

Agua y Transmisión Parasitaria

ANTONIO R. MARTÍNEZ FERNÁNDEZ

Académico de número de la Real Academia de Farmacia

RESUMEN

El agua es uno de los vehículos principales de la transmisión mediata de parásitos que infectan por la vía oral, trans-mucosa nasal y cutánea. La transmisión se realiza mediante las llamadas formas de transmisión: estados cíclicos quiescentes, resistentes, que portan fases capaces de cambio ecológico, infectantes para el siguiente hospedador. Se revisan, desde los arquezoos a los helmintos, las formas de transmisión, su morfología y resistencia, así como el ciclo epidemiológico característico en el que se desenvuelven. La transmisión hídrica está relacionada con la endemicidad de los procesos parasitarios en cada área geográfica, con la receptividad de los hospedadores y con la producción y elaboración de alimentos. Se hace especial énfasis en la transmisión de quistes y ooquistes de especies zoonóticas, capaces de superar los sistemas comunes de acondicionamiento del agua potable, y por ello, capaces de producir brotes en los países desarrollados

1. INTRODUCCIÓN.-

El agua como vehículo de transmisión.

En la figura 1 se resume el papel del agua en los ciclos epidemiológicos de agentes parasitarios antroponóticos o zoonóticos.

El hombre tanto como hospedador definitivo como intermediario de especies de parásitos, adquiere con el agua las “formas parasitarias” de infección. La puerta de entrada principal es la digestiva, pero también sirven a otros parásitos la vía cutánea o la nasal. Cuando el hombre es hospedador definitivo los parásitos alcanzan en él la madurez sexual, se reproducen y crean formas de transmisión. Si el parasitismo es por protozoos con reproducción asexual, el ciclo supone la posibilidad de pasar pronto a otro hospedador, lo que se hace mediante formas resistentes

(quísticas) de eliminación. Cuando la reproducción es sexual, como ocurre en los apicomplejos, las formas de transmisión son huevos quísticos (ooquistes). En los helmintos parásitos la transmisión se realiza por embriones protegidos por embrióforos (cestodos ciclofílidos como las tenias) o mediante huevos y larvas. Las formas parasitarias de transmisión: quistes, ooquistes, huevos y larvas, se eliminan por las heces fecales o la orina. Las mismas u otras formas de transmisión son también eliminadas por los animales que albergan parásitos antrozoonóticos, es decir que pueden caminar desde los animales al hombre. Al respecto y en determinados especies de especial importancia para la transmisión

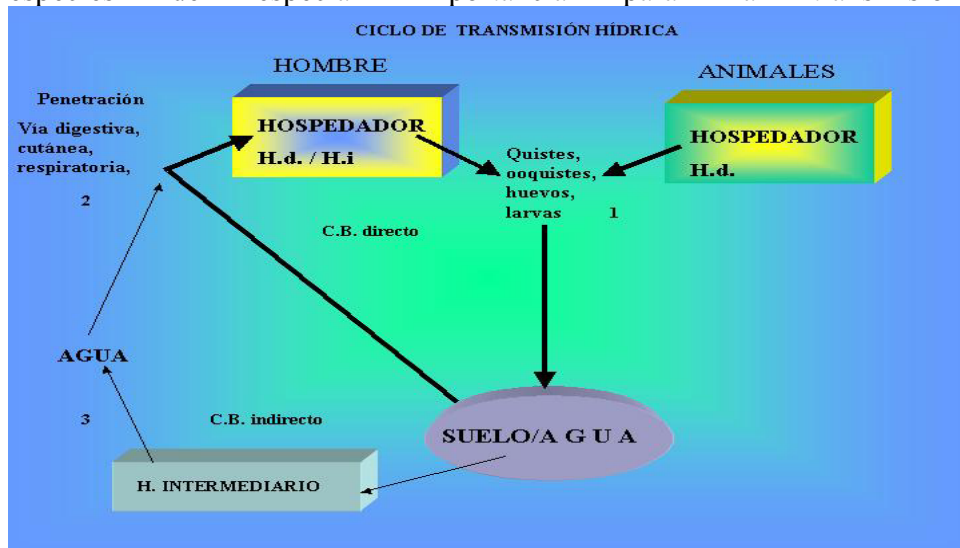


Figura 1.- Esquema del ciclo general de transmisión hídrica de los agente parasitarios, antroponóticos y zoonóticos. H.d. hospedador definitivo; H.i., hospedador intermediarios. 1.formas cíclicas de transmisión, 2. vías de penetración, 3. formas secundarias de transmisión en los ciclos indirectos

hídrica como *Giardia*, microsporidios o *Cryptosporidium*, tanto el hombre como los animales domésticos pueden estar parasitados por especies o cepas comunes, indistintamente capaces de infectar al hombre o a los animales, saltando de unos a otro, según que la ocasión lo propicie. Las formas parasitarias de transmisión van al agua (suelo/agua). Algunas necesitan un tiempo y determinadas condiciones ecológicas de temperatu-

ra y oxigenación, para evolucionar hacia formas infectantes, madurar. Otras por el contrario se eliminan ya infectantes, por lo que solo tienen que, vehiculadas por el agua, penetrar en el siguiente hospedador. Esto es lo que sucede en los ciclos biológicos directos. En los indirectos la forma de transmisión es infectante para un hospedador intermediario. Éste, habitante del agua, eliminará posteriormente el estado cíclico infectante. Por ejemplo, las cercarias de las especies de *Schistosoma* que eliminadas al agua penetran a través de la piel del hombre, o las metacercarias flotantes de *Fasciola* que pueden ser bebidas. En algunos parasitismos zoonóticos como la hidatidosis, o la toxoplasmosis, son los huevos embrionados eliminados con las heces de los cánidos, en el primer caso, o los ooquistes eliminados por los gatos, en el segundo, los que contaminan el agua de bebida. El hombre es en estos últimos casos hospedador intermediario de un ciclo que no concluye.

El agua juega también un importantísimo papel como medio donde se desarrollan artrópodos hospedadores intermediarios como culícidos, simúlidos, copépodos, etc. No podemos abordar aquí esta porción del papel del agua en la transmisión de agentes infecciosos, aunque tengamos que omitir procesos tan importantes como el paludismo o las filariosis. Tampoco podemos ocuparnos, pues cae en otra especialidad, de la transmisión hídrica de bacterias, hongos y de virus. Sólo las mencionamos en la tabla 2.

- (1) El motivo de esta revisión es exclusivamente los parasitismos de transmisión hídrica directa, tabla 1. Para ello revisaremos los ocasionados por arquezoos, como los diplomonádicos y microsporidios, seguidos de los causados por protozoos. Entre estos, los amebiformes (Entamoeba, Acanthamoeba) y especialmente los apicomplejos gregarínidos como *Cryptosporidium* y coccidios como *Cyclospora*, *Cystoisospora*, *Toxoplasma*. Entre los helmintos, los trematodos de transmisión hídrica, los cestodos ciclofílidos, y en los nematodos los de ciclo biológico directo con el hombre como hospedador definitivo o paraténico: *Ascaris*, *Toxocara*, *Trichuris*, etc. ¹

TABLA 1

PARÁSITOS CON TRANSMISIÓN HÍDRICA	
<ul style="list-style-type: none">• ARQUEZOOS<ul style="list-style-type: none">- DIPLOMONADIDOS y al.<ul style="list-style-type: none">• <i>Giardia duodenalis</i>• <i>Chilomastix mesnili</i>• <i>Enteromonas hominis</i>• <i>Retortamonas intestinalis</i>- MICROPORIDIOS<ul style="list-style-type: none">• <i>Enterocytozoon bieneusi</i>• <i>Encephalitozoon intestinalis</i>, etc.• PROTOZOOS<ul style="list-style-type: none">- AMEBAS “sentido amplio”<ul style="list-style-type: none">• <i>Entamoeba histolytica</i>• Otras: <i>E. dispar</i>, <i>E. coli</i>, etc.• Oportunistas:<ul style="list-style-type: none">• <i>Acanthamoeba</i> spp., <i>Balamuthia mandrillaris</i>, <i>Naegleria fowleri</i>- APICOMPLEJOS<ul style="list-style-type: none">• GREGARINIDOS<ul style="list-style-type: none">- <i>Cryptosporidium parvum</i>• COCCIDIOS<ul style="list-style-type: none">- <i>Cystoisospora belli</i>- <i>Cyclospora cayetanensis</i>	<ul style="list-style-type: none">- OTROS APICOMPLEJOS:<ul style="list-style-type: none">• <i>Toxoplasma gondii</i>• <i>Sarcocystis hirsuti</i>?, <i>Neospora</i> sp.?• HELMINTOS<ul style="list-style-type: none">- HUVOS DE CESTODOS<ul style="list-style-type: none">• <i>Echinococcus granulosus</i>• <i>Echinococcus</i> spp.• <i>Taenia solium</i>• <i>Tenia multiceps</i>, etc.- Cercarias de trematodos<ul style="list-style-type: none">• Schistosoma spp.• <i>Fasciola hepatica</i>- Huevos y larvas de nematodos<ul style="list-style-type: none">• <i>Ascaris</i> spp.; <i>Toxocara</i> spp• <i>Trichuris</i> spp• <i>Ancylostoma duodenalis</i>• <i>Dracunculus medinensis</i>

Un capítulo a parte en la transmisión hídrica y su problemática actual, que tampoco vamos a tratar de modo particular, es el representado por el hecho de que el síntoma gastrointestinal más común entre los enfermos de SIDA es la diarrea causada por protozoos de transmisión hídrica como: *Cryptosporidium parvum*, *Cystoisospora belli*, *Enterocytozoon bieneusi*, *E.(Septata) intestinalis*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica* y *Giardia duodenalis* amén de bacterias: *Mycobacterium avium-intracellulare*, *Clostridium difficile*, *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter jejuni*, y virus: CMV, HSV y el propio HIV

Tabla 2 OTROS PATÓGENOS DE TRANSMISIÓN HÍDRICA

- **BACTERIAS**
 - *Salmonella spp.*
 - *Shigella spp.*
 - *Escherichia coli* patógenos₁
 - *Campylobacter spp.*
 - *Vibrio cholera*
 - *Yersinia enterocolitica*
 - *Francisella tularensis* Tipo B
 - *Acinetobacterium*
 - *Serratia*
 - *Klebsiella*
 - *Flavobacterium*
- Bacterias Oportunistas
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - *Mycobacterium spp.* zoonóticos
 - *Aeromonas*
 - Vía aerógena/ mucosa nasal
 - *Legionella pneumophila*
 - *Aeromonas*
 - (1) *E.coli* O157:H7
- **VIRUS**
 - Rotavirus
 - Adenovirus entéricos
 - Calcivirus
 - Astrovirus
 - Enterovirus
 - Coronavirus
- **Otros elementos indeseables**
 - Toxinas de cianofíceas (*Microcystis aeruginosa*)
 - Larvas y adultos de Nematodos (nematodos bacteriófagos de filtros)
 - Microorganismos que ocasionan color y sabor al agua
 - Crustáceos hospedadores intermediarios
 - Moluscos, crustáceos y peces comestibles contaminados

2. Formas parasitarias de transmisión

Se conocen así a aquellos estados en el ciclo biológico capaces de abandonar al hospedador y resistiendo las condiciones ambientales hallar un nuevo hospedador donde reiniciar el ciclo biológico. Cada grupo zoológico, de los múltiples que forman el espectro de parásitos del hombre, adopta una solución diferente. Solo convergen en la capacidad de resistir las condiciones adversas del medio, evolucionar hasta formas infectantes y haber sido creadas en gran cantidad; ante la elevada resistencia ambiental hubo un previsor potencial biótico resaltado. En la figura 2 se ilustran las principales formas parasitarias de transmisión



Figura 2. De derecha a izquierda cada flecha señala: huevos de helmintos, formas secundarias de transmisión de trematodos, ooquistes de protozoos apicomplejos, ooquistes de *Cryptosporidium*, quistes de *Giardia*, ooquistes de *Cyclospora*, quiste de *Balantidium*, quiste de *Entamoeba histolytica*, quis-

2.1. Los quistes de los microsporidios

Los microsporidios son unos oportunistas netos. Su encuadre taxonómico actual les sitúa como representantes del grupo hipotético de protistas del que partieron los hongos, con los que comparten algunas características. Son arquezoos, sin mitocondrias que perdieron en su evolución y con ribosomas como los de los procariotas. Su transmisión de célula a célula o de hospedador a hospedador es por esporas. La estructura de una espora se muestra de modo esquemático en la figura 3. Son muy elaboradas y no solo sirven como elementos de transmisión sino que también encierran un sofisticado sistema de infección por inoculación intracelular directa. Son parásitos endocelulares estrictos ya que todo su ciclo se desarrolla en el interior de la célula inicialmente parasitada. La entrada en la célula no se produce por interiorización en una bolsa de membrana celular, como las vacuolas parasitóforas de los protozoos endocelulares, sino atravesando la membrana celular como una aguja hipodérmica, mediante el filamento polar a cuyo través se traslada el esporoplasma, la célula fundadora del ciclo. En algunas especies, *Trachipleistophora anthropothera* entre las descritas en el hombre, hay dos clases: esporas de infección, de producción rápida, para traslado del parásito de una a otra célula dentro del mismo hospedador y esporas de transmisión y resistencia, de mas lenta producción, capaces de salir al medio, contaminando agua y alimentos, hasta encontrar un nuevo hospedador y sus células.

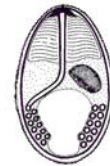


Figura 3.- Esquema del quiste de un microsporidio

En el microscopio óptico, a gran aumento pueden verse ovales, de color grisáceo y refráctiles de tamaño reducido, 4 μm de media. Bajo el microscopio electrónico se ve que la espora cuenta con una doble pared exospora proteínica y endospora quitinosa, que le confieren la resistencia ante las condiciones adversas del medio externo.

Los microsporidios circulan en la naturaleza entre dos medios: el intra-citoplasmático de las células del hospedador que parasitan, donde desarrollan su ciclo activo y el medio externo al citoplasma de la célula hospedadora, donde permanece quiescente esperando la ocasión de una

nueva infección. En realidad no es más que un solo medio, el cictoplasma parasitado, perteneciendo al fisiologismo y comportamiento de los hospedadores los sistemas de dispersión y llegada de las esporas infecciosas. En general el medio externo no tiene un papel ecológico activo. No se necesitan especiales condiciones de medio para la evolución del parásito, sólo para su supervivencia entre hospedador y hospedado. En la figura 4 se resume este ciclo.

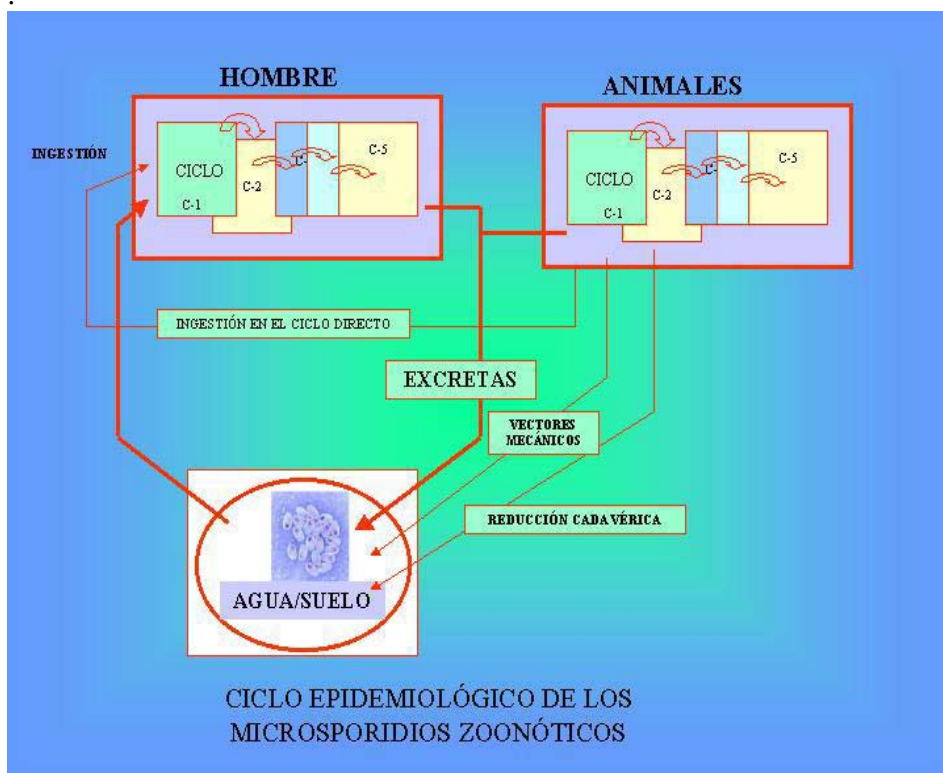


Figura 4.- Propuesta de ciclo epidemiológico de los microsporidios zoonóticos. Además de la infección directa animal hombre, la infección se produce también por contaminación del agua y alimentos con las esporas excretadas o liberadas al medio por otros medios.

La infección se realiza por vía oral o respiratoria mediante esporas de contaminación hídrica, alimenticia o aérea, liberadas por diferentes sistemas entre los que predomina la excreción directa.²

En la tabla 2 se resumen las características morfológicas de algunos de los quistes de las especies del hombre que se mencionan en la tabla 3.³

Los microsporidios son parásitos zoonóticos, oportunistas, ya que su acción patógena está unida a inmunodeficiencias o lesiones traumáticas previas. Para los taxónomos moleculares, compiten en antigüedad con los diplomonádicos.⁴ Las esporas resisten y superan los medios convencionales de depuración de las aguas. Causan entre el 7 y 50%, dependiendo parece del área geográfica de estudio, de las diarreas entre los enfermos con SIDA.⁵

Tabla 2. Especies descritas parasitando al hombre

1. MICROSPORIDIOS con todas las fases del ciclo (espora, merontes y esporontes) con núcleos simples
 - 1.1 . Con parasitismo sistémico:
 - Encephalitozoon cuniculi*, meningo-encefalitis y nefritis. Sistémico
 - Encephalitozoon helem*, de la córnea y sistémico en inmunosuprimidos (SIDA) (1991)
 - 1.2 . Con parasitismo intestinal (enterocitos)
 - Enterocytozoon bieneusi* (1985) en inmunosuprimidos
 - Encephalitozoon (Septata) intestinalis* (1993), en inmunosuprimidos
 - 1.3 . Con parasitismo muscular (miositis)
 - Trachipleistophora hominis* (1996) en inmunosuprimidos
 - Trachipleistophora anthropoptera* (1998), en inmunosuprimidos; con esporas de dos tipos

Tabla 2.2

2. Microsporidios con todas las fases del ciclo (esporas, merontes y esporontes) diplocáricas (con núcleos dobles)

2.1 .Parasitismo en la córnea

Vittaforma cornea (1995), lesión corneal

Nosema ocularum (1991), lesión corneal

2.2 . Parasitismo muscular (miositis) y sistémicos

Brachiola vesicularum (1998) en inmunosuprimidos (SIDA)

Brachiola connori (1997), en un inmunosuprimido congénito

3.2. Los Diplomonadidos.-

Tabla 3

Encephalitozoon cuniculi: Esporas uninucleadas. Zoonótico. Posible transmisión hídrica y alimentaria

E.hellem Didier et al 1991. Zoonótico, en aves psitácidas. Posible transmisión directa

E. (Septata) intestinalis Cali et al 1993 Las esporas maduras miden 2 x 1,2 µm, con 5 vueltas de filamento polar. Zoonótico, presente en ungildos domésticos (equinos, suinos, bovinos). De posible transmisión hídrica

Enterocytozoon bieneusi Desportes et al.1985: Esporas uninucleadas con endospora poco desarrollada, 1,08 – 1,64 x 0,7-0,8 µm. Posiblemente zoonótico al infectar al cerdo. Posible transmisión hídrica y alimentaria

Trachipleistophora hominis Hollister, W.S. et al., 1996: Esporas grandes, 4 x 2,4 µm con vacuola posterior, 11 espira de filamento polar

Trachipleistophora anthropoptera Vavra, J. et al.(1998): El Tipo I esporas de 3,7-2 µm, provistas de endospora gruesa, áncora, filamento polar anisofilar, con 7 espiras gruesas externas y dos mas finas internas

El tipo II, esporas pequeñas, casi esféricas, de 2,2 a 2,5 μm con 4 a 5 vueltas de filamento isofilar

Vittaforma corneae (Shadduck et al,1990)Silveira et Canning,1995: esporas diplocáricas de 3,8 x 1,2 μm , con 5 a 7 vueltas de filamento anisofilar

Los Diplomonádidos son, según se deduce de los dendrogramas (filogramas) de parentesco filogénico, que se hallan al comparar el ADN que codifica para la fracción pequeña (16S) de los ribosomas, uno de los grupos más antiguo entre los protistas⁶. Sus formas de transmisión son quistes de resistencia. En la especie más importante, *Giardia duodenalis*, son ovoides, más pequeños que el trofozoito (6 x 14 μm de media), presentando en su interior restos de estructuras microtubulares. Los inmaduros contienen sólo dos núcleos, mientras que los maduros tienen cuatro. La pared quística está constituida por tres capas, una externa filamentosa y dos capas membranosas internas. La capa filamentosa está formada en un 43 % de carbohidratos de los cuales el 86% es acetilgalactosamina. Dos proteínas formadoras de pared (CWP 1 y 2) constituyen el otro componente de la pared quística⁷. Esta glicoproteína particular es la que confiere la extraordinaria resistencia al quiste.⁸ La formación de estas glicoproteínas es un hecho singular ya que *Giardia* no tiene aparato de Golgi aparente y esta función estimulada por el NO producido por la NO-sintasa inducida, sucede en el citoplasma en el que se organiza una migración específica de vesículas secretoras particulares, formadoras de pared, durante el enquistamiento al paso de los trofozoitos por el área alcalina bañada en sales biliares del yeyuno terminal⁵.

La enfermedad causada por *Giardia* es netamente de origen hídrico, con complicaciones derivadas del carácter zoonótico del proceso. Considerando que se trataba en el sentido clásico de una sola especie, se había achacado a diversos animales la posibilidad de actuar como reservorios: perros, gatos, roedores (ratones, conejos, castores), ganado (ovejas, vacas). Recientemente, mediante el uso de técnicas tales como: ampliación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y análisis de RFLP (fragmentos de ADN obtenidos con enzimas de restricción) y genes de las VSP (proteínas variables de superficie), gen de la glutatión-deshidrogenasa, electroforesis de alozimas, etc. se confirma la existencia de genovariedades (cuasi especies) identificadas en diferentes regiones.

En Europa⁹ se les denomina: A) Grupo “Polaco” con tres tipos: I.- Zoonótico, del hombre y ungulados artiodáctilos (vacas especialmente), II.- antroponótico, sólo del hombre y III sólo de animales. B) Grupo “Belga”, antroponótico, específico del hombre. Coincide esta tipicación con la identificada en América del Norte¹⁰: variedad A, tipo I del hombre y ungulados, tipo II humano, tipo III de ungulados y variedad B que sólo se aísla de humanos. En Australia¹¹ se denominan: conjunto A, del hombre, ungulados artiodáctilos, gato, perro, cobayos y castores; conjunto B del hombre, monos, chinchillas, cobayos y castores; finalmente, un último conjunto sólo de animales como el perro, gato, ungulados domésticos, ratas y micromamíferos.

Giardia duodenalis es una especie práctica, a efectos prácticos, pues parece en realidad que se trata de un conjunto de entidades diferentes. Es una mas de las llamadas ahora “complejo de especies” pues, bajo la misma apariencia morfológica, los datos de epidemiología molecular indican que los agrupamientos A y B deben considerarse *Giardia duodenalis*, siendo especies difentes las otras *Giardia* adaptadas específicamente a otras especies de mamíferos (perro, rata y micromamíferos). En todo caso, los quistes descritos son iguales y juegan el doble papel de actuar como formas de transmisión resistentes y de reproducción ya que el quiste maduro e infectante alberga dos trofozoitos, aun dentro de la membrana citoplasmática del trofozoito materno. No se sabe con certeza si los quistes son infectantes en el momentode ser eliminados, aunque existen evidencias de que transcurren aproximadamente 7 días hasta que alcanzan la madurez (aspecto morfológico definitivo).

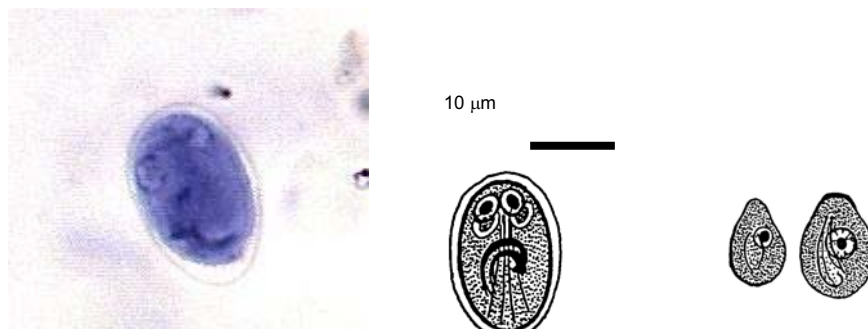


Figura 5.- A la izquierda, esquema y fotografía de quistes de *Giardia*. A la derecha esquema de los quistes de *Retortamonas* y *Chilomastix*.

En la figura 5 se esquematizan las estructuras de algunos de los quistes de este grupo de arquezoos. Los quistes de *Giardia* (dibujo esquemático y quiste teñido por Negro de Clorazol) a la izquierda de la figura, son ovoides de 6x14 µm. Presentan en su interior restos de los funículos y de los cuerpos medios, acúmulos de tubulina que se emplearán para organizar el citoesqueleto junto con el disco adhesivo ventral del trofozoito. Los quistes pueden permanecer infectantes en agua a 8°C mas de 70 días y un mes a 20°C, mientras que por encima de 37 °C sólo resisten 4 días¹². En la figura 5 se muestran también los quistes de *Retortomonas hominis* y de *Chilomastix mesnili*. De escasa patogenicidad, si es que la tiene, se encuentra con más frecuencia en heces diarreicas que en normales. En general, se consideran comensales oportunistas que refleja la higiene deficiente de las personas que los alojan, o la situación de riesgo en que se encuentran.

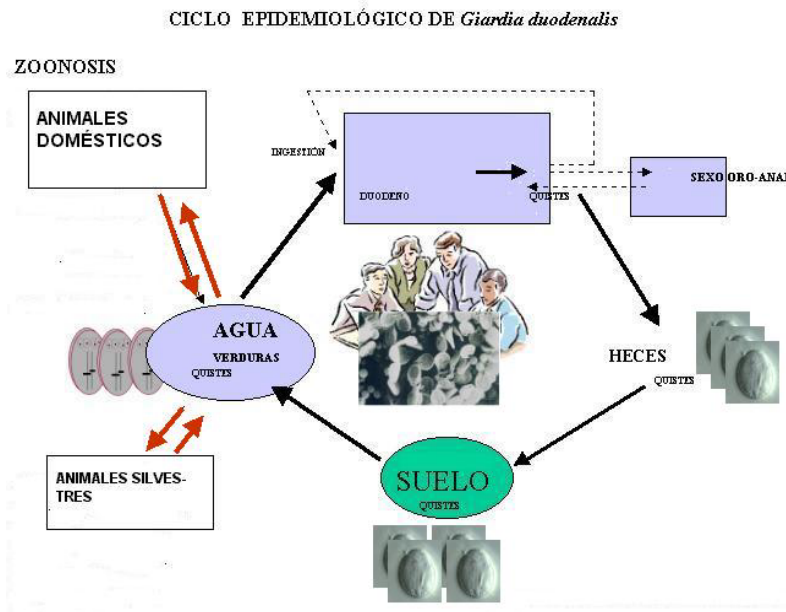


Figura 6.- Ciclo epidemiológico de *Giardia duodenalis*. El ciclo biológico es directo. Las genovariedades zoonóticas son, además del hombre, las responsables de la contaminación hídrica, fuente principal de infección humana

En la Figura 6 se esquematiza el ciclo epidemiológico de *Giardia duodenalis*. La transmisión principal es a través del agua de bebida, y no solo en el área intertropical donde afecta a unos 200 millones de personas de Asia, África y Centro y Sudamérica, con unos 500.000 nuevos casos por año¹³, sino también en los países desarrollados¹⁴, considerándose como enfermedad emergente, con brotes extensos entre personas de USA, Canadá, Escocia, Australia... El agua, de bebida particularmente, es el vehículo principal de transmisión reconocido. La giardiosis, junto con la criptosporidiosis son los dos problemas mayores de salud pública de los suministros de agua en los países desarrollados¹⁵ superando sin dificultad los sistemas de depuración. Lo que es importante bajo el punto de vista epidemiológico, es que en los conjuntos A y B de *Giardia duodenalis* hay poblaciones zoonóticas, transmisibles desde los animales al hombre y viceversa. Así, es el parásito entérico mas prevalente en perros y gatos, y lo que es más importante, los rumiantes domésticos. Un animal joven, un ternero infectado puede eliminar por día unos 10^9 quistes, mientras que para una vaca adulta la cifra aunque menor (entre $7,6 \times 10^5$ y $7,2 \times 10^8$) sigue siendo muy significativa. La práctica del regado de los prados con purines de las granjas contamina los acuíferos superficiales¹⁶. En el Reino Unido se ha estimado que con los purines, efluentes de mataderos, estiércol, etc. se extienden entre 0,12 a 2×10^5 quistes de *Giardia* por Hc y día¹⁷. *Giardia duodenalis* es el agente causal número uno de los procesos parasitarios entéricos del hombre. El 7% de las enfermedades relacionadas con el agua y los alimento, en USA, representando 2,5 millones de casos por año en el mundo, se deben a parásitos y entre ellos, 2000 000 a *Giardia*¹⁰. Es el agente parasitario más probable entre los que infectan a las personas en un país desarrollado (Tabla 4)

Tabla 4

Probabilidad	Orden	Agente parasitario causal
Alta	1	<i>Giardia duodenalis</i> , con reservorios humanos y animales
Moderada	2	<i>Cryptosporidium parvum</i> , idem
	3	Los Microsporidios, <i>Encephalitozoon</i> ,
14		

	4	<i>Enterocytozoon</i> con reservorios animales
Menor	4	<i>Toxoplasma gondii</i> , zoonosis, gatos y animales de abasto
	5	<i>Echinococcus granulosus</i> , zoonosis, perros

En algunos países desarrollados el número de admisiones hospitalarias debidas a *Giardia* rivaliza con las debidas a *Shigella*¹⁸

3.3. Las amebas

Clásicamente, bajo el término de amebas, se agrupaban aquellos protozoos capaces de emitir pseudópodos para desplazarse y alimentarse. Las amebas de interés médico, relacionadas con la transmisión hídrica pertenecen a cuatro grupos diferentes, muy alejados taxonómicamente entre sí. Por una parte *Entamoeba*, representante de un mini-reino (Parvirreino) de protozoos, con una estructura especial, un centrosoma intranuclear. Por otra las amebas oportunistas, representantes de cuatro grupos muy distanciados, las *Acantatameba* -amebas con pseudópodos como espinas- encuadrados entre los rizopodos Neosarcodinos, otro parvirreino de protozoos; *Balamuthia*, (representantes de los leptomyxidios) y *Naegleria* un género del Subreino Adyctiozoos (ameboflagelados sin aparato de Golgi).

3.3.1. *Entamoeba histolytica*

Es el agente causal de la disentería amebiana y amebosis sistémica. El vehículo de transmisión principal es el agua de bebida. No existe reservorio animal pues es el hombre el hospedador principal y el principal contaminante

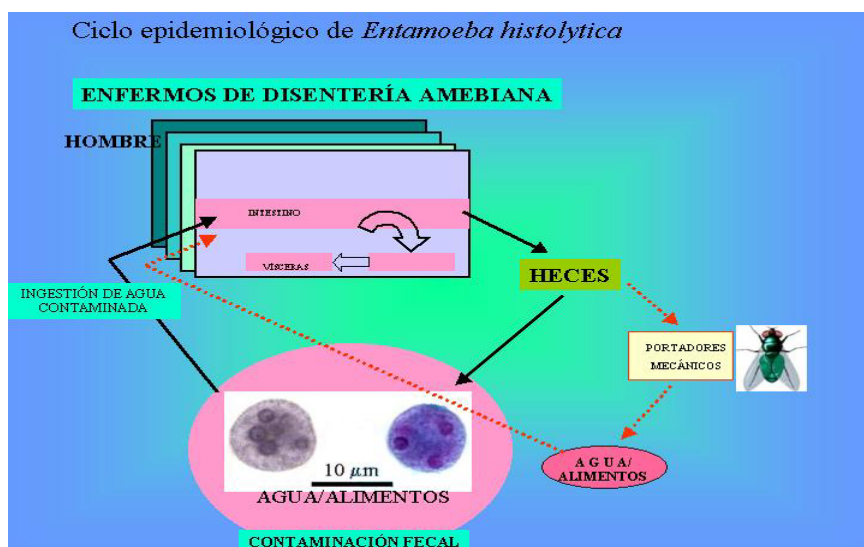


Figura 7.- Ciclo epidemiológico de *Entamoeba histolytica*. Como el hombre es el único hospedador es la contaminación fecal de origen humano, directa o a través de portadores mecánicos, de agua y alimentos, la que sostiene la infección. Sólo la genovariedad patógena de *E. histolytica* causa disentería amebiana

Aunque la resistencia de los quistes de *Entamoeba* es proverbial, comparable a las de los de *Giardia*, su carácter antroponótico hace que el control de la amebosis sea más fácil, y que aunque potencialmente el ciclo puede cerrarse en cualquier latitud, la amebosis esté ahora restringida a áreas intertropicales donde el saneamiento hídrico es más deficiente o no existe. Por otra parte la diferenciación mediante técnicas bioquímicas (isoenzimas, cultivo axénico), genómicas e inmunológicas (AcM) entre las dos especies gemelas (morfológicamente indistinguibles) *Entamoeba histolytica* y *E. dispar*, la primera siempre patógena y la segunda comensal, ha modificado la prevalencia clásica de la enfermedad parasitaria. No así el área geográfica ligada al ambiente rural, sin el adecuado tratamiento de las aguas residuales y sin agua potable doméstica.

La resistencia de los quistes de *Entamoeba* es consecuencia de la composición glicoproteica de su pared. Al menos para *E. invadens*¹⁹, un modelo experimental, la glicoproteína tiene unos 100 kDa y la proteína unos 45 kDa, esta proteína tiene dominios ricos en cistina por los que se asocia a la quitina. Hay varias diferencias con el modelo de *Giardia*. El polímero glucídico es quitina, el estímulo y mecanismo molecular de enquistamiento parece distinto y la glicoproteína durante el enquistamiento se forma en un discreto aparato de Golgi.

En la Figura 7 se resume la epidemiología de *Entamoeba histolytica*. El ciclo se sostiene en la resistencia que la pared glicoproteica confiere a los quistes. Los quistes son al mismo tiempo, el albergue de una reproducción asexual ya que el núcleo único original se divide dos veces, dando cuatro núcleos grandes, que teñidos cuentan con una morfología típica por su cariosoma (cuerpo intranuclear) central y la cromatina (los cromosomas espirilizados) formando finos gránulos uniformes bajo la membrana nuclear. Durante este proceso se consumen unas reservas proteicas que también se tiñen bien (cuerpos cromatoides bacilares) y una gran reserva glucídica, de glucógeno, llamada vacuola yodófila. Estas características morfológicas ayudan a diferenciar los quistes infectantes de *E. histolytica/E. dispar* de los de otros comensales, *E. coli* (con 8 núcleos), *Iodamoeba* uninucleados y conservando la vacuola yodófila. Desafortunadamente la morfología sólo no diferencia *E. histolytica* de *E. dispar*. La presencia de cualquiera de estos quistes mencionados, tanto sean de la especie patógena, como de las comensales, son un índice evidente de con-

taminación fecal de origen humano. Si se trata de la genovariedad patógena, la verdadera *E.histolytica*, hay o habrá de modo inmediato disentería.

3.3.2. Las llamadas amebas oportunistas están relacionadas con la contaminación de las aguas de recreo. En la figura 8 (cortesía de Carmen del Aguila de la Universidad San Pablo CEU de Madrid) se muestran unos quistes típicos de *Acanthamoeba* con el inserto de un nadador. Son conocidas también como amebas "limax" lo que se debe a la forma que tienen de desplazarse similar a los *limacos* (babosas), arrastrándose o anfizoicas por que su preadaptación al parasitismo facilita que puedan tener una doble vida, libre y parásita.

Viven en aguas frescas y naturales, en el barro y el suelo. Se han aislado de aguas embotelladas, de piscinas -resisten la cloración- alimentándose de bacterias, hongos y materias orgánicas.

Hasta mediados de los 60 del siglo inmediatamente pasado, no se descubren los primeros casos de meningoencefalitis, acuñándose el término de encefalomiелitis amebiana primaria para distinguirla de la meningoencefalitis amebiana metastática por *E.histolytica*.

Las *Acanthamoeba* son habitantes del suelo, y adoptan las formas de trofozoito amebiano o quiste. Los trofozoitos, además de un gran lóbopodo de desplazamiento tienen pseudópodos finos y puntiagudos, de aquí su nombre. Las amebas Leptomyxidias se han reconocido recientemente como patógenos, son también habitantes del suelo. La especie identificada se llamó *Balamuthia mandrillaris*. Mientras que *Acanthamoeba* parece necesitar algún tipo de deficiencia inmunitaria previa o lesión, *Balamuthia* se ha encontrado en personas aparentemente sin estos antecedentes²⁰. *Naegleria* esta presente frecuentemente en aguas estancadas y contaminadas con coliformes. Se presenta bajo tres apariencias: trofozoitos amebianos, trofozoitos flagelados y quistes. Cuando el trofozoito se pasa a agua destilada, como ocurre en la naturaleza cuando el agua de lluvia diluye el medio donde se encuentra, se transforma en un trofozoito piriforme con dos acuatros flagelos naciendo del extremo anterior. Esta es la forma infec-



Figura 8.- Quistes de *Acanthamoeba* sp. Las flechas señalan los micrópilos de la pared interna del quiste

tante. En las lesiones tisulares solo aparece la forma amebiana. Penetra vía la mucosa nasal cuando la persona nada, atravesando la placa cribosa alcanzando el cerebro. Es la causa de la meningoencefalitis amebiana primaria²¹. Siempre que surge una meningoencefalitis amebiana primaria hay una historia previa de baño en agua estancada, o de piscina inadecuadamente clorada. Incluso se la ha aislado en USA del agua corriente doméstica.²² En la Tabla 5 se resumen los datos protozoológicos y epidemiológicos de la encefalitis granulomatosa amebiana (EGA), la queratitis amebiana (QA) y la meningoencefalitis amebiana primaria (MAP)

Tabla 5.- Adaptado de A.J.Martínez et al.1997 Brain Pathology, 7:583-598

DATOS	EGA	QA	MAP
Agente etiológico	<i>Acanthamoeba spp</i> <i>Balamuthia mandrillaris</i> Trof.= 15-35 µm. Quistes de 12-30 µm con muchos micropilos	<i>Acanthamoeba castellanii</i> <i>A.polyphaga</i> <i>A.culbertsoni</i> <i>A.hatchetti</i> <i>A.rhysodes</i>	<i>Naegleria fowleri</i> Trof= 10-20 µm Quistes: 8-15 µm Pocos micropilos; no en las lesiones
Epidemiología y clínica:			
Epidemiología	Sin área definida .Universal En cualquier momento del año	Sin área definida. Universal En cualquier época del año	Universal en climas templados y tropicales Durante el verano
Factores predisponentes	Enfermedades crónicas debilitantes Hábitos deteriorantes Inmunodeficiencias; SIDA	En individuos normales Lesiones corneales Lentillas contaminadas	En individuos normales Exposición a agua o polvo contaminados
Puerta de entrada	Aerógena: pulmón Piel Epitelio neuro-olfatorio	Lesiones corneales	Epitelio neuro-olfatorio

3.4. Las formas de transmisión de los apicomplejos relacionados con la transmisión hídrica

Los quistes de los apicomplejos son auténticos huevos quísticos, de aquí la denominación de *ooquistes*. Efectivamente, los apicomplejos son un grupo de protozoos endocelulares con reproducción sexual. Taxonómicamente se les encuadra en el grupo Alveolata, con protozoos de vida libre como los dinoflagelados acuáticos o los ciliados, y grupos parásitos como algunos de los ciliados y los haplosporidios. Los dinoflagelados son otros de los grupos especialmente relacionado con la contaminación hídrica con toxinas peligrosas, almacenadas por moluscos y crustáceos. Como veremos mas adelante, también estos últimos invertebrados comestibles almacenan y contribuyen a transmitir quistes de *Giardia*, virus y ooquistes de *Cryptosporidium*, éste último es el apicomplejo de mayor interés entre los de transmisión hídrica. No podemos dedicar a los dinoflagelados mucho mas espacio que la mera mención.

Los apicomplejos se llaman así por poseer un ápice complejo, con estructuras singulares (roptrías, micronemas, anillos polares, conoide) bajo el microscopio electrónico de transmisión, empleadas para la penetración celular. El grupo principal entre los mismos son los esporozoos, es decir los que al final del ciclo forman esporas (esporocistos) con esporozoitos (formas infectantes) en el interior de los ooquistes maduros. Estructuralmente, figura 9, poseen también un tercer tipo de ADN, el del apicoplasto, un plástido sin capacidad fotosintética, procedente de un simbiote secundario, ahora reducido a una mínima expresión morfológica, pero vital para el apicomplejo. Su presencia explica la sensibilidad de los apicomplejos a moléculas

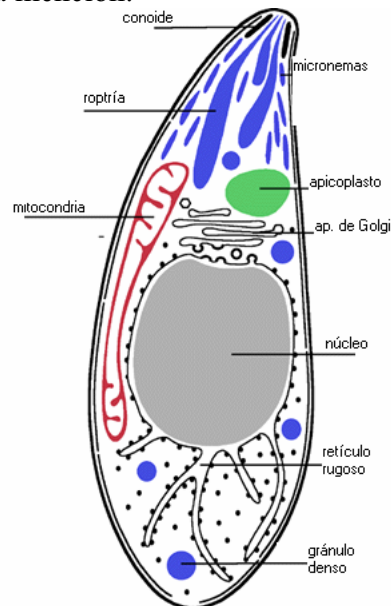


Figura 9 . Esquema de un zooito de apicomplejo, con las estructuras características el el extremo apical

similares a algunos herbicidas, así como el lugar de actuación de alguno de los fármacos descubiertos por ensayos de cribado ciego. Es una nueva diana farmacológica para la búsqueda de antipalúdicos, coccidiocidas, etc.

3.4.1. Cryptosporidium parvum.

Aunque fue descubierto y denominado en los primeros años del siglo XX (Thizer, 1912)²³, no se reconoce como un patógeno animal y humano hasta la década de los 80, coincidiendo en medicina veterinaria con los sistemas de destete precoz y alimentación láctica artificial de rumiantes (corderos, terneros) y en medicina humana cuando se reconoce como oportunista de patogenicidad resaltada en las personas con procesos que comprometen o anulan la respuesta inmunitaria.

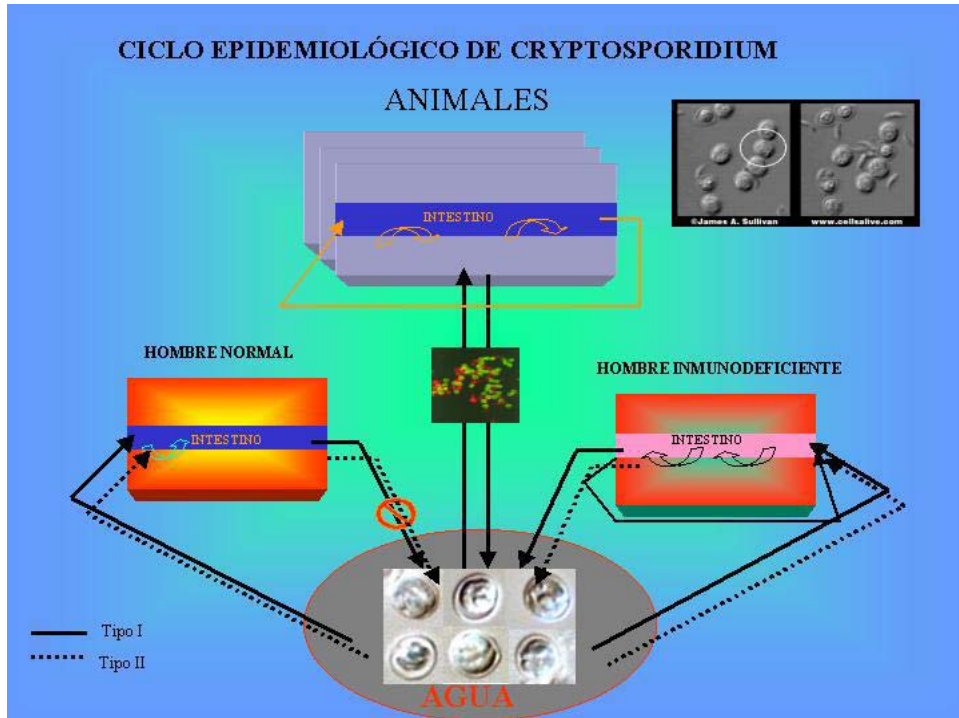


Figura 10 . Se representa el ciclo epidemiológico de *Cryptosporidium parvum*. Las genevariedad I parece netamente zoonótica (antropo y zooantroponótica). Su circulación es animal-animal, animal-hombre, hombre-hombre y vice-versa. La variedad II solo afecta al hombre y la transmisión es hombre-hombre.

Ya desde el principio se apreciaron diferencias significativas con los esporozoos (coccidios) intestinales de los vertebrados (protozoos esporozoos llamados así por formar huevos quísticos que producen en su interior esporas con esporozoitos). En los oocistes de *Cryptosporidium* no se ven las esporas, de aquí el nombre que se asignó al género. Además, cuando se estudió su ciclo, se observó que no eran netamente endocelulares como el resto de los coccidios, sino que se acoplaban al citoplasma de la célula (enterocito) parasitada mediante un orgánulo de fijación y nutrición, quedando abrazados por un par de microvellosidades, en una situación deno-

minada intracelular extracitoplasmática. También diferían de los coccidios en el número de esquizogonias (divisiones múltiples asexuales) pre-gámicas, dos cuando lo habitual es al menos tres, y en la estructura de los microgametos, sin flagelos aparentes. Por zoología comparada pensamos que eran más próximos a los gregarínidos, neogregarínidos, propios de los invertebrados, y así se ha demostrado recientemente por filogenia molecular²⁴. Otra particularidad es la capacidad de esporular en el intestino, produciendo esporozoitos capaces de iniciar nuevos ciclos de autoinfección. En el hombre y animales inmunocompetentes, la reinfección endógena y la propia infección se curan espontáneamente. Por el contrario, en los inmunosuprimidos, determinadas cepas ocasionan infecciones incontrolables.

Cryptosporidium parvum es un agente zoonótico que se ha aislado del hombre y 78 especies de otros mamíferos²¹. Morfológicamente y por biología molecular se comprueba que es diferente a *C. muris*, la otra especie de los mamíferos identificada por Thizer 1905, así como de *C. baileyi* de las aves, capaz sin embargo de infectar personas inmunosuprimidas²⁵. Dentro de *C. parvum* se reconocen dos variedades epidemiológicamente diferentes²⁶; el tipo I cuya circulación en la naturaleza se señala con rayas continuas en el esquema de epidemiología (figura 10 pág. 22) que es netamente zoonótico y por ello el que más importa en la transmisión hídrica. Dada su capacidad para infectar animales domésticos como los bóvidos y óvidos, además de los animales de compañía y roedores la presencia de ooquistes infectantes es común en aguas superficiales (ríos, arroyos, lagos) alcanzando a las personas no solo por la contaminación del agua de bebida, sino también a través de las aguas de recreo (piscinas, balnearios). Es el modelo experimental para ensayos de patogenia, terapéutica, inmunidad, etc., ya que aislado tanto del hombre como de los animales, puede infectar al ratón lactante, terneros neonatos y ratones tratados con dexametasona. El tipo II solo se ha aislado de personas, nunca hasta la fecha de animales, por lo que se piensa que no hay transmisión persona animal directa o indirecta, y solo persona a persona. No se aísla bien ni infecta a animales de experimentación. Ante este panorama²⁵ se especula con tres posibilidades: 1) que sean dos especies crípticas, con aislamiento reproductivo; 2) que sean poblaciones diferentes, con reproducción cruzada posible pero difícil por aislamiento de hospedador, lo que es muy impro-

bable; 3) que sean poblaciones clonales, conjuntos de clones, mantenidos por falta de recombinación durante la meiosis. Serían como Tibayrenc y Ayala²⁷ postulan protozoos de multiplicación clonal a pesar de su reproducción sexual. Clones con gran estabilidad y variabilidad limitada.

También parece confirmarse que dentro del rango morfológico y biológico de *C. parvum* conviven otras especies crípticas. Este es posiblemente el caso del criptosporidio del gato (*C. felis*) y el del cerdo²⁸, que no parece sean capaces de infectar al hombre

Tanto *Giardia* como *Cryptosporidium* son capaces de sobrepasar, incluso con baja turbidez del agua afluente a depurar, los filtros de barrera²⁹. Dada la enorme cantidad de ooquistes eliminados por los enfermos humanos y animales durante el periodo de patencia, la escasa capacidad de sedimentación en pantanos o depósitos y la resistencia a las condiciones ambientales, la presencia de *Cryptosporidium* es más ubicua cada día. Como quiera que también el agua bacteriológicamente aceptable, clorada, puede llevar ooquistes infectantes de *Cryptosporidium* conviene extremar el uso, en la depuración del agua de consumo, de barreras múltiples: coagulación, sedimentación y filtración. Los ooquistes de *Cryptosporidium*, como es también el caso de los ooquistes esporulados de otros coccidios, son más resistentes a las condiciones cambiantes de medio que los quistes de *Giardia*. Observando la vitalidad por la prueba de exclusión/inclusión de colorantes y la viabilidad por infección de ratón lactante, se ha visto que son capaces de pervivir en el agua más de tres

***Cryptosporidium parvum*. Sinopsis**

1. Ooquistes pequeños 4,4 a 5,5 µm de diámetro. Superan los filtros de arena (60 a 500 µm de luz)
2. Cuentan con gran resistencia, en el agua, entre -4 y 10°C, permaneciendo infectantes por más de 3 meses
3. Los animales infectados los eliminan masivamente (entre 10⁷ a 10¹⁰ ooquistes/día)
4. Hay transportadores pasivos (aves coprófagas) y especies que los almacenan (moluscos comestibles como ostras, almejas, mejillones)
5. Un gran número de hospedadores : especies numerosas para el Tipo I y muchos individuos para el tipo II.
6. Infecciosidad de bajas dosis (1-5 ooquistes en

meses entre -4 y $+4$ °C. Por encima de 25 °C mueren con rapidez.³⁰ El calor, la fermentación del estiércol y las bacterias del suelo los destruyen también. Es más peligrosa por lo tanto la dispersión de purines que el abonado con estiércol bien compostado.

Por todas estas causas, ver sinopsis adjunta, adaptada de Slifko³¹, durante los últimos años se han citado brotes en todo el primer mundo, desde Australia, pasando por Europa y los Estados Unidos y Canadá. Los numerosos brotes humanos citados entre 1984 a 1986 se recogen en el trabajo de Smith y Rose³². Como agente de salida u oportunista, se citan series de observaciones de infección en enfermos de SIDA³³ Forma parte también como agente causal de la diarrea del viajero. Aunque sólo sea como ejemplo, se menciona a continuación lo sucedido en los Estados Unidos de Norteamérica durante 1997-1998. Un total de 13 Estados denunciaron 17 brotes asociados con agua dulce, con 2.038 personas afectadas, sin muertes. Quince brotes (88.2%) se asociaron a manantiales. Treinta y dos brotes de criptosporidiosis en 18 estados se atribuyeron a aguas de recreo, afectando a unas 2.128 personas. Los brotes asociados con aguas superficiales disminuyeron como consecuencia del esfuerzo profiláctico de las industrias de suministro, después del gran brote de Milwaukee en 1994 por consumo de agua del servicio doméstico³⁴, así como por la aplicación de las nuevas normas sobre “tratamiento de aguas de superficie”. Por el contrario, aumentaron los brotes relacionados con aguas de nacientes o del subsuelo. Los brotes causados por parásitos aumentaron tanto en las aguas de superficie como de recreo. De todos los brotes que se atribuyeron a *Cryptosporidium*, el 90% ocurrieron en aguas tratadas (por ejemplo, piscinas y fuentes ornamentales), sospechándose en todo caso la posible contaminación fecal.³⁵

En España, en un estudio reciente en aguas superficiales se encontraron 5 muestras positivas a *Cryptosporidium* (en volúmenes de 50 a 200 litros) sobre ocho diferentes ríos y lagos, y en 3 sobre 9 muestras de agua del grifo (volúmenes de 400 a 1000 litros). También se encontró en una sobre dos muestras de agua marina³⁶. La contaminación por *Giardia* es mas o menos similar, lo que demuestra que también en nuestro país deben revisarse los métodos de captación y depuración del agua de bebida. Su presencia en enfermos con SIDA se ha citado en todos los hospitales del país, con cifras como del 15 %³⁷ en Madrid. Otros muchos grupos de

investigadores en hospitales y universidades se han preocupado de la criptosporidiosis en España, tanto bajo el punto de vista veterinario como humano, destacando los dirigidos por el Profesor Rojo³⁸ en León, de Ares Mazas en Santiago, de Mascaró en Granada, Bautista en Madrid y un largo etc., no se citan pormenorizadamente por no incidir de modo particular en esta revisión sobre transmisión hídrica. La importancia del problema ocasionado por *Cryptosporidium* y su transmisión hídrica está reflejado bien en datos como los suministrados por Pro-Med mail. Sólo en el último año /2000/, este servicio de la Sociedad Internacional para las Enfermedades Infecciosas, ha detectado brotes en USA (Ohio, Florida, Oregón, Texas, Illinois), Reino Unido (Inglaterra, en piscinas), Australia (Victoria y Nueva Gales del Sur, piscinas, agua de la traída), Nueva Zelanda y España, Mallorca (piscinas de un sistema hotelero), etc..

En la figura 11 se resumen las relaciones filogenéticas, la morfología esquemática de los ooquistes (sin escala de comparación), así como la imagen microscópica real de los ooquistes de los apicomplejos de transmisión hídrica. El lugar más alejado del dendrograma insertado es el que ocupada *Cryptosporidium* emparentado con los apicomplejos que parasitan a invertebrados como los anélidos y artrópodos. *Cyclospora cayentanensis*, un coccidio nuevo patógeno humano, está cerca de los coccidios de las aves, y *Cystoisospora* (sinónimo de *Isospora*) se alinea con *Toxoplasma* y *Sarcocystis*.

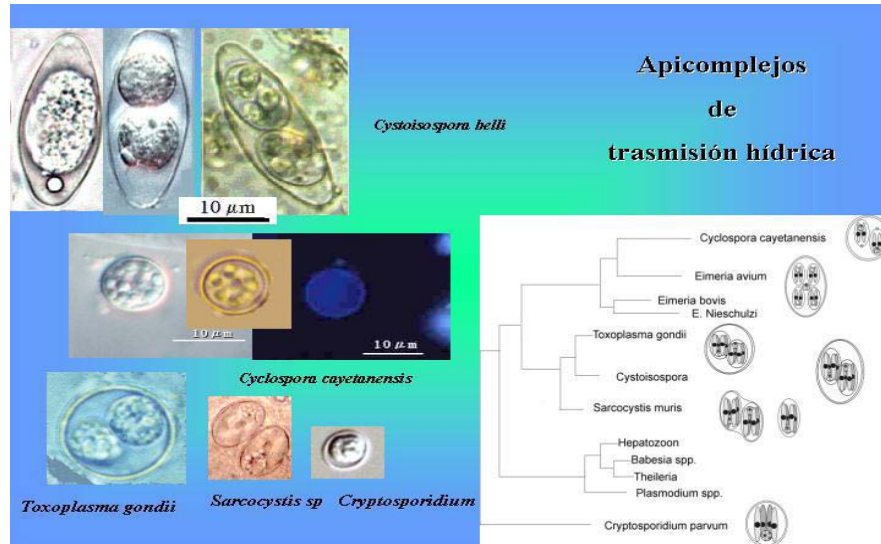


Figura 11 .- Se muestra el conjunto principal de protozoos apicomplejos de transmisión hídrica a través de los ooquistes, fotografías, así como la posible relación filogenética, y el esquema de la composición de los ooquistes

3.4.2. *Cystoisospora belli* (sinonimia : *Isospora belli*).

Es uno de los dos coccidios verdaderos que parasitan al hombre. Cuenta con ooquistes relativamente grandes, alargados, (20 a 33 x 10 a 19 µm) fusiformes que se eliminan inmaduros con las heces. Esporulan en el medio formando dos esporas con cuatro esporozoitos cada una. Es un parásito oportunista y se sospecha de su naturaleza zoonótica por dos causas, el parecido morfológico con la especie que se encuentra en el cerdo y por la existencia de fases quísticas extraintestinales, tanto en el hospedador definitivo, hombre inmunosuprimido, como en animales de experimentación. Estas fases extraintestinales son esporozoitos que escapan al epitelio intestinal y forman quistes tisulares (con esporozoitos durmientes, hipnozoitos) en ganglios linfáticos mesentéricos, hígado y tejido muscular estriado. Precisamente, con las antiguas isosporas de carnívoros y omnívoros, de ooquistes grandes, como *Isospora felis*, *Isospora canis*, etc. se

creó el nuevo género *Cystoisospora* cuando se demostró que además del ciclo directo a través de ooquistes había un ciclo indirecto con paraténicos, un ciclo típico de relación depredador/presa.

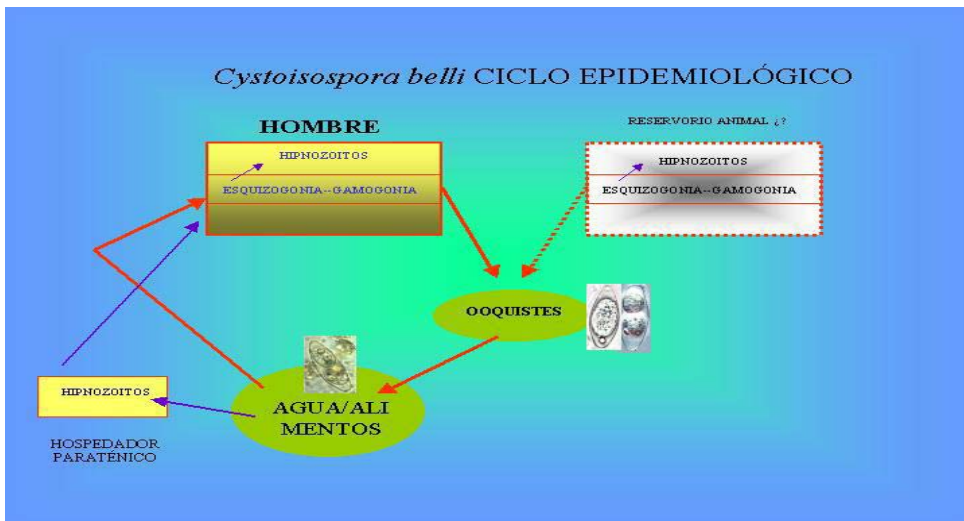


Figura 12. Ciclo epidemiológico de *Cystoisospora belli*. Se considera la posibilidad de que exista un reservorio animal y de que puedan intervenir hospedadores intermediarios paraténicos

Al comprobarse tanto experimentalmente como en enfermos de SIDA, la presencia de estos quistes de hipnozoitos se incluye la especie humana en el nuevo género.

En la figura 12 se resume la posible epidemiología de *C. belli*. Como quiera que parece ser un patógeno oportunista, no había de la especie muchos datos antes de la pandemia de SIDA. Su transmisión hídrica depende de la resistencia de los ooquistes esporulados, comprobada experimentalmente. Estudios controlados sobre la esporogonia de especies de perros, gatos y cerdos, señalan que temperaturas de 40°C la inhiben. A temperaturas entre 30°C y 37°C la esporulación de los ooquistes es rápida (alrededor de 16 h.). Esta última debe de ser la causa de su mayor frecuencia en áreas tropicales. Se la ha diagnosticado en la práctica totalidad de los centros hospitalarios de nuestro país, entre los enfermos con SIDA. No se sabe si la especie tiene un reservorio animal, como hospedador definitivo.

El cerdo cuenta con posibilidades de actuar tanto como hospedador definitivo como hospedador intermediario. No se conoce experimentalmente este ciclo epidemiológico.

3.4.3. *Cyclospora cayetanensis*-

Es el último de los coccidios identificados como parásitos del hombre como hospedador definitivo. Identificado por Ynes Ortega y colegas en 1993³⁹, y denominado en honor de la Universidad Cayetano Heredia de Lima, ocasiona procesos diarreicos autolimitantes en personas normales. En la figura 13 se resume el ciclo epidemiológico. Los ooquistes esporulados (dos esporocistos cada uno con dos esporozoitos. La infección

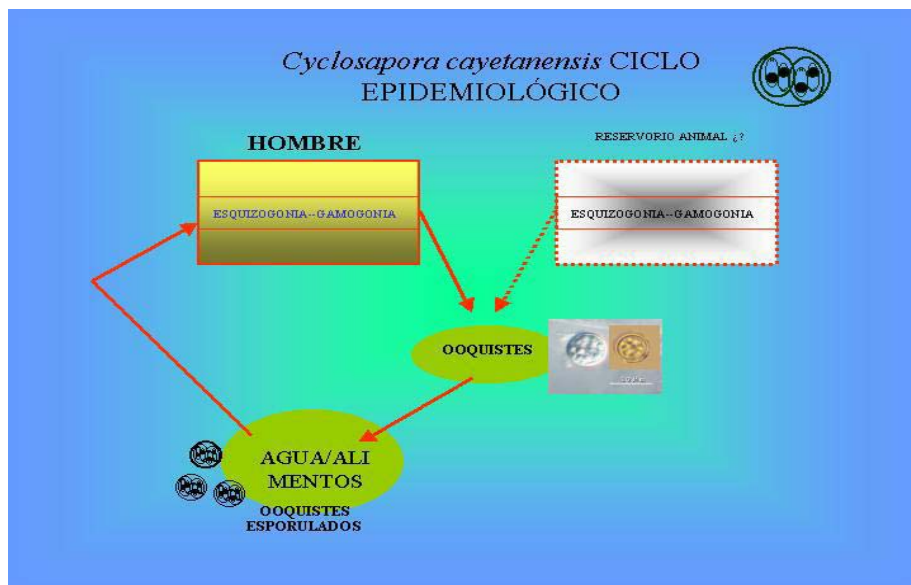


Figura 13 .- Propuesta de ciclo epidemiológico de *C.cayetanensis*. Se desconoce si hay un reservorio animal. Los ooquistes que esporulan lentamente en el agua se hacen directamente infectantes. Para el hombre

humana es frecuentemente de origen hídrico. Así ocurrió con el brote norteamericano y canadiense de 1955 atribuido al consumo de frambuesas de Guatemala que habían sido tratadas con un insecticida diluido con agua contaminada. Existen numerosas observaciones de infección por agua de bebida en Nepal, en USA, en España, adquirida en Nepal con leche no higienizada, posiblemente aguada. Hay evidencias estacionales y de otra naturaleza que relacionan la infección con agua de bebida no tratada y con el baño en lagos y ríos. La relación con el agua es tan estrecha que se busca el reservorio animal entre las aves acuáticas. Esta sospecha se refuerza con el demostrado parentesco filogénico de *C.cayetanensis* con las especies de *Eimeria* de las aves. Muy frecuentemente la infección se acompaña con otros procesos parasitarios de origen hídrico como giardiasis y criptosporidiosis.⁴⁰

3.4.4. *Toxoplasma gondii*.

La vía principal de infección del hombre, para la toxoplasmosis adquirida, es por ingestión de carne de un animal de abasto (cordero, cerdo, etc) infectado portando quistes con bradizoitos, (fase infecciosa terminal del ciclo en el hospedador intermediario) por la ingestión accidental de alimentos o agua contaminada con ooquistes de este coccidio del gato. La otra vía de infección, que explica la toxoplasmosis adquirida en los vegetarianos estrictos, es también, como en los animales de abasto, por agua o alimentos contaminados con ooquistes esporulados de *T.gondii*. En la figura 14 se resume el ciclo epidemiológico en la transmisión hídrica. Como las heces de los gatos son normalmente enterradas por el propio gato, la dispersión y contaminación del agua juegan un papel importante en la infección humana por ooquistes esporulados.

CICLO EPIDEMIOLÓGICO DE LA TOXOPLASMOSIS

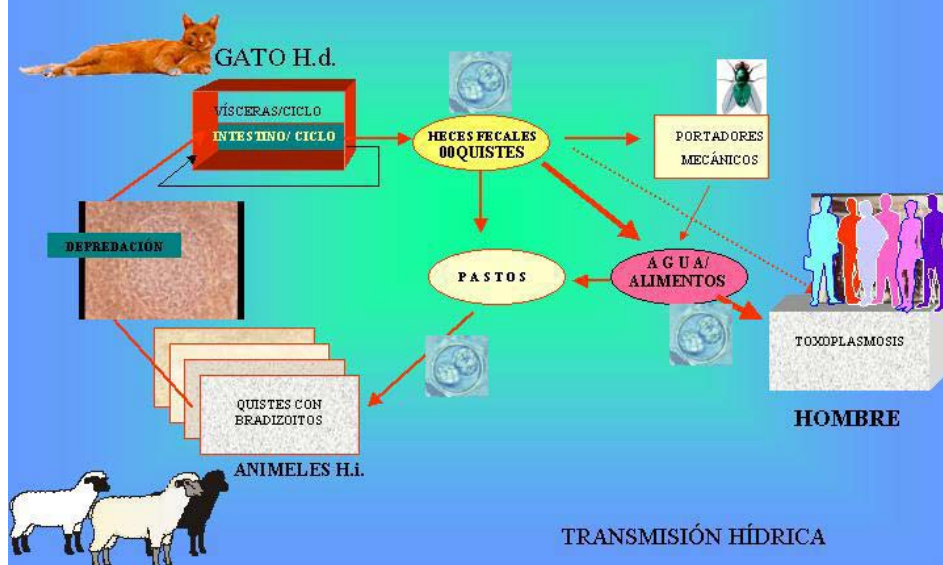


Figura 14 . El gato que es el hospedador definitivo, elimina ooquistes que esporulan en el medio. La infección, además de adquirirse por consumo de carne de un animal de abasto, se produce por el agua y alimentos contaminados con ooquistes esporulados

El agua y los alimentos contaminados intervienen en la transmisión, tanto en la infección directa, como en la indirecta a través de los hospedadores intermediarios, que si son herbívoros u omnívoros obtuvieron a su vez la infección por alimentos y agua contaminada con ooquistes. La enorme versatilidad del ciclo de *T.gondii* asegura la prevalencia extraordinaria de este protozoo. Afortunadamente, la mayoría de las cepas son poco patógenas cuando además funciona correctamente el sistema inmune

3.5. En la figura 15 se resumen los principales helmintos cuyas formas de transmisión pueden contaminar el agua de bebida. La transmisión hídrica de helmintos es propia de áreas subdesarrolladas o de lugares subendémicos para alguna de la helmintiasis zoonóticas, como es el caso de la hidatidosis por *Echinococcus multilocularis* en Centro Europa o por *E. granulosus* en los países del Sur de Europa, España y Portugal especialmente.

TRANSMISIÓN HÍDRICA

- **HELMINTOS**
 - **CESTODOS**
 - *Echinococcus granulosus*
 - *Echinococcus spp.*
 - *Taenia solium*
 - **TREMATODOS**
 - *Schistosoma spp.*
 - *Fasciola spp.*
 - **NEMATODOS**
 - *Ascaris spp.*
 - *Toxocara spp.*
 - *Trichuris trichiura*
- L-III de *Ancylostoma duodenalis*
- L-III de *Dracunculus medinensis*



Figura 15. Formas de transmisión hídrica de los mas frecuentes helmintos parásitos del hombre. Se representan una cercaria de *Schistosoma*, metacercarias de *Fasciola*, huevo normal y decorticado de *Ascaris*, huevo de *Toxocara*, de *Trichuris* y dos

Entre nosotros sigue teniendo una buena importancia la hidatidosis unilocular producida por la ingestión de agua y verduras contaminadas con los huevos embrionados de *Echinococcus granulosus*, tenia del perro. Además del contacto directo con el perro infectado, el origen de la infección es el agua a los alimentos no cocinados, directamente contaminados con heces caninas o indirectamente a través de insectos coprófagos.

En la figura 16 se representa el ciclo epidemiológico de la hidatidosis, en este contexto de la transmisión hídrica. Este ciclo se refiere especialmente a la cepa de *Echinococcus* que se desarrolla entre el perro doméstico y la oveja.

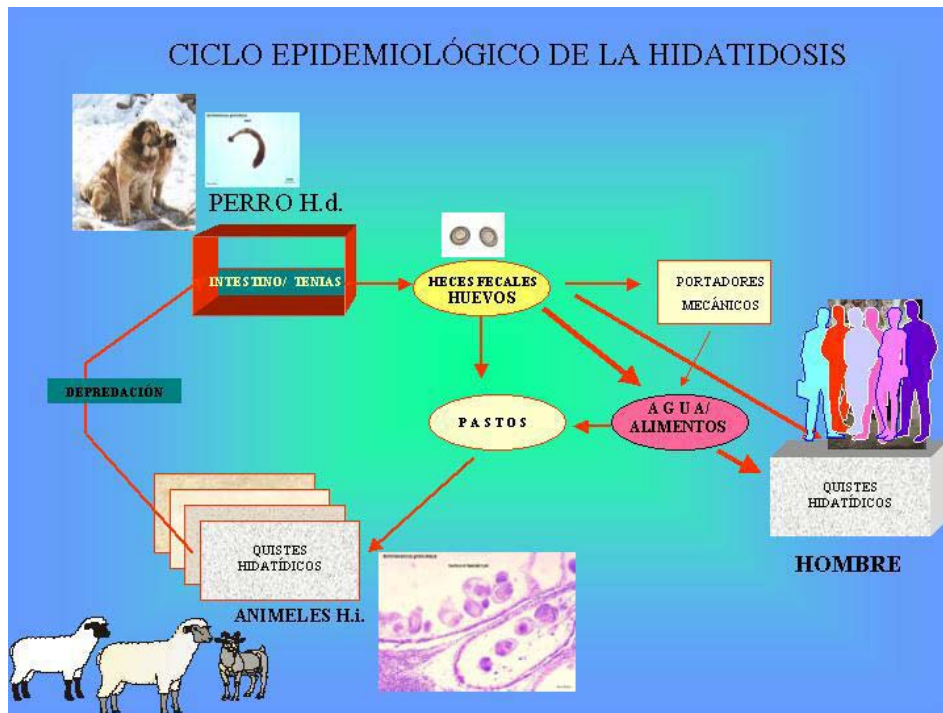


Figura 16.- Se representa el ciclo perro/oveja de *Echinococcus granulosus*. El hombre también es un hospedador intermediario para esta tenia de perro. La llegada de los huevos infectantes es también por el agua de bebida contaminada

Mientras que la hidatidosis sigue presente, la cisticercosis por *Cysticercus cellulosae* ya solo se ve en personas mayores. La disminución espectacular de la cría domiciliar de cerdos y la despoblación rural, así como la mejora de la vivienda rural, la depuración de las aguas residuales, etc. han hecho desaparecer la teniosis por *Taenia solium* y la cisticercosis concomitante.

El peligro está volviendo con la llegada abundante de emigrantes de Hispanoamérica. En muchas áreas del continente iberoamericano la teniosis es endémica. Como quiera que el hombre es hospedador definitivo del cestodo adulto e intermediario del metacestodo, el cisticercos, la

llegada de personas portadoras de *Taenia solium* puede volver a causar cisticercosis en las personas de este país. Difícilmente se dan las condiciones para el reestablecimiento del ciclo completo dado que, por encima del 80% de los cerdos producidos se crían en granjas industriales, bajo buenas condiciones de protección, nunca en contacto con las heces humanas. El ciclo es difícil que se reestablezca, la cisticercosis no.

Los huevos embrionados son resistentes y a partir de las heces humanas pueden también contaminar el agua de bebida. En nuestro país, donde el agua se maneja ahora cada vez más correctamente es difícil esta vía de transmisión. En la figura 17 se resume el ciclo epidemiológico de *Taenia solium*

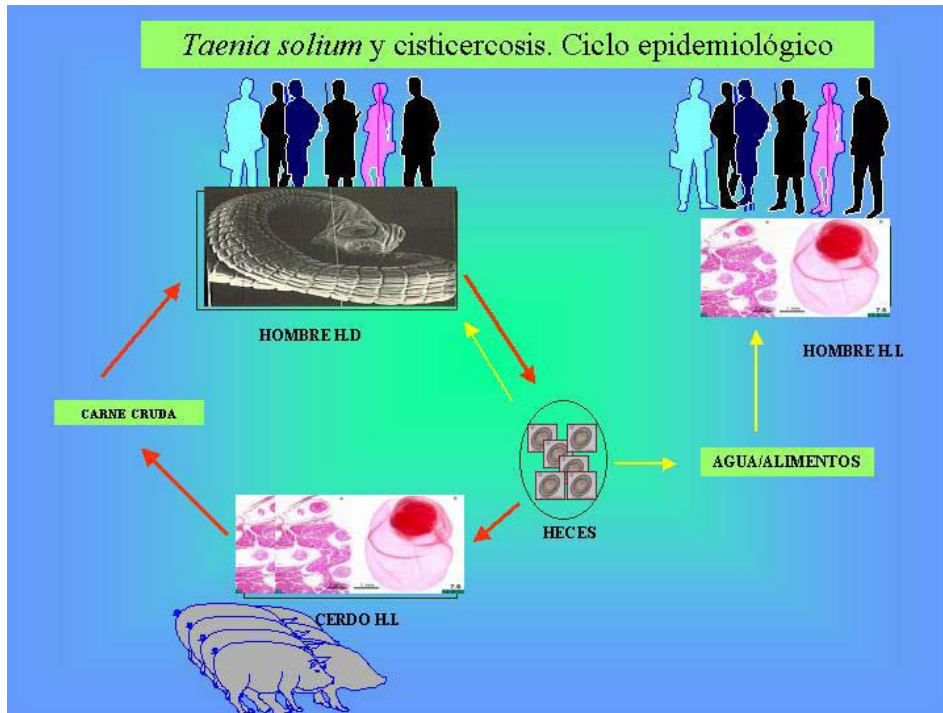


Figura 17 .- Ciclo epidemiológico de *Taenia solium* con el hombre como hospedador definitivo, portando la tenia adulta, adquirida por ingestión de cisticercos parasitando a los cerdos hospedadores intermedarios, y, con el hombre como otro hospedador intermedario mas. causando cisticercosis.

Comentarios sobre la transmisión hídrica

Los procesos parasitarios de transmisión hídrica son comunes en los países del cinturón intertropical tanto en los ambientes rurales como con mayor frecuencia en las ciudades. Cuando los parasitismos susceptibles de transmisión hídrica son endémicos en la población, las posibilidades de transmisión se realzan dado que a la contaminación habitual de origen zoonótico se une la contaminación fecal humana. En estas áreas no hay separación posible entre la transmisión hídrica y la transmisión alimentaria. Ambas están totalmente interconectadas: las aguas de estuario marinas soportan buenas cargas parasitarias, y muchas formas de transmisión como son los ooquistes y quistes de protozoos son acumulados por moluscos y peces; el consumo posterior de estos animales ocasionan brotes de parasitismo humano. Las aguas continentales (agua dulce) tienen una relación estrecha con la contaminación transportada por aves coprófagas, y todos los animales de granja, particularmente los rumiantes, en la transmisión parasitaria, pero también las aves y los cerdos, las especies más abundantes de las producciones industriales pecuarias, son responsables de acumulo de “masa de transmisión” para procesos bacterianos y especialmente víricos. El agua y los alimentos contaminados por el agua son el vehículo de la transmisión mediata de estos procesos, tanto hacia nuevos animales susceptibles, como a los humanos, susceptibles o especialmente receptivos, si es que tienen algún proceso concomitante que deteriore su capacidad de respuesta. En condiciones de integridad del sistema inmunitario (natural y adaptativo) hay también grados de susceptibilidad, importantes para la transmisión, dependiendo además del parásito que se trate. Así, cuando la respuesta útil para la rápida eliminación y curación del proceso es dependiente de linfocitos auxiliares del tipo dos (Th2), una respuesta mediada por linfocitos auxiliares del tipo uno (Th1) transforma al individuo o grupo familiar en portador, almacén de parásitos y gran contaminador; esta circunstancia acontece más con los helmintos. La susceptibilidad realzada, que es importante en la contaminación, sucede también con los animales de granja, de explotaciones industriales; es significativa la coincidencia en el tiempo, no demasiado estudiada, de procesos entéricos animales (microsporidiosis, criptospori-

diosis, giardiosis) aparecidos en asociación aparente con las técnicas de destete precoz y alimentación con leche artificial de rumiantes, con la susceptibilidad humana realzada por procesos varios de inmunosupresión y particularmente el SIDA. Esta última circunstancia no solo afecta a los habitantes de países intertropicales, mas o menos desarrollados, sino que también ha surgido con fuerza en los países desarrollados. En todo caso, para al menos protozoos zoonóticos tiende a crecer: por una parte, a consecuencia del aumento de la población humana, por otra por el necesario aumento de la producción de alimentos con granjas cada vez más numerosas y grandes, más artificiosas, obligadas por la mayor producción y rentabilidad. La población humana especialmente susceptible, deteriorada en su sistema inmunitario alcanza cifras altas, situándose en los países desarrollados entre el 15 y 20%.

En el cómputo global de la epidemiología de los procesos con transmisión hídrica se observa una cierta subestimación dada la escasa relación inmediata causa/efecto por la cronicidad de los procesos o los largos periodos de incubación. En áreas sub-endémicas para *Giardia* y *Cryptosporidium* como sucede en nuestro país, muchas infecciones de transmisión vírica pasan desapercibidas, incluso asintomáticas en personas con inmunidad íntegra, lo que no impide que estén aumentando la masa infecciosa (masa de transmisión), que así alcanza mejor al hospedador susceptible. Esto sucede especialmente con enterovirus infantiles, microsporidios, criptosporidio del genotipo II, etc. La presencia de estos agentes es ubicua y su manifestación clínica es siempre concomitante con otros procesos. Parece cierta la afirmación de que también la transmisión hídrica primaria origina otras transmisiones mediatas o inmediatas secundarias, y esto es particularmente en las relaciones entre virus y protozoos

En la figura 18 modificada de la que propone Slifko et al.2000³¹ se trata de resumir esta relación continua entre producción-contaminación-transmisión hídrica y por alimentos

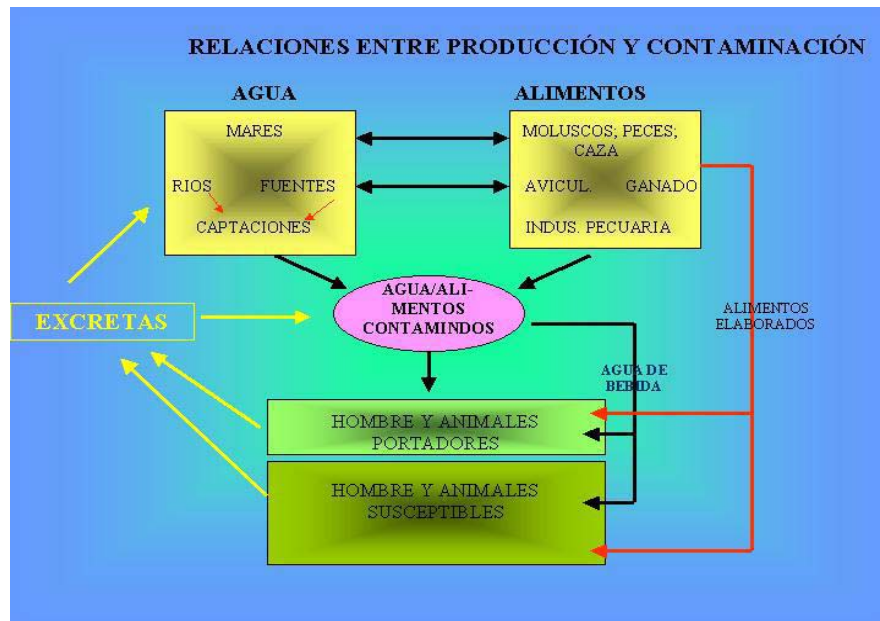


Figura 18.- Relación, véase texto, entre producción-contaminación-transmisión de agua y alimentos. Ciclo de acúmulo de masa parasitaria de transmisión.

En el desarrollo histórico de la contaminación hídrica parasitaria y en general en todo tipo de contaminación, se observa una especie de sucesión adaptativa, de doble origen, por presión selectiva contra determinados patógenos y por aumento de la susceptibilidad colectiva o individual. Así, las bacteriosis de origen hídrico han desaparecido – en las áreas desarrolladas – hasta límites anecdóticos a medida que crecieron los medios de prevención – agua potabilizada, recogida y depuración de aguas residuales, educación sanitaria generalizada. Pero han surgido sustitutos: virosis y protozoosis de origen hídrico directo o por contaminación de alimentos producidos en el agua. Al mismo tiempo se observa que existe una clara distribución geográfica, no solo en los procesos parasitarios de origen hídrico endémicos (las áreas de prevalencia de *Schistosoma* spp., de *Dracunculus medinensis*, de *Fasciola hepática*, sino también en procesos emergentes como la ciclosporiasis (América Central, Nepal, etc),

criptosporidiosis coincidiendo con grandes áreas de producción láctea (Canadá, áreas de USA y Europa).

Control y prevención

El hecho fundamental del necesario control adicional de la transmisión hídrica de procesos parasitarios, en los países desarrollados, es que el agua potable del servicio doméstico, cumpliendo bien las normas de ausencia de contaminación bacteriana de origen fecal, es responsable de un alto porcentaje (alrededor del 30%) de las gastroenteritis, en su mayoría ocasionadas por virus y protozoos⁴¹. Un ejemplo extremo, movilizador de medidas adicionales de control, fueron brotes como el de Milwaukee en 1994, con 403.000 casos de cryptosporidiosis por consumo de agua del servicio doméstico⁴². Los parásitos responsables de esta evasión de los sistemas de control son *Giardia*, *Cryptosporidium* y los microsporidios. Las aguas potables, cumpliendo las normas de las directivas europeas, pueden llevar y transmitir *Cryptosporidium*. La legislación de Gran Bretaña incluye ahora el diagnóstico preventivo de la ausencia de ooquistes, estando penada la presencia en el agua de suministro, en los proveedores privados de agua, de más de 1° ooquistes por cada 100 litros de agua⁴³.

Los Sistemas de filtración con tierra de diatomeas son eficaces para evitar el paso de los quistes de *Entamoeba histolytica* y de *Giardia duodenalis*, también pueden ser eliminados estos quistes si se realiza correctamente la coagulación antes de la filtración por arena (medio granulado)⁴⁴. Por otra parte, la resistencia a los desinfectantes de los quistes de *Giardia* y de *Entamoeba* se ha revisado a la baja recientemente. No son tan fuertes como se deducía de las técnicas in vitro de exclusión de colorantes vitales. Cuando se examina esta resistencia por técnicas de eclosión quística, ahora habituales, se demuestra que es menor⁴⁵, aunque aun estos métodos son poco compatible con el uso práctico del control⁴⁶.

El mayor problema lo sigue representando *Cryptosporidium parvum*, particularmente de la genovariedad I, zoonótica. Lo que importa es seguir buenos métodos de diagnóstico, que son para las aguas de consumo y las de recreo, similar a los métodos de diagnóstico en el laboratorio de análisis clínicos, con la salvedad de que debe ser corregido el gran volumen de

líquido a tratar. Los métodos se resumen en la siguiente sinopsis tomada en parte de Smith and Rose³⁰

Métodos de concentración:

1. Flotación en solución concentrada de CaCO_3 , = c.10L de muestra
2. Alternativamente, filtración por discos de polipropileno, de mas de 100 L
3. Idem, separación por la técnica inmunomagnética
4. Idem, separación por citometría de flujo con quimioluminiscencia
5. Idem, empleo de un AcM (monoclonal) marcado con fluoresceína. Cuenta con el inconveniente de la reacción cruzada con *Monocystis* spp y probablemente otros gregarínidos, lo que es esperable dada su parentesco, antes mencionado.

Una vez detectada la presencia de ooquistes, es preciso conocer el estado de los mismos, su vitalidad, que es como el estado de salud de los ooquistes. Se emplean colorantes vitales. En la técnica definida y completada en el Reino Unido, consideran:

1. Que son ooquistes viables los que toman el colorante DAPI (diamino-fenol-indol), excluyendo el PI (yoduro de propidio)
2. Se consideran ooquistes inviables los que toman ambos colorantes
3. Son potencialmente infectantes los ooquistes que no toman ninguno de los colorantes mencionados, pero se observa que están íntegros mediante contraste de fases o interdiferencial

Finalmente, es preciso conocer la viabilidad de los ooquistes, su capacidad de infectar. En los pertenecientes a la genovariedad I el proceso es sencillo, infección a ratones inmunosuprimidos con dexametasona o terneros recién nacidos (mas caro y mas natural también). Para la genovariedad II no hay modelo experimental que se conozca, salvo el cultivo celular.

Lo que importa es controlar al máximo posible la contaminación del agua, limitando, en las áreas de donde se va a captar agua para el consumo, que se empleen como fertilizante de los prados purines y aguas del baldeo de establos, efluentes de parques de feriales y mataderos, efluentes de salas de sacrificio y limpieza de vísceras, etc.. Evitar incrementar la contaminación con las aguas depuradas de granjas o de poblaciones rura-

les y de ciudades, considerando que la solo sedimentación o la digestión mesófila son poco útiles frente a *Cryptosporidium*, y sí sin embargo, las fermentaciones aerobias termófilas.

En la captación y purificación de las aguas, son eficaces las técnicas bien hechas de coagulación, mas sedimentación, mas filtración, eliminando el 99% de los ooquistes. También es útil la ozonización del agua y prevenir la turbidez. Las medidas de eliminación son más eficaces cuanto menor es la turbidez del agua de entrada

Los métodos descritos sirven también para *Giardia*, para ambos se están poniendo a punto técnicas aun mas sofisticadas que combinan la inmunofluorescencia indirecta y una doble reacción en cadena de la polimerasa (PCR-anidada). En los sistemas convencionales la reducción de los quistes de *Giardia* es mayor que la que se obtiene para los ooquistes de *Cryptosporidium* (reducciones de 3-log frente a 2-log)⁴⁷.

Comentario final.-

La contaminación hídrica con formas parasitarias de transmisión tiene distinto significado según las áreas geográficas. En los países intertropicales en los que en determinadas áreas unos determinados parasitismos son endémicos, el planteamiento primario debe ser reducir la prevalencia (terapéutica específica y estratégica) e implantar las medidas de control. Esto es válido también para áreas intermedias en que estos parasitismos son subendémicos. En los países mas desarrollados, el control se debe dirigir a las explotaciones animales, disminuyendo en lo posible la masa de transmisión y la contaminación del suelo y del agua, al tiempo que se modifican y optimizan los sistemas de depuración, para excluir a patógenos como los indicados

En la patología infecciosa del hombre, que también se debe a parásitos, huelga aclararlo, se ha producido una sucesión causal en el tiempo, como consecuencia de la actividad humana. Cuando se han establecido barreras sólidas que excluyen agentes infecciosos, otros nuevos, emergentes o re-emergentes vienen a sustituirlos. Así, después del éxito de la filtración, cloración y demás medidas de depuración, sobre las bacterias de transmisión hídrica, virus y protozoos, tomaron el relevo. Ambos grupos, tan distantes entre sí, obtienen provecho de su estructura, tamaño y resis-

tencia a los anti-microbianos. A este relevo contribuye la actividad humana y el cambio en la receptividad tanto del hombre como de los animales domésticos, ahora explotados de modo diferente a como se hizo en el pasado. La producción intensiva de los animales de granja: destete precoz, lactancia artificial, alimentación como monogástricos de los poligástricos, hacinamiento y estrés, lleva a condiciones extremas los sistemas orgánicos de estos animales. Por ejemplo, el sistema inmunitario. Si además las condiciones de cría favorecen los ciclos biológicos directos de los parásitos y la escasa variabilidad genética, la diversidad de la respuesta. Siendo muchos más, al aumentar continuamente el número de explotaciones y su tamaño, las posibilidades de multiplicar agentes patógenos crece extraordinariamente. Cuando estos agentes son zoonóticos, las posibilidades de la contaminación hídrica y de los alimentos humanos y consecuentemente, de las infecciones humanas, aumentan. Las prácticas agrícolas concomitantes a la ganadería industrializada, contribuyen también a este aumento de masa de transmisión. Por otra parte, un sector creciente de la población humana, con capacidad deteriorada de la respuesta inmunitaria, contribuye a aumentar también la incidencia de infecciones parasitarias como las ocasionadas por *Cryptosporidium*, *Giardia* y posiblemente, las especies de microsporidios. Este es un círculo del que es preciso salir. No se salió de la Edad Media amurallando más y mejor las ciudades, tampoco mejores sistemas de depuración son el medio que garantiza por siempre la pureza; algún día fallarán. Se tiene que salir por métodos distintos a los del control actual, por eficaz que este sea. La esperanza hay que ponerla en las múltiples aplicaciones de la biología molecular. La resistencia anti-infecciosa, tan laboriosa por selección genética, puede ahora acelerarse y hacerse realidad. Menos animales van a producir más y mejores productos alimentarios; plantas con nueva capacidad para producir proteínas de alto valor biológico, reducirán la dependencia actual del escalón animal, tan ineficaz en la transformación. Con ello, estos patógenos actuales pasaran a un plano de anécdota, es de esperar que quienes los sustituyan puedan ser también entendidos con rapidez, controlados y excluidos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Chui, D.W., R.L.Owen (1994) AIDS and the gut. *J.Gastroenterol.Hepatol.* **3**: 291-303
- 2) Martínez Fernández, A.R. (1994) Microsporidios: protistas parásitos, nuevos patógenos humanos. Monografía. Instituto de España, Real Academia de Farmacia. Madrid
- 3) Martínez Fernández, A.R. (1998). Parasitismos Emergentes. El caso de los Microsporidios. *An.R.A.Ciencias Veterinarias*, **5**:93-103
- 4) Weiss,L.M. ,C.R.Vossbrinck (1989) . Microsporidiosis:molecular and diagnostic aspects. En Baker,J.R. et al. edits. *Advances in Parasitology*, Vol.**40**:352-385. Academic Press
- 5) Bryan, R.T. (1995) Microsporidiosis as an AIDS-related opportunistic infection. *Clin.Infect.Dis.*,**21**:62-65
- 6) Sogin,M.L.,H.J.Elwood and J.H.Gunderson (1989) Evolutionary diversity of the eukaryotic small subunit rRNA genes. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* **83**:1383-1387
- 7) Eichinger,D. (2001) Encystation in parasitic protozoa.*Current Opinion in Microbiol.*,**4**:421-426
- 8) Lujan, H.D., M.R. Mowatt, T.E. Nash (1998) The molecular mechanisms of Giardia encystation. *Parasitology Today* **14**, 446-450.
- 9) Homan,W.L., F.H. vanEnckevort, F.H.Limper et al. (1992) Comparition of Giardia isolates from different laboratories by isoenzymes analysis and recombinant DNA probes. *Parasitol.Res.***78**: 316-323
- 10) Nash, T.E. (1995) Antigenic variation in Giardia lamblia, en Boothroyd, J.C. y R. Komoniek, edit. *Molecular Approaches to Parasitology* pp.31-42, Willey-Lis
- 11) Thompson,R.C.A., R.M. Hopkins, W.L.Homan (2000) Nomenclature and Genetic Grouping of Giardia Infecting Mammals. *Parasitology Today*,**16**: 210-213
- 12) Bingham, A.K., E.L.J.Jarroll, E.A.Meyer, S.Radulescu, W.Jakubowski, J.C.Hoff (1979). Induction of Giardia excystation and the effect of temperature on cyst viability as compared by eosin-exclusion and in vitro excystation. *Wa-*

- terborne.transmission.of giardiasis*. Proc.Symp. 18-20 Sept. pp. 226-229. Cincinnati.Ohio
- 13) WHO (1996) The world Health Report 1996. WHO
 - 14) CDC (1994) *Addressing emergin infectious diseases threat*. Public Health Service, Atlanta.USA
 - 15) Thurman,R., B.Faulkne, D.Veal, G.Cramer, M.Meiklejohn (1998). Water quality in rural Australia. *J.appl.Microbiol.*,**84**:627-632
 - 16) Mead,P.S.,L.Slutsker,V.Dietz et al (1999) Food-related illness and death in the US. *Emergin Infectious Diseases*,**5**: 607-625
 - 17) Hansen,J.S. and J.E.Ongerth (1991) Effect of time and watershed characteristics in the concentration of *Cryptosporidium* oocysts in the river water. *Appl.Environ.Microbiol.*,**57**: 2790-2795
 - 18) Li, E., S.L.J.Stanley (1995) Parasitic infections of the gastrointestinal tract. *Current-Opinion-in-Gasteroenterol*, 63-68.
 - 19) Jarroll,E.L.,P.T.Macechko, P.A. Steimle, D.A.Bulik, C.D.Karr, H.vanKuelen, T.A.Paget, G.Gerwig, J.Kamerlingn et al.(2001) Regulation of carbohydrate metabolism during *Giardia* encystmen.*J.Eukaryot.Microbiol.***48**:22-26
 - 20) Martinez A.J., G.S.Visvesvara. (1997) Free-living, amphizoic and opportunistic amebas. *Brain Pathol*;**7**:583-8.
 - 21) Marciano-Cabral F.(1988). Biology of *Naegleria*. *Microbiol Rev*;**52**:114-33
 - 22) Martinez AJ.(1985). Free-living amebas: natural history, prevention, diagnosis, pathology, and treatment of disease. CRC, Boca Raton (Florida)
 - 23) Tzipori,S., J.K. Griffiths (1998) Natural history and biology of *Cyptosporidium parvum*. En Baker,J.R. et al. edits. *Advances in Parasitology*, Vol.**40**:6-29. Academic Press
 - 24) Carreño,R.A.,D.S.Martín, J.R.Barta (1999) *Cryptosporidium* is more closely related to the gregarines than to coccidia as shown by phylogenetic analysis of apicomplexan parasites inferred using small-subunit ribosomal RNA gene sequences.*Parasitol.Res*, **85**:899-904

-
- 25) Ditrich, O., L. Palkovic, J. Sterba, J. Prokopic, J. Loudova, M. Giboda (1991) The first finding of *Cryptosporidium baileyi* in man. *Parasitol. Res.*, **77**: 44-7
- 26) Ewad-El-Kariem, F.M. (1999) Does *Cryptosporidium parvum* have a clonal population structure? *Parasitology Today*, **15**: 502-504
- 27) Tibayrenc, M., F.J. Ayala (1991) Towards a population genetics of microorganisms: the clonal theory of parasitic protozoa. *Parasitology Today*, **7**: 228-232
- 28) Morgan, U.M., P.T. Monis, R. Fayer, P. Deplazes, R.C.A. Thompson (1999) Phylogenetic relationships among isolates of *Cryptosporidium*: evidence for several new species. *J. Parasitol.* **85**: 1126-33
- 29) Karanis, P., D. Schoenen, H.M. Seitz, P. Dolejs, J. K. Edzwald, C.R.O. Melia, G. Oskam (1998). Distribution and removal of *Giardia* and *Cryptosporidium* in water supplies in Germany. *Water Scien. Technol.*, **37**: 9-18
- 30) Olson, M.E., J. Goh, M. Phillips, N. Guselle, T.A. McAllister (1999). *Giardia* cyst and *Cryptosporidium* oocyst survival in water, soil, and cattle feces. *J. environmental quality*, **28**: 1991-1996.
- 31) Slifko, Theresa R., H.V. Smith, J.B. Rose (2000) Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *Int. J. Parasitol.*, **30**: 1379-1393
- 32) Smith, H.V., J.B. Rose (1998) Waterborne *Cryptosporidiosis*: Current status. *Parasitology Today*, **14**: 14-22
- 33) Griffith, J.K. (1998) Human *Cryptosporidiosis*: Epidemiology, transmission, clinical disease, treatment, and diagnosis. En Baker et al. Edits. *Advances in Parasitology* vol. **40**: 37-85. Academic Press
- 34) MacKenzie, W.R., N.J. Hoxie, M.E. Proctor et al. (1994) A massive outbreak in Milwaukee of *cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *New Engl. J. Med.*, **331**: 161-167
- 35) Barwick, R. S., D. A. Levy, G. F. Craun, M. J. Beach, R. L. Calderon (2000). Surveillance for waterborne-disease outbreaks-United States, 1997-1998. *Mor Mortal. Wkly. Rep. CDC Surveill Summ.* **49**, 1-21.
- 36) Leon, R. de., J.B. Rose, A. Bosch, F. Torrella, C.P. Gerba, de Leon, R. (1993). Detection of *Giardia*, *Cryptosporidium* and enteric viruses in surface and tap water samples in Spain. *Interl. J. Envir. Health Res.*, **3**: 121-129

- 37) López-Velez,R., R.Tarazona, A.García Camacho et al. (1995) Intestinal and extraintestinal cryptosporidiosis in AIDS patients. *Europ.J.Clin.Microbiol. Infect.Dis.*,**14**:677-681
- 38) Araki,S., S.Martín-Gómez, E.Bécares, E.de Luis-Calabuig, F.Rojo Vazquez (2001) Effect of high-rate algal ponds on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl.Environ.Microbiol.***67**:3322-3324
- 39) Ortega,Y.R.,C.R.Sterling, R.H.Gilman, V.A.Cama, F.Diaz (1993) *Cyclospora* species – a new protozoan pathogen of humans.*New Engl.J. Med.*,**328**:1308-1312
- 40) Ortega,Y.R.,C.R. Sterling, R.H.Gilman (1998) *Cyclospora cayetanensis* . En Baker et al. Edits. *Advances in Parasitology* vol.**40**:399-418. Academic Press
- 41) Work Grabow (1996) Waterborne diseases: update on water quality assessment and control.*Water SA*,**22**:193-202
- 42) MacKenzie,W.R., N.J.Hoxie, M.E.Proctor et al.(1994) A massive outbreak in Milwaukeeof cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. *New Engl.J.Med.*,**331**:161-167
- 43) Barrell,R.A.E., P.R.Hunter, G.Nichols (2000) Microbiological standard for water and their relationship to health risk. *Comm.Diseases Publ.Health.*,**3**:8-13
- 44) Logsdon, G.S., J.M.Symons, R.L.Hoye, W. Jakubowski, J.C.Hoff (1979). Water filtration techniques for removal of cysts and cyst models. *Waterborne.transmission.of giardiasis*. Proc.Symp. 18-20 Sept. pp.240-256. Cincinnati.Ohio
- 45) Hoff, J. C., W.Jakubowski, J. C.Hoff (1994). Disinfection resistance of Giardia cysts: origins of current concepts and research in progress. *Waterborne.transmission.of giardiasis*. Proc.Symp. 18-20 Sept. pp.231-239. Cincinnati.Ohio
- 46) Relman, D. A., T. M.Schmidt, A.Gajadhar, M.Sogin, J.Cross, K.Yoder, O.Sethabutr, P.Echeverria (1996). Molecular phylogenetic analysis of *Cyclospora*, the human intestinal pathogen, suggests that it is closely related to *Eimeria* species. *J.Infect.Dis.* **173**: 440-5.
- 47) Mayer, C. L., C. J.Palmer (1996). Evaluation of PCR, nested PCR, and fluorescent antibodies for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* species in wastewater. *Appl.Environ.Microbiol.* **62**, 2081-2085

