

EDITORIAL

Edith Mariela Burbano Rosero 

Bióloga con énfasis en microbiología industrial-Universidad de Nariño

Magistra en Microbiología-Pontificia Universidad Javeriana

Doctora en Ciencias-Universidade de São Paulo

Colifagos, indicadores virales de riesgo en la gestión del agua, el saneamiento y la seguridad

El agua es un recurso natural, limitado e insustituible, que, si es bien gestionado, funciona como recurso renovable. En la actualidad, debido a la reciente pandemia, se colocó de manifiesto la importancia vital del saneamiento, de la higiene y del acceso adecuado al agua limpia. Desde este punto de vista se aprecia lo inmensurable de este elemento, imprescindible para la preservación de la vida, los ecosistemas, la diversidad del planeta y para el bienestar y la salud de la población (1,2).

Si bien es cierto que se ha progresado de manera sustancial en la ampliación del acceso a agua potable y saneamiento, existen miles de millones de personas (principalmente en áreas rurales) que aún carecen de estos servicios básicos. En todo el mundo, según datos preocupantes publicados por la ONU en su página web (3), una de cada tres personas no tiene acceso a agua potable salubre, dos de cada cinco personas no disponen de una instalación básica. Aproximadamente, 1700 millones de personas viven en cuencas fluviales en las que el consumo de agua supera la recarga, más de 892 millones de personas defecan al aire libre o en efluentes hídricos, cerca del 80% de las aguas residuales resultantes de actividades humanas se vierten en los ríos o el mar sin ningún tratamiento, lo que provoca su contaminación. Adicionalmente, se estima que alrededor del 70% de todas las aguas extraídas de los ríos, lagos y acuíferos se utilizan para el riego y cada día, en promedio, 1000 niños mueren debido a enfermedades diarreicas asociadas a la falta de higiene.

También es conocido que, en el último siglo, la demanda de agua a nivel mundial ha aumentado debido a la alta tasa de crecimiento demográfico, al cambio climático y a los fenómenos meteorológicos extremos, como sequías e inundaciones que cada vez son originados con más frecuencia (4). Se espera que para el 2030, 700 millones de personas sean desplazadas por una escasez intensa de agua.

Además, la contaminación del agua prolifera cada día, consecuencia directa de las aguas residuales industriales, de las prácticas agrícolas y de la inadecuada eliminación de desechos humanos. Según el Banco Mundial, el mundo enfrenta una crisis en la calidad del agua que disminuye en un tercio el potencial de crecimiento económico en zonas altamente contaminadas y pone en peligro el bienestar humano y ambiental (4).

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, la ONU resalta la importancia del recurso hídrico, por ello propuso un objetivo global: "Asegurar agua para todos de forma sostenible" (5). El agua puede suponer un serio desafío para el desarrollo sostenible, pero, gestionada de manera eficiente y equitativa, el agua puede jugar un papel facilitador clave en el fortalecimiento de la resiliencia de los sistemas sociales, económicos y ambientales a la luz de unos cambios rápidos e imprevisibles (6).

En el año 2010, la Asamblea General de las Naciones Unidas reconoció que el acceso al agua potable y al saneamiento es un derecho humano, además pidió que se realizarán esfuerzos internacionales para ayudar a los países a proporcionar agua potable e instalaciones de saneamiento salubres, limpias y accesibles. De la misma manera es muy importante conocer el grado de riesgo actual al cual está expuesta la población y así empezar a trabajar en acciones sobre la base del conocimiento generado.

Una de las mayores atenciones es conocer sobre las enfermedades transmitidas o relacionadas con el agua, las cuales se adquieren a través de la exposición directa o indirecta al agua contaminada con agentes patógenos. Principalmente sucede cuando se utiliza el agua en la preparación de alimentos, el riego a los cultivos o la salpicadura en el uso recreativo. Muy a menudo la vía de transmisión es fecal-oral y las principales consecuencias inmediatas se relacionan con la diarrea, que implica deposiciones excesivas, las cuales pueden resultar en la deshidratación y posiblemente la muerte (7).

Según Forstinus et al. (2016) (8), la contaminación fecal del agua potable puede ser esporádica y el grado de contaminación puede ser bajo o fluctuar ampliamente. En comunidades donde los niveles de contaminación son bajos, los suministros pueden no conllevar riesgos mortales. Sin embargo, cuando los niveles de contaminación son altos, los consumidores (especialmente los visitantes, niños, ancianos y los que padecen enfermedades relacionadas con la inmunodeficiencia) pueden correr un riesgo significativo de infección. Las enfermedades transmitidas por el agua pueden ser causadas por bacterias, virus, protozoos y parásitos intestinales. Algunos de los organismos más comunes en

el brote de enfermedades transmitidas por el agua incluyen cólera, disentería amebiana, disentería bacilar (shigelosis), criptosporidiosis, fiebre tifoidea, salmonelosis, enteritis por campilobacterias, diarrea por hepatitis, diarrea por *E. coli*, leptospirosis y poliomielitis, entre otras.

Todos los seres vivos necesitan agua a una calidad adecuada para su supervivencia, por esta razón debe ser preocupación general de las personas y especialmente de las entidades ambientales y de salud, el seguimiento y buen mantenimiento de los recursos hídricos. La calidad del agua es un modo de definir la riqueza biológica y el valor ambiental de las comunidades de seres vivos asociados al ecosistema, por consiguiente, determinar el tipo de microorganismos presentes en el agua, su concentración y sus características proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad de la misma y para la toma de decisiones con relación al control de vertimientos, tratamiento y conservación de ecosistemas, evitando así el riesgo de contaminación de las personas y el ambiente (9,10).

Según la Organización Mundial de la Salud (2022) (11), el desconocimiento del riesgo de fuentes hídricas contaminadas, los servicios de agua y saneamiento inexistentes, insuficientes o gestionados de forma inapropiada, exponen a la población a riesgos que pueden ser prevenibles para su salud.

Existe una gran dificultad para determinar la presencia de todos los microorganismos patógenos involucrados en los procesos de contaminación ambiental. Dicha determinación implica costos elevados, tiempo y laboratorios especializados. Frente a estas dificultades y a la necesidad de hacer una evaluación rápida y fiable de la presencia de patógenos en el agua, se ha planteado la necesidad de trabajar con determinados grupos indicadores. Uno de estos grupos que están en mayor frecuencia en el agua son las bacterias, dentro de los más usados por las entidades ambientales están los microorganismos coliformes debido a su detección rápida y sencilla; estos son contaminantes comunes del trato gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente. Todos pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulantes, fermentadores de lactosa con producción de gas; constituyen aproximadamente el 10 % de los microorganismos intestinales de los seres humanos y de otros animales (9). La detección de coliformes en el agua indica la contaminación bacteriana reciente y constituye un indicador de degradación de los cuerpos de agua. Sin embargo, diversos estudios demuestran limitaciones asociadas con la aplicación de estas bacterias como indicadores, como es su escasa supervivencia en cuerpos de agua y fuentes no fecales, su habilidad para multiplicarse después de su liberación en una columna

de agua y debilidad frente a los procesos de desinfección, entre otras. Por esta razón entran en juego bioindicadores alternativos como los virus bacterianos (bacteriófagos) (9, 10, 12).

Las entidades ambientales ocasionalmente realizan pruebas rutinarias de análisis para hacer control sobre la calidad de agua. Estas básicamente consisten en evaluar la presencia/ausencia de coliformes y coliformes termo-tolerantes (*E. coli* principalmente). Sin embargo, se requieren análisis más detallados sobre los bioindicadores, de modo que se pueda conocer el grado de amenaza real y adicionalmente evaluar otros indicadores estables e importantes, tales como los colifagos que tienen un marcado efecto sobre la dinámica de las bacterias patógenas (13).

Basado en el contexto del problema de carencia de aplicación de bioindicadores eficientes, recientemente, se han incluido dos grupos de colifagos en diferentes políticas de gestión del agua como indicadores de contaminación fecal viral en agua y alimentos: los colifagos somáticos (CS), que infectan a *E. coli* a través de los receptores de la pared celular, y los colifagos F-específicos (CF-específicos), que infectan a la bacteria a través del pili sexual. Los CS son más abundantes en aguas contaminadas con heces, excepto en aguas recuperadas, aquellas desinfectadas por radiación ultravioleta y algunas muestras de aguas subterráneas que muestran un nivel más alto de CF-específicos. Los CS son morfológicamente similares a los virus entéricos de ADN, mientras que los CF-específicos son similares a los virus de ARN como el norovirus y los virus de la hepatitis A, que son los patógenos virales de interés en las aguas residuales. Para el recuento de colifagos totales se ha propuesto el uso de cepas sensibles a ambos tipos de fagos, evitando así el doble análisis. Los métodos estandarizados disponibles para la detección de colifagos son robustos y rentables, pero la introducción de métodos listos para usar facilitaría la implementación de rutina en los laboratorios. La herramienta disponible más rápida para la enumeración de CS es el *Bluephage* desarrollado en el año 2020, el cual utiliza una cepa de *E. coli* modificada que sobreexpresa β -glucuronido incapaz de absorber el sustrato de glucuronido. La enzima sobreexpresada se acumula dentro de las células bacterianas hasta que se libera por lisis celular inducida por fagos, momento en el que encuentra su sustrato y el medio cambia de amarillo a azul (14).

Los métodos de detección uso frecuente utilizan bacterias indicadoras fecales (BIF) para evaluar la contaminación fecal en aguas recreativas. Sin embargo, se ha demostrado que los virus entéricos son más persistentes en el medio ambiente y resistentes al tratamiento de aguas residuales que las bacterias.

Recientemente, la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. ha propuesto el uso de CS como indicadores virales para proteger mejor contra los brotes virales transmitidos por el agua. Un estudio realizado por Cooksey y colaboradores en el año 2019 (15) tuvo como objetivo detectar y determinar la correlación entre BIF, enterococos, coliformes y virus entéricos humanos (adenovirus humano) en un lago de estuario salobre subtropical. Se recolectaron muestras de agua de 9 sitios recreativos estuarinos en el lago Pontchartrain en el sureste de Luisiana. Las muestras de agua ($n = 222$, recolectadas semanalmente) se analizaron en busca de colifagos y BIF mediante métodos basados en cultivos. Las muestras de agua ($n = 54$, recolectadas mensualmente) se analizaron en busca de adenovirus humano mediante PCR cuantitativa. Los CS y CF-específicos se encontraron en el 93,7 y el 65,2 % de las muestras con concentraciones medias geométricas de 30 y 3 unidades formadoras de placas (UFP) por 100 ml, respectivamente. Se encontraron enterococos, coliformes fecales y adenovirus en todas las muestras con concentraciones medias geométricas de 27 número más probable (MPN), 77 MPN y $3,0 \times 10^4$ copias de genes por 100 ml, respectivamente. Las cuencas hidrográficas en áreas suburbanas exhibieron concentraciones significativamente más altas de colifagos y BIF, lo que indica una posible contaminación fecal de los sistemas sépticos. No se observó correlación significativa ($p > 0,05$) entre la presencia de adenovirus y BIF. La presencia de adenovirus humanos en el lago Pontchartrain plantea un importante problema de salud pública tanto para el uso recreativo como para la recolección de productos del mar, ya que aumenta los riesgos de exposición. Este estudio demostró la falta de relación entre las BIF y los patógenos virales humanos en el lago Pontchartrain, lo que respalda un sistema alternativo de vigilancia microbiana, como la detección directa de patógenos y el uso de bioindicadores como los colifagos.

Para Colombia, la legislación aún no incluye el uso de colifagos en el análisis de la calidad de agua. La regulación existente está dada conjuntamente por el Ministerio de Protección Social y el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial a través de la resolución 2115 de 2007, donde se señalan las características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad de agua. El análisis se enfoca en la determinación de las características físicas, químicas y microbiológicas, dentro de estas últimas los indicadores incluidos son: coliformes y *E. coli* (0 UFC/100 mL), adicionalmente se incluye a *Giardia* y a *Cryptosporidium*. En otros países, para el análisis de colifagos varios estudios utilizan los protocolos de *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, AWWA) debido a su amplia aplicabilidad, reproducibilidad y su uso en normativas internacionales.

En 2014 el Gobierno de Colombia a través del decreto 1287 introduce el análisis de CS únicamente para biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales como una alternativa al indicador de virus entéricos, en este sentido, se establece que el valor de CS para biosólidos categoría A deberá ser menor a 5.00 E (+4) UFC por gramo de biosólido (base seca).

La investigación realizada por Cooksey y colaboradores en el año 2019 (16), constata que los indicadores bacterianos convencionales presentan serios inconvenientes para dar información sobre la persistencia de patógenos virales durante los tratamientos de higienización. Esto exige la búsqueda de indicadores virales alternativos. En este estudio, la capacidad de los CS para actuar como sustitutos de los enterovirus se evaluó en 47 muestras de lodo sometidas a nuevos procesos de tratamiento. Se monitorearon CS, enterovirus infecciosos y copias del genoma de enterovirus. Solo los CS, estuvieron presentes en el lodo en concentraciones que permitieron evaluar el desempeño del tratamiento. Se encontró una relación indicador/patógeno de 4 log₁₀ (UFP/g) entre CS y enterovirus infecciosos y se evaluó su precisión de detección. Los resultados obtenidos y la existencia de métodos rápidos y estandarizados favorecen la inclusión de la cuantificación de CS en futuros lineamientos para su detección.

Los CS y CF-específicos están ganando terreno como indicadores de contaminación fecal/viral. Las guías y regulaciones a nivel mundial para monitorear agua, biosólidos y alimentos los están incluyendo como parámetros para evaluar la calidad y la eficiencia del tratamiento. Organismos como la Organización Internacional de Normalización (ISO) y la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. (USEPA) han lanzado métodos sólidos para detectar y cuantificar ambos grupos de fagos en muestras de agua. Aunque estos métodos han demostrado ser fácilmente implementables en los laboratorios de microbiología de rutina, los protocolos más rápidos y fáciles de usar serán muy bienvenidos si la detección de colifagos se vuelve rutinaria en el análisis de la calidad del agua.

A nivel internacional existen protocolos estandarizados para la detección de CS, como las normas: 9211 D APHA (1995), 9224 C y 9224 E APHA (2005), 1601 y 1602 US EPA (2001) y el método ISO 10705-2 (1999). Sobre la base de estos protocolos, algunos países en el mundo han relacionado investigaciones de CS en Guías para calidad de aguas recreacionales y aguas recuperadas. Canadá (2012) *Guidelines for Canadian Recreational Water Quality (Third edition 2012)*, incluye datos de estudios sobre la relación de los niveles del indicador CS con enfermedades gastrointestinales, el valor propuesto a partir del cual se encuentra relación es de 10 UFP/100 mL. Austria (2008) *Guidelines for Ma-*

naging Risks in Recreational Water (Emerging interest), estipula que la concentración de organismos indicadores en aguas residuales sin tratar es de $10^5 - 10^7$ UFP/100 mL de CS; Estados Unidos (2015), en la guía de *Coliphages as possible indicators of fecal contamination for ambient water quality*, EPA 820-R-15-098 de aguas recreacionales, relacionan que niveles entre 10 y 150 UFP/ 100 mL no producen efectos adversos en la salud (*NOAEL, no observed adverse effect level*), para aguas residuales recuperadas se puntualiza como máximo permisible la media geométrica mensual de CS menor o igual a 5 UFP/100 mL y un nivel máximo diario de CS de 25 UFP/100 mL.

Se ha demostrado a través de diversas investigaciones la importancia de los colifagos como bioindicadores, existe una variedad de mecanismos mediante los cuales estos virus pueden modificar los ecosistemas, la mayoría de estos mecanismos están mediados por la infección a las bacterias. Los colifagos contribuyen al incremento de la diversidad bacteriana ya que pueden mediar el intercambio genético entre bacterias en ambientes acuáticos a través de transducción o liberación de ADN (ácido desoxirribonucleico). En este intercambio genético muy probablemente se puede generar la incorporación de genes asociados a islas de patogenicidad que terminarán facilitando la contaminación de los seres humanos y diversas especies animales, provocando infecciones severas (17, 18, 19, 20, 21).

Blanch y colaboradores (2020) (22), proporcionan en su trabajo una descripción general de los nuevos enfoques que buscan facilitar la detección de colifagos infecciosos incluidos en las pautas y regulaciones. Las mejoras logradas sugieren que en un futuro cercano estarán disponibles kits optimizados capaces de proporcionar resultados en unas pocas horas a costos muy razonables. También se analiza brevemente el potencial de los procedimientos y métodos moleculares basados en sensores microelectrónicos.

Las pautas y regulaciones emergentes sobre la calidad del agua requieren la ausencia de CS en 100 ml de agua, pero la eficiencia de los métodos estandarizados para analizar este volumen de muestra es cuestionable. La metodología de *Bluephage*, que utiliza una cepa hospedera de *E. coli* modificada, supera algunas de las limitaciones metodológicas de los métodos estandarizados. En un máximo de 6,5 horas (2,5 horas para el precultivo de la cepa hospedera y 4 horas para la prueba de presencia/ ausencia), se permite la detección directa de una unidad formadora de placa (UFP) en una muestra de agua de 100 ml. La prueba muestra altos niveles de especificidad para los CS y una precisión comparable con los métodos estandarizados (14).

Se resalta también que este método utiliza la cepa CB12 de *E. coli*, sensible a CS y CF-específicos. El enfoque de Bluephage es una estrategia se puede aplicar para obtener resultados cualitativos y cuantitativos y es aplicable tanto a microplacas como a grandes volúmenes de muestra (100 ml). Además, puede proporcionar monitoreo de masas de agua en tiempo real, como por ejemplo para el monitoreo ambiental de playas recreativas o cuerpos hídricos de importancia turística y de sustento productivo (23).

En la última década, los colifagos se han incluido en muchas normas de calidad del agua como indicadores fecales virales. Sin embargo, los métodos estandarizados utilizados para detectar y cuantificar colifagos difieren en las cepas bacterianas hospederas, los medios de cultivo y las técnicas. En un estudio comparativo realizado por Pascual-Benito (2022), se analizaron muestras de 100 ml de agua mineral potable, agua de río y aguas residuales con los métodos estándar de la Organización Internacional de Normalización (ISO), con métodos basados en la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (U.S. EPA), así como con kits comerciales que combinan un ensayo de una sola capa de agar (SAL) con cepas hospederas bacterianas ISO. Los tres métodos dieron recuentos similares (valor $p > 0,05$) para CS y totales en las matrices con menos de 100 UFP/100 ml, mientras que para los CF-específicos, el método de la EPA de EE. UU. proporcionó números más bajos estadísticamente significativos (valor $p < 0,05$) que los otros dos protocolos, posiblemente porque utiliza una cepa hospedera diferente (*Escherichia coli* HS (*pFamp*) R frente a la cepa ISO *Salmonella enterica serovar Typhimurium* WG49). En muestras con más de 100 UFP/100 ml, el método ISO arrojó recuentos de CS más altos que los otros dos protocolos (valor $p < 0,05$). Dado que los tres métodos proporcionaron resultados similares en agua limpia, el enfoque que combina un ensayo SAL con la cepa hospedera bacteriana ISO podría ser una opción útil para el análisis de colifagos en este tipo de muestra, ya que no requiere un paso de concentración (24).

Por otro lado, es importante resaltar que se están realizando estudios para observar la pertinencia del uso de los colifagos como indicadores de posible presencia del virus SARS-Cov2. Esto basándose en que en los dos últimos años se han descrito altas concentraciones de SARS-CoV-2 en aguas residuales y lodos, ejemplo de esto es una investigación realizada por Varbanov y colaboradores (2021) (25), donde compararon la resistencia del SARS-CoV-2 y CS a los principales factores de inactivación en los tratamientos de lodos (pH y temperatura). Los efectos del tratamiento térmico y el pH en la supervivencia del SARS-CoV-2 y los CS se investigaron en medios simples. El valor T90 (tiempo necesario para

una reducción del 90 % del virus o una disminución de $1 \times \log_{10}$ a 50 °C fue de unos 4 min para el SARS-CoV-2 infeccioso y de unos 133 min para los CS infecciosos. Para el SARS-CoV-2 infeccioso, se observó una ligera disminución ($<1 \log_{10}$ unidad) a pH 9 o 10 durante 10 min; la disminución fue de más de 5 unidades \log_{10} a pH 11. Sin embargo, tanto el genoma del SARS-CoV-2 como de los CS infecciosos disminuyeron menos de 1 unidad \log_{10} a pH 12. Todos los tratamientos térmicos o basados en el pH que pueden eliminar o reducir significativamente los CS ($>4 \log_{10}$) pueden considerarse tratamientos eficaces para el SARS-CoV-2 infeccioso. Se concluyó que los CS pueden considerarse indicadores altamente conservadores y fáciles de usar en la inactivación del SARS-CoV-2 durante tratamientos basados en calor y pH alcalino.

En una revisión realizada por Singh y Hassard (2022) (26), se evaluaron los tipos y fuentes de colifagos y su destino y comportamiento en las fuentes de agua y en los sistemas de tratamiento. Los CS y CF-específicos abundan en las fuentes de agua potable y se utilizan como indicadores de contaminación fecal. La abundancia de colifagos no se correlaciona consistentemente con la abundancia de virus entéricos humanos, pero refleja adecuadamente los riesgos de exposición a los virus entéricos humanos. Los colifagos tienen características superficiales muy variables con respecto a la morfología, el tamaño, la carga, el punto isoeléctrico y la hidrofobicidad, que en conjunto interactúan para regular las características de partición y eliminación durante el tratamiento del agua. Los grupos de CS y F-específicos son valiosos para investigar la eliminación del virus durante los pasos del tratamiento del agua y como indicadores para la evaluación de la calidad del agua viral. Los análisis de nivel de cepa brindan más información sobre fuentes específicas de contaminación viral, pero no son prácticos para el monitoreo de rutina. Aún no se han establecido vínculos consistentes entre las herramientas de monitoreo rápido en línea (p. ej., turbidez, contadores de partículas y citometría de flujo) y los fagos en el agua potable, pero se recomiendan como un área futura de actividad de investigación. Esto podría permitir el monitoreo en tiempo real de virus y mejorar la comprensión del proceso durante eventos operativos transitorios. También se analizan las emocionantes perspectivas futuras (27) para el uso de colifagos en la microbiología acuática en función de la evidencia científica actual y las necesidades prácticas.

Finalmente, es conveniente mencionar que existen poblaciones rurales que hacen uso de pozos para surtir la necesidad de agua. No obstante, estas fuentes no tienen un seguimiento continuo y permanente por parte de las entidades gubernamentales y de salud pública. En un estudio sobre la calidad

de agua de los pozos publicado en el año 2021 por Stallard y colaboradores (28), en Estados Unidos, se caracterizó la aparición de CS y CF-específicos, junto con BIF. Si bien las ocurrencias de *E. coli* fueron raras y la frecuencia de coliformes fue generalmente baja (~20 %), los CS y CF-específicos fueron detectables en el 66 % y el 54 % de las muestras, respectivamente. Las concentraciones de CF-específicos fueron mensualmente más altas que las de CS en cada condado. Las lluvias parecen estar influyendo en parte en las concentraciones más altas de colifagos en diciembre, enero y febrero. Esta investigación subraya la necesidad de una mayor vigilancia en los pozos y la consideración del uso de colifagos para caracterizar mejor la ocurrencia de contaminación fecal en el momento del muestreo, especialmente durante los meses más lluviosos.

Lo anteriormente expuesto, soporta el uso de los colifagos como indicadores de contaminación de las fuentes hídricas, de la misma manera se presenta el panorama de preocupación mundial por la afectación que estos cuerpos están sufriendo por causa de las diferentes intervenciones antropogénicas en sus diferentes manifestaciones (29, 30), ocasionando de forma directa enfermedades de vinculación hídrica, desbalance de los ecosistemas y escasez de agua en diferentes poblaciones.

Referencias

1. López Martínez ML, Madroñero Palacios SM. Estado trófico de un lago tropical de alta montaña: Caso Laguna de la Cocha. Cienc Ing Neogranadina [Internet]. 2015;25(2):21. Available from: <http://dx.doi.org/10.18359/rcin.1430>
2. Edmondson WT. MARGALEF, R. 1983. Limnología. Ediciones Omega, S.A., Barcelona. 1010 p. Limnol Oceanogr [Internet]. 1984;29(6):1349–1349. Available from: <http://dx.doi.org/10.4319/lo.1984.29.6.1349b>
3. Wwww.un.org. [cited 2023 Apr 25]. Available from: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/water-and-sanitation/>
4. Wwww.un.org. [cited 2023 Apr 25]. Available from: <https://www.un.org/es/climate-change/science/climate-issues/water>
5. ODS 6 Agua limpia y saneamiento [Internet]. Pacto Mundial. 2021 [cited 2023 Apr 25]. Available from: <https://www.pactomundial.org/ods/6-agua-limpia-y-saneamiento/>

6. Decenio Internacional para la Acción “El agua, fuente de vida” 2005-2015. Área temática: Agua y desarrollo sostenible. [cited 2023 Apr 25]; Available from: https://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/water_and_sustainable_development.shtml
7. Leclerc H, Schwartzbrod L, Dei-Cas E. Microbial agents associated with waterborne diseases. *Crit Rev Microbiol* [Internet]. 2002;28(4):371–409. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/1040-840291046768>
8. Forstinus N, Ikechukwu N, Emenike M, Christiana A. Water and waterborne diseases: A review. *Int J Trop Dis Health* [Internet]. 2016;12(4):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.9734/ijtdh/2016/21895>
9. Arcos Pulido MDP, Ávila de Navia MSC SL, Estupiñán Torres MSC SM, Gómez Prieto AC. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova* [Internet]. 2005;3(4):69. Available from: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.338>
10. Larrea JA, Rojas MM, Romeu B, Rojas M, Heydrich M. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC : Ciencias Biológicas*. 2013;44(3):24–34.
11. Agua para consumo humano [Internet]. Who.int. [cited 2023 Apr 25]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
12. Osmani M, Mali S, Hoxha B, Bekteshi L, Karamelo P, Gega N. Drinking water quality determination through the water pollution indicators, Elbasan district. University of Salento; 2019.
13. Uribe JP, Ministro R, Darío I, Ortiz G, Estrada A, Subdirectora De Salud E, et al. INFORME NACIONAL DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO – INCA 2017 [Internet]. Gov.co. [cited 2023 Apr 25]. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SA/calidad-del-agua-inca-2017.pdf>

14. Méndez J, Toribio-Avedillo D, Mangas-Casas R, Martínez-González J. Bluephage, a method for efficient detection of somatic coliphages in one hundred milliliter water samples. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):2977. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-60071-w>
15. Cooksey EM, Singh G, Scott LC, Aw TG. Detection of coliphages and human adenoviruses in a subtropical estuarine lake. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;649:1514–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.322>
16. Martín-Díaz J, Casas-Mangas R, García-Aljaro C, Blanch AR, Lucena F. Somatic coliphages as surrogates for enteroviruses in sludge hygienization treatments. *Water Sci Technol* [Internet]. 2016;73(9):2182–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.2166/wst.2016.066>
17. Abedon ST. Bacteriophage ecology: Population growth, evolution, and impact of bacterial viruses. Cambridge, England: Cambridge University Press; 2008.
18. Brezina SS, Baldini MD. Detection of somatic coliphages as indicators of faecal contamination in estuarine waters. *Rev Argent Microbiol*. 2008;40(1):72–4.
19. Campos C, Méndez J, Venegas C, Riaño LF, Castaño P, Leiton N, et al. Aptness of *Escherichia coli* host strain CB390 to detect total coliphages in Colombia. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):9246. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-45775-y>
20. Jackson EF, Jackson CR. Viruses in wetland ecosystems. *Freshw Biol* [Internet]. 2008;53(6):1214–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2427.2007.01929.x>
21. McMinn BR, Huff EM, Rhodes ER, Korajkic A. Concentration and quantification of somatic and F+ coliphages from recreational waters. *J Virol Methods* [Internet]. 2017;249:58–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.08.006>

22. Blanch AR, Lucena F, Muniesa M, Jofre J. Fast and easy methods for the detection of coliphages. *J Microbiol Methods* [Internet]. 2020;173(105940):105940. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105940>
23. Toribio-Avedillo D, Martín-Díaz J, Jofre J, Blanch AR, Muniesa M. New approach for the simultaneous detection of somatic coliphages and F-specific RNA coliphages as indicators of fecal pollution. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;655:263–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.198>
24. Pascual-Benito M, Jorba-Plassa A, Casas-Mangas R, Blanch AR, Martín-Díaz J. Comparison of methods for the enumeration of coliphages in 100 mL water samples. *Sci Total Environ* [Internet]. 2022;838(Pt 3):156381. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156381>
25. Varbanov M, Bertrand I, Philippot S, Retourney C, Gardette M, Hartard C, et al. Somatic coliphages are conservative indicators of SARS-CoV-2 inactivation during heat and alkaline pH treatments. *Sci Total Environ* [Internet]. 2021;797(149112):149112. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149112>
26. Singh S, Pitchers R, Hassard F. Coliphages as viral indicators of sanitary significance for drinking water. *Front Microbiol* [Internet]. 2022;13:941532. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.941532>
27. McCallin S, Sacher JC, Zheng J, Chan BK. Current state of compassionate phage therapy. *Viruses* [Internet]. 2019;11(4):343. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/v11040343>
28. Stallard MA, Mulhern R, Greenwood E, Franklin T, Engel LS, Fisher MB, et al. Occurrence of male-specific and somatic coliphages and relationship with rainfall in privately-owned wells from periurban and rural households. *Water Res X* [Internet]. 2021;12(100102):100102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wroa.2021.100102>

29. Burbano-Rosero EM, Ueda-Ito M, Kisielius JJ, Nagasse-Sugahara TK, Almeida BC, Souza CP, et al. Diversity of somatic coliphages in coastal regions with different levels of anthropogenic activity in São Paulo State, Brazil. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2011;77(12):4208–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02780-10>

30. Oneill J, Davies S, Rex J, White L, Murray R. Review on antimicrobial resistance. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. London: Wellcome Trust and UK Government. 2016.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons
Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional