

# *Cryptosporidium* y *Giardia* como parásitos de transmisión hídrica en las Islas Canarias

Trabajo de Fin de Máster

Antton Xabier Pinto Linaza

Tutora: Pilar Foronda Rodríguez

Master en seguridad y calidad de los alimentos

Julio 2020



# Sumário

<b>Introducción</b> .....	1
<b>Objetivos</b> .....	1
<b>Objetivos específicos:</b> .....	1
<b>Material y Métodos</b> .....	1
<b>Resultados y Discusión</b> .....	2
<i>Cryptosporidium</i> .....	2
<i>Giardia</i> .....	4
<b>Brotos de transmisión hídrica de <i>Cryptosporidium</i> y <i>Giardia</i></b> .....	6
<b>Islas Canarias</b> .....	7
<b>Conclusión</b> .....	9
<b>Bibliografía</b> .....	11

## Índice de tablas

Tabla 1: Genotipos de Giardia según el Hospedador.....	8
--	---

## **Índice de figuras**

Figura 1: Ciclo de vida y mecanismo de infección de Cryptosporidium .....	3
Figura 2: Ciclo de vida y mecanismo de infección de Giardia.....	5

## **Resumen**

La contaminación del agua por patógenos debe ser considerada un peligro de salud pública. Las enfermedades de transmisión hídrica son responsables por 2,2 millones de muertos al año y muchas de esas enfermedades son causadas por protozoos cuyos brotes son una de las mayores causas de diarrea en el mundo, con 842.000 muertes anuales y la segunda causa de muerte de niños menores que 5 años. *Cryptosporidium* y *Giardia* fueron responsables por 381 brotes notificados de 2011 a 2016, afectan más a países en desarrollo porque aunque tengan menos casos notificados esto se debe a la falta de medios para tal. En las Islas Canarias, estos parásitos fueron encontrados tanto en humanos como en animales peridomésticos tales como cabras, ratones, ovejas y pájaros, lo que les convierte en posibles fuentes de la infección porque tanto las cabras, ovejas y ratones presentan el genotipo A y B que pueden afectar al hombre, así como en aguas residuales tratadas ya que los sistemas de tratamiento actuales no les pueden eliminar, por ende *Cryptosporidium* y *Giardia* deben ser considerados un riesgo para la salud pública en Canarias.

**Palabras clave:** Transmisión hídrica, *Cryptosporidium*, *Giardia*, zoonosis, brotes, aguas residuales.

## **Abstract**

The contamination of water sources by pathogens should be considered a matter of public health. Waterborne diseases are responsible for approximately 2.2 million deaths per year with many of those illnesses caused by protozoa parasites whose outbreaks are one of the largest causes of diarrhea in the world, with 842.000 deaths annually and the second cause of death in children under 5 years old. *Cryptosporidium* and *Giardia* were responsible for 381 notified outbreaks between 2011 and 2016. The most affected are the developing countries because even with less notified cases it means that they do not have a proper system to do it. In the Canary Islands, this parasites were found in humans, peridomestic animals such as goats, sheep, rats and pigeons, converting them in possible infection sources because both sheep, goats and rats present the assemblage A and B which can affect humans, as well as in treated sewage water since the modern water treatment plant systems can not eliminate them, thus *Cryptosporidium* and *Giardia* must be considered as a risk to public health in the Canary Island.

**Key words:** Waterborne, *Cryptosporidium*, *Giardia*, zoonosis, outbreaks, sewage water.

## Introducción

La seguridad del agua es muy importante para la salud humana por ende su contaminación por patógenos ya sea a través contaminación ambiental, la cría intensiva de ganado, la intrusión de heces de animales a las reservas de agua, debe ser considerado como un peligro para la salud pública (Moreira, 2017). Las enfermedades de transmisión hídrica son responsables de aproximadamente 2,2 millones de muertes al año ([www.who.int](http://www.who.int)). Según Lim et al (2017) desde 1900 a 2016 de los agentes de transmisión hídrica, los protozoos fueron responsables por 905 brotes. La mayoría de los brotes notificados ocurren en países desarrollados, en países en desarrollo, aparentemente debido a la falta de organización y procedimientos estandarizados los brotes no son notificados y la estimación de los casos es menor y no corresponde a la realidad (Lim et al., 2017). Los brotes por protozoos son una de las principales causas de diarrea en el mundo, responsables por 842.000 muertes anuales y la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años (Efstratiou et al., 2017). Entre 2011 y 2016 se reportaron 381 brotes por protozoos parásitos de transmisión hídrica, en 239 (63%) brotes el agente etiológico era *Cryptosporidium* y en 142 (37%) brotes era *Giardia* (Efstratiou et al., 2017).

## Objetivos

El objetivo de este trabajo es realizar un trabajo bibliográfico sobre *Cryptosporidium* y *Giardia* como parásitos de transmisión hídrica, y analizar la situación en las Islas Canarias.

### Objetivos específicos:

- Revisar la historia de *Cryptosporidium* y *Giardia* en los animales y humanos
- Conocer sus reservorios, mecanismos e vías de transmisión
- Revisar brotes de transmisión hídrica recientes
- Obtener datos epidemiológicos de *Cryptosporidium* y *Giardia* en Canarias
- Conocer las enfermedades criptosporidiosis y giardiasis

## Material y Métodos

Se realizó una revisión bibliográfica sistemática recompilando información de artículos publicados en revistas científicas del ámbito parasitológico, sobre *Cryptosporidium* y *Giardia*, sus reservorios, brotes de transmisión hídrica asociados, mecanismos de transmisión y casos en Canarias.

La información científica fue consultada en bases de datos como el MEDLINE/PubMed, Google Scholar, webs como CDC y WHO.

Se escogieron los artículos que estaban completos, redactados en inglés y que fueran recientes, salvo excepciones. La busca se centró en los parásitos, su reservorio, ocurrencia en humanos, enfermedad que causan y el agua como vehículo de propagación con diferentes palabras clave según cada caso.

Fueron consultados muchos artículos a partir de la lectura de los resúmenes y aquellos que contenían información irrelevante al estudio fueron descartados. Fueron considerados 20 artículos científicos como relevantes al estudio.

Inicialmente, este estudio contenía una parte práctica donde se iba analizar muestras de heces de ratones *Mus musculus domesticus* de una zona rural de Tenerife por microscopia óptica e intentar caracterizar los posibles positivos para *Cryptosporidium* y *Giardia* por PCR, pero debido a la situación de pandemia por coronavirus, el Instituto de Enfermedades Tropicales de la ULL fue cerrado y consecuentemente la parte práctica fue suspendida. Antes de la suspensión, de 8 muestras observadas se encontraron 4 positivos para *Giardia*.

## **Resultados y Discusión**

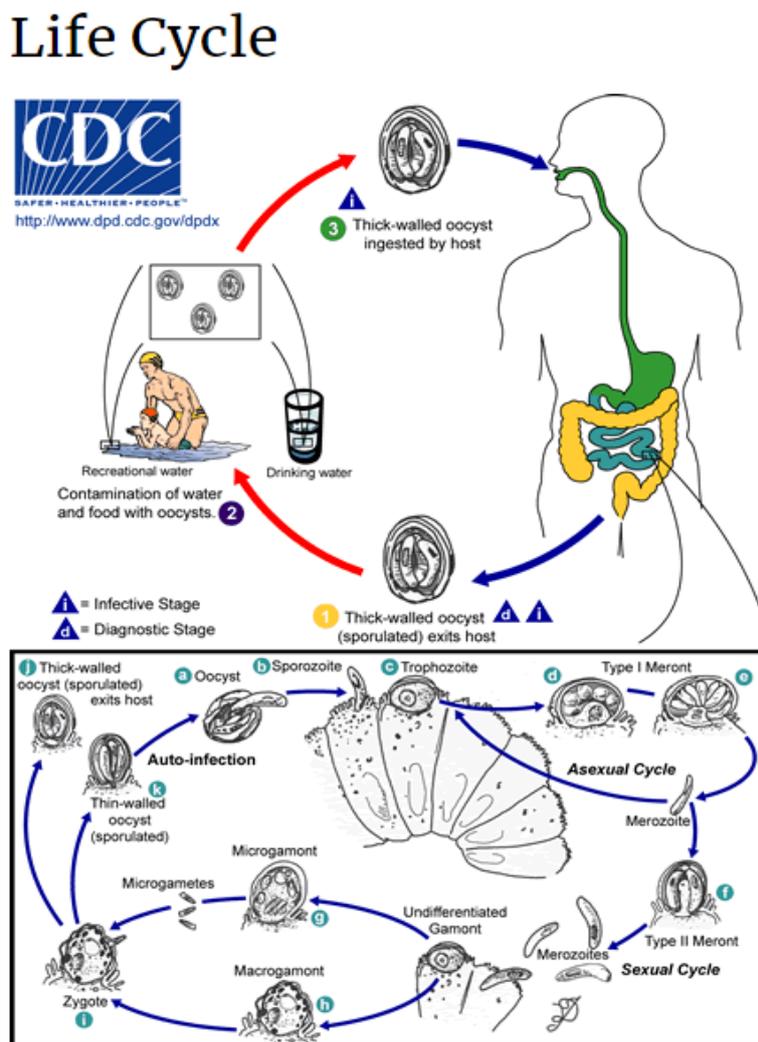
### ***Cryptosporidium***

El género *Cryptosporidium* fue identificado por primera vez en el año 1907, en el tracto digestivo de ratones, por Tyzzer pero fue hasta el año 1976 cuando se detectó el parásito en el ser humano, tras un análisis de muestras de heces, debido a una infección que había causado diarreas (Meisel et al., 1976). Por mucho tiempo fue considerado un coccidio (Levine, 1988), y con el surgimiento de técnicas de biología molecular, hoy se sabe que pertenece al filo Apicomplexa (Leader et al., 2003). El filo, que incluye *Cryptosporidium*, es caracterizado como un grupo de protistas que presentan un complejo apical formado por varios componentes ultraestructurales. Según Levine (1988) todos los elementos de este filo son parásitos.

*Cryptosporidium* infecta las microvellosidades de las células epiteliales del tracto intestinal de animales y humanos y es un importante agente etiológico de diarreas en humanos donde su ciclo biológico le permite que se transmita mediante agua y alimentos (Centers for Disease Control and Prevention, 2015b). Su ciclo biológico solo necesita de

un hospedador para completarse, la principal vía de transmisión es la fecal-oral y presenta un ciclo sexual y asexual siendo que la forma infectiva es el ooquiste. En el ciclo asexual, después de que el ooquiste haya invadido el tubo intestinal, se libera el esporozoito que se pega a las microvellosidades del intestino y forma el trofozoito que se desarrolla en meronte de tipo 1 dentro de la célula pero fuera del citoplasma, que a su vez produce un merozoito que vuelve a instalarse en las microvellosidades y repite el ciclo. En el ciclo sexual, el merozoito que origina del meronte tipo 1 vuelve a pegarse al epitelio intestinal pero no repite el ciclo sino que se transforma a meronte tipo 2 que produce otros merozoitos que forman el micro y macrogametos y que luego unidos forman el cigoto. El cigoto da origen a ooquistes de pared gruesa, que salen por las heces, y ooquistes de pared fina que permanecen en el organismo y vuelven a infectar las microvellosidades intestinales y empezar su ciclo (Centers for Disease Control and Prevention, 2015a).

Figura 1: Ciclo de vida y mecanismo de infección de *Cryptosporidium*



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention, 2015a

La transmisión de *Cryptosporidium* se puede dar por cualquier mecanismo que produzca contacto directo con ooquistes o por contaminación de agua y alimentos por ooquistes (Chalmers y Davies, 2010), entre manipuladores de alimentos (Hassan et al., 2011), uso de heces como abono o fertilizante, animales contaminados que pasten cerca de cultivos, heces de animales silvestres contaminados en cultivos (Cacciò y Chalmers, 2016), contaminación directa por contacto con heces de hospedadores de transporte (Abreu-Acosta et al., 2009) o uso de aguas residuales contaminadas para irrigación (Doménech, 2003).

La patología de *Cryptosporidium* desarrolla unas manifestaciones clínicas mucho más severas en inmunodeprimidos que inmunocompetentes y ejerce un efecto en las células epiteliales del hospedador, en un proceso que depende de la variabilidad genética del parásito y algunos factores del hospedador como el estado del sistema inmunitario y la interacción del parásito con la microbiota intestinal (Certad et al., 2017). Las manifestaciones clínicas empiezan a los 2-10 días y duran aproximadamente 1 o 2 semanas. Los inmunocompetentes presentan diarrea acuosa, dolor abdominal, deshidratación, náusea, vómitos, fiebre y pérdida de peso (algunos afectados son asintomáticos). En pacientes inmunodeprimidos la enfermedad puede evolucionar a una enfermedad crónica y en algunos casos fatal, pudiendo afectar otras zonas del tracto gastrointestinal y del tracto respiratorio (Centers for Disease Control and Prevention, 2017a) pudiendo causar neumonía y pancreatitis (Chalmers y Davies, 2010). En los países en vías de desarrollo, *Cryptosporidium* puede causar retraso cognitivo y físico en el desarrollo de los niños (Valenzuela et al., 2014).

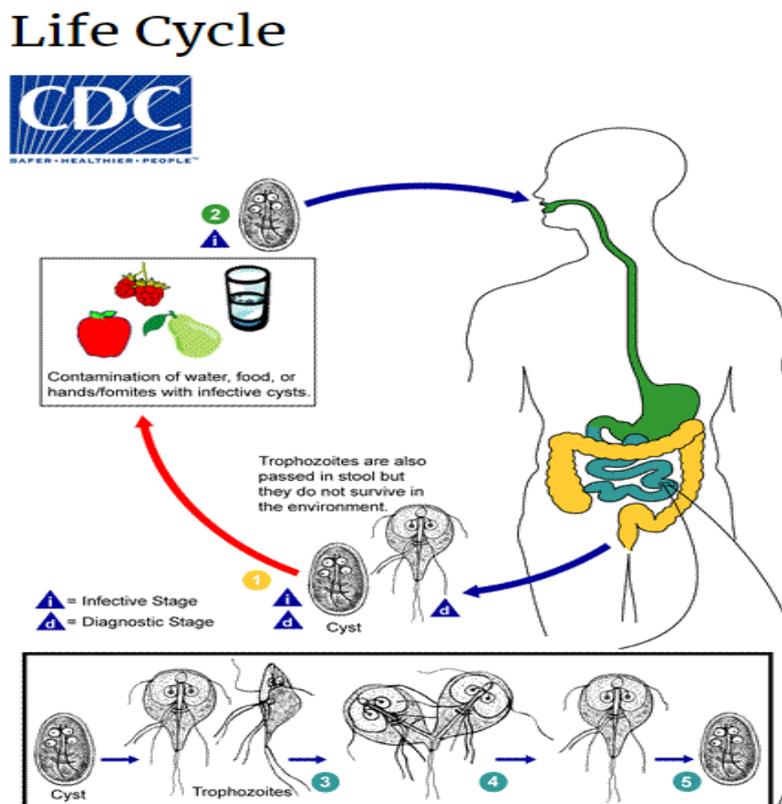
### ***Giardia***

El género *Giardia* fue descrito por primera vez en el año de 1681 por Anton van Leeuwenhoek (Dobell, 1920) y en 1882 Kunstler nombro el género, por primera vez, de *Giardia*. Es un protozoo unicelular y flagelado (Levine et al., 1980), perteneciente al orden Diplomonadida que se caracteriza por no tener complejo de Golgi ni mitocondrias. Por mucho tiempo *Giardia* fue considerada erróneamente como una célula eucariota primitiva porque aparte de no tener ni mitocondria o complejo de Golgi presenta algunos elementos de metabolismo procariota (Embley et al., 1998), sin embargo, en un estudio sobre la maquinaria celular de la LECA (last eucaryotic common ancestor) se verificó que *Giardia* es una célula eucariota primitiva secundariamente reducida ya que el estudio sugiere que en las especies con organización celular simple, como el ancestro de *Giardia*,

su evolución se da reduciendo su complejidad, que puede estar relacionado con el hecho de tener un estilo de vida parasitario (He et al., 2014). Tiene forma de pera con uno o dos cuerpos medianos transversales en forma de garra.

Presenta un único hospedador (monoxeno). Después de la transmisión, el ciclo biológico de *Giardia* se basa en alternar la fase vegetativa, el trofozoíto, y la fase infecciosa, el quiste. El quiste tiene capacidad para sobrevivir fuera del hospedador y es el iniciador de la infección. Una vez ingerido los quistes, viajan por el tubo gastrointestinal hasta el estómago, donde se expone a un medio ácido, y al llegar al intestino delgado se libera el excizoíto que rápidamente se divide para dar lugar al trofozoíto (Bernander et al., 2001). El trofozoíto luego se acopla a la pared del intestino delgado donde se alimenta y se reproduce. Después de exponerse al fluido biliar algunos trofozoítos se enquistan y son eliminados en las heces, como quistes, para así volver a infectar un nuevo hospedador. Sin embargo, Barash et al. (2017) en un estudio sobre las dinámicas de la enquistación en modelos animales sugieren que hay una relación entre la alta tasa de trofozoítos en el intestino con el proceso de formación de quistes.

Figura 2: Ciclo de vida y mecanismo de infección de *Giardia*



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention, 2017b

La transmisión de *Giardia* se puede dar por cualquier mecanismo que produzca contacto directo con quistes o por contaminación de agua y alimentos por quistes, ya sea por escasa higiene en manipuladores de alimentos, uso de heces como abono o fertilizante, animales contaminados que pasten cerca de cultivos, heces de animales silvestres contaminados en cultivos, contaminación directa por contacto con heces de hospedadores de transporte coprófagos (pájaros e insectos) o uso de aguas residuales contaminadas para irrigación.

*Giardia* es el responsable por una enfermedad diarreica llamada giardiasis que puede afectar a muchos mamíferos incluido el hombre (Hayworth, 2016). En humanos, la infección puede ser asintomática o estar asociada a cuadros diarreicos, dolor abdominal, mala absorción, cansancio y pérdida de peso (Ryan et al., 2013). Es la tercera causa más común de enfermedades diarreicas según la OMS.

### **Brotos de transmisión hídrica de *Cryptosporidium* y *Giardia***

A lo largo del tiempo se han documentado inúmeros brotes de transmisión hídrica y según Lim et al. (2017) en un estudio de brotes de transmisión hídrica, desde 1900 a 2016, los protozoos fueron responsables por 905 brotes.

Según Moreira et al. (2017), en una revisión bibliográfica de brotes de transmisión hídrica en Norte América, Nueva Zelanda y Europa, del año 2000 al 2014, se separaron los brotes en diferentes fuentes de contaminación, la contaminación del agua subterránea, contaminación del agua superficial, contaminación por deficiente tratamiento del agua de las depuradoras y la contaminación por fallas en la red distribuidora. En relación al agua subterránea hubo dos brotes de *Cryptosporidium*, en el año 2000 con 58 casos debido a contaminación por heces de animales como consecuencia de intensas precipitaciones; en el año 2006 en Irlanda con 8 casos. En respecto a las aguas superficiales, hubieron 6 brotes de *Cryptosporidium*, 1 en 2002 con más de 31 casos, 2 en 2005 con 371 casos, 1 en 2007 con 304 casos, 1 en 2010 con 27.000 casos y otro en 2011 con 20.000 casos; para *Giardia* se registró 1 brote en con 6.000 casos en 2004. Los deficientes sistemas de tratamiento del agua fueron responsables por 2 brotes de *Cryptosporidium*, en 2001 y 2004 con total de 6464 casos; 1 brote por *Giardia* en 2000 con 27 casos; y 1 brote de *Cryptosporidium* y *Giardia* en 2005 con 31 casos. En relación a los brotes por fallos en la red distribuidora de agua, se registraron 3 brotes de *Cryptosporidium* con más de 769 casos; y 1 brote de *Giardia* en 2009 con 8 casos (Moreira et al. 2017).

En otro estudio de brotes de *Cryptosporidium* en Reino Unido y Gales entre 2009 y 2017, se notificaron 178 brotes con 4031 casos confirmados, donde 82 (46%) fueron por aguas recreacionales, 74 (42%) por contacto con animales, 4 (2%) por contacto con superficies ambientales, 4 (2%) por transmisión persona-persona, 3 (2%) por comida, 2 (1%) por agua potable y 9 (5%) de fuentes desconocidas (Chalmers et al., 2019).

### **Islas Canarias**

La presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en la Islas Canarias ha sido detectada en diversos estudios, ya sea en animales, aguas residuales depuradas o en el hombre.

Estos protozoos han sido detectados en palomas (Abreu-Acosta et al., 2009), en cabritos (Ruiz et al., 2008), en roedores (Fernández-Álvarez et al., 2013). La palomas actúan como vectores mecánicos de propagación de *Cryptosporidium* y al estar en contactos con humanos es una fuente de transmisión (Graczyk et al., 2008); en el caso de los cabritos, la mayoría de las granjas estudiadas fueron positivas para *Giardia*, y debido a la amplia distribución del animal por territorio Canario, constituye una fuente de transmisión zoonótica a tener en cuenta, porque aunque el genotipo de *Giardia* aislada de los cabritos (genotipo E) no corresponda a los genotipos que afectan a los humanos, el A y B (Tabla 1), Robertson (2009) en un estudio sobre la ocurrencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en cabras y ovejas encontró que 30% de los animales, presentaron el genotipo A y B por lo que hay riesgo de transmisión zoonótica de *Giardia*. En relación a *Cryptosporidium* hay un elevado riesgo de transmisión zoonótica (Santín et al., 2007) porque el mismo genotipo que afecta a las cabras y ovejas afecta al hombre; los roedores (*Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* y *Mus musculus domesticus*) también fueron positivos para *Giardia* y presentaron el genotipo G pero algunos roedores presentaron el genotipo B (Fernández-Álvarez et al., 2013), lo que indica que hay un peligro de transmisión zoonótica que se multiplica ante el hecho de que estos roedores están ampliamente distribuidos por territorio Canario, en territorios rurales en contacto con humanos; las cabras y ovejas también están infectados por *Giardia* y *Cryptosporidium*.

Tabla 1: Genotipos de *Giardia* según el Hospedador

Table 1.

*Giardia duodenalis* assemblages and corresponding hosts.

Assemblage	Host(s)
A	Humans [15], dog [5, 8, 29, 58], cat [27, 51], cattle [15, 24], alpaca [19], deer [45, 48], ferret [39], pig [3], beaver [40], chinchilla [39], jaguar [47], horse [56], marsupials [38, 52], sheep [17, 27, 30, 62], goat [17], muskox [9], non-human primates [60, 61], cetacean(s) [41, 42], seals [26], Australian sea lion [10], moose [27, 43], reindeer [43], chicken [5], gull [26]
B	Humans [5, 15], cattle [15, 38], dog [8], gazelle [48], deer [38], horse [56], beaver [40, 50], muskrat [50], chinchilla [39, 47], ferret [39], rabbit [30, 39], Desmarest's hutia [39], marsupials [38, 52], guinea pig [27], rock hyrax [4], non-human primates [47, 60, 61], chicken [5], sheep [62], seals [26], pig [13], Australian sea lion [10], ostrich [47], dolphin [25, 41], porpoise [25], gull [26]
C	Dog [8, 29], kangaroo [38], cattle [33], pig [33] cetacean(s) [42]
D	Dog [5, 8], chinchilla [39], kangaroo [38], cattle [33], cetacean(s) [42], fox [38]
E	Cattle [24, 30, 38], sheep [15, 17, 27, 30], pig [3, 13, 15], alpaca [19], goat [17, 62], horse [56], yak [27], fox [38], deer [27], cat [27]
F	Cat [27, 51], cetacean(s) [42], pig [3, 33]
G	Rat [27, 63], mouse [63]
H	Grey seal [26], gull [26]

Fuente: Hayworth, 2016

La presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en aguas para el consumo humano está relacionada con el uso de aguas fecales tratadas en la agricultura (Abreu-Acosta et al., 2002) porque los sistemas de depuración de aguas residuales son insuficientes para eliminar los ooquistes y quistes de *Cryptosporidium* y *Giardia* respectivamente (Domenech, 2003). Al ser protozoos emergentes se requieren nuevas técnicas y a raíz de eso, en relación al agua potable, el gobierno de España sacó el RD 140/2003, derogado por el RD 314/2016, donde figura la necesidad de detección de estos parásitos en contraste con el anterior decreto, el RD 1138/1990 que no tenía en cuenta estos protozoos. Los procesos tradicionales de depuración son insuficientes, la mejor opción serían membranas de última generación, el uso del ozono o radiación UV (Domenech, 2003), opciones éstas no disponibles en Canarias.

Algunos estudios como los de Abreu-Acosta et al. (2002) y Abreu-Acosta y Vera (2011) donde se encargaron de averiguar la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en aguas residuales tratadas fueron detectados quistes y ooquistes de *Giardia* y *Cryptosporidium*

respectivamente, lo que constituye un riesgo de Salud pública y siendo Canarias una región con escasas de agua la reutilización de aguas tratadas es una realidad vigente.

Un estudio sobre *Cryptosporidium* en pacientes con diarrea en Tenerife (Abreu-Acosta et al., 2007) reveló la presencia de ese parásito en seres humanos y sugirió que el alto número de afectados se debía al contacto con animales domésticos y agua contaminada y que afectaba tanto a inmunodeprimidos como a inmunocompetentes. Abreu-Acosta et al. (2007) también sugiere que el número de afectados podría ser mayor en el sentido que muchos clínicos no realizan examen de heces de personas inmunocompetentes resultando en falsos negativos.

En Canarias diferentes tipos de animales están infectados con *Giardia* o *Cryptosporidium* y que las heces de estos animales infectados con quistes y ooquistes pueden acceder a reservorios de agua. Uniendo esto al hecho que las aguas residuales tratadas estén infectadas y que sean utilizadas en agricultura, y que haya casos en humanos, *Giardia* y *Cryptosporidium* deben ser considerados un riesgo para la salud pública a tener en cuenta en Canarias.

## **Conclusión**

*Cryptosporidium* y *Giardia* son considerados una de las principales causas de diarreas transmitida por el agua, tienen capacidad para colonizar diferentes hospedadores, son zoonóticos y resistentes a los tratamientos convencionales realizados en aguas potables lo que hace que sean considerados como enfermedades a tener en cuenta, principalmente en países en desarrollo que ni siquiera tienen sistemas de notificación, o en personas inmunocomprometidos donde la sintomatología es más prolongada e intensa.

Se pudo observar la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* en animales peridomésticos en las Islas Canarias que al compartir el hábitat, implica que puedan existir interacciones entre el agua de consumo humano y heces de animales peridomésticos que pueden estar infectados; en caso de las palomas el contacto se da a través de las aguas residuales tratadas donde al beber de esa agua, las palomas transportan los parásitos pudiendo afectar al ser humano.

La transmisión se da principalmente por aguas contaminadas por eso unas buenas medidas de higiene, tratamiento de agua de consumo, la limpieza correcta de heces de

animales peridomésticos y el control de plagas en instalaciones de tratamiento de aguas pueden ser buenas medidas de prevención.

## Bibliografía

- Abreu-Acosta, N., Martín-Delgado, M., Ortega-Rivas, A., del Castillo-Remiro, A., Aguiar-Gonzalez, E., Valladares-Hernandez, B. 2002. Presencia de *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* spp. en aguas residuales depuradas reutilizadas para riego agrícola en la isla de Tenerife, España. Efectos del transporte a larga distancia sobre la calidad del agua reutilizada. *Revista de Salud Ambiental*, 2, 1.
- Abreu-Acosta, N., Quispe, M.A., Foronda-Rodriguez, P., Alcoba-Florez, J., Lorenzo-Morales, J., Ortega-Rivas, A., Valladares, B. 2007. *Cryptosporidium* in patients with diarrhoea on Tenerife, Canary Island, Spain. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 101, 6, 539-545.
- Abreu-Acosta, N., Foronda-Rodríguez, P., López, M. et al. 2009. Occurrence of *Cryptosporidium hominis* in pigeons (*Columba livia*). *Acta Parasitologica*, 54, 1.
- Abreu-Acosta, N., Vera, L. 2011. Occurrence and removal of parasites, enteric bacteria and faecal contamination indicators in wastewater natural reclamation systems in Tenerife-Canary Island, Spain. *Ecological Engineering*, 37, 496-503.
- Baldursson, S., Karanis, P. 2011. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks—an update 2004–2010. *Water Research*, 45, 20, 6603-6614.
- Barash, N.R., Nosala, C., Pham, J.K., McNally, S.G., Gourguechon, S., et al. 2017. *Giardia* Colonizes and Encysts in High-Density Foci in the Murine Small Intestine. *mSphere*, 2:e00343-16.
- Bernander, R., Palm, J.E., Svard, S.G. 2001. Genome ploidy in different stages of the *Giardia lamblia* life cycle. *Cellular microbiology* 3, 55–62.
- Cacciò, S.M., Chalmers, R.M. 2016. Human cryptosporidiosis in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, June; 22(6): 471-80. doi: 10.1016/j.cmi.2016.04.021.
- Centers for Disease Control and Prevention (2015a). Pathogen & Environment.Cdc.gov. <https://www.cdc.gov/parasites/crypto/pathogen.html>
- Centers for Disease Control and Prevention (2015b). Sources of infection & Risk Factors. cdc.gov. <https://www.cdc.gov/parasites/crypto/infection-sources.html>
- Centers for Disease Control and Preventions (2017a). Illness and Symptoms. <https://www.cdc.gov/parasites/crypto/illness.html>

- Centers for Disease Control and Prevention (2017b). Pathogens & Environment.Cdc.gov. <https://www.cdc.gov/parasites/giardia/pathogen.html>
- Certad, G., Viscogliosi, E., Chabé, M., Cacciò, S.M. 2017. Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. Trends in Parasitology, 33, 7, 561-576.
- Chalmers, R.M., Davies, A.P. 2010. Minireview: clinical cryptosporidiosis. Experimental Parasitology. 124, 1, 138-46.
- Chalmers, R.M., Robinson, G., Elwin, K. 2019. Analysis of the *Cryptosporidium* spp. and gp60 subtypes linked to human outbreaks of cryptosporidiosis in England and Wales, 2009 to 2017. Parasites & Vectors, 12:95.
- Dobell C. 1920. The discovery of the intestinal protozoa of man. Proceedings of the Royal Society of Medicine, 13, 1 15.
- Doménech, J. 2003. *Cryptosporidium* y *Giardia*, problemas emergentes en el agua de consumo humano. Sanidad Ambiental, 22, 112-116.
- Efstratiou, A., Ongerth, J.E., Karanis, P. 2017. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2011–2016. Water Research, 114, 14-22.
- Embley, T.M., Hirt, R.P. 1998. Early branching eukaryotes? Current opinion in genetics & development, 8: 624–629.
- Fantinatti, M., Bello, A. R., Fernandes, O., Da-Cruz, A.M. 2016. Identification of *Giardia lamblia* Assemblage E in humans points to a new anthroponotic Cycle. The Journal of Infectious Diseases, 214, 8, 1256–1259.
- Farthing, M.J. 2000. Clinical aspects of human cryptosporidiosis. Contributions to Microbiology, 6:50-74.
- Fernandez-Alvarez, A., Martin-Alonso, A., Abreu-Acosta, N., Feliu, C., Hugot, J.P., Valladares, B., Foronda, P. 2013. Identification of a novel assemblage G subgenotype and a zoonotic assemblage B in rodent isolates of *Giardia duodenalis* in the Canary Islands, Spain. Cambridge University Press, 141, 2, 206-215.
- Graczyk, T.K., Majewska, A.C., Schwab, K.J. 2008. The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. Trends in Parasitology, 24, 55-59.
- Hayworth, M.F. 2016. *Giardia duodenalis* genetic assemblages and hosts. Parasite, 23:13.

- Hassan, A., Farouk, H., Hassanein, F., Abdul-Ghani, R. 2011. Currency as a potential environmental vehicle for transmitting parasites among food-related workers in Alexandria Egypt. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 105, 519-524.
- He, D., Fiz-Palacios, O., Fu, C.J., Fehling, J., Tsai, C.C., et al. 2014. An alternative root for the eukaryote tree of life. *Current biology: CB* 24: 465–470.
- Karanis, P., Kourenti, C., Smith, H. 2007. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *Journal of Water and Health*, 5, 1, 1-38.
- Leader, B.S., Clopton, R.E., Keeling, P.J. 2003. Phylogeny of gregarines (*Apicomplexa*) as inferred from small-subunit rDNA and beta-tubulin. *International. Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 345-354.
- Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., Deroux G., Grain J., Honigberg B.M., Leedale G.F., Loeblich A.R.III, Lom J., Lynn D., Merinfeld E.G., Page F.C., Poljansky G., Sprague V., Vavra J., Wallace F.G. 1980. A newly revised classification of the protozoa. *The Journal of Protozoology*, 27, 37- 58.
- Levine, N.D. 1988. The Protozoan Phylum Apicomplexa. *Chemical Rapid Communications*, Vols 1 and 2.
- Lim, Y., Nissapatorn, V. 2017. Transmission of waterborne parasites in the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN): Overview and direction forward. *Food and Waterborne Parasitology*, 8-9, 75-83.
- Meisel, J.L., Perera, D.R., Meligro, C., Rubin, C.E. 1976. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology*, 70, 1156–1160.
- Moreira, N.A., Bondelind, M. 2017. Safe drinking water and waterborne outbreaks. *Journal of Water and Health*, 15(1): 83-96.
- Robertson, L.J. 2009. *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in sheep and goats: a review of the potential for transmission to human via environmental contamination. *Epidemiology and Infection*, 137, 913-921.

- Ruiz, A., Foronda, P., González, J.F., Guedes, A., Abreu-Acosta, N., Molina, J.M., Valladares, B. 2008. Occurrence and genotype characterization of *Giardia duodenalis* in goat kids from Canary Islands, Spain. *Veterinary Parasitology*, 154, 137-141.
- Ryan, U., Caccio, S.M. 2013. Zoonotic potential of *Giardia*. *International Journal for Parasitology*, 43: 943–956.
- Ryan, U., N. Hijjawi, N., Xiao, L. 2018. Foodborne cryptosporidiosis. *International Journal of Parasitology*, 48, 1, 1-12.
- Santín, M., Fayer, R. 2007. Intragenotypic variations in the *Cryptosporidium* sp. cervine genotype from sheep with implications for public health. *Journal of Parasitology*, 93: 668–672.
- Valenzuela, O., González-Díaz, M., Garibay-Escobar, A., Burgara-Estrella, A., Cano, M., Durazo, M., Bernal, R.M., Hernandez, J., Xiao, L. 2014. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in children from Mexico PLOS ONE, 9, e96128.
- Yang, K., LeJeune, J., Alsdorf, D., Lu, B., Shum, C.K., Liang, S. 2012. Global distribution of outbreaks of water-associated infectious diseases. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 6, 2, e1483.3.