

**EL AGUA DEL MUNICIPIO DE FACATATIVA COMO VECTOR DE TRANSMISIÓN DE**

**ROTAVIRUS GRUPO A**

**Paola Carolina Alzate Calderón  
Jhon Alexander Hernández Cifuentes**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL  
Bogotá D.C. Agosto 13 de 2007**

**EL AGUA DEL MUNICIPIO DE FACATATIVA COMO VECTOR DE TRANSMISIÓN DE  
ROTAVIRUS GRUPO A**

**Paola Carolina Alzate Calderón  
Jhon Alexander Hernández Cifuentes**

**TRABAJO DE GRADO  
Presentado como requisito parcial  
para optar al título de**

**Microbiólogo(a) Industrial**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL  
Bogotá D.C. Agosto 13 de 2007**

### **Nota de Advertencia**

Artículo 23 de la resolución N° 13 de Julio de 1946

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Sólo velará por que no se publique nada contrario al dogma y la moral católica y porque la tesis no contenga ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

**EL AGUA DEL MUNICIPIO DE FACATATIVA COMO VECTOR DE TRANSMISIÓN DE  
ROTAVIRUS GRUPO A**

**Paola Carolina Alzate Calderón  
Jhon Alexander Hernández Cifuentes**

**APROBADO**

---

**Maria Fernanda Gutiérrez Phd.**

**Director**

---

**Adriana Matiz Villamil Msc.**

**Jurado**

---

**Janeth Arias Msc.**

**Jurado**

**EL AGUA DEL MUNICIPIO DE FACATATIVA COMO VECTOR DE TRANSMISIÓN DE  
ROTAVIRUS GRUPO A**

**Paola Carolina Alzate Calderón  
Jhon Alexander Hernández Cifuentes**

**APROBADO**

---

**Angela Umaña M.Phil  
Decana Académica**

---

**David Gómez Msc.  
Director Carreras Microbiología**

## ***Dedicatoria***

*A nuestros padres por su confianza, apoyo y cariño incondicional, a nuestros hermanos por estar ahí siempre, los amamos con todo el corazón. A todos nuestros amigos y familia.  
Gracias.*

## **Agradecimientos**

A la Pontificia Universidad Javeriana por ser parte de nuestra formación integral; a la Dra. Maria Fernanda Gutiérrez por su ayuda en el desarrollo de este trabajo, al laboratorio de Virología, a Mónica Alvarado por su valiosa colaboración; en general a todas las personas que hicieron posible el desarrollo de este estudio, mil gracias por su tiempo y apoyo.

<b>TABLA DE CONTENIDOS</b>	<b>Pág.</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>11</b>
<b>2. Marco teórico</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Rotavirus (RV)</b>	<b>12</b>
<b>2.1.1 Generalidades de los Rotavirus</b>	<b>12</b>
<b>2.1.2. Patogenia y cuadro clínico.</b>	<b>13</b>
<b>2.2. Ocurrencia de Rotavirus.</b>	<b>15</b>
<b>2.3. Brotes ocasionados por virus transmitidos por el agua</b>	<b>17</b>
<b>2.4. Calidad microbiológica del agua.</b>	<b>19</b>
<b>2.5. Contaminación microbiológica del agua.</b>	<b>21</b>
<b>2.6. Importancia de la potabilización del agua</b>	<b>22</b>
<b>2.7. Generalidades del municipio de Facatativa</b>	<b>24</b>
<b>2.8. Impacto social</b>	<b>25</b>
<b>2.9. Técnicas de concentración de virus a partir de muestras de agua.</b>	<b>26</b>
<b>2.10.1 Ultrafiltración</b>	<b>29</b>
<b>2.11. Técnicas de detección viral en agua</b>	<b>30</b>
<b>2.11.1. PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)</b>	<b>30</b>
<b>2.11.2. ELISA (Enzyme linked immuno sorbent assay).</b>	<b>31</b>
<b>3. Justificación de la investigación</b>	<b>32</b>
<b>4. OBJETIVOS</b>	<b>32</b>
<b>4.1. Objetivo general</b>	<b>32</b>
<b>4.2. Objetivos específicos</b>	<b>32</b>
<b>5. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>32</b>
<b>5.1. Selección de los puntos de muestreo</b>	<b>32</b>
<b>5.2. Muestreo</b>	<b>33</b>
<b>5.3. Manejo y traslado de las muestras</b>	<b>33</b>
<b>5.3.1 Filtración</b>	<b>34</b>
<b>5.3.2 Ultrafiltración de las muestras</b>	<b>34</b>
<b>5.3.3 Almacenamiento de las muestras</b>	<b>34</b>
<b>5.3.4 Técnica de Elisa para Rotavirus Grupo A</b>	<b>34</b>
<b>6. Resultados y discusión de resultados.</b>	<b>35</b>
<b>7. Conclusiones</b>	<b>39</b>
<b>8. Recomendaciones</b>	<b>39</b>
<b>9. Referencias</b>	<b>40</b>



## **RESUMEN**

En los últimos años las enfermedades de transmisión hídrica han cobrado gran importancia a nivel mundial debido al aumento de los consumidores que se han visto afectados por diferentes fuentes de agua contaminada. El agua al ser un elemento fundamental para muchos procesos vitales requiere de un alto grado de pureza, la cuál radica en la ausencia de microorganismos patógenos causantes de enfermedades infecciosas como la gastroenteritis. Dentro de los agentes microbianos causantes de estas enfermedades se encuentran los virus, que comparados con las bacterias presentan una mayor incidencia. Se sabe que el Rotavirus es el principal agente etiológico causante de diarrea en la población infantil. En estudios realizados en los años 2000 y 2002 en el agua del municipio de Facatativa, se ha demostrado la presencia de Rotavirus contribuyendo con el aumento de las infecciones gastrointestinales en esta población. Mediante el presente estudio, se pretendió determinar si el agua del municipio continuaba siendo un vector de transmisión de este virus. Para probar este objetivo, se recolectó un total de 500L, provenientes de tres puntos del acueducto del municipio: antes de la entrada a la planta de potabilización, durante el proceso de potabilización y un punto al cual es surtida el agua luego de ser tratada. Luego se realizó una concentración de las partículas virales mediante la técnica de Ultrafiltración a partir de las muestras tomadas. Se realizó la detección de Rotavirus grupo A mediante la técnica de ELISA. Finalmente, se obtuvo como resultado la no detección de estas partículas virales durante el periodo del año en el que se realizó el muestreo.

## **ABSTRACT**

In the last years hydric transmission diseases, have received great importance at world-wide level due to the increase of the consumers who have been themselves affected by different contaminated water sources. The water being a fundamental element for many vital processes requires of a high degree of purity, which is based in the absence of pathogenic microorganisms causes of infectious diseases like the gastroenteritis. Within the microbial agents causes of these diseases are the virus, that compared with the bacteria they present a greater incidence. One knows that the Rotavirus is the main etiologic agent cause of diarrhea in the infantile population. In studies made in 2000 and 2002 in the water of the municipality of Facatativá, the presence of Rotavirus has been demonstrated contributing with the increase of the gastrointestinal infections in this population. By means of the present study, it was tried to determine if the water of the municipality continued being a vector of

transmission of this virus. In order to prove this objective, a total of 500L, originating of three points of the aqueduct of the municipality was collected: before the entrance to the purification plant, during the process of purification and a point to which the water after being treated is provided. Soon a concentration of viral particles by means of the technique of Ultrafiltration from the taken samples was made. The detection of Rotavirus group A was made by means of the ELISA technique. Finally, the no detection of these viral particles was obtained like result during the period of the year in which the sampling was made.

## 1. Introducción

Las afecciones que se propagan por el agua se conocen como "enfermedades de transmisión hídrica". Sus agentes causales pueden ser biológicos, químicos. Las enfermedades que provocan los agentes biológicos casi siempre son contagiosas. A causa de las enfermedades de origen hídrico y el interés por controlarlas, los estudios microbiológicos del agua se han orientado en su mayor parte hacia los aspectos sanitarios. Uno de los criterios utilizados para determinar la calidad sanitaria del agua es la clase y número de microorganismos que se encuentran presentes (OMS, 1995). La falta de higiene, la carencia y/o el mal funcionamiento de los servicios sanitarios, son algunas de las razones por las que la gastroenteritis continúa representando un importante problema de salud en los países en desarrollo. Los procedimientos sanitarios pueden aplicarse bien para evitar la contaminación del agua o para destruir al patógeno que ya se encuentra presente en ella. Los programas de potabilización de agua han sido responsables de la disminución de las infecciones transmitidas por agua a pesar de que este tratamiento no es eficaz contra todos los patógenos (OMS, 1995) entre éstos los virus entéricos, que comúnmente contaminan el agua subterránea debido a la descarga de aguas contaminadas. Dependiendo de factores tales como la temperatura, precipitación, estructura del suelo, pH, concentración catiónica, los virus pueden moverse considerablemente en el ambiente y persistir por varios meses cuando las temperaturas son bajas y el suelo es húmedo (Borchardt, M. et al. 2004).

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Rotavirus (RV)

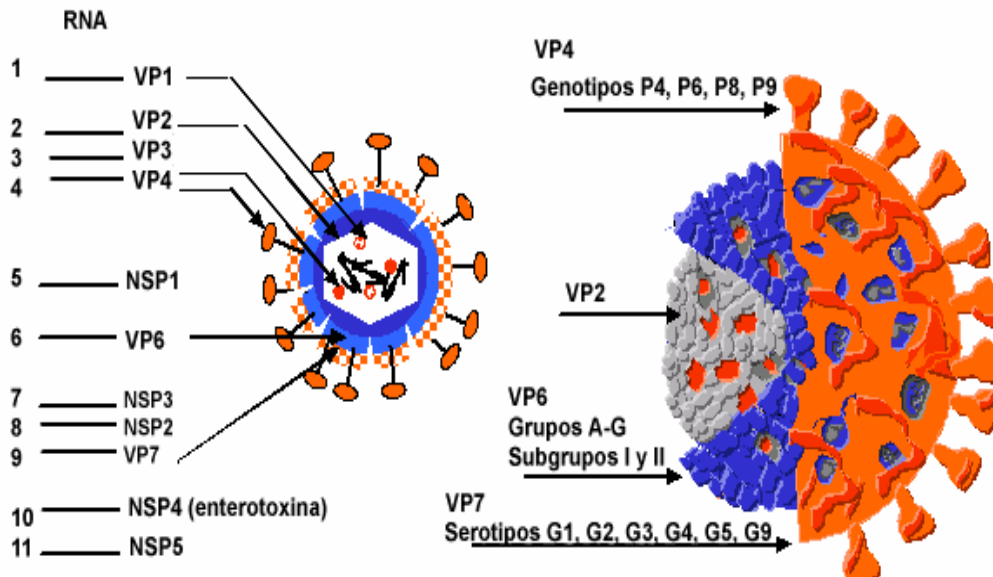
#### 2.1.1 Generalidades de los Rotavirus

Los Rotavirus (RV) pertenecen a la familia *Reoviridae* y causan infecciones intestinales en varias especies (hombre, simios, equinos, porcinos, caninos, bovinos, ovinos y aves). Las infecciones en humanos por RV tienen una distribución mundial, siendo estos los causantes del 50-60% de las gastroenteritis agudas en niños hospitalizados en el mundo, lo que lo sitúa como el agente más importante de gastroenteritis en niños pequeños. Los Rv se propagan vía fecal-oral, a través de vía respiratoria o por contacto persona a persona (*Gray and Desselber. 2000, Fischer, 2002*).

La partícula es de simetría icosaédrica con un tamaño de 75nm. El genoma está compuesto por una doble cadena de RNA (dsRNA) dividida en 11 segmentos, con extremos 5' y 3' conservados. Estos segmentos tienen un tamaño entre 667 bp (segmento 11) y 3302 bp (segmento 1). El tamaño total es de aproximadamente 18.555 bp (varía según los cambios transcripcionales) y tiene un peso de 6120 kDa (*Bluff et al., 2003*).

Casi todos los segmentos son monocistrónicos a excepción de los segmentos 9 y 11 (*Gray and Desselberg, 2000*). Los RV poseen 6 proteínas estructurales (VPs: VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 y VP7) y 5 proteínas no estructurales (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 y NSP5). Las más importantes que forman parte de la estructura viral son la VP4, VP6 y VP7 por estar asociadas a la estructura antigénica de estos virus. La VP6 contiene los determinantes de la especificidad del grupo (A hasta el G) y subgrupo (SG-1 y SG-2), la VP7 es una glicoproteína que contribuye con la especificidad del huésped (*Nuseti et al., 2001*).

El RV consta de tres (3) cápsides. La Interna esta formada por las proteínas VP2, VP1 (la RNA polimerasa dependiente de RNA) y VP3 (guanilil transferasa y metilasa). La cápside intermedia esta formada por 260 trímeros de la proteína VP6 y la Cápside externa esta formada por 260 trímeros de la VP7 y 60 dímeros de VP4 (*Gray and Desselber, 2000; Caballero et al., 2004*). La proteína VP2 tiene como función el andamiaje para la cápside interna (*Gray and Desselber. 2000*).



**Figura No 1.** Esquema de la estructura del Rotavirus. *Fuente: Villena 2001.*

### 2.1.2. Patogenia y Cuadro Clínico.

Los rotavirus tienen la capacidad de adherirse al revestimiento epitelial del tracto gastrointestinal. Su principal sitio de replicación del Rotavirus son los enterocitos maduros sobre las vellosidades del intestino delgado, pero también se disemina hasta el íleo. Las lesiones en la mucosa se producen como resultado de la destrucción selectiva de las puntas de las vellosidades del intestino (*OPS, 2007*).

En las personas infectadas con RV, se observa una vacuolización de los enterocitos, una distensión tanto del retículo endoplásmico como de las mitocondrias, causando un borramiento de las microvellosidades. Hay alteración funcional y luego destrucción celular con reemplazo acelerado de células epiteliales de absorción por células secretoras de las criptas vellosas. También se observa una interferencia en la absorción de agua, sales y glucosa y niveles reducidos de enzimas digestivas lumenares, todo lo cual se mantiene con la diarrea. No se observan cambios inflamatorios ni invasión viral subepitelial. La producción de antígenos virales tiene su máxima expresión a las 48-72 horas post-infección y la morfología celular intestinal retorna a la normalidad en aproximadamente 7 días (*Gratacap- Cavallier, B. et al. 2000*).

Existen evidencias de un mecanismo de inducción de la diarrea por la actuación de una glicoproteína no estructural del RV (NSP4) como una enterotoxina viral. Esta glicoproteína conduce a elevaciones de niveles de calcio e induce una diarrea secretora, de manera semejante a las infecciones intestinales bacterianas, como Shigelosis y Cólera (*OPS, 2007*)

En la cumbre de la enfermedad, más de  $10^{11}$  partículas de virus/g se han encontrado en muestras fecales, contaminando las células susceptibles en un periodo muy corto. La necrosis de las vellosidades apicales reduce la digestión, causando diarrea primero por la mala absorción y segundo por la atrofia de las células (*Gray and Desselberg. 2000*).

Las infecciones originadas por RV no están limitadas al intestino; algunos reportes de RV en líquido cefalorraquídeo y en muestras de sangre de niños infectados sugieren la posibilidad de que los RV pueden escapar del intestino hacia el sistema circulatorio produciendo una antigenemia y una viremia. Este descubrimiento fue importante para el entendimiento de la patogénesis, inmunología y las manifestaciones clínicas de la infección. La deshidratación debida a la inducción de diarrea y vómito trae como consecuencia una alta mortalidad y carga económica en países en desarrollo (*Bluff et al., 2003*).

Las infecciones clínicas se manifiestan por deposiciones líquidas abundantes, vómitos y fiebre en la mitad de los casos. La vía de transmisión más importante es la fecal-oral, pero también se transmiten los virus por medio del agua y de alimentos contaminados. La presentación en forma de brotes epidémicos está demostrada en instituciones cerradas (guarderías, etc.) y en el ambiente hospitalario (*Gratacap- Cavallier, B. et al. 2000*).

El periodo de incubación del virus varía entre 1 y 3 días. En recién nacidos la infección es usualmente asintomática pero entre el 8 y el 24% de los neonatos pueden tener una mínima diarrea y vómito asociado con fiebre. En infantes y niños pequeños tiene un comienzo abrupto, un vómito severo y una fuerte diarrea. El vómito usualmente precede el comienzo de la diarrea. La diarrea es acuosa y puede presentar moco en el 25% de los casos y el sangrado se presenta en muy raras ocasiones. Se observa una deshidratación suave o moderada en el 80% de los casos y una pérdida severa de fluidos y electrolitos pueden ser mortal en las personas no tratadas (*Broor et al., 2003*).



**Figura No 2.** Carga global de la enfermedad causada por Rotavirus. *Fuente: OPS 2007.*

## 2.2. Ocurrencia de Rotavirus.

A nivel mundial se ha reportado que más de 700 millones de casos de enfermedades por diarrea acuosa en niños menores de cinco años presentan como agente más notable al RV (Gonzales, M. y Torres, L. 1994; Kapikian, A. y Chonock, R. 1990).

En países en vía de desarrollo, los RV causan un estimado de 870.000 muertes por año y son detectados en 20-70% de muestras fecales a partir de niños hospitalizados con diarrea aguda (Laws 2000). En Colombia, reportes han indicado prevalencias del 48% en Medellín (1981), 48% en Bogotá (1984) y en años más cercanos en una proporción aproximadamente 17 a 18% en Bogotá en muestras de materia fecal (Chaparro et al., 2004), y en muestras de agua en un 11.6% en Facatativa (Martinez, E. 2002). En un gran porcentaje de los estudios realizados se ha determinado que el RV ha sido el agente más encontrado en fuentes de agua potable (Deetz et al., 1984; Keswick et al., 1984, Gratacap-Cavallier et al., 2000) y en otras fuentes de agua y a su vez se ha determinado la capacidad de originar epidemias por consumo de agua contaminada (Hopkins, R. et al. 1984; Hung, T. et al. 1984).

RV también ha sido detectado en aguas residuales (Mehner y Stewin 1993), en agua de río (Gilgen et al., 1997), aguas subterráneas (Abbaszadegan et al., 1999), y agua potable (Deetz et al., 1984; Keswick et al., 1984, Gratacap-Cavallier et al., 2000). La contaminación

de agua potable, agua de recreación, agua superficial y efluentes contaminados con virus entéricos representa un problema de salud pública, principalmente, porque estos virus pueden mantenerse estables durante largos periodos de tiempo en el agua y pueden ser transmitidos por vía fecal oral gracias al consumo de aguas o alimentos contaminados (Queiroz et al., 2001).

En aguas superficiales, los RV se han detectado en un 60% de muestras y hasta en 20% de muestras procedentes de aguas subterráneas. Se ha atribuido a la descarga de aguas residuales no tratadas en las fuentes de aguas (Gerba et al., 1996), problema que representa un alto riesgo para las comunidades que se alimentan de esas fuentes de agua (Ver Tabla 2). Los RV también han sido detectados en aguas tratadas por procesos de potabilización en un 27% (Ver Tabla 3), confirmando la alta resistencia que presenta al proceso de potabilización. Por otro lado, detectar a RV A en fuentes de agua puede no ser del todo entendido como un riesgo de salud pública, principalmente porque numerosos estudios han demostrado que su infectividad depende de la presencia de la capa externa; de manera que tratamientos de agua que utilizan agentes quelantes como el calcio (Kapikian y Chonock 1990 y Mandel 1991) hacen que pierdan esta propiedad. A pesar de esto, numerosos estudios han demostrado la baja susceptibilidad a las desinfecciones por cloro, aunque se ha demostrado que los Rotavirus sobreviven a los tratamientos estándares, que se realizan en los procesos de potabilización del agua (Mandel 1991, Gratacap-Cavallier et al., 2000, Queiroz et al., 2001).

País Ciudad	Tipo de Agua	Procedencia	Nº de Muestras	Porcentaje positivas (%)	Volumen muestra (ml)
Sudáfrica	Superficial	Río	-	32	-
Arizona	Superficial	Río	41	7.5	-
Brasil	Superficial	Riachuelo	55	91	-
Colombia	Superficial	Río	2	100	-
México	Superficial	Lago	21	48	100
Canadá	Superficial	Río	5	100	20-40
Estados Unidos	Superficial	Bahía	10	40	287
Bolivia	Subterránea	-	6	7	-
Arizona	Subterránea	-	21	4	200-300
México	Subterránea	-	2	50	20

**Tabla 1.** Ocurrencia de Rotavirus en Fuentes de agua Superficiales (Estudios puntuales).

Fuente: *Water Research. Vol 30 N° 12. 1996.*



País	Tipo de Tratamiento	Nº de muestras	Porcentaje positivas (%)	Volumen de muestra (mL)
Bolivia	Convencional	5	40	10-100
México	Convencional	64	25	100
Puerto Rico	Convencional	5	1	>100
Colombia	Convencional Agua de grifo	7	28.5	10-100
		11	27	
España	Convencional	11	9.1	400-1000
México	Convencional	25	48	20

**Tabla 2.** Ocurrencia de Rotavirus en Aguas potables. (Estudios puntuales).  
Fuente: *Water Research*. Vol 30 N° 12. 1996.

### 2.3. Brotes Ocasionados por Virus Transmitidos por el Agua

Los brotes epidémicos causados por el consumo de agua de suministro público tienen una gran repercusión sobre la salud pública debido al gran número de personas potencialmente expuestas. Las características y la etiología de estos brotes han variado con el tiempo. Así coincidiendo con una mejora generalizada de los sistemas de control y desinfección del agua, se ha producido una disminución de los casos de etiología bacteriana y un incremento de los brotes ocasionados por otros agentes como protozoos y virus. Desde el punto de vista de salud pública, los virus entéricos son el grupo de microorganismos patógenos más críticos, debido a que la dosis mínima infecciosa es muy baja, son muy resistentes a los sistemas de desinfección y la detección a nivel de laboratorio es relativamente difícil y costosa.

El número de brotes y casos esporádicos de enfermedades causadas por virus asociados a consumo de aguas contaminadas es mucho mayor que los asociados a bacterias y protozoos. Sin embargo, no se cuenta con información adecuada debido a que los virus son más difíciles de detectar en los medios acuáticos, se confunden a menudo con infecciones no específicas y la epidemiología se hace difícil por la escasa cantidad de información que es reportada a las autoridades sanitarias (*Espigares 2006*).

Los brotes de infecciones asociados al agua de bebida son usualmente el resultado de una inadecuada eliminación de microorganismos durante el tratamiento y/o una contaminación

cruzada, causada por la mala adecuación de redes de alcantarillado y por el alto contacto entre aguas servidas y aguas utilizadas para potabilización (Borchardt et al., 2004).

Se han encontrado cerca de cien diferentes virus en aguas contaminadas, los cuales causan una gran variedad de enfermedades en el hombre que incluyen, hepatitis, gastroenteritis, meningitis, fiebre, conjuntivitis e incluso diabetes (Tabla 1). Esta contaminación es causada por el ingreso de las partículas virales al ambiente acuático a través de la descarga de aguas contaminadas. Los virus son excretados en altas cantidades en las heces de individuos infectados; los pacientes que sufren de gastroenteritis o hepatitis pueden excretar entre  $10^5$  a  $10^{11}$  partículas por gramo de materia fecal. Sin embargo, solo unos pocos de estos patógenos virales son reconocidos por ser de gran importancia epidemiológica debido a su transmisión en el agua. Algunos de estos no generan una protección inmunitaria a largo plazo, por lo que la infección y las enfermedades causadas pueden repetirse durante toda la vida (Cardenas y Guerrero 2000).

GENERO	NOMBRE COMÚN	ENFERMEDAD CAUSADA
Enterovirus	- Poliovirus - Coxsackievirus A, B  - Echovirus	- Parálisis, meningitis, fiebre. - Herpangina, fiebre, meningitis, enfermedades respiratorias, miocarditis, enfermedades del corazón y diabetes. - Meningitis, fiebre, enfermedades respiratorias, gastroenteritis
Hepatovirus	- Hepatitis A	- Hepatitis
Reovirus	- Reovirus humano	- Desconocida
Rotavirus	- Rotavirus humano	- Gastroenteritis
Mastadenovirus	- Adenovirus humano	- Gastroenteritis, enfermedades respiratorias y conjuntivitis.
Calicivirus	- Calicivirus humano - Virus Norwalk - SRSV - Hepatitis E	- Gastroenteritis - Gastroenteritis, fiebre - Gastroenteritis - Hepatitis
Astrovirus	- Astrovirus humano	- Gastroenteritis
Parvovirus	- Parvovirus humano	- Gastroenteritis
Coronavirus	- Coronavirus humano	- Gastroenteritis y enfermedad respiratoria
Torovirus	* Torovirus humano	* Gastroenteritis

**Tabla 3.** Virus entéricos humanos transmitidos por el agua. Fuente: Bosch, A. et al. 1998.

Recientes estudios de monitoreo de virus entéricos en agua se han enfocado en los sistemas de agua pública. Se ha encontrado que el 11% de la diarrea acuosa de etiología no definida está atribuida al consumo de agua potable contaminada, indicando que aproximadamente 1.2 millones de casos en países desarrollados están asociados al consumo de esta clase de agua (*Borchardt et al., 2002*).

#### **2.4. Calidad Microbiológica del Agua.**

El agua es indispensable para la vida y por esto se hace necesario poner a disposición de los consumidores un abastecimiento satisfactorio y seguro, disminuyendo los riesgos causados principalmente por agentes biológicos. Lamentablemente, muchas actividades contaminantes constituyen algunos factores de riesgo, es decir, situaciones que alteran la estabilidad de los sistemas e inciden en el incremento de las enfermedades y de la mortalidad. Ello da origen a grandes inversiones en mecanismos de preservación de la salud, pues los costos para implementar la infraestructura son muy altos (*González et al., 1992*).

La finalidad principal del tratamiento del agua es proteger al consumidor contra los agentes patógenos y las impurezas que pueden resultarle desagradables o ser perjudiciales para su salud. La primera línea de defensa es proteger al agua de la contaminación, y para ello el mejor método es casi siempre la protección de las fuentes primarias, frente al tratamiento de las fuentes de agua contaminadas (*OMS, 1995*).

Los sistemas de abastecimiento de agua diseñados, administrados, operados y mantenidos convenientemente constituyen una de las principales barreras para prevenir la transmisión de enfermedades a la población, y por lo tanto, para el mejoramiento de la salud y de la calidad de vida. La existencia de riesgos sanitarios asociados con estos abastecimientos tiene relación con la calidad del agua consumida (*González et al., 1992*).

Las plantas de tratamiento de agua deben ser capaces de producir un producto final de considerable calidad independientemente de cual sea la demanda. Las aguas provenientes de fuentes subterráneas profundas o manantiales pueden ser entregadas directamente al consumo siempre que sean químicamente apropiadas y si se tienen en cuenta todas las previsiones necesarias en su captación para evitar su contaminación. Es decir, estas aguas son en general potables. Solo se recomienda un tratamiento con cloro para resguardarlas de cualquier contaminación accidental dentro de la red de distribución. Se considera agua

potable al agua incolora e inodora que contiene oxígeno y sales disueltas en una concentración adecuada, que este libre de microorganismos patógenos y sustancias tóxicas que ponen en peligro la salud y que a su vez pueda ser usada con seguridad para bebida, cocina, lavado y otros usos domésticos (*Spelman y Drinan 2004*).

El objetivo del tratamiento físico es eliminar la turbiedad y el color, es decir, la eliminación de la materia en suspensión que no es fácilmente sedimentable acompañada muchas veces de materia orgánica disuelta, que no es retenida por la simple filtración. Para ello es necesario un tratamiento previo con coagulante químico, seguido de decantación o clarificación y luego una filtración, a través de un manto de arena u otro material inerte y finalmente un tratamiento de desinfección según el grado de contaminación. El tratamiento químico hace referencia a la corrección del pH, reducción de la dureza, eliminación de elementos nocivos o al agregado de ciertos productos químicos buscando siempre mejorar la calidad del agua. La corrección del pH puede hacerse agregando cal o carbonato de sodio antes o después de la filtración. La reducción de la dureza puede hacerse por métodos simples (adición de cal, soda, zeolita o resinas).

Uno de los criterios utilizados para determinar la calidad sanitaria del agua es la clase y número de microorganismos que se encuentran presentes. Tradicionalmente se han usado ensayos para la determinación de microorganismos indicadores más que para la determinación de patógenos. Aún cuando se cuenta con métodos sensibles, en general son dispendiosos y costosos; además, hay patógenos que no pueden determinarse en laboratorios no especializados, como por ejemplo el virus de la hepatitis A. Estas dificultades han hecho que se utilicen grupos de microorganismos más fáciles de detectar. Estos grupos se denominan "indicadores". Éstos son organismos habitualmente asociados al tracto intestinal, cuya presencia en el agua indica que el agua ha recibido una contaminación de origen intestinal. El grupo de bacterias coliformes ha sido siempre el principal indicador de calidad de los distintos tipos de agua; el número de coliformes en una muestra se usa como criterio de contaminación y por lo tanto de la calidad sanitaria de la misma (*Cardenas y Guerrero 2000*). Sin embargo, algunos estudios han demostrado que estos indicadores no están correlacionados con la presencia de virus causantes de enfermedades de origen hídrico (*Hot et al., 2003*), particularmente por diferencias de éstos en términos de estructura, morfología, resistencia al tratamiento de potabilización del agua y a factores ambientales. Por esto, en la actualidad la investigación va orientada a la identificación, detección y cuantificación de patógenos como los virus entéricos humanos, Poliovirus, Coxsackievirus, Echovirus y Rotavirus entre otros (*Cárdenas y Guerrero 2000*).

Generalmente, la influencia más importante sobre la calidad sanitaria del agua es la descarga de agua de desecho a partir de fuentes municipales y la excesiva precipitación en épocas de lluvia. Los niveles de indicadores y patógenos presentes en estos efluentes disminuyen cuando las distancias a partir de los puntos de descarga aumentan, debido a factores como dilución, sedimentación e inactivación. Además, la desinfección del agua de desecho antes de la descarga a partir de diversas fuentes ha servido para proteger la salud pública mediante la inactivación de microorganismos causantes de enfermedades de alto riesgo (Burkhardt III et al., 2000).

La eficiencia de las plantas de tratamiento para la descontaminación de agentes virales no está del todo bien entendida. Los estudios virológicos han demostrado que el tratamiento permite reducir considerablemente el nivel de virus pero no eliminarlos por completo en grandes volúmenes de agua. La calidad sanitaria de las plantas de tratamiento sobre el ambiente es comúnmente monitoreada con indicadores bacterianos (*E. coli* y *S. faecalis*); sin embargo, los contaminantes parasitarios y virales no están automáticamente asociados. Desde 1966 se ha propuesto el uso de bacteriófagos como indicadores virales por reunir todas las características de los microorganismos indicadores (Cárdenas y Guerrero 2000) y en la actualidad se siguen realizando estudios acerca de la relación de la presencia de estos agentes con los virus patógenos.

La OMS y otros organismos han propuesto una estrategia complementaria para garantizar la inocuidad microbiológica de los abastecimientos de agua potable. Así se contribuye a asegurar la eliminación de patógenos fecales, especificando las condiciones que se deben observar y los tratamientos que se deben realizar. Por ejemplo, los quistes de protozoos como los de *Giardia* y *Cryptosporidium* se eliminan eficazmente mediante el uso de filtros lentos de arena. De manera análoga, los virus entéricos se inactivan manteniendo un residuo desinfectante de por lo menos 0.5mg/L de cloro libre durante un mínimo de 30 minutos en aguas de baja turbidez y pH menor de 8.0 (OMS, 1995).

## **2.5. Contaminación Microbiológica del agua.**

Por lo general, los agentes patógenos pertenecen al grupo de los microorganismos que se transmiten en las heces excretadas por individuos infectados o por ciertos animales. Así que estas enfermedades se suelen contraer al ingerirlos en el agua o en alimentos contaminados por esas heces (vía fecal-oral). Los patógenos humanos transmitidos por el agua incluyen muchos tipos de microorganismos tales como bacterias, virus, protozoos y en ocasiones helmintos (lombrices), todos ellos muy diferentes en tamaño, estructura y composición. En el

plano ideal, el agua de beber no debe contener ningún microorganismo del que se sepa que es patógeno ni ninguna bacteria indicadora de contaminación fecal (OMS, 1995).

El agua tratada puede irse deteriorando al ingresar en el sistema de distribución antes de alcanzar el grifo del consumidor. La contaminación por microorganismos puede ocurrir a través de válvulas de aire, hidrantes, bombas propulsoras, depósitos de servicio, conexiones cruzadas, sifones de retorno o a través de reparaciones incorrectas o roturas en las tuberías (Abbaszadegan et al., 1997). En teoría, con un buen tratamiento y una adecuada desinfección con cloro, se aseguraría un control del crecimiento de patógenos dentro del sistema de distribución; sin embargo, realizar estos procesos a nivel práctico no es tan sencillo. Lamentablemente, se ha demostrado que muchas bacterias, virus y quistes de protozoos son más resistentes a los sistemas de potabilización actualmente utilizados que las bacterias indicadoras utilizadas para analizar la eficacia de la desinfección (Ehler et al., 2005, Ali et al., 2004, Brassard et al., 2005).

De acuerdo a estudios epidemiológicos, el consumo de agua contaminada, ha sido asociado con brotes de enfermedades como la gastroenteritis, Hepatitis A (Grabow, A. 1997), Hepatitis E (Smith. 2001) y de algunos protozoarios como *Giardia* y *Cryptosporidium*. La presencia de estos patógenos en el agua, aunque sea en números muy bajos, representa un alto riesgo para el consumidor (Rose, 1990).

## **2.6. Importancia de La Potabilización del Agua**

En la mayoría de los países, los principales riesgos para la salud humana asociados al consumo de agua contaminada son de índole microbiológica. Como indica la "Orden del día 21" de la CNUMAD, "aproximadamente un 80% de todas las enfermedades y más de una tercera parte de las defunciones en los países en desarrollo tienen por causa el consumo de agua contaminada". El riesgo de contraer una infección transmitida por el agua aumenta con el nivel de contaminación con microorganismos patógenos. El agua potable ha sido considerada como uno de los vehículos de transmisión de agentes como *Salmonella thipy*, *Vibrio cholerae*, *Giardia lamblia* y el virus de la Hepatitis A (OMS, 1995). El mejoramiento de la calidad del agua puede contribuir en reducciones considerables de la prevalencia de estas enfermedades. Los organismos transmitidos por el agua habitualmente crecen en el tracto intestinal y abandonan el cuerpo por las heces. Dado que se puede producir la contaminación fecal del agua al consumirla, el organismo patógeno puede penetrar en un nuevo hospedador. Como el agua se ingiere en grandes cantidades, puede ser infecciosa

aún cuando contenga un pequeño número de organismos patógenos. El agua contaminada tiene una gran importancia en la transmisión de patógenos causantes del síndrome diarreico, por lo que se hace necesario tener estrategias que permitan un manejo adecuado de ella (OMS, 1995; González et al., 1992).

La OMS ha estimado que las enfermedades de transmisión hídrica causan la muerte a aproximadamente 5 millones de personas en todo el mundo; siendo el Rotavirus el mayor contribuyente ya que éste es el responsable de alrededor de 6 millones de muertes de niños cada año en los países en desarrollo. Esto no es un problema serio en Europa debido a una mejor higiene, nutrición y cuidados médicos (Gray 1994). Las enfermedades de transmisión hídrica no han podido ser erradicadas con los tratamientos convencionales, por mucho que hayan sido mejoradas las condiciones sanitarias, ni siquiera en las partes más industrializadas del mundo, principalmente debido a que los sistemas de depuración del agua están dirigidos en su mayoría a patógenos bacterianos (Spelman y Drinan 2004).

Las investigaciones epidemiológicas indican que el comportamiento higiénico y el saneamiento de los servicios de abastecimiento de agua influyen en la salud. De la misma manera, se ha comprobado que los indicadores de la calidad de estos servicios resultan útiles para orientar la acción correctiva y medir los indicadores de las prácticas de higiene (OMS, 1995).

Los métodos compuestos (cal-soda; cal zeolita, cal-resinas); y la eliminación de elementos nocivos puede referirse a la disminución de los contenidos excesivos de hierro, manganeso, fluor, arsénico o vanadio. Finalmente, el tratamiento microbiológico se lleva a cabo con procesos de desinfección, siendo el cloro el agente utilizado por excelencia. Este se utiliza en diferentes sistemas de desinfección en forma de cloro puro, sales clorógenas o hipocloritos. La dosis generalmente se fija en base al cloro residual, cuyo valor debe estar entre 0.05 mg/L y 0.1 mg/L. (Tebbutt, T.H.Y. 1990).

Los programas de depuración de agua han sido responsables de la disminución de las infecciones transmitidas por agua. La eliminación de la turbidez del agua por filtración proporciona un descenso significativo en la carga microbiana del agua, pero la filtración por sí sola tiene un valor parcial porque muchos organismos son filtrables. A diferencia del tratamiento con cloro que ha demostrado ser eficaz en la disminución de la incidencia de enfermedades transmitidas por agua. Para prevenir y controlar la contaminación biológica del agua debería realizarse un seguimiento de la calidad bacteriológica de las aguas de

suministro en zonas rurales, así como desarrollar y adaptar metodologías que permitan detectar la presencia de microorganismos patógenos que no pueden aislarse por métodos convencionales (González *et al.*, 1992). El agua no es un medio para el desarrollo de microorganismos patógenos, sino un medio de conducción o transporte del patógeno hasta el lugar donde se consume inadvertidamente y causa enfermedad (Spelman y Drinan 2004).

Para realizar una vigilancia epidemiológica o un estudio de campo para determinar la calidad microbiológica del agua suministrada por el servicio público, es necesario realizar muestreos en puntos que sean representativos como la fuente primaria, la estación de tratamiento, las instalaciones de almacenamiento, la red de distribución y los puntos donde el agua llega al consumidor final (OMS, 1995). Además de la fuente de agua cruda, es necesario realizar muestras para evaluar la eficiencia de las unidades de tratamiento tales como sedimentación, filtración y desinfección. También se hace necesario, realizar una medición de la temperatura que debe medirse en el campo (González *et al.*, 1992), medir el pH al mismo tiempo que el cloro residual ya que la eficacia de la desinfección con cloro depende en alto grado del pH: cuando el pH pasa de 8.0, la desinfección es menos eficaz (OMS, 1995). El agua debe siempre potabilizarse antes del consumo humano, cumpliendo con lo exigido desde los puntos de vista físico, químico y microbiológico, para poder así descartar el posible origen hídrico de algún brote relacionado.

## **2.7. Generalidades del Municipio de Facatativa**

El municipio de Facatativá se encuentra en el extremo occidental de la sabana de Bogotá a 36 Km de la capital del país. Se encuentra a 2641 m sobre el nivel del mar y tiene una temperatura promedio de 14°. Tiene una extensión total de 159.60 Km<sup>2</sup> y cuenta con 97.673 habitantes, entre ellos 9000 niños menores de 5 años. No hay estaciones y la temperatura oscila muy poco durante todo el año; sin embargo, hay fuertes cambios de temperaturas durante todo el día, con temperaturas cercanas al congelamiento alrededor de las 3 a.m. y tan altas de hasta 20 – 22°C durante el medio día. El promedio de la humedad es de 70% y se incrementa con las altas temperaturas (Gutiérrez *et al.*, 2006).

El Servicio Estatal de salud muestra que Facatativa tiene altas tasas de EDA tal y como sucede en otros municipios de similar tamaño alrededor de Bogotá. Según el informe CED/IRA de 1999, se determinó que este municipio presentaba el mayor índice de ésta enfermedad con un 33.7% en toda Cundinamarca. Se ha determinado que el Rotavirus es el principal agente causante de estos episodios con una proporción del 13% (Gutiérrez *et al.*,



2005 y 2006). A pesar de contar con un sistema de tratamiento de agua para su potabilización, esta se sigue considerando una de las posibles fuentes de transmisión de este agente viral.

La principal fuente de agua de abastecimiento del municipio de Facatativá es la cuenca hidrográfica del río de los Andes que en las inmediaciones del área toma el nombre del río Botello que recorre 25 kilómetros hasta verter sus aguas a las quebradas del Muña, San Rafael, el Vino, el Pozo de la Mirta y río la Pava. La única fuente de agua que surte a la planta de tratamiento del municipio para consumo de la población urbana y rural del municipio es la entregada por este río. Este sistema lleva sus aguas a la laguna de la Herrera y de allí al río Subachoque para posteriormente desembocar en el río Bogotá (<http://www.facatativa.gov.co/facatativa-4.htm>).

## **2.8. Impacto Social**

La contaminación de los recursos hídricos domiciliarios con heces introduce algunos patógenos virales a los sistemas acuáticos. Estos representan un alto riesgo para los consumidores que están en contacto con agua recreacional, agua de bebida y productos agrícolas contaminados. La disponibilidad de métodos de alta sensibilidad y reproducibles para la detección de patógenos microbianos es importante para la determinación de la contaminación hídrica, los tipos de patógenos involucrados y la correlación entre el aislamiento de agentes microbianos y los factores ambientales (*Caballero et al., 2004; Gratacap-Cavallier et al., 2000; Kittigul et al., 2001; Queiroz et al., 2001*).

Las EDA (Enfermedad diarreica aguda) de origen viral constituyen un importante problema sanitario a escala mundial, pues en países desarrollados presentan una incidencia superior al de EDAS bacterianas y parasitarias (en aproximadamente un 40%) siendo el agua un importante vehículo de transmisión (15% aproximadamente) aunque en la mayoría de los casos no son diagnosticadas ni reportadas (*Gratacap- Cavallier et al., 2000*).

Comparado con la contaminación entre humanos, el agua potable juega un papel importante como vehículo de infecciones esporádicas (*Kittigul et al., 2001*), brindándole importancia a las políticas de calidad y a la seguridad de sistemas de calidad del agua (*Caballero et al., 2004*). Recientes estudios de monitoreo de aguas para virus entéricos han enfocado su interés en los sistemas de aguas públicas, debido a que diferentes poblaciones son muy vulnerables a contaminaciones virales causadas por el poco o nulo mantenimiento de las

tuberías de desecho y al nulo monitoreo de estas partículas como indicadores de calidad de agua (*Borchardt et al., 2002*).

### **2.9. Técnicas de concentración de virus a partir de muestras de agua.**

Los RV son excretados en gran cantidad en las heces ( $10^{11}$  partículas/g de heces) y cuando estas partículas ingresan a los ambientes acuáticos pasan por procesos de dilución y adhesión a material. La búsqueda de virus en aguas es más compleja que la de otros microorganismos por las dificultades que conllevan su concentración y detección. La densidad de los virus entéricos en las aguas limpias suele ser tan baja que se hace necesaria la concentración de los mismos (*Gratacap- Cavallier et al., 2000, Broor et al., 2003*). Los métodos de concentración de los virus son a menudo capaces de procesar volúmenes limitados de agua de una calidad determinada basándose en su composición físico-química.

A la hora de elegir el método de concentración debe tenerse en cuenta la probable densidad del virus, las limitaciones de volumen de un determinado tipo de agua y la existencia de componentes susceptibles de interferir en el proceso. En las aguas residuales la cantidad de virus presentes puede ser suficiente para permitir la detección sin concentración previa. Sin embargo, en la mayoría de las aguas se encuentran demasiado diluidos como para poder realizar un análisis directo (*Espigares 2006*).

La concentración y detección de virus a partir de muestras de aguas es particularmente problemática debido a factores como la sensibilidad de la técnica de recuperación, los diferentes virus recuperados, la calidad del agua, el costo y el tiempo que se necesita para llevar a cabo estos métodos. Una de las actuales estandarizaciones de métodos para la concentración de virus utiliza filtros de membranas con tamaños menores a los de las partículas virales (*Winona et al., 2001, Olszewski et al., 2005*). Las propiedades de las partículas como su tamaño, forma, composición y estabilidad pueden afectar en la absorción de las mismas. La absorción también se ve afectada por características como la calidad del agua, el pH, los niveles de carga orgánica y el volumen de agua filtrada. En aguas con calidad deteriorada la eficiencia en la recuperación de los virus generalmente desciende (*Winona, L. et al. 2001*).

Basándose en las propiedades del agua se han desarrollado numerosos métodos para la concentración de virus (Ver tabla N° 4). Un método óptimo de concentración debe cumplir con los criterios de sencillez y brevedad, alta tasa de recuperación, amplio rango de retención de virus, volumen pequeño concentrado, economía, capacidad para procesar diferentes volúmenes de agua y reproducibilidad (*Espigares 2006*).

Los virus actúan como partículas coloidales. Presentan polaridad y pueden ser adsorbidos a una gran cantidad de matrices cargadas (membranas, vidrio, resinas, etc.), por lo que pueden ser concentrados de esta forma. Por otra parte, las partículas virales tienen una masa molecular relativamente alta, así que pueden ser sometidos a ultracentrifugación y ultrafiltración (*Espigares 2006*).

Método	Principio	Ventajas	Desventajas	Bibliografía
Plataforma de gasa o algodón	Adsorción a una matriz de algodón y posterior elución a pH 8-9.	Aplicable a grandes volúmenes y en aguas altamente contaminadas. Económico	Recuperación vírica muy baja y no reproducible.	Fattal, 1974
Hidroextracción	Adsorción a una bolsa de diálisis fabricada con un polímero de PM entre 4.000 y 20.000 (PEG).  También se utiliza el Carbowax 20.000 (tamaño de poro de 25 Å).	Simple y económico. Aplicable en etapa de reconcentración. Volumen inicial pequeño. Recuperación del 90-100% con Carbowax.	Recuperación entre el 3-30% con PEG. Incubación a 4°C para evitar inactivación vírica. Carbowax sólo aplicable en aguas con muy poca carga viral.	Wellings <i>et al.</i> , 1976; Lewis y Metcalf, 1988 Bitton, 1980
Separación en dos fases	Captura vírica en uno de los 2 polímeros orgánicos (PEG y DEAE) disueltos con el agua. Proceso dependiente del pH y de la fuerza iónica.	Simple y económico. Volumen inicial pequeño.	Recuperación muy variable (5-100%). El DEAE puede inactivar ciertos virus. El proceso es lento.	Lund y Hedstrom, 1966; Schuval <i>et al.</i> , 1969; Pöyry <i>et al.</i> , 1988
Ultracentrifugación	Sedimentación vírica a alta velocidad.	Alta recuperación.	Alto coste.	Mehnert <i>et al.</i> , 1997
Congelación	Incubación a -15°C en continua agitación. Los virus no son atrapados en los cristales de hielo y pueden ser recogidos en la fase acuosa no congelada.	Simple y económico.	Inviabile.	Bitton, 1980
Ultrafiltración	Retención de las partículas en función de su tamaño.	Gran recuperación vírica. Aplicable en etapa de reconcentración.	No aplicable en aguas turbias por colapso de los poros. Necesaria una prefiltración.	Bitton, 1980

**Tabla No 4.** Técnicas de concentración viral a partir de muestras de agua. *Fuente: Villena, C. 2001.*

Método	Principio	Ventajas	Desventajas	Bibliografía
Electroforesis	Migración de los virus hacia el ánodo en tampón pH neutro. Elución cambiando la polaridad de la corriente.	Buen sistema en combinación con las membranas de diálisis.	Inviabile para grandes volúmenes.	Bier y Cooper, 1967.
Adsorción a superficies:	Retención por fuerzas electroestáticas. Los virus son partículas hidrofílicas coloidales con carga eléctrica dependiendo del pH del medio. En los medios acuosos naturales se encuentran cargados negativamente.	Eficiente retención.	Coexisten dos limitaciones: capacidad de adsorción y capacidad de elución. Mayor manipulación de la muestra. Algunos componentes son inhibidores de técnicas moleculares posteriores.	(tabla 1.3.)

**Tabla No 4.** Técnicas de concentración viral a partir de muestras de agua. *Fuente: Villena, C. 2001.*

Método	Ventajas	Desventajas	Bibliografía
Filtros de membrana cargados negativamente	Aplicables a grandes volúmenes y en aguas altamente contaminada	Antes requiere ajustar la concentración de sales catiónicas y el pH	Metcalf, 1961; Wallis y Melnick, 1967
Filtros de membrana cargados positivamente	Aplicables a grandes volúmenes de agua	Sólo utilizados en aguas limpias	Sobsey y Glass, 1980;
Polielectrolitos insolubles	Aplicables a grandes volúmenes de agua	Eficiencia de recuperación variable	Wallis <i>et al.</i> , 1969
Precipitados de sales, hidróxido de aluminio, hidróxido férrico	Aplicable a pequeños volúmenes y en aguas altamente contaminadas	Elución con proteína y eficiencia de recuperación variable	Wallis y Melnick, 1967
Polvo de talco	Aplicable a grandes volúmenes	Elución con proteína a pH 9. Inhibición de posteriores técnicas moleculares	Sattar y Westwood, 1976; Sattar y Ramia, 1979
Óxidos de hierro (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> )	Aplicable a pequeños volúmenes y en aguas altamente contaminadas	Elución con proteína a pH 9. Inhibición de posteriores técnicas moleculares	Bitton y Mitchell, 1974
Polvo de vidrio	Aplicables a grandes volúmenes de agua. Recuperación alta	Necesidad de ajuste del pH antes y después de la concentración.	Schwartzbrod y Lucena, 1978
Lana de vidrio	Aplicables a grandes volúmenes de agua	Eficiencia de recuperación variable	Vilaginés <i>et al.</i> , 1993
Bentonita	Aplicable a pequeños volúmenes y en aguas altamente contaminadas	Recuperación máxima del 50%	Moore <i>et al.</i> , 1979
Sulfato de Protamina	Aplicable a pequeños volúmenes y en aguas altamente contaminadas	Eficiencia de recuperación variable según el virus	England, 1972

**Tabla No 4.** Técnicas de concentración viral a partir de muestras de agua. *Fuente: Villena, C. 2001.*

### 2.10.2 Ultrafiltración

Este método se basa en la filtración del agua a través de membranas de polisulfonato o material similar cuyo límite de peso molecular es de 10.000 Da. Este es un proceso en el cual los virus son físicamente retenidos mediante el uso de un filtro con tamaño de poro menor que los virus. Muchos laboratorios utilizan ahora membranas o cartuchos de filtración con un tamaño de exclusión de 30-100 kDa. En estos sistemas en que el agua pasa directamente a través del filtro, los componentes no filtrables ocluyen la superficie del filtro, por lo que sólo son útiles para pequeños volúmenes de muestra (<1000 mL), por lo que se han desarrollado modificaciones tales como la filtración con flujo tangencial o la ultrafiltración-vortex. Una amplia variedad de virus pueden ser concentrados incluidos los bacteriófagos. La ultrafiltración por membrana depende de una fuerza impulsora, presión y de una membrana que es permeable a algunos de los componentes de una disolución líquida o mezcla impermeable a otros. El mecanismo de concentración por ultrafiltración se realiza a través de un sistema basado en la exclusión de partículas, donde las moléculas más pequeñas que el tamaño del poro pasan a través de la membrana y salen del sistema y las moléculas de tamaño mayor al poro como los virus son concentradas en el retenido. Mediante este sistema debido a la presión generada, los coloides, las partículas y las especies solubles de elevada masa molecular son retenidas por su tamaño. La ultrafiltración generalmente permite pasar a la mayoría de las especies iónicas inorgánicas y retiene partículas discretas de materia y especies orgánicas iónicas y no iónicas, dependiendo del peso molecular (*Olszewski et al., 2005*).

Para llevar a cabo la concentración viral, la membrana de ultrafiltración debe tener un margen de separación de pesos moleculares y un flujo de disolvente por unidad de superficie alto, para presiones diferenciales bajas. En cuanto a los materiales de las membranas de la ultrafiltración, se han empleado una variedad de polímeros sintéticos (resinas de policarbonato, olefinas sustituidas, entre otros). Muchas de esas membranas pueden manejarse en seco, tienen una resistencia a los disolventes orgánicos mayor y son menos sensibles a la temperatura y al pH (*Weber 1980, Olszewski et al., 2005*).

La ultrafiltración por membrana es un proceso singular muy efectivo para concentrar materiales orgánicos solubles en agua, lo mismo que contaminantes microbiológicos, ya que todas las membranas de ultrafiltración son capaces de filtrar protozoos y bacterias con gran eficiencia, es por esto que el proceso ofrece una buena retención de microorganismos a partir de muestras ambientales (*Weber 1980*)

## **2.11. Técnicas de detección viral en agua**

Después del muestreo y la concentración de virus, el aspecto importante a considerar es la detección y en algunos casos, el recuento de virus. Dentro de las técnicas más utilizadas en la actualidad para realizar la detección viral se encuentran la PCR, ELISA y Microscopía Electrónica. Estas técnicas requieren que el virus esté presente en una concentración de  $10^4$  -  $10^5$  partículas en el caso de ELISA,  $10^2$  para PCR y de  $10^6$  -  $10^{11}$  en el caso de Electroforesis de ARN (*Rivera et al., 1995*).

### **2.11.1. PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es una técnica ampliamente utilizada para la detección y cuantificación de fragmentos de DNA específicos, incluso en presencia de otras moléculas de DNA. Como su nombre lo indica, se basa en la actividad de la enzima DNA polimerasa la cual fabrica una cadena complementaria de DNA a partir de una existente, sus únicos requerimientos son la presencia de nucleótidos en el medio y una cadena de DNA que sirva como primer la cual se unirá a la cadena que se desea copiar (*Ijzerman et al., 1997*).

Para la detección de partículas virales es necesario realizar la extracción del ácido nucleico del virus antes de realizar la amplificación. Para el caso de los virus RNA, se realiza un paso anterior a la PCR en el que, usando una enzima transcriptasa inversa, se transcribe el RNA a su correspondiente DNA complementario (DNAC) y éste se utiliza como base para una posterior PCR. El RNA es fácilmente degradable por su propia naturaleza, así como por la acción de enzimas RNAsas, lo que se evita mediante la congelación de la muestra (*Shieh et al., 1995; Ijzerman et al., 1997*).

La sensibilidad de la técnica de la PCR es muy alta y suficiente para detectar todos los virus entéricos, sin embargo, presenta algunos inconvenientes para ser usada en muestras de agua ambiental entre ellos la presencia de ácidos orgánicos e inorgánicos como los ácidos húmicos y fúlvicos que inhiben a las proteínas utilizadas para la amplificación del genoma viral (*Ijzerman et al., 1997; Shieh et al., 1995*). El volumen bajo que se utiliza, puede arrojar falsos negativos, debido a que el título de los virus es bajo en aguas contaminadas (*Abbaszadegan et al., 2003*). Recientemente, se han desarrollado técnicas de PCR que

presentan una mayor sensibilidad que la técnica de ELISA, pero que por su complejidad y costos solo son utilizadas para la caracterización de cepas. (*Gentile, A; et al. 2006*).

### **2.11.2. ELISA (Enzyme linked immuno sorbent assay).**

La técnica de ELISA se basa en el uso de anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan tanto actividad inmunológica como enzimática. Al estar el anticuerpo marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte inmunoadsorbente la reacción de antígeno- anticuerpo queda inmovilizada y, por lo tanto fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar con la enzima produce un color observable a simple vista y cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro (*Dahling 1991*).

La técnica de ELISA ha sido el método más utilizado para detectar RV ya que no requiere de equipos especializados. Esta técnica puede detectar desde una cantidad de  $10^4$  partículas virales; por lo que se considera útil a la hora de usarla en la detección de estos agentes. Existe una gran variedad de kits de ELISA disponibles para la detección de varios virus en general. Dentro de las ventajas que ofrece se encuentran su costo relativamente bajo, resultados rápidos (cercano a 90 min) y la intensidad de la reacción puede dar una aproximación real de la concentración de virus presente en la muestra (*Dahling et al., 1991*).

Numerosos estudios han demostrado la capacidad de la técnica para detectar partículas virales a partir de muestras ambientales, entre ellos, estudios realizados por *Martinez, E (2002)* a partir de muestras de agua procedentes del municipio de Facatativa. Esta técnica es muy utilizada tanto en países desarrollados como en países en vía de desarrollo gracias a su alta sensibilidad, especificidad, facilidad de manejo y a su relativo costo y vida útil. En el caso de esta técnica, las variaciones observadas en sensibilidad y especificidad se relacionan aparentemente con factores tales como manejo de la muestra (transporte, conservación, tiempo entre recolección y procesamiento), calidad de los anticuerpos de captura y presencia de enzimas que degraden proteínas o ácidos nucleicos en la muestra (*Rivera et al., 1995*).

### **3. Justificación de la investigación**

Facatativa presenta el más alto índice de EDA en toda Cundinamarca según el informe CDE/IRA de 1999 en un 33.7% y se ha demostrado que Rotavirus es el principal agente causante de esta enfermedad en un 13%. Numerosos estudios han tratado de demostrar la relación existente entre T°, humedad relativa, calidad de vida de los habitantes y fuente de agua para consumo con la presencia de virus.

Con el presente estudio se pretendió demostrar la presencia de Rotavirus grupo A en el agua suministrada por la planta de acueducto del municipio de Facatativa mediante la técnica de Elisa y poder determinar si esta actúa como vehículo de transmisión contribuyendo con el aumento de las infecciones gastrointestinales reportadas en la población. Gracias a los resultados de este estudio, se podrán tomar medidas de carácter epidemiológico para prevenir el aumento de estas infecciones dentro de la población más vulnerable (niños menores de 5 años).

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo General**

- Determinar si el agua de Facatativá funciona como vector de transmisión de Rotavirus Grupo A.

#### **4.2. Objetivos específicos**

- Recolectar muestras de agua potable y no potable del municipio de Facatativá.
- Aislar y concentrar los Rotavirus que posiblemente se encuentren en el agua del municipio de Facatativa mediante la técnica de ultrafiltración.
- Determinar la presencia de Rotavirus Grupo A en el agua del municipio de Facatativa mediante la técnica de ELISA.

### **5. MATERIALES Y METODOS**

#### **5.1. Selección de los puntos de muestreo**

La planta de tratamiento del municipio de Facatativa se encuentra ubicada dentro del municipio y maneja un sistema de tratamiento convencional. Siguiendo la distribución del caudal, se realizó la selección de los puntos de muestreo, diferenciándolos de la siguiente forma:



- Antes de la planta de tratamiento: Se tomaron muestras de los efluentes que llevan el agua hacia la planta de tratamiento del municipio. Entre estas esta el rio Botello, el cuál se caracteriza por presentar aguas de corrientes de nacederos, siendo la unión de tres ríos, el Mancilla (montaña), Andes (Alto de la tribuna) y Pava (Quebrada).
- Dentro de la planta de tratamiento: Se tomaron muestras de diferentes puntos en la planta de tratamiento como lo son cámara de aquietamiento, floculación, sedimentadores, filtros, tanques de succión, agua de lavado de filtros y en el tanque de almacenamiento del agua.
- Después de la planta de tratamiento: las muestras se tomaron en zonas aledañas que reciben el agua proveniente de la planta. Se seleccionaron dos puntos, uno cercano que hace referencia a la zona más cercana que recibe el agua, siendo la urbanización San Carlos y la toma se realizó en la llave del jardín antes del ingreso a la vivienda y uno lejano, que hace referencia a la zona más lejana que recibe el agua; se seleccionó el salón de belleza "Yodiz" en el barrio Cartagena en las afueras del municipio.

## **5.2. Muestreo**

Se realizó un muestreo por conveniencia recolectando 5L de muestra por punto cada semana en frascos plásticos hasta su procesamiento final en el laboratorio de Virología de la Pontificia Universidad Javeriana. Las muestras recolectadas fueron obtenidas de la siguiente manera: 1 muestra antes del ingreso a la planta, 7 muestras dentro de la planta y 2 muestras después del tratamiento en la planta. El muestreo se realizó entre Marzo y Mayo del 2005, meses en los que las corrientes de agua elevan su caudal y se observan más índices de infecciones gastrointestinales. En total se recolectaron 50L por semana, 500L al finalizar las diez (10) semanas de muestreo. En el momento del muestreo se tomaron mediciones del pH y la temperatura del agua con el fin de relacionar estos parámetros con la incidencia del virus en los puntos muestreados.

## **5.3. Manejo y traslado de las muestras**

Después de realizar la recolección de las muestras, estas fueron transportadas hacia el laboratorio de virología de la Pontificia Universidad Javeriana donde se filtraron y se concentraron el mismo día de su recolección mediante la técnica de Ultrafiltración tangencial.

### **5.3.1 Filtración**

Las muestras recolectadas, se filtraron mediante el uso de una membrana Opticap<sup>™</sup> Capsule Disposable Cartridge de 0.45  $\mu\text{m}$  y de 0.2  $\mu\text{m}$ , con el fin de eliminar materia orgánica y microorganismos contaminantes (bacterias, hongos y parásitos). Por los filtros se pasaron las muestras de 5 litros, de las cuales se tomó 1L del filtrado. Éste volumen fue almacenado en frascos ámbar de 1L a 4°C hasta el momento de la ultrafiltración.

### **5.3.2 Ultrafiltración de las muestras**

Después de retirar las partículas contaminantes o sustancias que pudieran saturar el sistema de ultrafiltración fue necesario realizar la concentración de las partículas virales presentes en la muestra. Esto se llevó a cabo utilizando un filtro TFF Cartridge de 1.000 Da (el cual retiene partículas entre 5 y 200 nm) (Mestre 2001), disminuyendo el volumen de la muestra a 10mL los cuales fueron almacenados en tubos falcón de 15mL bajo cámara de flujo laminar.

### **5.3.3 Almacenamiento de las Muestras**

Las muestras concentradas contenidas en los tubos falcon, se almacenaron a 4°C hasta el procesamiento total de las muestras.

### **5.3.4 Técnica de Elisa para Rotavirus Grupo A**

Cuando la totalidad de las muestras se encontraron concentradas, estas se descongelaron a temperatura ambiente dentro de la cámara de flujo laminar para realizar luego la detección de Rotavirus grupo A mediante la técnica de Elisa.

La detección de los antígenos de RV A se realizó mediante el uso de un Kit comercial para Rotavirus IDEIA TK siguiendo el procedimiento recomendado por el productor. Se realizó la técnica en fase sólida tipo sándwich utilizando un anticuerpo policlonal para detectar al antígeno específico de grupo que se encuentra en la proteína VP6 del RV grupo A. Al evaluar cada pozo, por medio de espectrofotometría a 450 nm, se determina la presencia o ausencia del virus, ya que un valor de absorbancia menor o igual al del valor de punto de corte, indica la ausencia del virus en la muestra (Rivera *et al.*, 1995; Cepeda y Hassidoff 1998).

## 6. Resultados y Discusión de Resultados.

Según el informe CED/IRA de 1999, Facatativa fue catalogado como el municipio con mayor índice de EDA en Cundinamarca con un 33.7%. En estudios anteriores se demostró que el RV es el principal agente causante de esta enfermedad en un 13% (*Gutierrez et al., 2000*) y se ha tratado de asociar con factores ambientales tales como temperatura, humedad, pH, precipitación y fuentes de agua de consumo; por lo que en el presente estudio se pretendió detectar al RV A en el agua suministrada al municipio para determinar si el agua actuaba como vehículo de transmisión de estos agentes virales.

A partir del agua recolectada en el municipio no se obtuvieron muestras positivas para RV grupo A. (**Figura No 3. Técnica de ELISA**). Al no detectar a RV mediante la técnica de Elisa, presuntamente se pensó en la posibilidad de que las partículas virales hubieran sido eliminadas del sistema de tratamiento durante el proceso; o por otro lado que hubieran sufrido algún daño estructural.



**Figura No 3. Técnica de ELISA (IDEIA) Dako Cytomation.**

La transmisión de enfermedades virales a través del agua contaminada depende de la sobrevivencia del agente infeccioso por un periodo de tiempo suficiente para infectar a un huésped susceptible (*Ward et al., 1986*). Numerosos estudios han demostrado la incidencia de virus entéricos causantes de brotes asociados a agua potable no tratada (*Shield et al., 1995; Abbaszadegan et al., 1993, Metcalf et al., 1995; Borchardt et al., 2002, Martinez, E; 2002*), y en agua potable tratada, siendo RV el agente etiológico más común (*Borchardt*

2004, Chaparro et al., 2004, Abbaszadegan et al., 1999, Queiroz et al., 2001, Caballero et al., 2004, Gratacap-Cavallier, B. et al. 2000, Kittigul, L. et al. 2001, Gonzales, M. y Torres, L. 1994; Abbaszadegan et al., 1993).

Una pregunta crítica en virología es si los virus pueden o no sobrevivir largos periodos de tiempo y si pueden causar enfermedad después de estar en contacto con aguas recreacionales o con agua potable contaminada. La sobrevivencia de los virus entéricos en el ambiente ha sido ampliamente documentada, conociéndose que los virus pueden persistir periodos más amplios que las bacterias (Bosch, A. 1998, Gratacap-Cavallier, B. et al. 2000 y Kittigul, L. et al. 2001) debido a la estabilidad de estos, a condiciones físico químicas adversas como pH y temperatura en conjunto con su resistencia a los desinfectantes disponibles comercialmente y a los tratamientos de potabilización del agua, lo que contribuye significativamente a su persistencia en el ambiente (Payment, 1999; Sair et al., 2002).

La presencia de estos patógenos en el agua aunque sea en números muy bajos, representa un alto riesgo para el consumidor ya que presentan una baja dosis mínima de infección comparada con la de otros patógenos. Se realizó la selección de la técnica de ultrafiltración como método de concentración viral, ya que numerosos estudios han demostrado la eficiencia de este sistema para la recuperación viral a partir de volúmenes pequeños de agua (Farrah et al. 1984; Farrah et al. 1982; Yerba et al. 1984 y Olszewski et al., 2005). Estudios anteriores han demostrado la habilidad de las membranas de ultrafiltración para concentrar virus eficientemente en muestras de agua (Madaeni 1997, Gratacap-Cavallier et al. 2000, Voorthuizen et al, 2001 y Olszewski et al., 2005), incluyendo estudios anteriores en fuentes del agua del municipio en los que se demostró la presencia de RV con una prevalencia de 11.6% (Martinez 2002, Ajaim 2000).

Se realizó un muestreo por conveniencia, ya que se ha demostrado que para análisis de agua se puede obtener una muestra de mínimo 100 ml (Maunula, L; 2003). Estudios realizados por Gratacap-Cavallier et al., (2000), demostraron que la técnica de concentración viral más eficiente en el momento de recuperar y concentrar virus presentes en muestras de agua es la ultrafiltración. Aunque la técnica más comúnmente usada para realizar concentración de virus a partir de muestras de agua es la de Adsorción-Elusión, presenta ciertas desventajas. Entre estas se encuentran la alta manipulación de la muestra, esta limitada para volúmenes pequeños y es muy dependiente del pH del medio; en comparación con la técnica de Ultrafiltración, la cuál ha venido siendo ampliamente utilizada para

concentrar partículas virales a partir de muestras *ambientales* (Gilgen et al. 1997; Winona et al. 2001, Gratacap-Cavallier et al., 2000, Olszewski, J et al., 2005).

La técnica utilizada para la detección de las partículas virales fue la técnica de ELISA, ya que se ha demostrado la eficiencia de esta para la detección de Rotavirus (Dahling 1991), Mediante el uso de esta técnica los resultados se pueden obtener rápidamente y la intensidad de la reacción puede dar una aproximación de la cantidad de virus presentes en la muestra. Se ha documentado que la técnica usada es efectiva ya que diversos autores han comprobado la alta sensibilidad a la hora de detectar RV (Rivera et al., 1995) y a su vez estudios en el agua del municipio de Facatativá han detectado otras partículas virales como Calicivirus y Hepatitis A a partir de las mismas muestras de agua (**Resultados no publicados**).

Una primera eliminación parcial de las partículas virales pudo haber ocurrido en la etapa de floculación, en la cual se forman agregados de gran tamaño, los cuales incluyen materia orgánica y esta a su vez puede atrapar las partículas virales (Woessner et al. 2001) sedimentándolas y eliminándolas así del cuerpo de agua, haciendo imposible su detección. Esta posibilidad ha sido re-evaluada debido a los resultados obtenidos por Herrera, Serrano y Alvarado en el mismo periodo de tiempo en el cual se realizó la detección de Norovirus (4.3%) y Astrovirus a partir de las mismas muestras, virus de tamaño inferior a los RV (RV: 75nm, Calicivirus: 27-35nm y Astrovirus: 28-35nm).

Otra de las posibilidades por las cuales se pudieron haber obtenido estos resultados pudo ser debido a procesos de inactivación viral en el agua, aunque las causas de inactivación no están del todo determinadas. En la mayoría de los estudios, factores como enzimas bacterianas, turbidez, luz, adsorción a material en suspensión y otros factores han mostrado influencia en la pérdida de la estabilidad viral en agua fresca. Sin embargo, el factor dominante sugerido ha sido la temperatura (Ward et al. 1986). Estudios relacionados a la inactivación de virus por la temperatura han demostrado que los títulos virales permanecen estables a temperaturas entre 4 y 20°C por un periodo de 64 días (Ward et al., 1986; Panangala et al. 1997). Durante el periodo muestreado, la temperatura promedio dentro del municipio fue de (14°C). Las investigaciones realizadas con respecto a la presencia de RV asociadas al clima muestran que el comportamiento estacional es diferente presentándose durante todas las épocas del año, mientras que en países estacionales como Estados Unidos, Canadá e India aumenta la prevalencia de Rv en la época de invierno (Dossetor, J. 1989 y Zinsser 1994) a diferencia de países no estacionales como Guatemala (Panikell et

al. 1982), Ecuador, Venezuela (Zinsser 1994) y Colombia (Gutierrez 2002.) en los que se ha demostrado que permanece durante todas las épocas del año. Aunque es más común en meses fríos, esto no significa que los aumentos en su prevalencia sean comunes en estos meses. En Costa Rica, donde la temperatura es cercana a los 20° y constante durante todo el año, el aumento de la prevalencia ocurre en los meses más secos (Diciembre a Febrero) para continuar excretándose a lo largo del año. La prevalencia de RV está asociada a épocas de invierno en países estacionales, pero no en países ecuatoriales (Zinsser 1994), por lo cual el tiempo de muestreo no tuvo influencia en los resultados obtenidos.

Se ha documentado acerca del daño que causa el cloro en altas concentraciones durante el proceso de desinfección debido al deterioro de las proteínas de la cápside externa de RV, incrementando la susceptibilidad del virus a otros factores presentes en el agua. Se ha demostrado que a pH de 6, los RV son más fácilmente inactivados a concentraciones bajas de cloro (Vaughn, 1986). Entre los principales factores que afectan la desinfección por cloro se encuentran el pH (Pancorbo et al., 1987), el tipo de exposición y el tipo de virus. Pesavento et al (2005) encontraron que la proteína VP4 se ve afectada por un cambio conformacional a pH mayores de 7; además, que cuando el pH se incrementa, la capacidad infectiva se reduce porque influyen en la agregación viral permitiendo que las partículas sean expuestas a otros factores presentes en el agua facilitando su inactivación (Pancorbo et al., 1987); lo que descartaría la inactivación por pH, ya que las mediciones realizadas durante el muestreo indican que el pH se mantuvo cercano a 6.

En estudios realizados por Martínez y Orozco (2001) en la planta de potabilización del municipio de Facatativa se demostró que el ion ferrico no se oxida completamente en el proceso de preoxidación. Muchos iones metálicos (como el ion ferrico) pueden inactivar al virus por daños sobre proteínas o ácidos nucleicos, disminuyendo la estabilidad de la proteína y aumentando la susceptibilidad del virus (Abad et al., 1994).

Aunque se ha documentado acerca de la capacidad de RV de sobrevivir cerca de 2 meses y medio a temperatura tropical cercana a los 30°C (Fischer et al., 2002), no se tiene evidencia de que RV permanezca estable en aguas durante largos periodos de tiempo. Es por esto que aunque se ha determinado la presencia de RV en diferentes fuentes de agua, el factor fundamental en los resultados obtenidos pudo haber sido la formación de agregados por parte del virus con los sólidos suspendidos, debido a la capacidad de las partículas virales de adherirse a sólidos orgánicos e inorgánicos presentes en el agua (Schwab y Sorber 1976), los cuáles son retirados en el proceso de floculación.

La concentración de las partículas virales en las muestras de agua recolectadas fue un factor determinante en los resultados, debido a que la sensibilidad de la técnica utilizada ELISA es de  $10^4$  (Martin. y Follet 1987), lo que indicaría que los resultados obtenidos en este estudio no concluirían la ausencia de las partículas virales en el agua analizada, sino una concentración menor a la detectada mediante esta técnica.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se determinó que durante el periodo muestreado comprendido entre Marzo y Mayo del 2005, el agua del municipio no contenía Rotavirus Grupo A en cantidades iguales o superiores a  $10^4$  que pudieran ser detectadas mediante la técnica de ELISA, con lo cual no se puede concluir que el agua del municipio no representa un vehículo de transmisión de este virus. Se recomienda continuar realizando un seguimiento a la calidad del agua suministrada a la población como ayuda en el sistema de vigilancia epidemiológica.

## **7. Conclusiones**

- En el periodo comprendido entre Marzo y Mayo del año 2005, no se observó la presencia de Rotavirus grupo A en concentraciones iguales o mayores que  $10^4$  en el agua del municipio de Facatativa.
- Los resultados obtenidos demuestran posibles daños en la estructura viral lo que dificultó la detección de la proteína VP6 del Rv grupo A mediante la técnica de ELISA.

## **8. Recomendaciones**

A partir de los resultados obtenidos en este estudio, se hace necesario un seguimiento del comportamiento de estas partículas virales durante periodos más amplios de tiempo, para garantizar que esta no represente un riesgo potencial de infección a los consumidores; siguiendo las recomendaciones proporcionadas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en su documento sobre la vigilancia epidemiológica de la diarrea causada por Rotavirus.

## 9. Referencias

- Abad, F; Pintó, R y Bosch, A.1994. Survival of enteric viruses on environmental fomites. *Appl Environ Microbiol.* 60 (10): 3704 - 3710.
- Abbaszadegan, M. et al. Hasan, M; Gerba, C; Roessler, P; Wilson, B, Kuennen R y Van Dellen E. 1997. The infection efficacy of a point-of-use water treatment system against bacterial, viral and protozoan waterborne pathogens. *Wat Res.* Vol. 31, N° 3 pp 574-587
- Abbaszadegan, M; Stewart, P; and LeChevallier, M. 1999. A strategy for detection of viruses in groundwater by PCR. *Appl. Environm. Microbiol* 65:444-449.
- Abbaszadegan, M; Drees, K; and Maier, R. 2003 Comparative electrochemical inactivation of bacteria and bacteriophage. *Wat. Res.* 37, 2291-2300
- Ali, M; Al-Herrawy, A and El-Hawaary, S. 2004. Detection of enteric viruses, Giardia and Cryptosporidium in two different types of drinking water treatment facilities. *Water Res.* 38: 3931-3939
- Blacklow, N. R. and Greenberg, H.B. 1991 Viral gastroenteritis. Department of Medicine, University of Massachusetts Medical School, Volume 325:252-264. July 25, 1991. Number 4
- Bluff, S; Kirkwood, C; Parreno, V and Warfield, K. 2003. Rotavirus antigenaemia and viraemia: A common event. *The Lancet* **362**: 1445
- Borchardt, M., Bertz, P., Spencer, S. and Batigelli, A. 2002. Incidence of enteric viruses in groundwater from household wells in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 1172 - 1180.
- Borchardt, M.; Haas, N. y Hunt, R. 2004. Vulnerability of drinking-water wells in La Crosse, Wisconsin, to enteric-virus contamination from surface water contributions. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**: 5937 – 5946.
- Bosch, A. 1998. Human enteric viruses in the water environment: a minireview. *Internatl Microbiol.* **1**: 191 – 196.
- Brassard, J; Seyer, K; Houde, A; Simard, C; and Trottier, Y. 2005. Concentration and Detection of Hepatitis a virus and Rotavirus in spring water samples by RT-PCR. *Journal of Virol Methods.* 123: 163-165.
- Broor, S; Ghosh, D and Mathur, P. 2003. Molecular epidemiology of Rotaviruses in India. *Indian Journal of Medical Research.* **118**: 59



- Burkhardt III. W; Calci, K; Watkins, W; Rippey, S and Chirtel, S. 2000. Inactivation of Indicator microorganisms in stuarine water. *Water Res.* Vol 34. 2207-2214
- Caballero, S; Abad, F; Loisy, F; Le Guyader, F; Cohen, J; Pintó, R and Bosch, A. 2004. Rotavirus-like particles as surrogates in environmental persistence and Inactivation studies. *Appl Environ. Microbiol.* **70**: 3904-3909.
- Cardenas, M; Guerrero, A. 2000. Determinación y cuantificación de Bacteriófagos como indicadores de contaminación viral en el río Bogotá. Tesis de Pregrado. Pontificia Universidad Javeriana.
- Chang, L; Farrah, R y Bitton, G. 1981. Positively charged filters for recovery from wastewater treatment plant effluents. *Appl. Environ. Microbiol.* **42**: 921 – 924.
- Chaparro, A; Matiz, A, Mercado, M; Trespalacios, A; Ajami, N y Gutierrez, M. 2004. Estimación de la prevalencia de Rotavirus A en población infantil de Facatativa Cundinamarca de enero a diciembre del 2002. *Universitas Scientarum.* Vol 9, 15-22
- Cepeda, S. y Hassidoff, K. 1998. Relación de la presencia de Rotavirus con la temperatura y humedad en muestras diarreas de niños menores de 5 años en Bogotá. Tesis de pregrado. Pontificia Universidad Javeriana.
- Dahling D. 1991. Detection and enumeration of enteric viruses in cell culture. *Rev. Environ. Control.* 21, pp. 237-263.
- Deetz, T. et al. 1984. Ocurrente of Rotaviruses and Enteroviruses in drinking and environmental water in a developing nation. *Water Res.* 18: 567-572.
- Dossetor, J. 1989. Rotavirus gastroenteritis in northern Nigeria. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene.* 73 (1):115-116
- Eaton, D; Clesceri, L and Greenberg, A.1995. Detection of Enteric viruses in standard Methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association on line.
- Ehlers, M; Grabow, W; and Pavlov, D. 2005. Detection of Enteroviruses in untreated and treated drinking water supplies in South Africa. *Water Res.* 39: 2253-2258.
- Espigares, M. 2006. Virus en Aguas de Consumo. *Hig. Sanid. Ambient.* **6**: 173-189
- Farra, S; Goyal, S; Yerba, C; Wallis, C y Melnick, J. 1977. Concentration of enteroviruses from estuarine water. **33**: 1192 – 1196.
- Farrah, S; and Preston, D. 1985. Concentration of viruses from water by using cellulose filters modified by In situ Precipitation of Ferric and Aluminium hydroxides. *Appl. Environm. Microbiol.* 50:1502-1504.

- Fischer, T; Valentiner-Branthe, P; Steinsland, H and Perch, M. 2002. Protective immunity after natural rotavirus infection: A community cohort study of Newborn Children in Guinea-Bissau, West Africa. *Journal of Infec Diseases*. **186**: 593-598
- Gentile, A. et al .2006. Gastroenteritis por rotavirus y su prevención. *Arch Argent Pediatr* 2006; 104(6):554-559 / 554. Comité Nacional de Infectología.
- Gerba , C; Rose, C and Haas, C., 1996. Proceedings of the waterTech. *Water Sci. Technol.* 40: 254-260
- Gilgen, M; Germann, D; Luthy, J y Hubner, P. 1997. Three step isolation method for sensitive detection of enterovirus, rotavirus, hepatitis A virus, and small round structured viruses in water samples. *International Journal of Food Microbiology* 37:189-199
- Giordano, M., Basnec, S., Nates, F. Bennun, A. 1999. Rapid techniques for diagnostic and epidemiological studies of rotavirus infection. *J. Virol. Methods*. **35**: 59 - 63.
- Gonzales, M. y Torres, L. 1994. Prevalencia de Grasas asociadas a diarrea producida por Rotavirus. Tesis de Pregrado. Pontificia Universidad Javeriana.
- Gonzalez, C, Agudelo, C; Gomez, L; Franco, G; Carmona, M; Guzmán, L; Calderón, C y Gomez, L. 1992. El agua: un recurso invaluable. Ministerio de Salud de Colombia. 1° edición.
- Grabow, W. 1997. Hepatitis viruses in water risk and control. *Water S.A.* 23:379-386
- Gratacap-Cavallier, B; Genoulaz, O; Brengel-Pesce, K; Soule, H; Innocenti-Francillard, P; Bost, M; Gofiti, L; Zmirou, D and Seigneurin, M. 2000. Detection of human and animal Rotavirus sequences in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**:2690-2692
- Gray, N.F. 1994. Calidad del agua potable. Problemas y soluciones. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Gray, J and Desselber, U. 2000. Rotaviruses: Methods and protocols. Ed. Humana, Totowa, New Jersey, USA. pp 1-8, 126, 190.
- Gutierrez M., Serrano, P., Vanegas, C., Macias, A, Riaño, M. (2000). Efecto de las variaciones climáticas en la gastroenteritis causada por Rotavirus y Adenovirus en niños menores de 4 años en Santafé de Bogotá entre Junio de 1996 y Junio de 1998. *Medicas UIS* **14**: 24-29.
- Gutiérrez M.F., Delfina, U.; Matiz, A.; Puello, M.; Mercado M., Parra, M.; Ajami, N. 2005. Comportamiento de la diarrea causada por virus y bacterias en regiones cercanas a la zona ecuatorial. *Colomb. Med.* 2005; Supl.(3) : 6-14

- Gutierrez, M; Matiz, A; Trespalacios, A; Parra, M; Riaño, M y Mercado, M. 2006. Virus diversity of acute diarrhea in tropical highlands. *Rev. Latinoam. de Microbiol* 48 (1), 17-23
- Gupta, A y Chaudhuri, M. Enteric virus removal/ inactivation by coal-based media. 1995. *Wat Res.* Vol 29 N° 2 pp 511-516
- Hot, D; Legeany, D; Jacques, J; Gantzer, C; Caudrelier, V; Guyard, K; Lague, M; and Andréoletti, L. 2003. Detection of somatic phages, infectious Enteroviruses and enterovirus genomes as indicators of Human enteric viral pollution in surface water. *Water Res.* 37: 4703-4710.
- Ijzerman, M; Dahling, R; and Fout, G. 1997. A method to remove environmental inhibitors prior to the detection of waterborne enteric virus by reverse- Transcription polymerase chain reaction. *J. Virol methods.* 63:145-153
- Kapikian, A. y Chonock, R. 1990). *Viral gastroenteritis* in: Evans, A. S. (Ed). *Viral infections in humans.* Plenum MedicalBook Co. New York, pp293-340
- Keswick, B. 1983. Survival of enteric viruses adsorbed on electropositive filters. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**: 501 – 502.
- Kittigul, L; Khamoun, P; Sujirarat, D; Utrarachkij, F; Chitpirum, K; Chaichantanakit, N and Vathanophas, K. 2001. An improved method for concentrating Rotavirus from water samples. *Mem. Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* **96**: 1-7
- Mandel, G. 1991. Rotavirus en: *Enfermedades infecciosas.* Editorial Médica Panamericana. Buenos aires. 1301-1380
- Martin, A., and Follett. E. 1987. An assessment of the sensitivity of three methods for the detection of rotavirus. *J. Virol. Methods.* **16**: 39-44
- Martinez, C. 2001. Optimización de los procesos físico-químicos empleados en la potabilización del agua para una planta de tratamiento convencional. Trabajo de Investigación. Facatativá, Cundinamarca.
- Martinez, E. 2002. Determinación de Rotavirus en las fuentes de aguas superficiales, subterráneas y en la planta potabilizadora del municipio de Facatativa. Pontificia Universidad Javeriana.
- Maunula, L; Miettinen, I y von Bonsdorff; I. 2003. Norovirus Outbreaks from Drinking Water. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 11, No. 11,
- Mehnert, D y Stewien, K. 1993 detection and distribution of Rotavirus in raw sewage and creeks in Sao Paulo, Brasil. *Appl. Environment. Microbiol.* 59:140-143
- Mestre, M. 2001. Micro y Ultrafiltración Tangencial: Técnicas para la Minimización de Residuos. Colaboración Técnica No. 1. Asercorp On-Line.

- Metcalf, T; Melnick, J; and Estes, M. 1995. Environmental. Virology: From detection of viruses in sewage and water by isolation to identification by molecular biology; a trip of over 50 years. *Ann Rev. Microbiol.* 49:461-487 □ Ministerio de Salud de Costa Rica. 2005. Lineamientos para la vigilancia y manejo Clínico de la enfermedad diarreica por rotavirus. pp. 1 – 9.
- Olszewski, J; Winona, L and Oshima, K. 2005. Comparison of Two Ultrafiltration systems for the concentration of seeded viruses from environmental waters. *Canadian Journal of Microbiology* 51:295-303
- OMS, 1995. Guías para la calidad del agua potable. Segunda edición Vol. 3: vigilancia y control de los abastecimientos de agua a la comunidad.
- OPS, 2007. Rotavirus: vigilancia de las diarreas e introducción de la vacuna.
- Panikelc, M; Mathews, S and Mathan M. Rotavirus and acute diarrhea disease in children in a southern Indian coastal town. *Bull Who* 60:123-125
- Payment, P. Poor efficacy of residual chlorine disinfectant in drinking water to inactivate waterborne pathogens in distributions systems. 1999. *Can J. Microbiol.* 45, 709-715
- Querioz, A; Santos, F; Sassaroli, A; Hársi, C; Monezi, T and Mehnert, D. 2001. Electropositive filter Membrane as an Alternative for the Elimination of PCR inhibitors from sewage and water samples. *Appl Environ. Microbiol* 67: 4614-4618
- Rivera, M; Vial, P; Potin, M; Prado, P; Amarales, P; O`Ryan, M; Ferrés, M; Abarca, K y Montiel, F. 1995. Evaluación de cuatro métodos para detección de Rotavirus en deposiciones de niños chilenos. *Rev. Chil. Pediatr.* 66 (3), 150-155
- Rose, J. 1990. The occurrence and control of *Cryptosporidium*. *Drinking Wat. Microbiol.* 24: 331-346
- Sair, A; D`Souza, D, Jaykus, L. 2002 human enteric viruses as causes of foodborne diseases. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety*1, 73-89
- Schaub, S. Y Sorber, C. 1976. Viruses in water. Chapter 9: Viruses on solids in water. *American Public Health Association.* Washington, D.C. pp. 128 – 139.
- Shieh, Y; Wait, D; Tai, L; and Sobsey, M. 1995. Methods to remove inhibitors in sewage and other fecal wastes for Enteroviruses detection by the PCR. *J Virol. Methods.* 54:51-66
- Smith, E y Gerba, C. 1982. Development of a Method for Detection of Human Rotavirus in Water and Sewage. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 1440 – 1450.
- Smith, J. 2001. A review of Hepatitis E virus. *Journal Food Protection.* 64:2145-2149.

- Sobsey, M. y Glass, S. 1984. Influence of water quality on enteric virus concentration by microporous filter methods. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**: 956 – 960.
- Spelman, F; Drinan, J. 2004. Manual del agua potable. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Vaughn, J.; Chen, Y. Y Thomas, M. 1986. Inactivation of human and simian rotaviruses by chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.* **51**: 391 – 394.
- Villena, C. 2001. vigilancia ambiental molecular de Rotavirus grupo A en humanos. Tesis doctoral. Departamento de microbiología. Universidad de Barcelona.
- Voorthuizen, E; Ashbolt, N and Schaefer, A. 2001. Role of hydrophobic and electrostatic interactions for initial enteric virus retention by MF membranes. *Journal of Membrane Science* 194: 69-79
- Ward, R. Knowlton, D y Winston, P. 1986. Mechanims of inactivation of enteric viruses in fresh water. *Appl. Environ. Microbiol.* **52**: 450 – 459.
- Weber, W. 1980. Control de la calidad del agua. Procesos físico – químicos. Editorial Reverté. S.A. Barcelona, España. pp. 344 – 350.
- Winona, L; Ommani, A; Olszewsky, J; Nuzzo, B and Oshima. 2001. Efficient and predicatble recovery of viruses from water by small scale ultrafiltration systems. *Canadian Journal of Microbiology.* **147**: 1033-1042
- Woessner, W; Ball, P; DeBrode, C; and Troy, T. 2001. Viral transport in a sand and gravel aquifer under field pumping conditions *Ground water.* 39:886-894.
- Zinsser, H. 1994. Microbiología. 20 Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 125-139

En Internet.

1. <http://www.facatativa.gov.co/facatativa-4.htm>