

Armenia, 28 de Agosto de 2012

Doctor
JESUS FERNEL GARCÍA GARCÍA
Director de Nuevas Creaciones (E)
Bogotá D.C.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-043736- -00003-0000

Fecha: 2012-08-28 11:56:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 3 MODELO Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 523 RESPUESTA Folios: 19

EXPEDIENTE: 11-43736
REFERENCIA: RESPUESTA REQUERIMIENTO OFICIO 12844
PATENTE MODELO DE UTILIDAD: "SISTEMA DE RECUPERACIÓN POR
CENTRIFUGACIÓN Y CONCENTRACIÓN EN"
FORMOL-ETER DE PROTOZOOS PARA MUESTRAS DE
AGUA POTABLE"
SOLICITANTE: UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

BLANCA NUBIA PEDROZA TORRES, mayor de edad, vecina de la ciudad de Bogotá D.C., abogada en ejercicio, identificada como aparece al pie de mi firma, actuando en nombre y representación legal de la UNIVERSIDAD DEL QUINDIO, solicitante en el asunto de la referencia y de acuerdo a las observaciones hechas por los autores se da respuesta a las sugerencias realizadas mediante el oficio de la referencia de la siguiente manera:

Se Modificó la Reivindicación. El procedimiento que se desea patentar es un sistema que permite recuperar protozoos utilizando un tubo cónico de polipropileno con una solución de formol-éter sin utilizar membranas y que aumenta el porcentaje de recuperación. Este procedimiento se propone como una alternativa al uso de membranas y filtros que se utilizan de igual forma para recuperación de formas protozoarias.

Se anexa flujo grama que describe el proceso.

1. De acuerdo con lo antes expuesto, se solicita el cambio a patente de invención.
2. Respecto al estado de la técnica se realizó una búsqueda Google Patents. Los métodos allí descritos utilizan membrana y no se encontró un procedimiento utilizado en muestras de agua potable.
3. Con relación a la patente descrita el anexo 6, se revisó y allí no se encuentra nada sobre este proceso dejando claro que cuando se refiere a toxinas no es igual que referirse a protozoos ya que estas son proteínas y no células.
4. Igualmente se revisó la descripción y se aclaró el procedimiento que se quiere patentar
5. Finalmente se reescribieron algunos apartes que no eran claros.

Adjunto:

- Formulario único de Correcciones y Modificaciones
- Documento Técnico Reescrito con las modificaciones sugeridas y arriba mencionadas
- Recibo de Pago

Atentamente,

BLANCA NUBIA PEDROZA TORRES
C.C. No.41.886.090
T.P. No.65714



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO ÚNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

1

SOLICITUD DE:

☐ Corrección de Error Material ☒ Modificación a una Solicitud

2

SOLICITANTE

Nombre: Universidad Del Quindío
Dirección: Carrera 15 Calle 12 Norte Armenia
Nacionalidad o Domicilio: Armenia
Lugar de Constitución: Colombia
Teléfono: 6-346112 Fax:
E-mail: www.uniquindio.edu.co

IDENTIFICACIÓN

☐ C.C. ☐ NIT
☐ C.E. ☐ Otro

Cual
Número

3

REPRESENTANTE O
APODERADO

Nombre: Blanca Nobia Pedroza Torres
Dirección: Calle 165 No. 55A-83
Bogotá
Teléfono : 3164910532 Fax:
E-mail: blanupe@hotmail.com

IDENTIFICACIÓN

☒ C.C. ☐ NIT
☐ C.E. ☐ Otro

Cual 41
Número 41886090 TP 65714

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el numero de radicación (del poder).

4

Número de expediente: 11-043736

5

Descripción de la corrección o modificación solicitada:

- Modificación de la Solicitud de Patente de Modelo de Utilidad a
Patente de Invención
- Modificación de Revindicación
- Modificación de la Descripción

6

Comprobante de pago No.

Fecha:

7

Anexos

- ☐ Comprobante de pago de la tasa.
- ☐ Poder, si fuere el caso.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal de la persona jurídica peticionaria, en cuanto no estén inscritas en alguna Cámara de Comercio Colombiana.

8

NOMBRE Blanca Nobia Pedroza Torres FIRMA: [Firma]
C.C. 41886090 TP: 65714

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

CÓMO DILIGENCIAR EL FORMULARIO UNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

- Si faltara espacio en algún recuadro de este impreso, utilice hojas complementarias.
- Los espacios sombreados corresponden a los requisitos mínimos que deben cumplirse para obtener fecha de presentación de la solicitud.
- Si alguna casilla del formulario no fuera cubierto, se cruzará una línea oblicua.

1. Solicitud: Sólo se debe marcar una opción. Debe marcarse en la casilla correspondiente si se trata de la corrección de un error material o de la modificación de la solicitud. (en trámite)

2. Solicitante: Es la persona natural o jurídica interesada en obtener la corrección o modificación. Debe indicarse: nombre, dirección, teléfono, e-mail o fax.

Identificación: Corresponde a la indicación del documento de identidad del solicitante, discriminando en la casilla correspondiente, si se trata de C.C. (cédula de ciudadanía) o NIT (Número de Identificación Tributaria); C.E. (Cédula de Extranjería); u Otro (En caso de que la identificación del solicitante corresponda a un documento diferente a los anteriormente mencionados).

Domicilio: Indicar el país, el departamento y la ciudad.

3. Representante o apoderado: En este espacio debe indicar el nombre del representante legal cuando se trate de una persona jurídica si no se está actuando a través de apoderado y deberá acreditarse tal calidad.

Si se actúa a través de apoderado, debe: i) indicar el nombre del abogado que adelantará la actuación administrativa y anexar poder; ó ii) en caso que el apoderado haya presentado poder general para asuntos que adelante ante la Delegatura de Propiedad Industrial, indicar el número de radicación con el cual quedó presentado ante la Superintendencia de Industria y Comercio el poder otorgado.

Si la solicitud la adelanta una persona natural sin apoderado, no debe diligenciarse esta casilla.

No será necesario diligenciar las casillas relacionadas con los puntos 3 y 4 en adición a los nombres, si estos datos no han variado con respecto al registro inicial.

4. Número de expediente: Corresponde al número de la solicitud en trámite objeto de la corrección o modificación.

5. Descripción de la modificación o corrección que solicita: Se debe señalar con detalle los aspectos objeto de corrección o de modificación, como son nombre del solicitante o apoderado, así como sus datos de identificación o domicilio, aspectos secundarios del signo y limitaciones a la lista de productos o servicios inicialmente solicitada. En el caso de las patentes, debe señalarse si la corrección o modificación se realiza sobre el título, la descripción, las reivindicaciones o los dibujos.

6. Comprobante de pago: Referenciar el número y fecha del recibo de pago de la tasa establecida. Este comprobante debe anexarse.

7. Anexos: Deben marcarse con una X las casillas correspondientes a los documentos que acompañarán la solicitud.

8. Firma: Si se actúa a través de abogado, la firma deberá ser la del apoderado; si actúa directamente una persona jurídica la firma deberá ser la de su representante legal, y si actúa directamente una persona natural ésta deberá firmar la solicitud.

IMPORTANTE:

Si no es especialista en la materia, le recomendamos:

Consultar la normatividad relacionada con este trámite en www.sic.gov.co o en la Biblioteca de la SIC, carrera 13 No. 27-00 piso 5

Leer detenidamente los folletos y los instructivos para el diligenciamiento de los formularios.

Una vez radicada la solicitud, informarse permanentemente sobre el estado de su trámite y, si es de caso, contestar dentro del término los requerimientos notificados según las disposiciones legales vigentes.

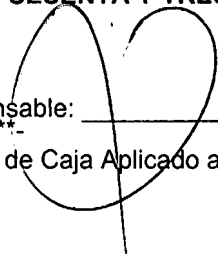
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 0088283
		Bogotá D.C., Agosto 28 de 2012 - 11:40:23

RECIBIDO DE : BLANCA NUBIA PEDROZA TORRES					CC 41.886.090
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	494028286	28/08/2012	63.750.00

*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO	
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	63.750.00	63.750.00	
					\$63.750.00
=====					

SON: **SESENTA Y TRES MIL SETECIENTOS CINCUENTA PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

1

Armenia,

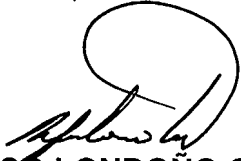
Señores
Delegatura de Propiedad Industrial
Superintendencia de Industria y Comercio
Bogotá D.C.

ALFONSO LONDOÑO OROZCO, mayor, vecino de Armenia, identificado con la cédula de ciudadanía No. 19.189.065 expedida en Bogotá, actuando en calidad de Rector y representante legal de la Universidad del Quindío; designado por el Consejo Superior mediante la Resolución No. 003 del 29 de abril de 2008 y posesionado en la misma fecha, manifiesto que confiero poder especial, amplio y suficiente a la Abogada **BLANCA NUBIA PEDROZA TORRES**, igualmente mayor y vecina de Armenia, identificada con la cédula de ciudadanía No. 41.886.090 expedida en Armenia, portadora de la Tarjeta Profesional No. 65174 del Consejo Superior de la Judicatura, para que en representación de **LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO** adelante todo lo relacionado con el trámite de la patente de Modelo de Utilidad denominado "***Sistema de recuperación por centrifugación y concentración en formol - eter de protozoos para muestras de agua potable***".

Mi apoderada queda ampliamente facultada para, proponer excepciones, conciliar, recibir, transigir, renunciar, desistir, sustituir, interponer recursos y realizar todas las gestiones inherentes al presente mandato.

Sírvase, reconocerle la personería a la profesional del derecho en los términos y para los fines del presente poder.

Atentamente,

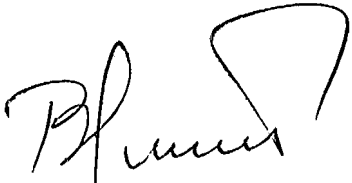


ALFONSO LONDOÑO OROZCO
Rector
Universidad del Quindío

1

Armenia,

Acepto,



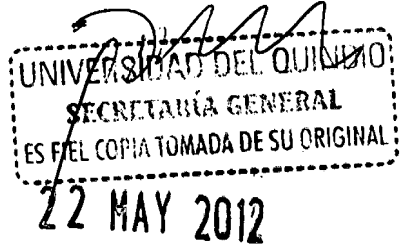
BLANCA NUBIA PEDROZA TORRES
C.C. 41.886.090 expedida en Armenia
T.P. 65174

Olga Lucía R.

EL SUBDIRECTOR DE INSPECCION Y VIGILANCIA DEL
VICEMINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR EN
CUMPLIMIENTO DE LAS FUNCIONES ATRIBUÍDAS POR EL
DECRETO 5012 DE 2009 Y LA RESOLUCIÓN 7245 DE 2011

RL-0001484-2012

CERTIFICA:



Que el/(la) UNIVERSIDAD DEL QUINDIO (Código:1208), con domicilio en ARMENIA, es una institución de educación superior, OFICIAL, y su carácter académico es el de Universidad, creada mediante Acuerdo 23 de 14 de Octubre de 1960, expedido(a) por el/la Concejo Municipal de Armenia..

Que mediante Decreto 1583 del 11 de agosto de 1975, se reconoce con el caracter de Universidad a la Universidad del Quindio.

Que al folio 503 distinguido con el registro 498 del libro de rectores y representantes legales de las instituciones de educación superior aparece inscrito(a) el/(la) Doctor ALFONSO LONDOÑO OROZCO, identificado(a) con cédula de ciudadanía No 19189065 expedida en Bogotá D.E. como RECTOR , por un periodo comprendido entre el 1 de Mayo de 2011 y el 30 de Abril de 2015, que dicha inscripción se efectuó el 23 de Mayo de 2011 de conformidad con lo dispuesto en el/(la) RESOLUCIÓN 004, del 15 de Abril de 2011, expedido(a) por el/(la) CONSEJO SUPERIOR.

Que al folio 503 distinguido con el registro 498 del libro de rectores y representantes legales de las instituciones de educación superior aparece inscrito(a) el/(la) Doctor ALFONSO LONDOÑO OROZCO, identificado(a) con cédula de ciudadanía No 19189065 expedida en Bogotá D.E. como REPRESENTANTE LEGAL , por un periodo comprendido entre el 1 de Mayo de 2011 y el 30 de Abril de 2015, que dicha inscripción se efectuó el 23 de Mayo de 2011 de conformidad con lo dispuesto en el/(la) RESOLUCIÓN 004, del 15 de Abril de 2011, expedido(a) por el/(la) CONSEJO SUPERIOR.

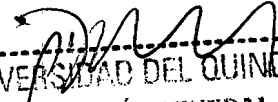
La información consignada en este certificado corresponde a la última reportada por parte de la institución.

De conformidad con lo establecido por la ley 962 de 2005, los actos de registro aquí certificados quedan en firme cinco (5) días hábiles después de la fecha de inscripción, siempre que no sean objeto del recursos en la via gubernativa.

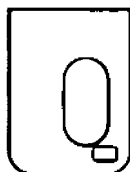
El presente documento electrónico tiene validez por cumplir los requisitos de que trata la Ley 527 de 1999, el Decreto Reglamentario 1747 de 2000 y las demás normas que los complementen, modifiquen o reemplacen. Para verificar la autenticidad del presente certificado o ver el documento electrónico, deberá ingresar a www.mineduacion.gov.co, menú de Trámites, opción de Consulta de Certificados e ingresar el número de radicado.

Se expide la presente certificación en Bogotá D.C. a los 23 días del mes de Abril de 2012, por solicitud de ALFONSO LONDOÑO OROZCO.

Certificado	JUAN GUILLERMO PLATA PLATA
Propietario	T=SUBDIRECCION DE INSPECCION Y VIGILANCIA, SN=PLATA PLATA, STREET=CALLE 43 NO. 57 14 CAN, S=BOGOTA D.C., OU=MINISTERIO DE EDUCACION, SERIALNUMBER=204818, OID.1.3.6.1.4.1.23267.2.3=89999990017, OID.1.3.6.1.4.1.23267.2.2=91298420, OID.1.3.6.1.4.1.23267.2.1=52, O=MINISTERIO DE EDUCACION NACIONAL, L=BOGOTA D.C., G=JUAN, E=JPLATA@MINEDUCACION.GOV.CO, C=CO, CN=JUAN GUILLERMO PLATA PLATA
Fecha Firma	2012-04-23T15:52:32.780 Emisor CN=AC Subordinada Certicámara S.A., O=Sociedad Cameral de Certificación Digital - Certicámara S.A., C=CO


UNIVERSIDAD DEL QUINDIO
SECRETARÍA GENERAL
ES FIEL COPIA TOMADA DE SU ORIGINAL
22 MAY 2012

Calle 43 No. 57-14 Centro Administrativo Nacional, CAN, Bogotá, D.C. Colombia
Commutador: (057) (1) 222 2800 - Fax (057) (1) 222 4953
www.mineducacion.gov.co



UNIVERSIDAD
DEL QUINDÍO

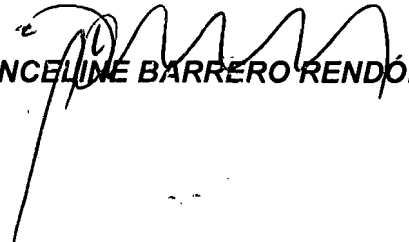
LA SECRETARIA GENERAL DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDIO

CERTIFICA:

Que la Universidad del Quindío es un Ente Universitario de carácter público, con régimen especial, creado por el Acuerdo Municipal N° 23 del 14 de octubre de 1960, adscrito al Departamento del Quindío, mediante la Ordenanza N° 014 de noviembre de 1982, reconocida como Universidad por la Ley 56 de 1967 y el Decreto N° 1583 de enero 18 de 1975 del Ministerio de Educación Nacional. Tiene personería jurídica, autonomía académica, administrativa y financiera, patrimonio independiente y podrá elaborar, aprobar y ejecutar su presupuesto, acorde con su misión y principios institucionales. La Universidad del Quindío esta vinculada al Ministerio de Educación Nacional en lo que se refiere a las políticas y planeación del sector educativo.

Que la Universidad está autorizada para expedir títulos profesionales, por ser una Institución de Educación Superior.

Para constancia se firma en la ciudad de Armenia, Quindío, a los veintidós (22) días del mes de mayo de 2012.


FRANCELEINE BARRERO RENDÓN



Carrera 15 Calle 12 Norte - Conn. 7460100 - Fax: 7460111 - Armenia Q. - Colombia
Web Site: www.uniquindio.edu.co - E-mail: luq@uniquindio.edu.co

SISTEMA DE RECUPERACION POR CENTRIFUGACIÓN Y
CONCENTRACIÓN EN FORMOL-ÉTER DE PROTOZOOS PARA
MUESTRAS DE AGUA POTABLE

DESCRIPCIÓN

Estado de la técnica conocido.

El primer método que se utilizó para la detección de protozoos en agua fue ICR (Reglas de Colecta de Información) recomendado por la EPA en 1998 (Agencia de Protección Ambiental), pero este método presentó muchos problemas ya que reportaba falsos positivos y falsos negativos además de ser poco preciso y exacto (McCuin et al 2003). En 1990, hubo un aumento en la infección por *Cryptosporidium* de manera dramática a partir de agua contaminada, lo que propició la evaluación de nuevos métodos de detección de protozoos patógenos en el agua, en 1997 la EPA desarrolla el método 1622 específico para la detección de *Cryptosporidium*, el cual incluyó un filtro que incrementa la captura de ooquistes por dilución, también incorpora la técnica de separación inmunomagnética (IMS) que permite la concentración específica de microorganismo, reduce los falsos positivos, disminuye las interferencias inespecíficas y adiciona un paso de tinción mediante inmunofluorescencia (IF) como prueba confirmatoria (Kazuo et al 2001). El método 1622 se modificó y se desarrolló el método 1623 que es la referencia actual para detección de protozoos en agua como control de calidad por parte de las empresas de agua en Estados Unidos y Europa. El método 1623 incluye un nuevo filtro (IDEXX Filta Max) el cual puede filtrar volúmenes más grandes (hasta 2000 Litros) y se adiciona la detección de quistes de *Giardia*. Comparados con los métodos de microbiología clásica para detección de protozoos no existen diferencias significativas ya que las dos técnicas contienen pasos de centrifugación y filtración. (Morales et al 2003, Wang et al 2004, Ochiai et al 2005). Además de esto los filtros son caros y no son reutilizables, dificulta la recuperación de las formas parasitarias cuando aumenta la turbidez ya que se pueden obstruir los filtros, también requiere altas concentraciones y volúmenes altos. El campo técnico en el cual se

IV
pondrá en práctica este modelo de utilidad es en el área de monitoreo, control y calidad de agua.

Descripción del modelo de invención

A partir de un volumen inicial de 10 litros de agua se realiza una centrifugación, luego de la cual se descarta el sobrenadante y se resuspende el precipitado para adicionarlo a un tubo de que contiene formol salino al 10% y éter. Luego se mezcla por agitación fuerte y se centrifuga a 250 g durante 2 minutos. Por último se descarta el sobrenadante y se resuspende el precipitado el cual se usa para buscar los protozoos por microscopia óptica o por inmunofluorescencia.

A continuación se describirá paso a paso el proceso de recuperación de formas parasitarias a partir de agua potable y no potable.

1. Se toma un recipiente plástico estéril de 10 Litros. El frasco debe lavarse previamente con 10 ml de solución tampón fostato salino a pH 7,0 más 1,0 ml de Tween 80 para desprender cualquier residuo.
2. Se lleva a la fuente de agua, se introduce hasta la mitad de la superficie de esta (teniendo en cuenta el caudal) y se deja hasta que se llene el recipiente
3. Se cierra el recipiente, se transporta al laboratorio procurando que quede bien cerrado
4. Se centrifuga todo el volumen de agua colectado, en una centrifuga refrigerada por diez minutos a 350 g, se descarta el sobrenadante y el botón de precipitación se resuspende en 1 ml de solución tampón fostato salino pH 7,4.
5. Se toma el precipitado resuspendido (1 ml) y se mezcla con 3 ml de una solución de formaldehído al 37% más cloruro de sodio al 0,8%, en un tubo de polipropileno de 15 ml, fondo cónico y de dimensiones 17x120 mm. Se mezclan estos reactivos y la muestra en un vortex (mezcla A).

6. Se toman 3 ml de la mezcla A y se adicionan 3 ml de éter anhidro en otro tubo de poliestireno. Luego se agita fuertemente por dos minutos y se destapa el tubo suavemente para que salga el gas y luego se centrifuga a 250 g por 2 minutos. Se descarta el sobrenadante dejando un precipitado con 500 μ l de la solución tampón fosfato salino a pH 7,0. Fig. 1
7. Se toman 10 μ l de precipitado mas 10 μ l de lugol al 1%
8. Se visualiza en un objetivo de 40X y 100X por microscopia óptica. Para la microscopia óptica se pueden realizar montajes en placa teñidos con lugol parasitológico (*Giardia*), esto se observa a 40x y Ziehl Neelsen (*Cryptosporidium*) en objetivo de 100X en microscopio óptico. Se determina la presencia de acuerdo con características morfológicas y de tamaño. Otra alternativa es por inmunofluorescencia con anticuerpos específicos anti-*Giardia* o anti *Cryptosporidium*.

Para evaluar la aplicabilidad del método se tomaron 10 litros de agua, se le adicionaron 1.000 quistes de *Giardia* y 1.000 quistes de *Cryptosporidium* y finalmente se realizó la metodología propuesta. Las formas parasitarias se contaron en la cámara Neubauer. Posteriormente se analizaron los siguientes parámetros a los resultados obtenidos:

Aplicabilidad: se determinan las características generales del método, el tipo de muestras que se van a analizar y el analito a determinar.

Límite de detección: Es la menor cantidad del analito que puede ser detectada en la muestra y se expresa como $LD = \bar{X} + 3S$ donde $\bar{X}$ representa el promedio de las mediciones del ensayo y S la desviación estándar de las mediciones (guía AOAC internacional).

Límite de cuantificación: El límite de cuantificación determina la concentración mínima del analito que puede ser determinada cuantitativamente por la prueba y se establece considerando la expresión $LC = \bar{X} + 10S$, donde $\bar{X}$ representa el promedio de las

mediciones del ensayo y **S** la desviación estándar de las mediciones (guía AOAC internacional).

Exactitud: Busca cuantificar la exactitud probable de los resultados evaluando los efectos sistemáticos y azarosos sobre los resultados. Así, la exactitud se estudia normalmente como **certeza** y **precisión**.

Certeza (de un método): Es una expresión de cuán cerca está la media de un conjunto de resultados (producidos por el método) del valor verdadero. Normalmente se expresa en términos de **sesgo**, para lo cual se obtiene el valor absoluto de la comparación entre el promedio de los valores obtenidos ($\bar{X}$) y el valor de referencia (μ): $s = | \bar{X} - \mu |$

Incertidumbre: Parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mesurando (OAA. DCLE- 05).

Generalmente es una desviación estándar o un intervalo de confianza y su estimación toma en cuenta todos los efectos reconocidos que operan sobre el resultado.

Recuperación: Fracción de analito que se agrega a una muestra de ensayo (inoculo artificial o "spiked") antes del análisis. Objetivo: evaluar la eficiencia del método para detectar todo el analito presente en una muestra.

Muestra utilizada para el ensayo: Agua de la llave hervida por 20 minutos. Los parásitos utilizados fueron *Giardia duodenalis* y *Cryptosporidium* sp aislado de humanos y donados por el Dr. Fidel Angel Nuñez del Insituto Pedro Kouri y cuantificados por hemocitometro.

Resultados:

Aplicabilidad:

En esta propuesta se describe el método para el análisis de muestras de agua, con el objeto de determinar la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia*. A continuación se presentan los resultados obtenidos de la aplicación del método en laboratorio. (Anexo 1). De los 10 conteos realizados en hemocitometro se cuantificaron un promedio de 750 ooquistes/ml para *Cryptosporidium* y 825 quistes/ml de *Giardia*.

Limite de detección: De acuerdo al ensayo realizado el método permite detectar un mínimo de 1.270 ooquistes /ml de *Cryptosporidium* y 1.431 quistes/ ml de *Giardia*. *Cryptosporidium* $LD = 875 + (3 \times 131.7) = 1270.1$ quistes/ml
Giardia $LD = 925 + (3 \times 168.7) = 1431$ quistes/ml

Límite de cuantificación: Este análisis permite establecer que el método propuesto se puede detectar la presencia de protozoos a partir de una concentración mínima de 2192 ooquistes/ml para *Cryptosporidium* y 2612 quistes/ml para *Giardia*. *Cryptosporidium* $LC = 875 + (10 \times 131.7) = 2192$ quistes/ml *Giardia* $LC = 925 + (10 \times 168.7) = 2612$ quistes/ml

Exactitud: Para este método la exactitud de la determinación de los protozoos se valoro en términos de sesgo y se encontró que para la detección de *Cryptosporidium* existió un sesgo aproximado de 125 ooquistes/ml y 75 quistes/ml para *Giardia*. *Cryptosporidium* $|875 - 1000| = 125$ *Giardia*: $|925 - 1000| = 75$

Incertidumbre. Para determinar la dispersión de los datos se determino la incertidumbre con el Intervalo de confianza de la siguiente manera:

$$IC = X - (+1 - \alpha/2 \times EE)$$

Donde:

X= promedio

$\alpha = 0.09$ grados de libertad del valor t

EE= Error Estándar = DE (desviación estándar)/ $\sqrt{n}$

$$875 - (1.83 \times 41) = 875 - 75 = 800 \quad | \quad 875 + 75 = 950$$

Entonces, el Intervalo de Confianza para la detección de *Cryptosporidium* se encuentra entre 800 y 950 con una confiabilidad de 95%

$$925 - (1.83 \times 53.4) = 925 - 98 = 827 \mid 925 + 98 = 1023$$

Entonces, el Intervalo de Confianza para la detección de *Giardia* se encuentra entre 827 y 1.023 con una confiabilidad de 95%

Recuperación: De acuerdo al método evaluado se pudo recuperar entre un 80 y un 90% de formas parasitarias en el ensayo *Cryptosporidium* (875/1000) x 100: 87,5% *Giardia* (925/1000) x 100: 92,5%

Técnica confirmatoria de inmunofluorescencia:

Mediante la tinción con anticuerpos específicos para la detección de *Cryptosporidium* y *Giardia*, se cuantificaron el número total de ambos parásitos observados, que correspondió a 465 quistes/ml. (Anexo 2)

CONCLUSIONES DEL ENSAYO

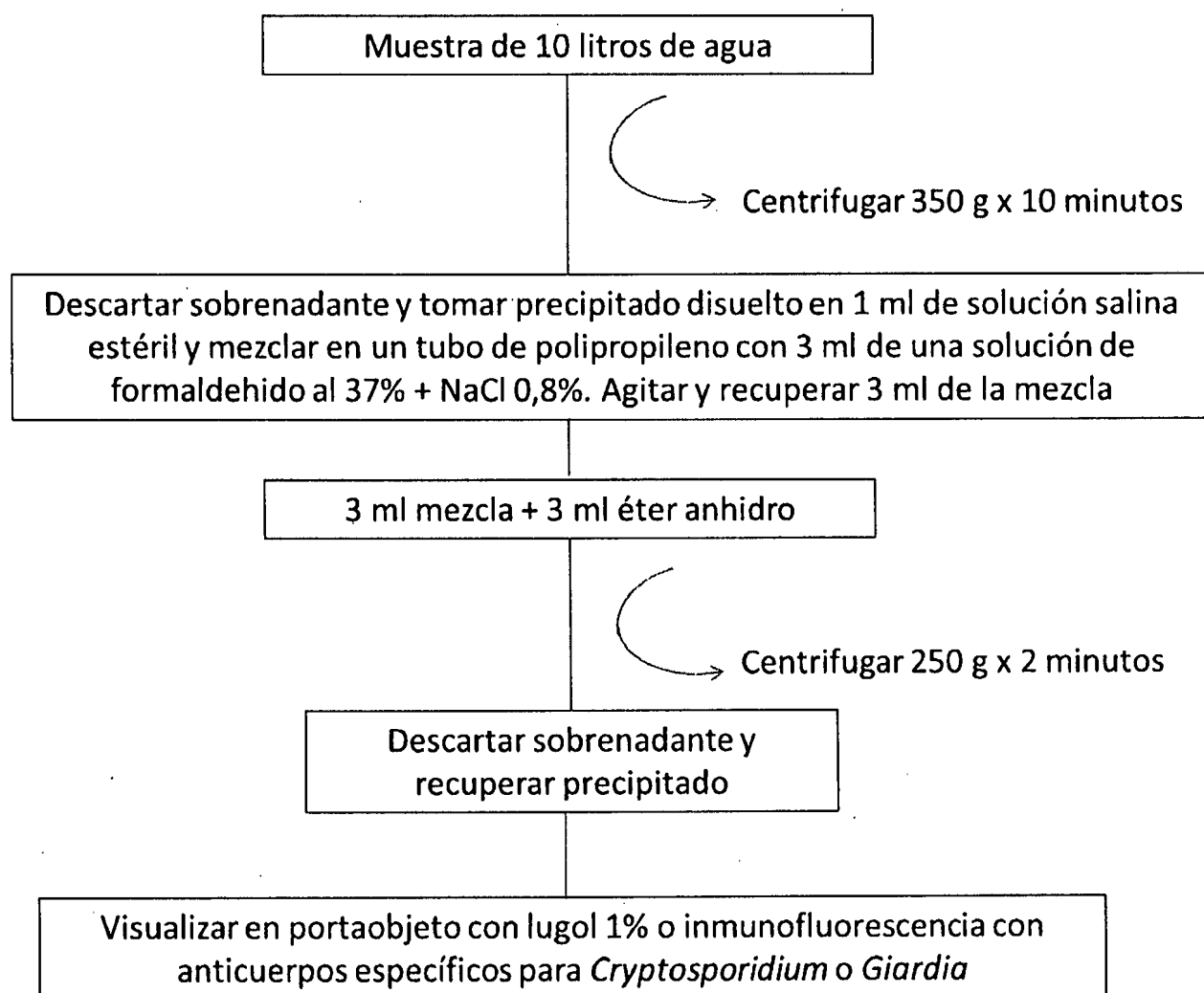
Este ensayo permitió conocer el desempeño del método a través de los parámetros evaluados. Los límites de detección y cuantificación alcanzados con el método propuesto son favorables para la identificación de bajas concentraciones de protozoos en muestras de agua; es decir a partir de formas de parasitarias este método puede detectarlo en un volumen de 10 litros de agua. De igual manera el método presentó un buen porcentaje de recuperación (entre un 87,5% para *Cryptosporidium* y un 92,5% para *Giardia*) a partir de una muestra de 2.000 quistes/ml (1000 para cada parásito, *Giardia* y *Cryptosporidium*), por lo que se puede decir que el método de recuperación mediante centrifugación y concentración, permite medir de manera confiable el contenido *Giardia* y *Cryptosporidium* en muestras de agua.

REIVINDICACIONES

REINVIDICACIÓN 1.

El sistema de recuperación de protozoos por centrifugación y concentración en formol éter para muestras de agua potable logra concentrar los protozoos presentes en muestras de agua potable y no potable, utilizando un tubo cónico de polipropileno con una solución de formaldehído al 37% y éter más cloruro de sodio al 0,8 % y centrifugación sin necesidad de filtración por membranas. Este método concentra contenidos de protozoos a partir de un volumen inicial de 10 litros de agua y recupera entre un 87% de *Cryptosporidium* y un 92% de *Giardia*. Se realiza una centrifugación a 350 g durante 10 minutos hasta obtener un volumen final de 1 ml. A este volumen final (1 ml) se le realiza la técnica de concentración utilizando una solución compuesta de una solución de formaldehído al 37% más cloruro de sodio al 0,8%. Se mezclan estos reactivos y se toman 3 ml de esta solución y se mezcla con 3 ml de éter anhidro. Luego se agita fuertemente por dos minutos, se destapa el tubo suavemente para que salga el gas y se centrifuga a 250 g por 2 minutos. Se descarta el sobrenadante y se resuspende el precipitado con 500 µl de solución tampón salino. Figura 1.

FIGURA 1.



RESUMEN

El agua por sus diversos empleos y calidades juega un papel importante en las vías de transmisión de microorganismos patógenos, por ello en Colombia se ha incluido la detección de *Giardia* y *Cryptosporidium* como indicador de la calidad del agua para consumo humano según la Resolución 2115 del 22 de junio del 2007 del Ministerio de la Protección Social y el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. *Cryptosporidium* y *Giardia* son protozoarios de importancia en la salud pública debido a que son causa de infecciones gastrointestinales en niños y en población inmunosuprimida. Estos organismos poseen una estructura quística que los rodea y los protege de ciertas condiciones ambientales, los hace resistentes a la desecación, a la carencia de nutrientes, a las altas temperaturas, a la escasez de oxígeno, a la respuesta inmune del huésped y a la desinfección en plantas de tratamiento de agua potable y aguas residuales (Alarcón 2005). *Giardia* se considera el parásito más importante en la industria del agua porque se ha encontrado como agente etiológico responsable de varios brotes epidémicos relacionados con consumo de agua tratada o para uso recreacional, como las piscinas, en diversas partes del mundo (Solarte 2006).

Los tratamientos del agua para consumo humano remueven en diferentes grados estos dos protozoarios. La filtración lenta en arena es capaz de retirar entre 93% y 100% (Fogel 1993) de *Giardia*. Con *Cryptosporidium*, las remociones han alcanzado entre 99,99% (4 log) y 99,997% (5 log) (Timms 1995). Se discute con base en la evidencia epidemiológica, que los niveles de quistes de *Giardia* que persisten en el agua potable (0,11 quistes/l) después de los procesos de filtración no son capaces de causar infecciones pero es necesario realizar vigilancia de sus niveles para garantizar la potabilidad del agua.

Un primer ensayo del rendimiento de un procedimiento alternativo al método de filtración por membrana para la recuperación de formas

parasitaria de protozoos, nos permitió conocer el desempeño del método. Los límites de detección y cuantificación alcanzados con el método propuesto, son favorables para la identificación de bajas concentraciones de protozoos en muestras de agua a partir de un volumen de 10 litros de agua. El método presentó un buen porcentaje de recuperación (entre un 87,5% para *Cryptosporidium* y un 92,5% para *Giardia*) a partir de una muestra de 2.000 quistes/ml (1.000 para cada parásito de *Giardia* y *Cryptosporidium*). El método de recuperación mediante centrifugación y concentración en formol y éter permite identificar y medir de manera confiable el contenido en *Giardia* y *Cryptosporidium* en muestras de agua.