COMUNICACIÓN

*Presencia de ooquistes de **Cryptosporidium** spp en aguas superficiales en Costa Rica*

SILENIA LUNA, LILIANA REYES L., MISAEL CHINCHILLA y GABRIELA CATARINELLA

PRESENCE OF *Cryptosporidium* SPP OOCYSTS IN SURFACE WATER IN COSTA RICA

*The presence of **Cryptosporidium** spp oocysts was determined in seven samples of crude surface water and seven of treated non-chlorinated water from a water plant in San José, Costa Rica. Concentration and staining techniques were used to demonstrate the presence of parasites. **Cryptosporidium** spp oocysts were found in six of seven untreated water samples (85.7%) and in four of the seven treated non-chlorinated samples (57%). The role of water as a transmission vehicle for this parasite in Costa Rica is discussed.*

Key words: *Protozoa, Epidemiology, **Cryptosporidium**, Costa Rica.*

INTRODUCCIÓN

Cryptosporidium spp son coccidios parásitos que infectan tanto seres humanos como animales y son transmitidos por ooquistes resistentes a las condiciones ambientales¹. De las especies conocidas solamente *C. parvum* parece estar asociada con infección humana¹. Este organismo presenta distribución mundial² y su transmisión ha sido relacionada a la ingestión de aguas contaminadas con materia fecal^{3,4}, a la ingestión de alimentos contaminados⁵ y a la transmisión persona a persona⁶. Por métodos fenotípicos y genotípicos se ha demostrado la presencia de dos tipos de *C. parvum*: el genotipo 1 ocurre exclusivamente en personas natural-

mente infectadas y el genotipo 2 presente en ganado vacuno y también en personas y por lo tanto responsable de la transmisión zoonótica de la enfermedad^{7,8}. La contaminación de aguas de consumo con material fecal de ganado vacuno así como con aguas negras o material fecal humana se han asociado con brotes de diarrea causada por este protozoario^{9,10}. Es importante además el considerar que los métodos usuales de tratamiento de aguas de consumo, incluida la desinfección química o los métodos de filtración, no son eficientes en la remoción de los ooquistes de este protozoario^{11,12}. Por ser *Cryptosporidium* una causa de diarrea infantil en Costa Rica¹³ se consideró importante estudiar la presencia de este parásito en aguas

* Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados, Costa Rica.

Correspondencia: Dr. Misael Chinchilla, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

superficiales en nuestro país.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se colectaron un total de 14 muestras de agua; 7 de agua cruda a su momento de entrada a la planta de tratamiento y 7 de agua tratada por filtración floculación y sedimentación pero antes de su cloración. La planta de tratamiento estudiada pertenece al Instituto Nacional de Acueductos y Alcantarillados de Costa Rica, recibe agua de los ríos Virilla y Coronado los cuales fluyen por fincas ganaderas y lecheras y también por zonas altamente pobladas antes de ingresar al tratamiento. Se filtraron muestras de agua de aproximadamente 400 litros cada una utilizando filtros de polipropileno, con un poro de 1 µm (Balstron Company, LTD Maindstone, Inglaterra Code 100-12-C)¹⁴, colocados en un soporte para filtros con una llave de entrada y una de salida para la toma de la muestra. Se colocó además un medidor de agua para estimar el volumen filtrado. El muestreo se realizó entre julio de 1997 y Febrero 1998, incluyendo muestras en la estación seca y la lluviosa.

Aislamiento e identificación de los ooquistes: la matriz del filtro se cortó con una tijera, se separó en tiras de aproximadamente 2-5 x 2cm y posteriormente se eluyó con 4 litros de agua destilada al 0,1% de Tween 80. La suspensión resultante se centrifugó y el sedimento se resuspendió en una gradiente de sucrosa (1,18 sp. gr.)¹⁴ en la que los ooquistes flotan. La capa superficial fue colectada y lavada va-

rias veces con agua destilada, el último sedimento fue utilizado para realizar extensiones y tinción de Koster modificada¹⁵.

Para la identificación de los ooquistes se utilizaron los siguientes criterios: tamaño (4-6 µm), morfología, dobleces en la pared del ooquiste y presencia de cuatro esporozoitos⁹.

Además, para determinar la calidad del agua, una porción de ella fue utilizada para la determinación de coliformes fecales y totales expresados como número más probable (NMP)¹⁶.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Seis de las siete muestras de agua cruda (85,7%) y cuatro de las siete de agua tratada (57%) presentaron ooquistes. Cinco muestras fueron positivas durante la estación lluviosa y cinco durante la estación seca. Los números de coliformes totales fueron elevados en las aguas crudas, de 15.000-110.000 NMP/100 ml (promedio 83.000 NMP/ 100 ml). Los coliformes fecales fueron también elevados, 2.400 a 110.000 NMP/100 ml (promedio 31.776 NMP/100 ml). Las aguas post- tratamiento presentaron niveles bajos de coliformes totales (negativas o 9,1-210 NMP/100 ml) y también presentaron niveles bajos de coliformes fecales (negativas o 7,3-9,1 NMP/100 ml) (Tabla 1). Como se mencionó con anterioridad las muestras de agua tratada fueron tomadas antes del proceso de cloración lo que explica las bajas concentraciones de coliformes tanto totales como fecales. En Costa Rica la criptosporidiosis ha sido informada tanto en la estación lluviosa como en

Tabla 1. Control microbiológico de planta de tratamiento durante el periodo de estudio.

Mes	Agua cruda		Agua tratada**	
	Coliformes totales*	Coliformes fecales*	Coliformes totales*	Coliformes fecales*
Julio	110.000	4.300	43	7,3
Agosto	15.000	2.400	210	9,1
Setiembre	110.000	110.000	9,1	Negativa
Octubre	46.000	3.900	Negativa	Negativa
Noviembre	110.000	24.000	Negativa	Negativa
Diciembre	110.000	46.000	23	Negativa

* NMP/100 ml

** Filtrado previa cloración

la seca con un máximo durante la estación lluviosa (mayo a noviembre)¹³. Igualmente ooquistes de *Cryptosporidium* spp han sido aislados de muestras de vegetales frescos en nuestro país en la estación seca y en la lluviosa¹⁷.

En este estudio se demuestra la presencia de ooquistes independientemente de las limitaciones propias de los procedimientos utilizados; al respecto, se indica que los métodos de aislamiento presentan una baja tasa de recuperación y detección, ya que hasta un 85% de los ooquistes son retenidos dentro del filtro⁹. Sin embargo, el procesamiento y la clarificación resultan en una pérdida del 90% de los mismos.

En conclusión, se informa que la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* en aguas superficiales es independiente de la estación del año. Además, como se ha demostrado en otros países^{9,18}, los métodos usuales de tratamiento de agua no son completamente eficientes en la remoción de los ooquistes. Se establece la posibilidad de transmisión de esta parasitosis por la ingestión de agua en nuestro país.

RESUMEN

Se determinó la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en aguas superficiales en una planta de tratamiento en San José Costa Rica. Se analizaron siete muestras de aguas pre-tratadas y siete de aguas tratadas no cloradas. Se utilizaron técnicas de concentración y tinción para demostrar la presencia de los ooquistes. Seis de las siete muestras de agua pre-tratadas y cuatro de las siete de agua tratadas fueron positivas por ooquistes de *Cryptosporidium*. Se discute el papel del agua como fuente de infección en Costa Rica.

REFERENCIAS

- 1.- TZIPORI S, GRIFFITHS J. Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*. Adv Parasitol 1998; 40: 5-35.
- 2.- CURRENT W L, GARCIA L S. *Cryptosporidiosis*. Clin Microbiol Rev 1991; 4: 325-58.
- 3.- ONGERTH J E, STIBBS H H. Identification of *Cryptosporidium* oocysts in river water. Appl Environ Microbiol 1987; 53: 672-6.
- 4.- MAC KENZIE W R et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. N Engl J Med 1994; 331: 161-7.
- 5.- ROSE J B, SLIFKO T R. *Giardia*, *Cryptosporidium*, and *Cyclospora* and their impact on foods: a review. J Food Prot 62: 1059-070.
- 6.- TANGERMANN R H, GORDON S, WISNER P, KRECKMAN L. An outbreak of *cryptosporidiosis* in a day-care center in Georgia. Am J Epidemiol 1991; 133: 471-6.
- 7.- MCLAUGHLIN J, AMAR C, PEDRAZA-DIAZ S, NICHOLS G L. Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom: results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1.705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. J Clin Microbiol 2000; 38: 3984-90.
- 8.- CORINNE S L et al. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis outbreaks and transmission in British Columbia, Canada. Am J Trop Med Hyg 1999; 61: 63-9.
- 9.- SMITH H V, ROSE B. Waterborne cryptosporidiosis. Parasitol Today 1999; 6: 8-12.
- 10.- LEVY D A et al. Surveillance for waterborne diseases outbreaks United States, 1995-1996. Mor. Mortal. Wkly. Rep 1998; 47: 1-34.
- 11.- WIDMER G, CARRAWAY M, TZIPORI S. Waterborne *Cryptosporidium*: a perspective from the USA. Parasitol Today 1996; 12: 286-90.
- 12.- GUERRANT R L. Cryptosporidiosis: an emerging, highly infectious threat. Emerg Infect Dis 1997; 3: 1-30.
- 13.- MATA L. *Cryptosporidium* and other protozoa in diarrheal disease in less developed countries. Ped Infect Dis 1986; 5: s117-s30.
- 14.- SMITH H V. Intestinal protozoa. En. Medical Parasitology a practical approach. In: S H Gillespie y P M Hawkey (eds). Oxford University Press, London, U.K., 1995. p 102-10.
- 15.- KAGEMURA P, BRANDT J, TAELEMAN H, JONAS C. Modified staining method for the diagnosis of cryptosporidiosis. Ann Soc Belge Med Trop 1984; 64: 171-5.
- 16.- ANONYMOUS. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 18th Edition. APHA Washington D.C. 1992.
- 17.- MONGE R, CHINCHILLA M. Presence of *Cryptosporidium* oocysts in fresh vegetables. J Food Prot 1996; 59: 202-3.
- 18.- PERZ J F, ENNEVER F K, LE BLANCQ S M. *Cryptosporidium* in tap water. Comparison of predicted risks with observed levels of disease. Am J Epidemiol 1998; 147: 289- 301.