminada y mantener una correlación de su presencia con la de los patógenos, en mayor proporción. Deben sobrevivir en el agua más tiempo y ser igual o más resistente a factores externos que los patógenos, sin ser patógenos y no deben reproducirse en animales poiquiloterms. Otra de sus características relevantes es ser de fácil, rápido y económico aislamiento, cuantificación e identificación y en lo posible tener criterios microbiológicos comunes internacionalmente. Deben hallarse de forma constante en las heces y estar asociados a aguas residuales; estar distribuidos al azar en las muestras y ser resistentes a la inhibición de su crecimiento por otras especies [1, 7]. Al existir diferentes grupos de patógenos que pueden ser transmitidos por el agua no hay un microorganismo único que se constituya en indicador ideal de calidad del agua. Estos grupos relacionados con las enfermedades de transmisión hídrica pueden ser de origen bacteriano, viral, parasitario y, en menor medida, micótico [3].

Con base en los criterios mencionados los indicadores microbiológicos de contaminación del agua generalmente han sido bacterias de la flora saprófita intestinal, entre las que se encuentran *Bacteroides fragilis*, bacterias mesófilas, coliformes totales, y fecales [termotolerantes], *Escherichia coli* y estreptococos fecales. Algunas de estas, de origen animal [generalmente de explotaciones pecuarias], representan un alto potencial zoonótico, siendo abundantes estreptococos fecales y parásitos como *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* spp., que tienen una mayor resistencia a los procesos de tratamiento y desinfección del agua para consumo humano [8].

A continuación se mencionan algunos grupos de organismos transmitidos por el agua y aquellos que se emplean como bioindicadores de calidad del agua, agrupados en la Figura 1.

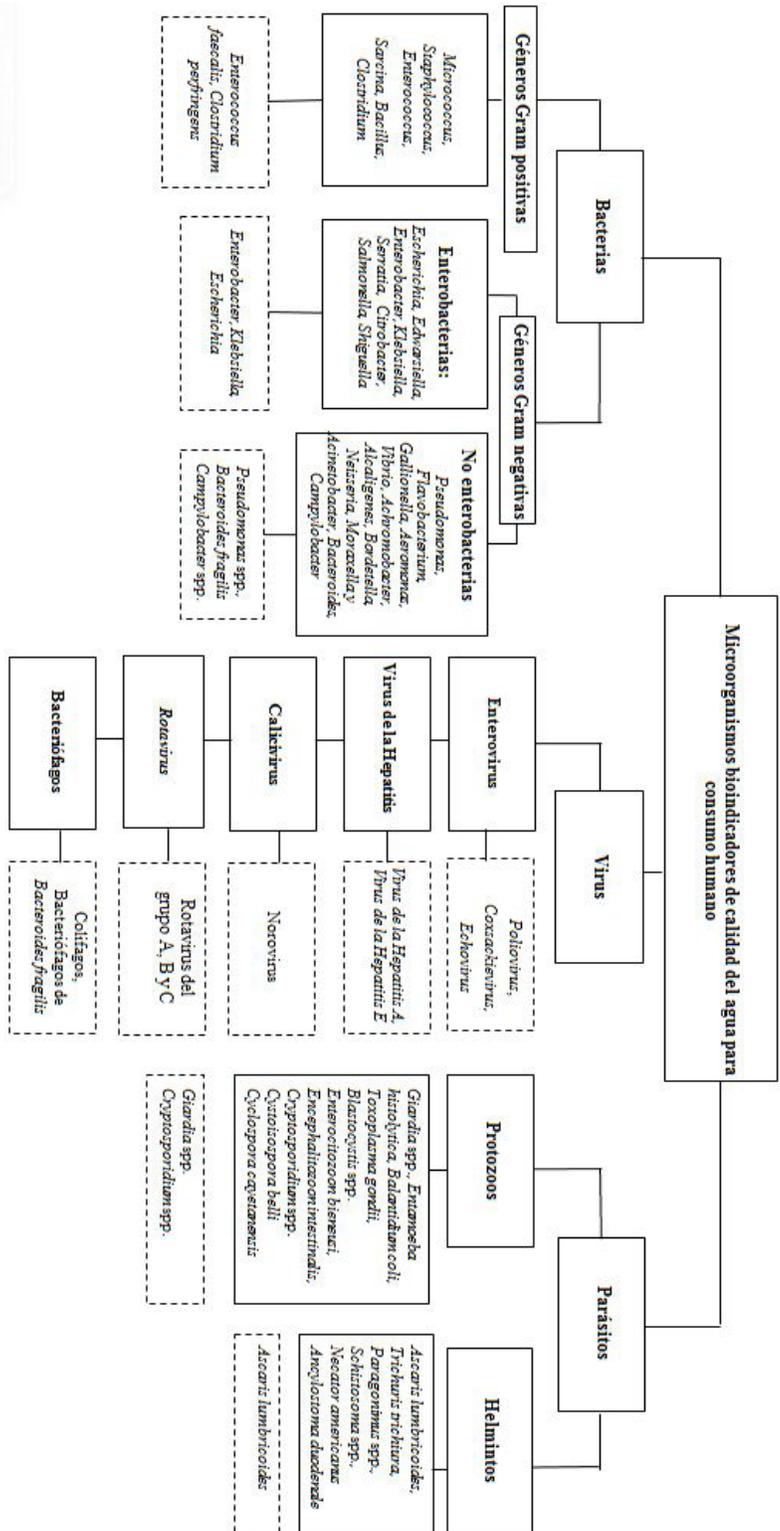


Figura 1. Principales microorganismos bioindicadores de calidad del agua para consumo humano
 Nota: (---) Principales bioindicadores

Principales microorganismos transmitidos por el agua e indicadores microbiológicos de contaminación

Bacterias

Más del 80% de bacterias descritas en el manual de Bergey [*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*] pueden aislarse del agua [9]. En su mayoría son bacterias entéricas, provenientes del tracto gastrointestinal de animales y humanos, denominadas bacterias fecales, cuya capacidad de sobrevivir y reproducirse en el agua es restringida dado el estrés fisiológico que presenta el medio acuoso. Establecerlas como bioindicadoras tiene alto grado de complejidad debido a las limitaciones diagnósticas que esto genera. Estas características particulares indican que su hallazgo está asociado con infecciones recientes o con presencia de materia orgánica y condiciones de pH, humedad y temperatura que faciliten su reproducción y sobrevivencia [5]. Poseen características que las hacen tener algunas ventajas sobre otros organismos, como la metodología de muestreo estandarizado y muy bien definido para obtener una respuesta rápida a cambios ambientales como la contaminación [7]. Son indicadores de contaminación fecal a corto plazo por descarga de desechos y a largo plazo, indicadores de efectividad de programas de control [7].

Dentro de las bacterias establecidas como contaminantes del agua se han aislado Gram negativas, especialmente pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Gallionella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter*. Sin embargo, el grupo bacteriano que cumple con las características de potencial bioindicador de calidad del agua es el de las bacterias coliformes, enterobacterias o *Enterobacteriaceae*, anaerobias facultativas, no esporulantes, productoras de gas y fermentadoras de lactosa por vía glucolítica, que generan ácidos como producto final. Corresponden a 10% de los microorganismos intestinales humanos y animales, por lo que su presencia en el agua está asociada con contaminación fecal [3, 5, 10, 11] e indica tratamientos inadecuados o contaminación posterior [6]. Este grupo incluye géneros *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, y *Citrobacter*. Estos cuatro últimos se encuentran en grandes cantidades en fuentes de agua, vegetación y suelos, por lo que no están asociados necesariamente con contaminación fecal y no plantean ni representan necesariamente un riesgo evidente para la salud. Sin embargo, especies de géneros *Enterobacter* y *Klebsiella* colonizan superficies interiores de las tuberías de agua y tanques de almacenamiento, que forman biopelículas en presencia de nutrientes, temperaturas cálidas, bajas concentraciones de desinfectantes y tiempos largos de almacenamiento [6, 7].

El género *Escherichia* en Colombia, según el Decreto 1575 de 2007 del Ministerio de Protección Social, es bioindicador obligatorio en el Sistema para la Protección y Control de la Calidad del Agua para Consumo Humano [12]. Este género incluye cepas patógenas y no patógenas y corresponde a 80% de la microflora intestinal normal, donde generalmente es inofensiva. En la actualidad están descritas cepas patógenas para el humano causantes de enfermedades graves, como infecciones de vías urinarias, bacteriemia y meningitis. Seis cepas enteropatógenas pueden causar diarrea aguda: *E. coli* enterohemorrágica [ECEH], *E. coli* enterotoxígena [ECET], *E. coli* enteropatógena [ECEP], *E. coli* enteroinvasiva [ECEI], *E. coli* enteroagregativa [ECEA] y *E. coli* de adherencia difusa [ECAD]. La respuesta de estas cepas a los procedimientos de desinfección es similar a la de las cepas no patógenas, por lo que en muchos países se establece como bioindicador, incluido Colombia [5, 10, 13].

Dentro del grupo de enterobacterias encontramos otros géneros como *Shigella* y *Salmonella*, causantes de disentería bacilar; *Salmonella typhimurium* y *Salmonella typhi* productoras de gastroenteritis y fiebre tifoidea, respectivamente [13]. Otro grupo no menos importante lo conforma el género *Vibrio* [bacilos flagelados, curvados, anaerobios facultativos]. Su especie más representativa es *V. cholerae*, transmitida mediante el consumo de aguas contaminadas y causante de diarrea aguda, acuosa y profusa, con altas tasas de mortalidad en brotes y epidemias de cólera [5, 13]. Algunos otros géneros gram negativos implicados en las enfermedades de transmisión hídrica son *Aeromonas*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter*. Aunque las bacterias gram positivas no son muy comunes en fuentes de agua, algunos géneros representan a este grupo: *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Enterococcus*. *E. faecalis* afecta a los humanos, habitando en su intestino, por lo que también se considera indicador de contaminación fecal [6, 14].

El género *Pseudomonas* está constituido por bacilos aerobios gram negativos móviles, posee una densa capa de polisacáridos que actúa como barrera fisicoquímica capaz de protegerla del efecto del cloro residual. Se identifican con base en varias características fisiológicas: uso de diversidad de compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía que aumentan su capacidad de resistir a factores ambientales. Ha sido aislada de equipos destiladores, agua potable, tanques cisterna, tanques domiciliarios, redes de distribución de agua para consumo humano, demostrando su capacidad de sobrevivir y multiplicarse en aguas sometidas a procesos de desinfección. Su resistencia al cloro es superior a la de otros microorganismos aislados del agua; además, su característica más importante es su capacidad de inhibir coliformes que, al ser indicadores de contaminación de agua más comúnmente usados en el mundo, existe gran probabilidad de consumir agua con

índice de coliformes cero, que podrían estar inhibidos por microorganismos del género *Pseudomonas*. Otras especies de los géneros *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Bacillus*, *Actinomyces* y algunas levaduras, son microorganismos que influyen en la detección del grupo coliforme, ya que ejercen sobre éstos una acción inhibitoria. Se considera por tanto que, aun cuando las aguas tratadas muestren estar libres de coliformes no se puede asegurar su potabilidad [6, 15-17].

Los géneros *Bacillus* (aerobio) y *Clostridium* (anaerobio), también habitantes del tracto gastrointestinal inferior de algunos mamíferos, son aislados de fuentes hídricas subterráneas siendo algunas especies patógenas en humano y animales (*B. anthracis*, *C. perfringens*, *C. tetani*, *C. difficile*) [10]. Las esporas de *C. difficile* pueden estar presentes en el suelo y se han recuperado de aguas cloradas, ríos, lagos y muestras de agua de mar. El potencial del agua como fuente de infección por *C. difficile* fue demostrada en Zimbabue en 2006, donde se aislaron células vegetativas de *C. difficile* de suelo y pozos de agua subterránea, contaminada con materia fecal de pollo [16]. Posteriormente sus esporas se establecieron como la causa de un brote de diarrea en Finlandia, como contaminantes del agua de consumo [18].

Las esporas de clostridios sulfito reductores y concretamente las de *C. perfringens* se utilizan como indicadores de contaminación fecal del agua, ya que son extremadamente resistentes a varios tipos de estrés ambiental y sobreviven períodos de tiempo en agua. Sin embargo, otros indicadores de contaminación fecal, tales como *E. coli* y *Enterococcus*, se utilizan con más frecuencia que los clostridios en el seguimiento de la calidad del agua; esto es debido a su mayor cantidad en las heces, a pesar de su pobre estabilidad en un entorno de agua en comparación con las esporas de *Clostridium* [18]. El grupo de los Enterococos incluye especies como *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum* y *E. avium*; se diferencian de otros Enterococos fecales por su habilidad de crecer en medios con 6,5% de cloruro de sodio, a pH 9,6, a 10°C y a 45°C. Gracias a su resistencia a estos factores que permiten un mayor tiempo de supervivencia son considerados como indicadores de contaminación fecal a largo plazo en contraste con la presencia de coliformes que indican contaminación fecal a corto plazo [6, 19, 20].

Virus

Los virus son la principal causa de morbilidad y mortalidad en las enfermedades de transmisión hídrica y en ningún caso se consideran flora normal del tracto gastrointestinal de animales y humanos. El 87% de enfermedades virales transmitidas por agua son causadas por el virus de la Hepatitis, Adenovirus y Rotavirus [1, 5, 6]. Hasta el momento se han reportado más de 140 virus patógenos entéricos de transmisión hídrica, por la

previa contaminación con materia fecal de personas o animales infectados. Los principales son:

Enterovirus: los constituyen tres grupos importantes: los poliovirus, virus ARN causantes de poliomielitis y propuestos como bioindicador de calidad del agua por algunos autores con la limitación de estar en cantidades variables en los ecosistemas acuáticos, además de su difícil diagnóstico. Otro grupo está representado por los coxsackievirus con más de 30 serotipos causantes de faringitis febril, herpangina, pleurodinia epidémica, algunos casos de meningitis aséptica y miocarditis y, por último, los echovirus causantes de infecciones asintomáticas, pericarditis y erupciones cutáneas [5, 23].

Virus de la hepatitis: causantes de hepatitis viral. Dentro de este grupo se encuentran virus de la hepatitis A, B, C, D, E, F, G. Siendo el A y el E los más frecuentemente transmitidos por medio de aguas contaminadas. En países desarrollados el virus de la hepatitis A (VHA) afecta principalmente casos aislados de individuos y aunque existe prevención vacunal eficiente, las condiciones de saneamiento ambiental y potabilización del agua son la forma más eficaz de evitar su propagación [5, 24-26]. El genoma del VHA presenta una gran estabilidad genética en todas las cepas aisladas y debido a sus características estructurales es un virus muy estable y resistente a los agentes físicos y químicos, lo que explica su gran habilidad para transmitirse a través del agua y de alimentos en condiciones teóricamente desfavorables para el virus; no se afecta por agentes que inhiben normalmente otros picornavirus [27].

Rotavirus: su representación la hacen siete grupos siendo más prevalentes los grupos A, B y C con predominio del primero, causante de diarrea acuosa y vómito especialmente en niños. Son virus no envueltos, estables en el medio ambiente y de fácil propagación por su pequeña dosis infectiva [10-100 partículas virales] [5, 28, 29].

Calicivirus: pertenecientes a la familia *Caliciviridae* son los principales causantes de gastroenteritis en humanos y animales a nivel mundial, importantes como agentes de transmisión zoonótica de fácil propagación [32, 33]. Son virus no envueltos, altamente resistentes a las condiciones ambientales, a los desinfectantes más comunes. El género *Norovirus*, está reportado en el mundo como uno de los principales causantes de enfermedades diarreicas de transmisión hídrica y es definido como el bio-indicador viral perfecto de enfermedades transmitidas por el agua y los alimentos [30,31]. Las dificultades en el diagnóstico de estos agentes patógenos están asociadas al costo, interés, desviación de recursos públicos y requerimiento de tecnologías especializadas, que hacen difícil su establecimiento como bioindicador de calidad, por lo que recientemente se han propuesto los fagos, especialmente los colifagos, que afectan coliformes, se encuentran de manera abundante en aguas

contaminadas con materia fecal y pueden aislarse por métodos más sencillos y económicos que los enterovirus, presentando mecanismos de resistencia similares a éstos en los procesos de desinfección. Por otro lado, son más resistentes a las condiciones ambientales adversas que las bacterias coliformes, además de que sus poblaciones son mucho mayores [11]. Otra posibilidad que presentan los fagos y debido a la complejidad del aislamiento de bacterias anaerobias como *Bacteroides fragilis*, es que se propone como bioindicador un fago que infecte a ésta última, siendo representativo de la situación de calidad del agua con respecto a las bacterias que presentan este tipo de metabolismo [34].

En Colombia la legislación no incluye en ninguna norma la determinación de virus ni fagos en el diagnóstico, seguimiento y control de la calidad del agua para consumo humano [35].

Parásitos

Dentro de los parásitos patógenos transmitidos por el agua se encuentran dos grupos: protozoos y helmintos

Protozoos: sus formas parasitarias, quistes u ooquistes y trofozoitos, son en su mayoría retenidos en el proceso de filtración de los sistemas de tratamiento y algunos son resistentes a la cloración [ooquistes]. Son causantes de enfermedades diarreicas en las especies que parasitan y, en algunas ocasiones, son organismos oportunistas causantes de enfermedades graves e incluso la muerte en niños, ancianos y pacientes inmunocomprometidos [36]. Los protozoos patógenos más encontrados en aguas contaminadas son: *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Toxoplasma gondii*, *Blastocystis* spp., *Enterocytozoon bienersi*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. y algunas otras especies de coccidias como *Cystoisospora belli* y *Cyclospora cayatanensis* [36, 37].

Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. permanecen viables en el agua 140 días y son muy resistentes a la mayoría de desinfectantes corrientes [38], lo que dificulta mucho e incluso impide su destrucción por la cloración normal de las aguas. Algunos brotes mundiales de criptosporidiosis son por la contaminación de aguas superficiales, subterráneas y recreacionales con ooquistes del parásito. Brotes con más casos han sido causados por contaminación de agua en plantas de tratamiento de grandes ciudades [39-41].

En Colombia la resolución 2115 de 2007 reglamenta los protozoos *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. como bioindicadores de la calidad del agua de consumo humano y establece como técnica la aprobada por el Instituto Nacional de Salud (Method 1623: *Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA* December 2005) la cual es la avalada por la EPA (United States Environmental Protection Agency) [35, 42].

Helmintos: son altamente resistentes a los cambios de pH, humedad y temperatura en el ambiente externo y

son causantes de altas tasas de morbilidad por consumo de aguas contaminadas. Otra de sus características importantes es su mínima dosis infectiva y la resistencia a la desecación de los huevos de éstos parásitos, que logran durar largos períodos de tiempo en el ambiente externo [1]. Las ventajas de establecer una especie de helminto como bioindicador, son su resistencia, su fácil identificación por laboratorio y su prevalencia. Los principales helmintos patógenos transmitidos por el agua son *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Paragonimus* spp., *Schistosoma* spp., *Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale* [5, 43, 44].

Patógenos emergentes

Actualmente se han clasificado algunos microorganismos emergentes dentro de las causas de enfermedades de transmisión hídrica; a este grupo pertenecen las cianobacterias, llamadas tradicionalmente algas verdes-azules, fotosintéticas y productoras de oxígeno molecular. Su patología entérica la causan las toxinas que generan, afectando además el sistema nervioso y hepático. Otro de los microorganismos ubicados en esta clasificación es el género *Campylobacter*, bacteria causante de gastroenteritis aguda [45, 46].

Aunque la Organización Mundial de la Salud (OMS) realiza el reporte de enfermedades de transmisión hídrica, dentro de las que se incluyen las causadas por agentes tóxicos, o aquellas en las que los organismos causantes, cumplen alguna parte de su ciclo de vida; la lista la encabezan las causadas por microorganismos, virus y parásitos de transmisión directa [11].

Es por esto que el conocimiento de las especies presentes en los cuerpos de agua naturales, seleccionados como fuentes de abastecimiento de agua para el consumo humano, tiene su importancia en la posibilidad de implementar tecnologías costo-eficientes que logren el diagnóstico oportuno de agentes potencialmente patógenos y, de esta manera, controlar y vigilar la presentación de enfermedades cuyo origen radica en el agua [11].

Enfermedades transmitidas por el agua

El agua es la sustancia más común e importante en la tierra y su disponibilidad ha sido el factor más crítico para la supervivencia durante el desarrollo de toda forma viva en el planeta [47]. En la historia de la humanidad los centros culturales y los asentamientos humanos siempre se fundaron en zonas con suministro suficiente de agua dulce y a medida que la población aumentaba el suministro natural de agua se iba limitando, por lo que las grandes culturas desarrollaron técnicas y sistemas sofisticados para lograr el acceso a nuevos depósitos de agua [p.e. perforación de pozos y construcción de acueductos] y distribuir el agua para el riego de sus cultivos, la alimentación de los animales y la propia. Inicialmente las comunidades en desarrollo encontraron

que la producción y distribución de un volumen suficiente de agua potable presentaba problemas importantes. Pero muy pronto otras complicaciones de las zonas densamente pobladas, como la creciente cantidad de residuos, aguas residuales y otros tipos de contaminación, se convirtieron también en factores peligrosos sobre el agua potable [37]. Además de los problemas de higiene causados por los residuos insalubres el rápido desarrollo de la industria, especialmente el desarrollo de la industria química, ha dado lugar a una contaminación permanente de todos los tipos de sistemas de agua naturales, que no sólo se observa en los países altamente industrializados sino en todos los lugares del planeta; incluso se ha encontrado que la nieve y el hielo del Ártico y la Antártida, contienen contaminantes biológicos y químicos que se derivan principalmente de los países industrializados del hemisferio norte [47-49].

Un vago entendimiento de la necesidad de proteger las fuentes de agua de la contaminación con residuos y aguas residuales se documenta en archivos históricos como, por ejemplo, en la Biblia. En la Europa medieval, sin embargo, la mayor parte de este conocimiento pragmático fue olvidado, por lo que los residuos orgánicos y las aguas residuales en las ciudades eran dispuestos en malas condiciones. Se pensaba que los brotes regulares de enfermedades diarreicas y el cólera estaban relacionadas con las condiciones atmosféricas locales y no con agua contaminada. A pesar de esta teoría el padre de la Epidemiología moderna John Snow llegó a la conclusión que una bomba de agua en Broad Street fue la causa del brote de cólera en Londres. Posterior a la eliminación de la manija de la bomba en 1854, fue capaz de detener el problema [21, 50, 51].

La necesidad de protección de los recursos y el tratamiento del agua para consumo humano se hizo evidente cuando se logró la conexión entre las bacterias en el agua y el brote de diversas enfermedades. Uno de los primeros brotes de los que se obtuvo una conclusión a partir de pruebas fue el brote de fiebre tifoidea en 1919 en Pforzheim, Alemania, que causó 4.000 casos y dio lugar a 400 muertes. Fue posible demostrar que el agua potable estaba contaminada por residuos sanitarios. La conexión entre la contaminación del agua y el brote de la enfermedad dió lugar no sólo al establecimiento de áreas protegidas (fuentes y sistemas de abastecimiento de agua potable), sino también a la descontaminación y tratamiento de las aguas, para eliminar la mayor cantidad de bacterias posibles [52].

Las enfermedades transmitidas por el agua son de distribución mundial, causantes de epidemias tanto en países desarrollados como en vía de desarrollo. Son una de las principales razones de los 4 mil millones de casos de diarrea, que causan anualmente 1,6 millones de muertes en el mundo. Como agravante es responsable del 21% de muertes en niños menores de

cinco años de edad [36]. Estas enfermedades tienen alto subregistro y su etiología es rara; pueden ser virales, bacterianas, micóticas o parasitarias. Dentro de estas, como se menciona previamente, encontramos las infecciones por virus entéricos, bacterias como *Campylobacter* sp., *E. coli* entero hemorrágica, *Y. enterocolítica*, *H. pylori*, *L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *Aeromonas*, *Cryptosporidium* spp., *G. intestinalis*, *T. gondii*, *E. histolytica*, *Acanthamoeba* spp., *C. cayetanensis*, *C. belli*, *B. hominis*, *Sarcocystis* spp., *Naegleria* spp. y *B. coli* [53].

Un brote de estas enfermedades se presenta cuando dos o más personas en vínculos epidemiológicos de tiempo y espacio durante la exposición al agua experimentan una enfermedad similar. Los datos epidemiológicos tienen un mayor peso que los datos de calidad del agua por lo que los brotes sin datos de calidad del agua se pueden incluir, pero informes que carecen de datos epidemiológicos no, pues contribuyen al subregistro [36, 54].

Hoy en día en la mayoría de países industrializados el agua potable está clasificada como alimento, y existen numerosas normas, establecidas para garantizar su calidad y seguridad. Los estrictos requisitos microbiológicos, especifican que el contenido bacteriano debe ser muy bajo y que los patógenos deben ser detectados y eliminados. El descubrimiento de nuevos microorganismos y los conocimientos existentes sobre la microbiología del agua, requieren un diseño más elaborado de estas normas, que eviten la aparición de bacterias, virus, hongos y parásitos potencialmente patógenos en el agua de consumo.

Las recientes directrices y legislación impartida por la OMS, afirman que el agua potable debe contener microorganismos patógenos sólo en un número tan bajo que el riesgo de contraer infecciones transmitidas por el agua esté por debajo de un límite aceptable. El cumplimiento de estos requisitos exige la protección de los recursos y el riguroso tratamiento del agua cruda, así como el control de calidad exhaustivo del proceso. Sin embargo, la evaluación del comportamiento de los agentes patógenos en el agua potable es también esencial como base para futuras mejoras en el proceso de tratamiento y la generación de nuevos reglamentos [21, 47].

Las investigaciones asociadas a estas enfermedades, han dado lugar a la formulación de recomendaciones a las autoridades nacionales relacionadas con la gestión de brote, la prevención de brotes similares en el futuro y el fomento de un enfoque intersectorial. La mayoría de estos microorganismos se transmiten de manera oral y la exposición a ellos se da a través de aguas y suelos contaminados con materia fecal. Un saneamiento eficiente y un mejor abastecimiento de agua, son las principales medidas de seguridad contra los riesgos que representan estos patógenos [55].

Ante la sospecha de contaminación del agua potable, los procedimientos deben estar en su lugar con el fin de facilitar la acción oportuna y controlar el riesgo

para la salud pública. Por lo tanto y principalmente en los países desarrollados se han propuesto una serie de recomendaciones a corto y largo plazo, incluyendo el aumento de la vigilancia de las fuentes de agua y aguas de consumo y la introducción de equipos de medición automáticos y permanentes, además de garantía del cloro residual hasta el sitio de disposición [36, 54].

Con el fin de hacer un seguimiento constante y un diagnóstico oportuno para controlar y prevenir enfermedades de importancia en Salud Pública en algunos países se crearon organizaciones como el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, Atlanta, E.U.) y la Agencia para la protección Ambiental de EE.UU (USEPA) [22-24]. En Suecia y Japón (NESID), en la década de los 80 del siglo pasado se estableció un sistema nacional de vigilancia epidemiológica de las enfermedades infecciosas y en Australia, algunos años después, se fundó el Sistema de Vigilancia de Enfermedades de Notificación Obligatoria Nacional (NNDSS). En el Reino Unido en 2003 surge la Agencia de Protección de la Salud (HPA) mientras que en Canadá en 2004 se funda la Agencia de Salud Pública de Canadá (ASPC). Posteriormente, y en concordancia con la propuesta de los países europeos, se creó en Estados Unidos, el Centro Europeo para el Control y la Prevención de las Enfermedades (ECDC) en 2005 [37, 56, 57].

La mayoría de estos centros de información son altamente calificados y proporcionan la documentación de los brotes de enfermedades de manera ágil y rápida, incluyendo las enfermedades de transmisión hídrica. A pesar de los continuos esfuerzos de los países desarrollados, por superar el problema de las enfermedades transmitidas por el agua, se siguen presentando brotes por agentes resistentes al tratamiento, dada la presencia de reservorios ambientales, deficiencias en las plantas de tratamiento y sistemas de abastecimiento, entre otros aspectos [58]. En los países en desarrollo los sistemas de registro, vigilancia y control de estas enfermedades están establecidos, pero existe una falta de documentación, subregistro de procesos y casos, aunado a sistemas de abastecimiento de agua potable en su mayoría ineficientes o, en peor caso, inexistente [55].

En vista de la aparición de patógenos emergentes asociados con brotes, algunos de los cuales aún son capaces de multiplicarse en el sistema de abastecimiento de agua, la Unión Europea creó una nueva directriz para el manejo del agua, que establece el agua para consumo humano como aquella libre de cualquier microorganismo, parásito o sustancia, en una cantidad o concentración que pueda suponer un peligro potencial para la salud humana. Esto significa que los microorganismos patógenos se toleran en el agua que es para consumo humano, siempre y cuando estén presentes en concentraciones que no causen problemas de salud, tales como brotes o un número elevado de

casos esporádicos [59, 60]. La Organización Mundial de la Salud ha adoptado un punto de vista similar. Esta afirmación conduce, por supuesto, a la cuestión del riesgo aceptable de infección por microorganismos patógenos en el agua y la concentración máxima tolerable de los microorganismos correspondientes a ese riesgo [59].

El nivel de riesgo aceptable debe basarse en un consenso en la comunidad a riesgo. Para determinar la concentración tolerable de un patógeno es necesario conocer la relación dosis respuesta entre la concentración del agente patógeno y el número de personas infectadas entre el número total de personas expuestas en una población determinada. Estas relaciones de dosis-respuesta se han establecido para varios patógenos, incluyendo *S. typhi*, *G. intestinalis*, y rotavirus [11, 61]. Por razones prácticas estos experimentos se han realizado con una dosis relativamente alta de los agentes patógenos, razón por la que los resultados para la exposición a bajos niveles de patógenos tienen que ser extrapolados a partir de datos experimentales por los modelos matemáticos de probabilidad.

A partir de estos resultados experimentales, de los modelos matemáticos y de la presentación de brotes, la detección de los indicadores clásicos falla en la identificación de contaminación con la mayoría de los nuevos agentes patógenos, porque *E. coli* y *Enterococcus* spp. son mucho menos resistentes al cloro que, por ejemplo, los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. [6]. De este modo, los nuevos conocimientos sobre la epidemiología y la ecología de patógenos emergentes, transmitidos a través del agua potable, así como el avance hacia una nueva comprensión de la ecología microbiana de los sistemas de distribución de agua potable, dan como resultado la necesidad de formulación de las estrategias de manejo y conservación de la misma a partir del conocimiento de su diversidad y la definición de buenos indicadores biológicos de calidad.

Conclusiones

El monitoreo de todos los organismos presentes en el agua para consumo humano es poco realista debido a la gran diversidad de patógenos que se sabe están presentes en las fuentes de abastecimiento (incluyendo virus, bacterias y protozoos) y a los diversos métodos requeridos para la concentración y el análisis de ellos. Sin embargo, el monitoreo para uno o un grupo de patógenos pueden dar una falsa impresión de seguridad, si otros patógenos no identificados están presentes.

Por otra parte, muchos patógenos son difíciles y costosos de cultivar e identificar y tienen una distribución irregular o bajas concentraciones en el medio ambiente. Durante más de un siglo el enfoque de este problema ha sido monitorear bio-indicadores

de calidad del agua que se seleccionan debido a su bajo potencial patógeno, altos niveles en aguas y en materia fecal y a la relación con la presencia de organismos patógenos. Los principales bio-indicadores establecidos en todo el mundo incluyen coliformes fecales, *E. coli*, y *Enterococos*; sin embargo, con las nuevas tecnologías y diferentes estudios en el mundo, se ha logrado evidenciar que otros microorganismos tales como *Pseudomonas* spp., *Streptococos* fecales, Norovirus y *Cryptosporidium* spp., tienen un mejor comportamiento como bioindicadores y podrían optimizar el diagnóstico de potabilización en las plantas y sistemas de tratamiento de agua para consumo humano.

El uso de bio-indicadores como riesgo para la salud humana está lleno de supuestos; uno de los más importantes es la relación de su hallazgo con la presencia de patógenos. Sin embargo, las concentraciones de organismos bio-indicadores no han sido bien correlacionadas con patógenos en muchos estudios. Esta falta de correlación se atribuye generalmente a las grandes diferencias biológicas entre los indicadores y los patógenos.

Algunos estudios epidemiológicos carecen de sensibilidad para determinar relaciones significativas entre riesgo para la salud y concentración de bio-indicadores. Aunque muchos organismos están reportados como causantes de diarreas, los datos sobre la situación, las dificultades en el diagnóstico de estos agentes patógenos asociados al costo, interés, desviación de recursos públicos y requerimiento de tecnologías especializadas, hacen difícil su establecimiento como bioindicadores de calidad. Ante estos desafíos, la definición de nuevos bioindicadores de calidad del agua para consumo humano se constituye en reto para la Salud Pública en el mundo y Colombia; basados en la evaluación de los ambientes acuáticos y sus áreas de influencia, que permitan conocer la ecología de los organismos, su persistencia en el medio ambiente y su correlación con los organismos patógenos, para garantizar una evaluación eficiente de la calidad de agua para consumo humano. Es necesario tener en cuenta condiciones particulares, el contexto epidemiológico y la influencia de actividades antropogénicas directas e indirectas sobre los cuerpos de agua a evaluar, para garantizar la definición de un bioindicador óptimo de calidad.

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones para el Desarrollo y la Innovación (CIDI), Universidad Pontificia Bolivariana, proyecto con radicado 251B08/14-65 y al Fondo de Apoyo Docente de la Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia, acta de registro INV 444-13.

Referencias

- 1 Organización Mundial de la Salud. Guidelines for Drinking-water Quality [Internet]. Geneva; 2011. 564 p. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf.
- 2 Núñez N, Fraile I, Lizarazu J. Microorganismos patógenos del agua. Estudio de Molinayo Erreka. Meridies [Revista en Internet] 2009; (13):69–76. Disponible en: <http://www.laanunciataikereta.com/trabajos/microorganismos/in.html>.
- 3 Silva J, Ramírez L, Alfieri A, Rivas G, Sánchez M. Determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego, estado Carabobo, Venezuela. Rev la Soc Venez Microbiol [Revista en Internet] 2004. [Acceso 10 de diciembre de 2015]; 24 (1–2):46–9. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562004000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- 4 Robert-Pullés M. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba. Revista CENIC. Ciencias Biológicas [Revista en Internet] 2014 [Acceso 4 de diciembre de 2016]; 45(1): 25-36. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1812/181230079005.pdf>.
- 5 Arcos M, Ávila S, Estupiñán S, Gómez A. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. Nova-Publicación Científica ISSN1794-2470 [Revista en Internet]. 2005; [Acceso 9 de octubre de 2015]; 3(4): 69–79. Disponible en: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTREVIS2_4.pdf.
- 6 Marchand EO. Microorganismos indicadores de la calidad de agua de consumo humano en Lima Metropolitana [Tesis en Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002. [Acceso 9 de octubre de 2015]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/basic/marchand_p_e/anteced.htm.
- 7 Vásquez G, Castro G, González I, Pérez R, Castro T. Bioindicadores como herramientas para determinar la calidad del agua. ContactoS [Revista en Internet] 2006 [Acceso 27 de agosto de 2015]; (60): 41–8. Disponible en: <http://www.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n60ne/Bio-agua.pdf>.
- 8 Kim M, Gutiérrez-Cacciabue D, Schriewer A, Rajal VB, Wuertz S. Evaluation of detachment methods for the enumeration of *Bacteroides fragilis* in sediments via propidium monoazide quantitative PCR, in comparison with *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*. J Appl Microbiol [Revista en Internet] 2014 [Acceso 28 de agosto de 2015]; 117: 1513–22. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25175698>.
- 9 Apella MC, Araújo PZ. Microbiología de agua. Conceptos básicos. En: Blesa MA, Blanco-Gálvez J, editores. Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Buenos Aires: UNSAM; 2005. p. 27–44. Disponible en: www.psa.es/webesp/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf.
- 10 Cotiño R. Bacterias transmitidas por agua y alimentos que producen enfermedades. Rev Divulg científica y tecnológica la Univ Veracruzana [Revista en Internet] 2008 [Acceso 27 de agosto de 2015]; XXI(2). Disponible en: <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol21num2/articulos/bacterias/>.
- 11 Organización Mundial de la Salud. Agua, saneamiento y salud [ASS], Hojas informativas sobre enfermedades relacionadas con el agua. [Internet] 2013. [Acceso 13 de agosto de 2015] Disponible en: http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/diseasefact/es/index.html.
- 12 Colombia. Ministerios de la Protección Social y de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Decreto 1575 de 2007. Por el cual se establece el Sistema para la Protección y Control

- de la Calidad del Agua para Consumo Humano. Bogotá: Los Ministerios; 2007.
- 13 O'Connor DR. Report of the Walkerton Inquiry: The events of May 2000 and related issues [Internet]. Toronto: Ontario Ministry of the Attorney General; 2002. [Acceso 20 de septiembre de 2015]. Disponible en: http://www.archives.gov.on.ca/en_e_records/walkerton/report1/.
 - 14 Aulicino FA, Pastoni F. Microorganisms surviving in drinking water systems and related problems. *Ann Ig [Revista en Internet]* 2004. [Acceso 7 de agosto de 2015]; 16: 265–72. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15554533>.
 - 15 Cho EJ, Yang JY, Lee ES, Kim SC, Cha SY, Kim ST, *et al.* A waterborne outbreak and detection of *Cryptosporidium* oocysts in drinking water of an older high-rise apartment complex in Seoul Korean J Parasitol [Revista en Internet] 2013. [Acceso 20 de julio de 2015] 51:461–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24039290>.
 - 16 Simango C. Prevalence of *Clostridium difficile* in the environment in a rural community in Zimbabwe. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006; [100]:1146–50.
 - 17 Won G, Gill A, Lejeune JT. Microbial quality and bacteria pathogens in private wells used for drinking water in northeastern Ohio. *J Water Heal [Revista en Internet]* 2013. [Acceso 10 de diciembre de 2015] 11: 555–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23981882>.
 - 18 Kotila SM, Pitkänen T, Brazier J, Eerola E, Jalava J, Kuusi M, *et al.* *Clostridium difficile* contamination of public tap water distribution system during a waterborne outbreak in Finland. *Scand J Public Heal [Revista en Internet]* 2013. [Acceso 12 de agosto de 2015] 41: 541–5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23503193>.
 - 19 Haugland RA, Siefing SC, Wymer JL, Brenner KP, Dufour AP. Comparison of *Enterococcus* measurements in freshwater at two recreational beaches by quantitative polymerase chain reaction and membrane filter culture analysis. *Water Res.* 2005; 39 (39): 559–68.
 - 20 Robertson L, Gjerde B, Hansen EF, Stachurska-Hagen T. A water contamination incident in Oslo, Norway during October 2007; a basis for discussion of boil-water notices and the potential for post-treatment contamination of drinking water supplies. *J Water Heal [Revista en Internet]* 2009; [Acceso 12 de octubre de 2015] 7: 55–66. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18957775>.
 - 21 Nwachuku N, Gerba CP. Health risks of enteric viral infections in children. *Rev Env Contam Toxicol [Revista en Internet]* 2006. [Acceso 27 de agosto de 2015]; 186: 1–56. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16676900>.
 - 22 La Rosa G, Fratini M, della Libera S, Iaconelli M, Muscillo M. Emerging and potentially emerging viruses in water environments. *Ann Ist Super Sanita [Revista en Internet]* 2012; [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 48: 397–406. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23247136>.
 - 23 Cliver DO. Early Days of Food and Environmental Virology. *Food Env Virol [Revista en Internet]* 2010. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 2: 1–23. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20234839>.
 - 24 Klevens RM, Miller JT, Iqbal K, Thomas A, Rizzo EM, Hanson H, *et al.* The evolving epidemiology of hepatitis a in the United States: incidence and molecular epidemiology from population-based surveillance, 2005–2007. *Arch Intern Med [Revista en Internet]*. 2010. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 170: 1811–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21059974>
 - 25 Fernández-Molina M, Álvarez-Alcántara A, Espigares-García M. Transmisión fecohídrica y virus de la hepatitis A. *Hig San Amb [Revista en Internet]* 2001. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 1: 8–18. Disponible en: [http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc510150f6e3b7c_Hig.Sanid.Ambient.1.8-18\(2001\).pdf](http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc510150f6e3b7c_Hig.Sanid.Ambient.1.8-18(2001).pdf).
 - 26 Tsai YL, Tran B, Sangermano LR, Palmer CJ. Detection of poliovirus, hepatitis A virus, and rotavirus from sewage and ocean water by triplex reverse transcriptase PCR. *Appl Environ Microbiol [Revista en Internet]*. 1994 [Acceso 23 de octubre de 2014]; 60 (7): 2400–7. Disponible en: <http://aem.asm.org/sci-hub.org/content/60/7/2400.short>.
 - 27 Koroglu M, Yakupogullari Y, Otlu B, Ozturk S, Ozden M, Ozer A, *et al.* A waterborne outbreak of epidemic diarrhea due to group A rotavirus in Malatya, Turkey. *New Microbiol [Revista en Internet]* 2011. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 34: 17–24. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21344142>.
 - 28 Cannon JL, Papafragkou E, Park GW, Osborne J, Jaykus LA, Vinjé J. Surrogates for the study of norovirus stability and inactivation in the environment: A comparison of murine norovirus and feline calicivirus. *J Food Prot [Revista en Internet]* 2006, [Acceso 12 de septiembre de 2015]; 69: 2761–5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17133824>.
 - 29 Räsänen S, Lappalainen S, Kaikkonen S, Hämäläinen M, Salminen M, Vesikari T. Mixed viral infections causing acute gastroenteritis in children in a waterborne outbreak. *Epidemiol Infect [Revista en Internet]*. 2010 [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 138: 1227–34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20092670>.
 - 30 Godoy P, Nuín C, Alsedà M, Llovet T, Mazana R, Domínguez A. [Waterborne outbreak of gastroenteritis caused by Norovirus transmitted through drinking water]. *Rev Clin Esp [Revista en Internet]* 2006. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 206: 435–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17094221>.
 - 31 Larsson C, Andersson Y, Allestam G, Lindqvist A, Nenonen N, Bergstedt O. Epidemiology and estimated costs of a large waterborne outbreak of norovirus infection in Sweden. *Epidemiol Infect [Revista en Internet]* 2013. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 1–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23714107>.
 - 32 Montazeri N, Goettert D, Achberger EC, Johnson CN, Prinyawiwatkul W, Janes ME. Pathogenic Enteric Viruses and Microbial Indicators during Secondary Treatment of Municipal Wastewater. *Appl Environ Microbiol [Revista en Internet]*. 2015 Sep 15 [Acceso 24 de agosto de 2015]; 81(18): 6436–45. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26162869>.
 - 33 República de Colombia. Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Resolución 2115 de 2007: por medio del cual se señalan las características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Bogotá: Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial; 2007. Disponible en: <http://www.sui.gov.co/suibase/formatosEstratificacion/normatividad/Res.2115de2007.pdf>.
 - 34 Karanis P, Kourenti C, Smith H. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *J Water Heal [Revista en Internet]* 2007 [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 5: 1–38. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17402277>.
 - 35 Yoder J, Roberts V, Craun GF, Hill V, Hicks LA, Alexander NT, *et al.* Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking--United States, 2005–2006. *MMWR Surveill Summ [Revista en Internet]* 2008. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 57: 39–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18784643>.

- 36 Neira-Munoz E, Okoro C, McCarthy ND. Outbreak of waterborne cryptosporidiosis associated with low oocyst concentrations. *Epidemiol Infect* [Revista en Internet] 2007. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 135: 1159–64. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17445321>.
- 37 Robertson LJ, Hermansen L, Gjerde BK. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in sewage in Norway. *Appl Env Microbiol* [Revista en Internet] 2006. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 72: 5297–303. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16885279>.
- 38 Takagi M, Toriumi H, Endo T, Yamamoto N, Kuroki T. [An outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming pools]. *Kansenshogaku Zasshi* [Revista en Internet] 2008. [Acceso 17 de noviembre de 2015]; 82: 14–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18306673>.
- 39 Cacciò SM. Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis. *Parassitologia* [Revista en Internet] 2005. [Acceso 7 de agosto de 2015]; 47: 185–92. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16252472>.
- 40 Rhodes ER, Villegas LF, Shaw NJ, Miller C, Villegas EN. A modified EPA Method 1623 that uses tangential flow hollow-fiber ultrafiltration and heat dissociation steps to detect waterborne *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. *J Vis Exp* [Revista en Internet] 2012. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 65: 4177. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22805201>.
- 41 Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. *Water Res* [Revista en Internet]. 2011 Dic 15 [Acceso 24 de mayo de 2015]; 45 (20): 6603–14. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22048017>.
- 42 Chacín-Bonilla L. Intestinal parasitic diseases as a global health problem. *Invest Clin* [Revista en Internet] 2013. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 54: 1–4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23781708>.
- 43 Taylor EV, Herman KM, Ailes EC, Fitzgerald C, Yoder JS, Mahon BE, et al. Common source outbreaks of *Campylobacter* infection in the USA, 1997-2008. *Epidemiol Infect* [Revista en Internet] 2013 [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 141: 987–96. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22892294>.
- 44 Karagiannis I, Sideroglou T, Gkolfinopoulou K, Tsouri A, Lampousaki D, Velonakis EN, et al. A waterborne *Campylobacter* jejuni outbreak on a Greek island. *Epidemiol Infect* [Revista en Internet] 2010. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 138: 1726–34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20836911>.
- 45 Rizak S, Hrudey SE. Drinking-water safety: challenges for community-managed systems. *J Water Heal* [Revista en Internet] 2008. [Acceso 8 de noviembre de 2015]; 6 Suppl 1: 33–41. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18401127>.
- 46 Messner M, Shaw S, Regli S, Rotert K, Blank V, Soller J. An approach for developing a national estimate of waterborne disease due to drinking water and a national estimate model application. *J Water Heal* [Revista en Internet] 2006. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 4 Suppl 2: 201–40. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16895092>.
- 47 Signor RS, Ashbolt NJ. Comparing probabilistic microbial risk assessments for drinking water against daily rather than annualised infection probability targets. *J Water Heal* [Revista en Internet] 2009. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 7: 535–43. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19590121>.
- 48 Cavallaro EC, Harris JR, da Goia MS, dos Santos Barrado JC, da Nóbrega AA, de Alvarenga de Junior IC, et al. Evaluation of pot-chlorination of wells during a cholera outbreak, Bissau, Guinea-Bissau, 2008. *J Water Heal* [Revista en Internet] 2011. [Acceso 16 de noviembre de 2015]; 9:394–402. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21942203>.
- 49 Koch T, Denike K. Crediting his critics' concerns: remaking John Snow's map of Broad Street cholera, 1854. *Soc Sci Med* [Revista en Internet] 2009 [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 69: 1246–51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19716638>.
- 50 Szewzyk U, Szewzyk R, Schleife W. Microbiological Safety of drinking water. *Annu Rev Microbiol* [Revista en Internet] 2000 [Acceso 7 de mayo de 2015]; 11 (4): 81–127. Disponible en: <http://scihub.org/mail/lg.php?doi=10.1146/annures>.
- 51 Mouchtouri VA, Nichols G, Rachiotis G, Kremastinou J, Arvanitoyannis IS, Riemer T, et al. State of the art: public health and passenger ships. *Int Marit Heal* [Revista en Internet] 2010. [Acceso 16 de noviembre de 2015]; 61: 49–98. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21154293>.
- 52 Smith A, Reacher M, Smerdon W, Adak GK, Nichols G, Chalmers RM. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-2003. *Epidemiol Infect* [Revista en Internet] 2006. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 134: 1141–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16690002>.
- 53 Moon S, Kwak W, Lee S, Kim W, Oh J, Youn SK. Epidemiological characteristics of the first water-borne outbreak of cryptosporidiosis in Seoul, Korea. *J Korean Med Sci* [Revista en Internet] 2013 [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 28: 983–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23853479>.
- 54 Craun GF, Calderon RL, Craun MF. Outbreaks associated with recreational water in the United States. *Int J Env Heal Res* [Revista en Internet] 2005. [Acceso 7 de noviembre de 2015]; 15: 243–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16175741>.
- 55 Arnone RD, Walling JP. Waterborne pathogens in urban watersheds. *J Water Heal* [Revista en Internet] 2007. [Acceso 19 de diciembre de 2015]; 5: 149–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17402286>.
- 56 Thomas KM, Charron DF, Waltner-Toews D, Schuster C, Maarouf AR, Holt JD. A role of high impact weather events in waterborne disease outbreaks in Canada, 1975 - 2001. *Int J Env Heal Res* [Revista en Internet] 2006. [Acceso 6 de septiembre de 2015]; 16: 167–80. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16611562>.
- 57 Aksoy U, Akisu C, Sahin S, Usluca S, Yalcin G, Kuralay F, et al. First reported waterborne outbreak of cryptosporidiosis with *Cyclospora* co-infection in Turkey. *Euro Surveill* [Revista en Internet] 2007. [Acceso 6 de septiembre de 2015]; 12: E070215.4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17370959>.
- 58 McMichael AJ, Woodruff R, Hales S. Climate change and human health: present and future risks. *Lancet*. 2006; 367 (9513): 859–69.
- 59 Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura, Organización Mundial de la Salud. Agua para todos, agua para la vida. [Revista en Internet]. 1er Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo. 2003 [Acceso 2 de mayo de 2015]. Disponible en: <http://www.un.org/esa/sustdev/sdissues/water/WWDR-spanish-129556s.pdf>.
- 60 Kozlica J, Claudet AL, Solomon D, Dunn JR, Carpenter LR. Waterborne outbreak of *Salmonella* I 4, [5],12:i:-. *Foodborne Pathog Dis* [Revista en Internet] 2010. [Acceso 6 de septiembre de 2015]; 7: 1431–3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20617936>. 61. Robertson LJ, Forberg T, Gjerde BK. *Giardia* cysts in sewage influent in Bergen, Norway 15-23 months after an extensive waterborne outbreak of giardiasis. *J Appl Microbiol* [Revista en Internet] 2008. [Acceso 6 de septiembre de 2015]; 104: 1147–52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17976168>.