

## Virus en sistemas acuáticos e implicaciones en salud pública

### Virus in aquatic systems and public health implications

Ana Cecilia Espinosa-García,<sup>1</sup>  
Carlos F. Arias-Ortiz<sup>2</sup>  
y Marisa Mazari-Hiriart<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. 3er Circuito Exterior Ciudad Universitaria. Apartado Postal 70-275. Coyoacán, 04510 DF. México. E-mail: mazari@servidor.unam.mx

<sup>2</sup> Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 2001. Apartado Postal 510-3. Cuernavaca, Morelos 62210. México

Espinosa-García A.C., C. F. Arias-Ortiz., y M. Mazari-Hiriart 2004. Virus en sistemas acuáticos e implicaciones en salud pública. *Hidrobiológica* 14 (2): 166-178.

#### RESUMEN

El aprovechamiento de los recursos hídricos por el hombre, ha despertado interés sobre la presencia de virus en sistemas acuáticos debido al riesgo que representan para la salud pública. Se realiza una revisión sobre la presencia de virus en diferentes sistemas acuáticos, las enfermedades causadas por virus humanos y sus síntomas, incluyendo enterovirus, rotavirus, astrovirus, calicivirus, adenovirus y virus de hepatitis A. Se analizan también las implicaciones para la salud en relación con la normatividad vigente para agua de uso y consumo humano, así como para agua residual tratada y reutilizada. Se trata el impacto de las enfermedades virales relacionadas con uso y consumo de agua en la población, mencionando la situación en México. Se describen los métodos que se emplean para la detección de virus, así como los métodos más comunes de desinfección para agua de uso y consumo humano, con un enfoque específico sobre contaminación viral. Se concluye que los virus entéricos capaces de persistir en el ambiente tienen el potencial de causar efectos severos en la salud, especialmente de la población infantil. Los resultados de esta revisión sugieren que en México y otras zonas tropicales se deben realizar investigaciones para conocer cual es la situación en cuanto a contaminación viral del agua subterránea, superficial y agua residual tratada para reúso. Es relevante evaluar como agentes indicadores de contaminación viral fecal a los enterovirus y bacteriófagos con la intención de incluirlos en los estándares de calidad del agua.

**Palabras clave:** virus humanos, sistemas acuáticos, gastroenteritis, calidad del agua.

#### ABSTRACT

The use of the hydraulic resources by humans raised the interest on the presence of virus in aquatic systems, due to the public health risk they represent. We present a revision on the occurrence of virus in different aquatic systems, the diseases caused produced by human virus and their symptoms, including enterovirus, rotavirus, astrovirus, calicivirus, adenovirus and hepatitis A virus. Implications in public health in relation with the existing regulations for human use and consumption, as well as residual treated and reused water, are analyzed. We mention the impact of viral diseases related the water for human use and consumption, giving some idea of Mexico's situation. The methods used for the detection of virus, as well as the common methods for water disinfection used for human with a specific focus on viral contamination. We conclude that human viruses capable to persist in the environment have severe effects, specially for infants. The results of this revision suggest that research should be conducted in Mexico and other tropical areas to know what is the situation with viral contamination in groundwater, fresh-water and treated wastewater for reuse. It is relevant the evaluation of enterovirus as indicators of the presence of viral fecal contamination and bacteriophages intending to include them in the water quality standards.

**Key words:** human virus, aquatic systems, gastroenteritis, water quality.

## INTRODUCCIÓN

El agua desempeña un papel importante tanto en las actividades humanas como en los sistemas naturales. El aumento de la población mundial ejerce una presión cada vez mayor sobre este recurso provocando una severa degradación e imponiendo límites para la producción agrícola e industrial, así como mayores riesgos para la población humana (Nash, 1993; Postel *et al.*, 1996; Fernández-Jauregui, 1999). Debe considerarse además que en diferentes regiones del mundo existe una disparidad entre la población y los recursos hídricos disponibles (Tabla 1).

En relación con la calidad microbiológica del agua, se puede decir que los microorganismos son poco conocidos para el público, excepto en el contexto de patogenicidad o descomposición de alimentos (Pace, 1997). En las últimas décadas, el empleo de las técnicas de biología molecular en estudios microbiológicos ha transformado el entendimiento de la diversidad y evolución de la vida de los microorganismos. Los ecólogos microbianos han descubierto que los ecosistemas poseen una enorme diversidad de especies de microorganismos que puede rebasar el número de especies de plantas y animales conocidas. La abundancia de virus en aguas superficiales es de  $10^{10}$  partículas/L, esto es de 5 a 25 veces la abundancia de bacterias (Fuhrman, 1999).

El estudio sobre los virus en las comunidades acuáticas se ha venido incrementando en las últimas décadas (Jiang & Paul, 1998; Wommack *et al.*, 1999; Fuhrman, 1999; Wommack & Colwell, 2000). Los trabajos sobre virus en sistemas acuáticos, especialmente sistemas marinos, muestran que éstos son abundantes, incluso excediendo el número de bacterias, lo que sugiere una importante participación en la dinámica de estos sistemas (Proctor, 1997; Weinbauer & Höfle, 1998; van Hannen *et al.*, 1999).

Debe hacerse la diferencia entre los microorganismos que de manera natural forman parte de un sistema acuático y los que están presentes sin ser parte de él (Yates *et al.*, 1985). Este sería el caso de aguas residuales, con un alto contenido de microorganismos, que son descargadas a cuerpos de agua naturales. Eventualmente la presencia de agentes patógenos puede representar un problema de salud pública, con especial énfasis en enfermedades gastrointestinales, que en muchos casos son de etiología viral (Nasser & Oman, 1999).

En teoría, todos los organismos son susceptibles de ser infectados frecuentemente por más de un tipo de virus, de modo que los virus son probablemente los agentes más diversos de la Tierra (Fuhrman, 1999). Por esta razón se considera importante llevar a cabo una revisión sobre la presencia de virus en sistemas acuáticos, haciendo énfasis en los virus patógenos humanos que representan un riesgo para la salud pública y la limitante que esto representa para el uso y explotación del recurso agua. El objetivo de este trabajo es presentar el estado actual de la investigación sobre la pre-

sencia de virus en sistemas acuáticos y sus implicaciones tanto ambientales como de salud pública

### VIRUS EN SISTEMAS ACUÁTICOS

La abundancia de virus animales y bacteriófagos (virus bacterianos), en sistemas acuáticos es variable, de acuerdo con los sitios de muestreo, profundidad y estación del año. Se han reportado datos que van del orden de  $10^7$  a  $10^{11}$  partículas/L en agua marina superficial (Fuhrman, 1999). El número de virus, de manera similar a las bacterias, decrece aproximadamente un orden de magnitud entre aguas costeras ricas en nutrientes y el mar abierto pobre en nutrientes. También se reporta una disminución de entre cinco y diez veces en la zona eufótica a profundidades de 500 m y aún más para profundidades abismales. Como ocurre con las bacterias, los mares fríos son más ricos en poblaciones virales en comparación con las aguas templadas y cálidas. Además, el agua intersticial asociada con los sedimentos es más rica en virus que el agua subyacente (Fuhrman, 1999). En la tabla 2 se muestran algunos reportes sobre la abundancia viral en diferentes sistemas acuáticos.

Sobre la abundancia de virus humanos en sistemas acuáticos, debido a su importancia epidemiológica, existen trabajos que se han centrado en el desarrollo de métodos de detección y cuantificación (Tabla 3).

A pesar de que el agua para uso y consumo humano se desinfecta en muchos países, los virus humanos, en especial los entéricos son más resistentes a dichos tratamientos que las bacterias coliformes, que son utilizados como indicadores de calidad de agua a nivel mundial. Vaughn y Novotny (1991) reportan que poliovirus resiste más de 100 veces al ácido hipocloroso que *Escherichia coli*. En otros trabajos se ha mostrado que el agua, tanto dulce como salobre, libre de coliformes, puede contener virus o protozoarios (Vantarakis & Papapetropoulou, 1998; Grabow *et al.*, 1999; Payment *et al.*,

Tabla 1. Disponibilidad de los recursos hídricos y población a nivel mundial. (Con base en Fernández-Jauregui, 1999).

Región	Población (%)	Recursos hídricos (%)
América del Norte y Central	8	15
Europa	13	8
Asia	60	35
América del Sur	6	26
África	13	11
Australia y Oceanía	<1	5

Tabla 2. Abundancia de virus en sistemas acuáticos.

Sitio de estudio	Abundancia viral*	Referencia
	(virus/ml)	
Chesapeake Bay, EUA	10.1 X 10 <sup>6</sup>	Bergh <i>et al.</i> , 1989
Korsfjorden, Alemania	6.1 X 10 <sup>6</sup>	Bergh <i>et al.</i> , 1989
Raunefjorden, Alemania	4.8 X 10 <sup>6</sup> a 9.9 X 10 <sup>6</sup>	Bergh <i>et al.</i> , 1989
Lago Plusse, Alemania	5 X 10 <sup>6</sup> a 2.5 X 10 <sup>8</sup>	Bergh <i>et al.</i> , 1989
Raunefjorden, Alemania	5 X 10 <sup>6</sup> a 1.3 X 10 <sup>7</sup>	Bratbak <i>et al.</i> , 1990
Chesapeake Bay, EUA	2.6 X 10 <sup>6</sup> a 1.4 X 10 <sup>8</sup>	Wommack <i>et al.</i> , 1992
Mar Adriático, Croacia- Italia	1.2 X 10 <sup>6</sup> a 8.7 X 10 <sup>7</sup>	Weinbauer <i>et al.</i> , 1993
Río Danubio, Austria	1.2 X 10 <sup>7</sup> a 6.1 X 10 <sup>7</sup>	Mathias <i>et al.</i> , 1995
Lago Konstans, Alemania	1 X 10 <sup>7</sup> a 4 X 10 <sup>7</sup>	Hennes y Simon, 1995
Lago Plusse, Alemania	2 X 10 <sup>6</sup> a 1.9 X 10 <sup>7</sup>	Weinbauer & Höttele, 1998
Canal Inglés	1.6 X 10 <sup>7</sup> a 1.8 X 10 <sup>7</sup>	Marie <i>et al.</i> , 1999
Pacífico Ecuatorial	3.9 X 10 <sup>6</sup> a 5.3 X 10 <sup>6</sup>	Marie <i>et al.</i> , 1999
Mar Mediterráneo	1.5 X 10 <sup>6</sup> a 2.3 X 10 <sup>6</sup>	Marie <i>et al.</i> , 1999

2000) y que los virus entéricos persisten por semanas incluso meses (Nasser & Oman, 1999).

En un individuo infectado, una vez que los virus se han replicado en el tracto gastrointestinal, gran número de partículas son excretadas con las heces fecales que son canalizadas al drenaje (Gilgen *et al.*, 1997). Poliovirus, por ejemplo, se ha encontrado en concentraciones del orden de 10<sup>6</sup> unidades formadoras de placa por gramo de heces (PFU/g) y puede estar presente en aguas residuales, especialmente en países en donde el poliovirus vivo es utilizado para vacunación (Abad *et al.*, 1994; Bergstein-Ben Dan *et al.*, 1997; Sarmiento-Pérez *et al.*, 1999). Para rotavirus se ha detectado una concentración del orden de 10<sup>10</sup> PFU/g de heces (Yates *et al.*, 1985) y para el caso de hepatitis A la concentración es de 10<sup>9</sup> PFU/g (Nicand *et al.*, 1998).

Tratándose de virus entéricos humanos, en general el número de partículas que pueden ser excretadas por individuos infectados es de 10<sup>8</sup> a 10<sup>10</sup> PFU/g de heces (Abbaszadegan *et al.*, 1999), y en agua residual pueden estar presentes más de 140 serotipos diferentes de virus entéricos (Gantzer *et al.*, 1998; Nicand *et al.*, 1998). Por lo tanto, el agua representa un vehículo con un impacto potencial real para la transmisión de enfermedades (Edwald, 1994), cuyo control es importante. Los tipos de virus que se pueden encontrar en el agua son diversos (Tabla 4). Los factores relevantes que influyen y controlan tanto la supervivencia como la migración de los virus son: el clima (temperatura y precipitación), el tipo de suelo y muy importante el tipo viral (Yates *et al.*, 1985). Otros aspectos relacionados con la

presencia de virus entéricos en agua están relacionados con el número de habitantes en una población, sus hábitos de higiene, la prevalencia de infecciones en la comunidad y la temporada del año (Kopecka *et al.*, 1993).

#### ENFERMEDADES DE ORIGEN VIRAL RELACIONADAS CON AGUA

Dentro las enfermedades de transmisión hídrica las de etiología viral llaman la atención, pues aunque el medio acuático no es su hábitat natural de los virus, en él se dispersan fácilmente y pueden permanecer activos de semanas a meses (Abad *et al.*, 1994). Además, existen virus humanos que sobreviven a los sistemas tradicionales de desinfección y tratamiento del agua (Gerba & Rose, 1990). Entre los virus humanos capaces de persistir en el ambiente debido a su resistencia a las condiciones no favorables se encuentran: enterovirus (Gantzer *et al.*, 1998), rotavirus, virus de hepatitis A (LeGuyader *et al.*, 1994), astrovirus (Pintó *et al.*, 1996), calicivirus (Gilgen *et al.*, 1997) y adenovirus, todos ellos de importancia en salud pública (Gerba & Rose, 1990; Kapikian & Chanock, 1991; Nicand *et al.*, 1998).

**Enterovirus.** Se reconocen como causa importante de infecciones agudas, especialmente del sistema nervioso central, como meningitis y encefalitis, así como en infecciones subagudas y crónicas del sistema cardiovascular como pericarditis, miocarditis y cardiomiopatías (Kämmerer *et al.*, 1994; Gilgen *et al.*, 1995; Sarmiento-Pérez *et al.*, 2000). La ruta de transmisión de estas enfermedades es fecal-oral, por contacto directo con enfermos, consumo de agua y alimentos contaminados (Melnick, 1996a).

Tabla 3. Abundancia de virus humanos en sistemas acuáticos

Sitio de estudio	Abundancia virus (PFU/L)	Tipo de virus	Referencia
Saint Lawrence River, Canadá	<0.3 a 62.3	virus entéricos	Payment <i>et al.</i> , 2000
Río Missouri, EUA	0.1	virus entéricos	Gerba & Rose, 1990
Río Sena, Francia	191	virus entéricos	Gerba & Rose, 1990
Río Támesis, Inglaterra	22	virus entéricos	Gerba & Rose, 1990
Ríos Avon y Sowe, Inglaterra	620	virus entéricos	Gerba & Rose, 1990
Río Besos, España	55	virus entéricos	Gerba & Rose, 1990
Río Lobregat, España	55	virus entéricos	Gerba & Rose, 1990
Auckland, Nueva Zelanda	2667 a 233*	enterovirus	Gerba & Rose, 1990
Auckland, Nueva Zelanda	<6 a 276**	enterovirus	Gerba & Rose, 1990
Achaia (marina), Grecia	0.29 a 0.39	enterovirus	Vantarakis & Papapetropoulou, 1998
Chapala, México	4.1	rotavirus y	Deetz <i>et al.</i> , 1984
	0.55	enterovirus	Deetz <i>et al.</i> , 1984
Chapala (servida), México	0.8-10.5	rotavirus y	Deetz <i>et al.</i> , 1984
	1-1.35	enterovirus	Deetz <i>et al.</i> , 1984

PFU= unidades formadoras de placa

\* agua residual, \*\* agua residual tratada en efluente a zona marina

El género Enterovirus se encuentra dentro de la familia Picornaviridae. A éste género pertenecen poliovirus, coxsackievirus, echovirus y los enterovirus del 68 al 71 (Stanway, 1990; Rotbart, 1995; Rueckert, 1996). Los Enterovirus fueron de los primeros virus detectados en agua en 1940, a partir de agua contaminada por heces fecales (Melnick, 1996b) y desde entonces se identificó el potencial que tiene el agua como vehículo para la dispersión de virus humanos (Griffin *et al.*, 2003).

**Rotavirus.** La familia Reoviridae incluye a los rotavirus. Se dividen en seis grupos (A a F). Los aislados de humanos se clasifican en los grupos A, B y C. El grupo A, que a su vez tiene dos subgrupos I y II (Christensen, 1995; Estes, 1996), es causante de diarrea severa en niños (Padilla-Noriega *et al.*, 1998; Arias *et al.*, 2002). Un aspecto particular de los rotavirus es que codifican para una proteína (NSP4) que se ha sugerido tiene una actividad similar a la de una enterotoxina (Christensen, 1995; López & Arias, 2001).

La enfermedad se adquiere por el consumo de alimentos o agua contaminados y se desarrolla después de 1 ó 2 días de incubación, presentándose gastroenteritis de manera súbita con vómito y diarrea, fiebre y en ocasiones dolor abdominal, lo que puede llevar a una deshidratación severa, hospitalización y eventualmente a la muerte, especialmente en niños pequeños (Christensen, 1995). Los rotavirus se

asocian con el 35% al 52% de las diarreas agudas en niños que requieren hospitalización, tanto en países desarrollados como en países en desarrollo (Kapikian & Chanock, 1991), y el 95% de niños que han alcanzado los 5 años ya han sido infectados (López & Arias, 2001). Este virus es responsable de alrededor de 800,000 muertes de niños menores de 5 años por año, en todo el mundo (Arias *et al.*, 2002; Mota-Hernández *et al.*, 2003). En México rotavirus es el principal agente viral que causa diarrea severa en niños menores de dos años (Villa *et al.*, 1999).

**Astrovirus.** La familia Astroviridae incluye a los astrovirus. Se conocen al menos ocho serotipos de astrovirus humano (Méndez-Toss *et al.*, 2000). Los síntomas de una infección por astrovirus son vómito, dolor abdominal, fiebre y diarrea, misma que puede durar de 7 a 14 días acompañada de excreción de virus (Petric, 1995). Este virus también se ha asociado con enfermedad gastrointestinal que es adquirida por el contacto con personas enfermas, consumo de alimentos o agua contaminados (Matsui & Greenberg, 1996) incluso se considera segundo en importancia, después de rotavirus, como agente causante de diarreas en niños, pero por lo general no requiere de hospitalización (Walter & Mitchell, 2000).

En países en desarrollo se le asocia con el 4% al 10% de los casos de diarrea en niños (Medina *et al.*, 2000). Con

frecuencia en casos de diarrea infantil se ha encontrado una coinfección de astrovirus con rotavirus, lo que complica el entendimiento desde el punto de vista epidemiológico (Walter & Mitchell, 2000).

**Calicivirus.** Los calicivirus pertenecientes a la familia Caliciviridae incluyen cuatro genogrupos: Lagovirus, Norovirus (virus Norwalk, Snow Mountain), Sapovirus (virus Sapporo) y Vesivirus (ICTV, 2002).

La enfermedad causada por calicivirus se manifiesta con náusea, vómito, diarrea, calambres abdominales, dolor de cabeza y fiebre (Petric, 1995). Se ha reportado que la incidencia de gastroenteritis por el virus Norwalk es más frecuente en los meses fríos (Mounts *et al.*, 2000). La ruta de contagio es fecal-oral, principalmente por ingesta de alimentos y agua contaminados con el virus (Kapikian *et al.*, 1996).

Los calicivirus humanos fueron los primeros agentes virales que se asociaron con gastroenteritis (Petric, 1995) y en particular el virus Norwalk que ocurren en diversos ambientes como hospitales, asilos, guarderías, restaurantes y en cruceros (Mounts *et al.*, 2000).

En muestras de materia fecal se ha encontrado que los calicivirus son tan frecuentes como los rotavirus (Monroe *et al.*, 2000). El Centro de Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) estima que 23 millones de los casos agudos de gastroenteritis reportados entre 1997 y 2000 se debieron a Norovirus (CDC, 2001).

**Adenovirus.** Los adenovirus pertenecen a la familia Adenoviridae. Estos virus se asocian con gastroenteritis, conjuntivitis y enfermedades respiratorias (Van Heerden *et al.*, 2003). Su transmisión depende del serotipo y de la enfermedad asociada pudiendo ser por contacto directo, por vía fecal-oral y por agua (Pina, 2001). En particular los serotipos 40 y 41 se asocian con el 20% de las diarreas infantiles en niños menores de dos años (Favier *et al.*, 2002) y se les reconoce como segundo agente etiológico de diarreas infantiles después de rotavirus (Jiang *et al.*, 2001). Las gastroenteritis se pueden prolongar por 14 días. Se han detectado infecciones asintomáticas y hay un incremento en

la incidencia de gastroenteritis por adenovirus en los meses templados (Petric, 1995). Los serotipos 40 y 41 se han detectado en aguas residuales tanto crudas como tratadas, en agua superficial (Pina *et al.*, 1998) y en agua marina (Vantarakis & Papapetropoulou, 1998).

Hepatitis A. Taxonómicamente este virus se ubica dentro de la familia Picornaviride dentro del género Hepatovirus (Pina, 2001). Una persona infectada por hepatitis A evacua 10<sup>9</sup> partículas g-1 de heces (Cerdana y Stapleton, 1995; Nicand *et al.*, 1998). La enfermedad presenta síntomas como fiebre, náusea, vómito, anorexia y diarrea, con ictericia que no siempre es aparente (Bosch *et al.*, 2001). El contagio de la enfermedad es por ruta fecal-oral, por contacto con personas enfermas y por consumo de agua y alimentos contaminados (Nicand *et al.*, 1998; Pina, 2001).

Este virus es la causa más común entre las hepatitis en los Estados Unidos, y México esta dentro de la zona endémica de Latinoamérica (Tanaka, 2000).

#### IMPLICACIONES EN SALUD PÚBLICA

Las evaluaciones de calidad del agua en el mundo han estado basadas durante décadas en la determinación de bacterias coliformes de origen fecal, las cuales se usan como indicadores de la presencia de patógenos humanos. Esto presenta serias limitaciones, dado que la presencia de bacterias tiene un valor predictivo bajo o nulo para otros grupos de microorganismos como son los virus y protozoarios (Grabow *et al.*, 2001). En las regulaciones y criterios de calidad del agua de países como Estados Unidos (USEPA, 1999) y la Comunidad Europea (EC, 1980), se incluye la determinación de virus en agua para uso y consumo humano (Grabow *et al.*, 2001) y en ese mismo sentido la Organización Mundial de la Salud recomienda que el agua para consumo humano debe estar libre de enterovirus (WHO, 1996).

El desarrollo de técnicas para la detección de virus en agua ha permitido que las evaluaciones de calidad del agua para diversos usos presenten una nueva perspectiva (Grabow *et*

Tabla 4. Virus humanos que se han detectado en diferentes tipos de agua.

Tipo de virus	Tipo de agua	Sitio	Referencia
Astrovirus	Residual	Sud Africa	Marx <i>et al.</i> , 1998
Adenovirus y enterovirus	Marina	SW Grecia	Vantarakis & Papapetropoulou, 1998
Entéricos y reovirus	Marina/estuarina	Mar Adriático	Muscillo <i>et al.</i> , 1997
Entéricos	Residual	Auckland, N. Zelanda	Green & Lewis, 1999
Adenovirus,	Residual	Barcelona, España	Pina <i>et al.</i> , 1998
Enterovirus,	Dulce (río)	Barcelona, España	Pina <i>et al.</i> , 1998
Hepatitis A	Marina	Barcelona, España	Pina <i>et al.</i> , 1998

*al.*, 2001), en la que se considera a los virus humanos como otros agentes contaminantes (Blumenthal *et al.*, 2000), para los que deben establecerse normas de acuerdo a los riesgos de salud aceptables para la población humana (Rose & Gerba, 1991; Haas *et al.*, 1993).

Para detectar virus humanos en agua se requiere de equipo y de personal especializado, en mayor grado que lo que se necesita para detectar bacterias, por lo que con el propósito de monitorear la calidad viral del agua, se ha planteado el uso de bacteriófagos como modelo de virus entéricos para su posible aplicación como indicadores de contaminación viral (Araujo *et al.*, 1997; Puig *et al.*, 2001).

Debido a la crisis de escasez mundial de agua para uso y consumo humano y considerando que el reúso representa una de las alternativas para responder a la creciente demanda de agua, en años recientes, los esfuerzos se han orientado hacia el reciclaje. Una de las propuestas de reúso es utilizar el agua residual para riego agrícola (Blumenthal *et al.*, 2000), dado que esta actividad representa el mayor consumo de agua, esto es, dos terceras partes del agua a nivel mundial (Postel, 2001). La propuesta resulta económicamente conveniente, no obstante, debe considerarse que existe el riesgo de contaminación fecal viral de los sistemas de agua subterránea subyacentes (Yates *et al.*, 1987) debido a la habilidad de los virus para migrar distancias significativas a través del suelo (McKay *et al.*, 1993; Thompson *et al.*, 1998).

El agua destinada para consumo humano básicamente es subterránea, de modo que la contaminación fecal de ésta puede constituir un problema serio de salud (Yates *et al.*, 1987). Lo anterior podría suceder por un reúso de agua residual o superficial contaminada, que no haya recibido previamente un tratamiento adecuado y también por una mala o nula protección de pozos de extracción de agua subterránea (Kopecka *et al.*, 1993; Muscillo *et al.*, 1997; Pallin *et al.*, 1997).

De acuerdo con estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades infecciosas provocaron la muerte a 16.3 millones de personas en 1993, de las que 3 millones corresponden a muertes por enfermedades diarreicas (Platt, 1996). Durante 2001 se estimó que 2 millones de muertes fueron causadas por enfermedades diarreicas asociadas con agua (UNESCO, 2003). Además de millones de muertes, es importante considerar los millones de eventos de infección, que sin llegar a ser mortales, también tienen efectos en la calidad de vida de la población (Platt, 1996). La UNESCO (2003) estimó una morbilidad por enfermedades diarreicas de 62 millones de casos para 2001.

Las enfermedades diarreicas de origen no bacteriano afectan a un amplio sector de la población en todo el mundo. En países desarrollados son la causa principal de morbilidad en niños menores de 5 años (Gilgen *et al.*, 1995; Rotbart, 1995) y en los países en desarrollo son la causa principal de morbilidad y mortalidad en ese mismo grupo de edad (Kapikian & Chanok, 1991).

En México la incidencia de enfermedad diarreica por virus ha sido documentada a partir de estudios epidemiológicos (Farkas *et al.*, 2000). Se ha identificado un patrón estacional

en cuanto a los agentes causales de diarrea en niños mexicanos. Durante los meses de verano (calor-lluvias) hay una mayor incidencia de infecciones bacterianas (López-Vidal *et al.*, 1990; Guerrero *et al.*, 1994; Calva, 1998), mientras que en los meses de otoño-inverno (frío-secas) las diarreas se asocian a virus, principalmente a rotavirus (Le Baron *et al.*, 1990; Calva, 1998; Villa *et al.*, 1999). Rotavirus se reporta como el principal agente causal de diarreas en niños mexicanos menores de dos años durante el invierno, atribuyéndosele entre el 25 y 50% de los casos (Villa *et al.*, 1999).

Jiang y colaboradores (1995) monitorearon a 200 niños mexicanos desde su nacimiento hasta los dos años de edad, para estimar la prevalencia de infecciones por el virus Norwalk, encontrando que la prevalencia de anticuerpos en el suero sanguíneo es del 85% a los dos años de edad, y en un subgrupo del total de niños monitoreados, que fue seguido hasta los cinco años de edad, la seroprevalencia de anticuerpos se incrementó a 100%. Los autores concluyeron que la importancia del virus Norwalk como agente causal de diarreas en niños menores de dos años, puede ser similar a la de rotavirus.

Astrovirus también se ha identificado en episodios diarreicos en niños mexicanos, reportándose que la prevalencia en niños hospitalizados por diarrea es del 2 al 16%, y este porcentaje es entre 5 y 17% al realizar un estudio en una comunidad donde los niños no requirieron hospitalización (Walter *et al.*, 2001). Las infecciones por astrovirus se presentan en los dos primeros años de vida y se detectaron hasta seis tipos presentes simultáneamente en una sola comunidad (Méndez-Toss *et al.*, 2000; Walter *et al.*, 2001).

#### MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE VIRUS EN AGUA

La cantidad de virus en ambientes acuáticos es variable, de modo que con frecuencia es necesario concentrar muestras de agua para detectarlos (Abbaszadegan *et al.*, 1999). La concentración de muestras por filtración es la más utilizada y se realiza por medio de filtros de membrana, filtros de fibra de vidrio, filtros de membrana con carga negativa o positiva o por medio de cartuchos filtrantes con carga eléctrica (Griffin *et al.*, 2003). Después de la filtración los virus que estén adsorbidos al filtro son eluidos y reconcentrados por una serie de cambios de pH y centrifugación (Abbaszadegan *et al.*, 1999). A partir de las muestras concentradas se detectan las partículas virales presentes por diferentes métodos. Uno de ellos es el método directo, es decir, las partículas virales se caracterizan por su talla y morfología a través de microscopía electrónica (Proctor, 1997). Otro método de conteo directo es por microscopía de epifluorescencia en el que las partículas virales emiten una señal fluorescente, visible al microscopio, cuando al virus se ha unido un fluorocromo (Wommack & Coldwell, 2000).

La infección de células cultivadas con agua ha sido el método más ampliamente usado para detectar virus activos. Sin embargo, el efecto de infección ocasionado por el virus

sobre las células, no es observable para todos los virus (Metcalf *et al.*, 1995; Grabow *et al.*, 2001). No obstante, en la actualidad es el método estándar para detectar virus infecciosos en ambientes acuáticos (Griffin *et al.*, 2003).

Los métodos inmunológicos como ELISA, radioinmuno ensayo e inmunofluorescencia, usados en laboratorios clínicos, también se han probado para el análisis de muestras ambientales. Con estas técnicas se ha identificado virus para los que se cuenta con un anticuerpo específico, pero no es posible saber si se trata de virus infecciosos (Griffin *et al.*, 2003).

Al desarrollarse técnicas con base a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) la detección de virus humanos en sistemas acuáticos ha sido rápida, específica y de una sensibilidad de hasta una partícula viral, factores que son fundamentales cuando se trata de virus humanos de interés para salud pública (Grabow *et al.*, 2001). La técnica de transcriptasa reversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) ha sido particularmente importante para la detección de virus de RNA, ya que en teoría se considera que es capaz de detectar este tipo de virus infeccioso o no (Grabow *et al.*, 2001). La especificidad de las técnicas de PCR y RT-PCR radica en que se detectan secuencias de nucleótidos del genoma del virus de interés, aunque no es posible saber si los virus detectados son activos o infecciosos (Sobsey *et al.*, 1998; Abbaszadegan *et al.*, 1999).

Otro método que se ha reportado para la detección de virus en agua es la hibridación, en el que una sonda o un oligonucleotido, con una marca radioactiva o fluorescente, hibrida con la región específica del genoma viral de interés, normalmente este método se utiliza como complemento a fin de confirmar los resultados. Por ejemplo cuando se hace un RT-PCR (Kopecka *et al.*, 1993).

La infección de células seguida de una PCR (ICC-PCR) es un método que tiene como principal ventaja que se amplifica un segmento del genoma de los virus infecciosos (Reynolds *et al.*, 1996). El nivel de sensibilidad es de 1 PFU para enterovirus en un tiempo de análisis de 20 horas, mientras que para virus de hepatitis A la sensibilidad con este método fue de 1 a 10 PFU a las 72 y 96 horas (Reynolds *et al.*, 2001).

PCR en tiempo real es un método que recientemente ha sido adoptado para la detección en agua de astrovirus (Le Cann *et al.*, 2004) y de enterovirus (Donaldson *et al.*, 2002). Su principal ventaja es que es un método cuantitativo ya que los productos de PCR (amplicon) son marcados con fluorescencia cuya señal es proporcional a la cantidad de amplicones producidos (Griffin *et al.*, 2003).

### MÉTODOS DE CONTROL

**Cloro.** El método más utilizado de desinfección del agua a nivel mundial es la cloración. Comúnmente se aplica el cloro como gas, hipoclorito de sodio (NaOCl) e hipoclorito de

calcio (Ca(OCl)<sub>2</sub>); éstos últimos pueden aplicarse en solución o como pastillas (Vaughn & Novotny, 1991). Cuando el NaOCl y el Ca(OCl)<sub>2</sub> entran en contacto con el agua se ionizan, dejando disponible al ion hipoclorito (OCl<sup>-</sup>), que se combina con los iones hidrógeno (H<sup>+</sup>) del agua produciendo ácido hipocloroso, que es un potente oxidante a pH 6.5 a 7.0 (Vaughn & Novotny, 1991; Connell, 1996).

El control de bacterias en agua mediante desinfección con cloro, ha sido uno de los mayores avances en términos de salud pública, sin embargo, los niveles de cloro residual que en general establecen las normas de calidad del agua (entre 0.2 y 1.5 mg/L) no siempre son adecuados para eliminar otros agentes patógenos como calicivirus (Thurston-Enriquez *et al.*, 2003), enterovirus y adenovirus (Junli *et al.*, 1997).

Junli y colaboradores (1997) reportan que seis tipos virales: poliovirus 1, coxsackievirus B, echovirus 11, adenovirus 7, herpes simplex y el virus de las paperas, sólo fueron inactivados al ser sometidos a 7 mg/L de cloro durante 60 minutos. Por otro lado, en la revisión que presentan Vaughn y Novotny (1991) se menciona que poliovirus es 130 veces más resistente al ácido hipocloroso que *E. coli*. Y también observan que rotavirus humano (Wa) y de simio (RRV) fueron los más resistentes al exponerlos a 7 mg/L de cloro, con respecto a poliovirus 1, coxsackievirus B5 y echovirus 1.

Una desventaja más del uso del cloro, es que en presencia de materia orgánica propicia la formación de trihalometanos (THMs) que son potencialmente carcinogénicos (Vaughn & Novotny, 1991; Connell, 1996; Silvano *et al.*, 2000). Los THMs se han asociado con incrementos en la incidencia de cáncer de vejiga (Cantor *et al.*, 1998) y cáncer rectal (Hildesheim *et al.*, 1998) en humanos. Estudios epidemiológicos recientes indican la relación entre una exposición a THMs en agua potable durante el embarazo y la ocurrencia de abortos (Waller *et al.*, 1998) y también defectos del tubo neural (Klotz y Pynch, 1999). En animales se ha encontrado que los THMs producen cáncer en hígado, riñón e intestinos (Dunnick & Melnick, 1993).

**Dióxido de cloro.** El dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) es un fuerte oxidante, con el agua reacciona formando predominantemente cloritos, cloratos y cloro. Entre el 50 y el 70% del ClO<sub>2</sub> reacciona para formar cloro (Tate y Fox, 1990). En general se ha considerado más eficiente para la inactivación de agentes virales en agua, en comparación con el cloro líquido. El intervalo de pH en el que el ClO<sub>2</sub> es capaz de inactivar virus va de pH 3 a 7, y para los seis tipos virales reportados por Junli y colaboradores (1997) sólo fue necesaria una concentración de 1 mg/L durante 30 minutos.

**Ozono.** Otro poderoso oxidante que se utiliza para desinfección de agua es el ozono (O<sub>3</sub>). Es un gas inestable, moderadamente soluble en agua. Con respecto a la inactivación de virus, el ozono representa una buena alternativa, pues las concentraciones de inactivación para poliovirus son de 0.05 a 0.45 mg/L. El proceso de desinfección se basa en la destrucción de las partículas virales a nivel de proteínas de cápside y de material genómico. Por ejemplo, el daño en poliovirus 1 aparentemente se da en las

proteínas de cápside, en cambio para rotavirus Wa y RRV, el daño es en proteínas de cápside y en los segmentos de RNA (Vaughn & Novotny, 1991).

Este método de desinfección es utilizado en sistemas de distribución de agua en Europa y su uso se ha incrementado en Estados Unidos (Tate & Fox, 1990). Sin embargo, el uso de ozono como desinfectante se recomienda como parte del tratamiento para agua potable, pero no como único método, debido a su moderada solubilidad, aunque tiene la ventaja de presentar niveles residuales que permiten monitorear y garantizar la calidad del agua que se distribuye a la población (Gottschalk *et al.*, 2000). En países en desarrollo es poco usado por ser muy costoso en comparación con otros métodos de desinfección.

**Luz UV.** Los rayos ultravioleta (UV) para la desinfección del agua se han venido utilizando en Europa para potabilización de agua para consumo humano desde hace 100 años, mientras que en Estados Unidos este método se utiliza para el tratamiento de aguas residuales, considerándolo como un método efectivo para la eliminación de bacterias y virus (Kolch, 1999).

Se ha reportado que en general los virus con genoma formado por una hebra sencilla de material genético son más sensibles a la radiación UV con respecto a los de doble cadena. Igualmente, son más resistentes los virus que tienen DNA que los que tienen RNA, y la sensibilidad se incrementa conforme aumenta el tamaño del genoma (Vaughn & Novotny, 1991). La radiación UV provoca daños en el genoma de los microorganismos presentes en el agua, que resulta en una afectación del proceso normal de replicación (Vaughn & Novotny, 1991). La principal limitante para el uso de este método es que una vez desinfectada el agua no hay niveles residuales de algún compuesto que permita garantizar la calidad de la misma, lo cual representa un problema en caso de contaminación en las redes de distribución (Acher *et al.*, 1997).

### CONCLUSIONES

Se reconoce que enterovirus, rotavirus, astrovirus, calicivirus, adenovirus y el virus de hepatitis A, son capaces de persistir en el ambiente acuático con efectos severos en salud. Por estudios epidemiológicos hasta hoy se sabe que en México rotavirus, astrovirus y hepatitis A son agentes patógenos importantes en cuanto a enfermedades virales potencialmente transmitidas por agua.

En México se han publicado pocos estudios sobre virus en sistemas acuáticos, incluso este hecho podría ser extensivo a países en desarrollo. Como se puede observar en la información presentada a lo largo de este trabajo, es en países de zonas climáticamente distintas en donde se han realizado una parte importante de las investigaciones. En este sentido, es recomendable que en México se realicen trabajos orientados a conocer la situación en cuanto a la presencia de virus de importancia para la salud pública en agua subterránea como fuente principal de agua para

consumo de la población. En agua superficial que se aproveche para consumo humano o para riego de alimentos que se consuman crudos o para recreación, así como en agua residual tratada con fines de reutilización.

Por otro lado, se deben revisar las normas oficiales mexicanas vigentes: NOM-127 sobre agua para uso y consumo humano (DOF, 2000), NOM-003 sobre límites máximos permisibles de contaminantes en agua residual tratada para reúso (DOF, 1998) y NOM-001 sobre límites permisibles de contaminantes en aguas residuales que son descargadas en aguas y bienes nacionales (DOF, 1997), a fin de incluir a los virus dentro de los parámetros de calidad de agua que se evalúan periódicamente. En estas normas sólo se contempla a las bacterias coliformes como organismos indicadores de contaminación fecal, sin embargo, estos organismos no indican la presencia de virus. En países como Estados Unidos de América y los integrantes de la Comunidad Europea, ya se realizan monitoreos de calidad viral del agua utilizando la detección de enterovirus como agente indicador de contaminación viral fecal, esta opción podría evaluarse para el caso de México. Otra propuesta que se ha manejado en la literatura es el uso de bacteriófagos como indicadores de contaminación viral fecal, esta opción también sería recomendable evaluarla y poder tener una propuesta concreta para ser considerada en las normas oficiales mexicanas, de acuerdo con la realidad nacional.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT por la beca otorgada a la primera autora. A la DGAPA-UNAM por el apoyo del proyecto IN219303

### REFERENCIAS

- ABAD, F. X., R. M. PINTÓ & A. BOSCH. 1994. Survival of enteric viruses on environmental fomites. *Applied and Environmental Microbiology* 60(10): 3704-3710.
- ABBASZADEGAN, M., P. STEWART & M. LECHÉVALLIER. 1999. A strategy for detection of viruses in groundwater by PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 65(2): 444-449.
- ACHER, A., E. FISCHER, R. TURNHEIM & Y. MANOR. 1997. Ecologically friendly wastewater disinfection techniques. *Water Research* 31(6): 1398-1404.
- ARAUJO, R. M., A. PUIG, J. LASOBRAS, F. LUCENA & J. JOFRE. 1997. Phages of enteric bacteria in fresh water with different levels of faecal pollution. *Journal of Applied Microbiology* 82: 281-286.
- ARIAS, C. F., P. ISA, C. A. GUERRERO, E. MÉNDEZ, S. ZÁRATE, T. LÓPEZ, R. ESPINOSA, P. ROMERO & S. LÓPEZ. 2002. Molecular biology of rotavirus cell entry. *Archives of Medical Research* 33(2002): 356-361.
- BERGH, D., K. Y. BARSHEIM, G. BRATBAK, & M. HELDAL. 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* 340: 467-468.
- BERGSTEIN-BEN DAN, T., D. WYNE Y J. MANOR. 1997. Survival of enteric bacteria and viruses in Lake Kinneret, Israel. *Water Research* 31(11): 2755-2760.

- BLUMENTHAL, U. J., D. D. MARA, A. PEASEY, G. RUIZ-PALACIOS & R. STOTT. 2000. Guidelines for microbial quality of treated wastewater used in agriculture: recommendations for revising WHO guidelines. *Bulletin World Health Organization* 78(9): 1104-1116.
- BOSCH, A., G. SÁNCHEZ, F. LE GUYADER, H. VANACLOCHA, L. HAUGARREAU Y R. M. PINTÓ. 2001. Human enteric viruses in coquina clams associated with a large hepatitis A outbreak. *Water Science and Technology* 43(2): 61-65.
- BRATBAK, G., H. MIKAL, S. NORLAND & F. THINGSTAD. 1990. Viruses as patrons in spring bloom microbial trophodynamics. *Applied and Environmental Microbiology* 56(5): 1400-1405.
- CALVA, J. J. 1998. Las enfermedades diarreicas en niños mexicanos. *Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica*: 12-17.
- CANTOR, K. P., C. F. LYNCH, M. E. HILDESHEIM, M. DOSEMECI, J. LUBIN, M. ALAVANJA & G. F. CRAUN. 1998. Drinking water source and chlorination byproducts-I. Risk of bladder cancer. *Epidemiology* 9(1): 21-28.
- CDC. 2001. Norwalk-Like viruses. Public health consequences and outbreak management. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 50(RR-9): 1-13.
- CERDENA, J. B. & J. T. STAPLETON. 1995. Hepatitis A virus. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F.C. Tenover & R. H. Tenover (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press. Washington, DC., pp 1025-1032.
- CHRISTENSEN, M. L. 1995. Rotavirus. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F.C. Tenover & R. H. Tenover (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press. Washington, DC., pp 1012-1016.
- CONNELL, G. F. 1996. *The Chlorination/Chloramination Handbook*. AWWA. Denver, CO. 171 p.
- DEETZ, T. R., E. M. SMITH, S. M. GOYAL, C. P. GERBA, J. J. VOLLET III, L. TSAI, H. L. DUPONT & B. H. KESWICK. 1984. Occurrence of rota- and enteroviruses in drinking and environmental water in a developing nation. *Water Research* 18(5): 567-571.
- DOF. 1997. NORMA OFICIAL MEXICANA, NOM-001-ECOL-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. DOF 6 de enero de 1997.
- DOF. 1998. NORMA OFICIAL MEXICANA, NOM-003-ECOL-1997. Límites máximos permisibles para aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. DOF 21 de septiembre de 1998.
- DOF. 2000. MODIFICACIÓN A LA NORMA OFICIAL MEXICANA, NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. DOF 22 de noviembre de 2000.
- DONALDSON, K. A., D. W. GRIFFIN & J. H. PAUL. 2002. Detection, quantitation and identification of enteroviruses from surface waters and sponge tissue from Florida Keys using real-time RT-PCR. *Water Research* 36(2002): 2505-2514.
- DUNNICK, J. K. Y R. L. MELNICK. 1993. Assessment of the carcinogenic potential of chlorinated water: Experimental studies of chlorine, chloramine, and trihalomethanes. *Journal of the National Cancer Institute* 85(10): 817-822.
- EC. 1980. Council Directive of 15 July 1980 relating to the quality of water intended for human consumption (80/778/ EEC). *Official Journal European Community* No. L229: 11-22.
- EDWALD, P. W. 1994. *Evolution of infectious disease*. Oxford University Press, Oxford 298 p.
- ESTES, M. 1996. Rotaviruses. In: Fields, B. N., D. M. Knipe y P. M. Howley.(Eds.). *Virology*. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, pp 1625-1655.
- FARKAS, T., X. JIANG, M. L. GUERRERO, W. ZHONG, N. WILTON, T. BERKE, D. O. MATSON, L. K. PICKERING & G. RUIZ-PALACIOS. 2000. Prevalence and genetic diversity of human caliciviruses (HuCVs) in mexican children. *Journal Medical Virology* 62: 217-223.
- FAVIER, A. L., G. SCHOEHN, M. JAQUINOD, CH. HARSÍ & J. CHROBOCZEK. 2002. Structural studies of human enteric adenovirus type 41. *Virology* 293: 75-85.
- FERNÁNDEZ-JAUREGUI, C. A. 1999. El agua como fuente de conflictos: repaso de los focos de conflictos en el mundo. *Revista Cidob d'Afers Internationals* 1999 (45-46):72-80.
- FUHRMAN, J. A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects, *Nature* 399(6736): 541-548.
- GANTZER, C., A. MAUL, J. M. AUDIC & L. SCHWARTZBROD. 1998. Detection of infectious enteroviruses, enterovirus genomes, somatic coliphages and Bacteroides fragilis phages in treated wastewater. *Applied and Environmental Microbiology* 64(11): 4307-4312.
- GERBA, C. P. Y J. ROSE. 1990. Viruses in source and drinking water. In: Mcfeter, G. A. (Ed.). *Drinking Water Microbiology*. Springer Verlag, New York, pp 380-396.
- GILGEN, M., B. WEGMLER, R. BURKHALTER, H. P. BUHLER, U. MULLER, J. LUTHY & U. CANDRIAN. 1995. Reverse transcription PCR to detect enteroviruses in surface water. *Applied and Environmental Microbiology* 61(4): 1226-1231.
- GILGEN, M., D. GERMMAN, J. LÜTHY & PH. HÜBNER. 1997. Three-step isolation method for sensitive detection of enterovirus, rotavirus, hepatitis A virus and small round structured viruses in water samples. *International Journal of Food Microbiology* 37(2-3): 189-199.
- GOTTSCHALK, C., J. A. LIBRA & A. SAUPE. 2000. *Ozonation of water and waste water*. Wiley-VCH. Weinheim, Germany (RFG), 189 p.
- GRABOW, W. O. K., K. L. BOTMA, J. C. DE VILLIERS, C. G. CLAY, & B. ERASMUS. 1999. Assessment of cell culture and polymerase chain reaction procedures for the detection of polioviruses in wastewater. *Bulletin World Health Organization* 77(2): 973-980.
- GRABOW, W. O. K., M. B. TAYLOR & J. C. DE VILLIERS. 2001. New methods for the detection of viruses call for review of drinking water quality guidelines. *Water Science and Technology* 43(12): 1-8.
- GREEN, D. H. & G. D. LEWIS. 1999. Comparative detection of enteric viruses in wastewaters, sediments and oysters by reverse transcription-PCR and cell culture. *Water Research* 33(5): 1195-1200.
- GRIFFIN, D. W., K. A. DONALDSON, J. H. PAUL & J. B. ROSE. 2003. Pathogenic human viruses in coastal waters. *Clinical Microbiology Reviews* 16(1): 129-143.

- GUERRERO, L., J. J. CALVA, A. L. MORROW, R. VELÁZQUEZ, F. TUZ-DZIB, Y. LÓPEZ-VIDAL, H. ORTEGA, H. ARROYO, T. G. CLEARY, L. K. PICKREING, & G. RUIZ-PALACIOS. 1994. Asymptomatic Shigella infections in a cohort of mexican children younger than two years of age. *Pediatric Infectious Diseases Journal* 13: 597-602.
- HAAS, C. N., J. B. ROSE, C. GERBA Y S. REGLI. 1993. Risk Assessment of Virus in Drinking Water. *Risk Analysis* 13(5): 545-552.
- HENNES, K. P. & M. SIMON. 1995. Significance of bacteriophages for controlling bacterioplankton growth in a mesotrophic lake. *Applied and Environmental Microbiology* 61(1): 333-340.
- HILDESHEIM, M. E., K. P. CANTOR, C. F. LYNCH, M. DOSEMECI, J. LUBIN, M. ALAVANJA, & G. F. CRAUN. 1998. Drinking water source and chlorination by products-II. Risk of colon and rectal cancers. *Epidemiology* 9(1): 29-35.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMIC OF VIRUSES (ICTV). 2002. *ICTVdb Index of viruses*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>
- JIANG, S. C. & J. H. PAUL. 1998. Significance of lysogeny in the marine environment: studies with isolates and a model of lysogenic phage production. *Microbial Ecology* 35(3): 235-243.
- JIANG, S., R. NOBLE & W. CHU. 2001. Human adenovirus and coliphages in urban runoff-impacted coastal waters of southern California. *Applied and Environmental Microbiology* 67(1):179-184.
- JIANG, X., D. O. MATSON, F. R. VELÁZQUEZ, J. J. CALVA, W. M. ZHONG, J. HU, G. M. PALACIOS & L. K. PICKERING. 1995. Study of Norwalk-related viruses in mexican children. *Journal Medical Virology* 47(4): 309-316.
- JUNLI, H., W. LI, R. NENQI, L. X. LI, S. R. FUN & Y. GUANLE. 1997. Disinfection effect of chlorine dioxide on viruses, algae and animal planktons in water. *Water Research* 31(3): 455-460.
- KÄMMERER, U., B. KUNKEL & K. KORN. 1994. Nested PCR for specific detection and rapid identification of human Picornaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 32(2): 285-291.
- KAPIKIAN, A. Z. Y R. M. CHANOCK. 1991. Viral gastroenteritis. In: Evans, A. S. (Ed.). *Viral infections in humans*. Plenum Medial Book Co. New York, pp 293-340.
- KAPIKIAN, A. Z., M. K. ESTES & R. M. CHANOCK. 1996. Norwalk group of viruses. In: Fields, B. N., D. M. Knipe & P. M. Howley (Eds.). *Virology*. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, pp 783-810.
- KLOTZ, J. B. & L. A. PYRCH. 1999. Neural tube defects and drinking water disinfection by-products. *Epidemiology* 10(4): 383-390.
- KOLCH, A. 1999. Disinfecting drinking water with UV light. *Pollution Engineering* 31(10): 34-36.
- KOPECKA, H., S. DUBROU, J. PREVOT, J. MARECHAL & J. M. LÓPEZ-PILA. 1993. Detection of naturally occurring enteroviruses in waters by reverse transcription, polymerase chain reaction, and hybridization. *Applied and Environmental Microbiology* 59(4): 1213-1219.
- LE BARON, C.W., J. LEW, G. I. GLASS, J. M. WEBER, G. RUIZ-PALACIOS Y THE ROTAVIRUS STUDY GROUP. 1990. Annual Rotavirus Epidemic Patterns in North America. *Journal of the American Medical Association* 264(8): 983-988.
- LE CANN P., S. RANARIJAONA, S. MONPOEHO, F. LE GUYADER & V. FERRE. 2004. Quantification of human astroviruses in sewage using real-time RT-PCR. *Research in Microbiology* 155(2004): 11-15.
- LE GUYADER, F., E. DUBOIS, D. MENARD & M. POMMEPUY. 1994. Detection of hepatitis A virus, rotavirus and enterovirus in naturally contaminated shellfish and sediment by reverse transcription-semi-nested PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 60(10): 3665-3671.
- LÓPEZ, S. & C. F. ARIAS. 2001. Los Rotavirus. In: Martínez-Romero, E. & J. C. Martínez-Romero (Eds.). *Microbios en línea*. Centro de Investigación sobre Fijación del Nitrógeno. UNAM. México. <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/>
- LÓPEZ-VIDAL Y., J. J. CALVA, A. TRUJILLO, A. PONCE DE LEÓN, A. RAMOS, A. M. SVENNERHOLM & G. RUIZ-PALACIOS. 1990. Enterotoxins and Adhesins of *Enterotoxigenic Escherichia coli*: Are They Risk Factors fro Acute Diarrhea in the Community. *Journal of Infectious Diseases* 162: 442-447.
- MARIE, D., C. P. D. BRUSSAAND, R. THYRHAUG, G. BRATBAK Y D. VAULOT. 1999. Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry. *Applied and Environmental Microbiology* 65(1): 45-52.
- MARX, F. E., M. B. TAYLOR & W. O. K. GRABOW. 1998. The application of a reverse transcriptase-polymerase chain reaction-oligonucleotide probe assay for the detection of human astroviruses in environmental water. *Water Research* 32(7): 2147-2153.
- MATHIAS, C. B., A. K. T. KIRSCHNER & B. VELIMIROV. 1995. Seasonal variations of virus abundance and viral control of the bacterial production in a backwater system of the Danube River. *Applied and Environmental Microbiology* 61(10): 3734-3740.
- MATSUI, S. M. & H. B. GREENBERG, 1996. Astroviruses. In: Fields, B. N., D. M. Knipe, & P. M. Howley(Eds.). *Virology*. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, pp 811-824.
- McKAY, L., J. A. CHERRY, R. C. BALES, M. T. YAHYA Y C. P. GERBA. 1993. A Field Example of Bacteriophages as Tracers of Fracture Flow. *Environmental Science and Technology* 27(6): 1075-1079.
- MEDINA, S. M., M. F. GUTIÉRREZ, F. LIPANDRI & J. E. LDERT. 2000. Identification and type distribution of astroviruses among children with gastroenteritis in Colombia and Venezuela. *Journal of Clinical Microbiology* 38(9): 3481-3483.
- MELNICK, J. L. 1996A. Current status of poliovirus infections. *Clinical Microbiology Reviews* 9(3): 293-300.
- MELNICK, J. L. 1996B. My role in the discovery and classification of the enteroviruses. *Annual Review of Microbiology* 50: 1-24.
- MENDEZ-TOSS, M., P. ROMERO-GUIDO, M. E. MUNGUÍA, E. MÉNDEZ & C. ARIAS. 2000. Molecular analysis of a serotype 8 human astrovirus genome. *Journal of General Virology* 81(12): 2891-2897.
- METCALF, T. G., J. L. MELNICK & M. K. ESTES. 1995. Environmental virology: From detection of virus in sewage and water by isolation to identification by molecular biology- a trip of over 50 years. *Annual Review Microbiology* 49: 461-487.

- MONROE, S. S., T. ANDO & R. I. GLASS. 2000. Human enteric caliciviruses—An emerging pathogen whose time has come. *Journal of Infectious Diseases* 181(Suppl 2): S249-251.
- MOTA-HERNÁNDEZ, F., J. J. CALVA, C. GUTIÉRREZ-CAMACHO, S. VILLA-CONTRERAS, C. F. ARIAS, L. PADILLA-NORIEGA, H. GUISCAFRÉ-GALLARDO, L. GUERRERO, S. LÓPEZ, O. MUÑOZ, J. F. CONTRERAS, R. CEDILLO, I. HERRERA & F. I. PUERTO. 2003. Rotavirus diarrhea severity is related to the VP4 type in Mexican children. *Journal of Clinical Microbiology* 41(7): 3158-3162.
- MOUNTS, A. W., T. ANDO, M. KOOPMANS, J. S. BRESEE, J. NOEL & R. I. GLASS. 2000. Cold weather seasonality of gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses. *Journal of Infectious Diseases* 181(Suppl 2): S284-287.
- MUSCILLO, M., A. CARDUCCI, G. LA ROSA, L. CANTIANI Y C. MARIANELLI. 1997. Enteric virus detection in Adriatic seawater by cell culture, polymerase chain reaction and polyacrylamide gel electrophoresis. *Water Research* 31(8): 1980-1984.
- NASH, L. 1993. Water quality and health. In: Gleick, P. H. (Ed.) *Water in Crisis. A Guide to the World's Fresh Water Resources*. Oxford University Press. New York, pp 25-39.
- NASSER, A. M. & S. D. OMAN. 1999. Quantitative assessment of the inactivation of pathogenic and indicator viruses in natural water sources. *Water Research* 33(7): 1748-1752.
- NICAND, E., R. TEYSSOU & Y. BUISSON. 1998. Le risqué fécal viral en 1998. *Virologie* 2(2): 103-116.
- PACE, N. 1997. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science* 276(5313): 734-740.
- PADILLA-NORIEGA, L., M. MENDEZ-TOSS, G. MENCHACA, J.F. CONTRERAS, P. ROMERO-GUIDO, F. I. PUERTO, H. GUISCAFRE, F. MOTA, I. HERRERA, R. CEDILLO, O. MUÑOZ, J. CALVA, M. L. GUERRERO, B. S. COULSON, H. B. GREENBERG, S. LÓPEZ & C. F. ARIAS. 1998. Antigenic and genomic diversity of human rotavirus VP4 in two consecutive epidemic seasons in Mexico. *Journal of Clinical Microbiology* 36(6): 1688-1692.
- PALLIN, R., A. P. WYN-JONES, B. M. PLACE & N. F. LIGHTFOOT. 1997. The detection of enteroviruses in large volume concentrates of recreational waters by polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods* 67(1): 57-67.
- PAYMENT, P., A. BERGE, M. PRÉVOST, B. MÈNARD & B. BARBEAU. 2000. Occurrence of pathogenic microorganisms in the Saint Lawrence River (Canada) and comparison of health risks for populations using it as their source of drinking water. *Canadian Journal Microbiology* 46(6): 565-576.
- PETRIC, M. 1995. Caliciviruses, astroviruses and other diarrheic viruses. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Tenover & R. H. Tenover (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press. Washington, DC., pp 1017-1024.
- PINA, S. 2001. Detección y caracterización de virus patógenos humanos en muestras ambientales y moluscos bivalvos. Tesis de Doctorado en Biología. Universidad de Barcelona, España 280 p.
- PINA, S., M. PUIG, F. LUCENA, J. JOFRE & R. GIRONES. 1998. Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenoviruses detection by PCR as an index of human viruses. *Applied and Environmental Microbiology* 64(9): 3376-3382.
- PINTÓ, R. M., F. X. ABAD, R. GAJARDO & A. BOSCH. 1996. Detection of infectious astrovirus in water. *Applied and Environmental Microbiology* 62(5): 1811-1813.
- PLATT, A. E. 1996. Infecting ourselves: How environmental and social disruptions trigger disease. *World Watch paper 129*. Worldwatch Institute, Washington, DC. 79 p.
- POSTEL, S. L., G. C. DAILY & P. R. EHRLICH. 1996. Human appropriation of renewable fresh water. *Science* 271: 785-788.
- POSTEL, S. 2001. Growing more Food with less Water. *Scientific American*. February 2001: 34-37.
- PROCTOR, L. M. 1997. Advances in study of marine viruses. *Microscopy Research and Technique* 37(2): 136-161.
- PUIG, A., R. ARAUJO, J. JOFRE & J. FRIAS-LÓPEZ. 2001. Identification of cell wall proteins of *Bacteroides fragilis* to which bacteriophage B40-8 binds specifically. *Microbiology* 147(2): 281-288.
- REYNOLDS K. A., C. P. GERBA & LL. PEPPER. 1996. Detection of infectious enteroviruses by an integrated cell culture-PCR procedure. *Applied and Environmental Microbiology* 62(4): 1424-1427.
- REYNOLDS K. A., C. P. GERBA, M. ABBASZADEGAN & LL. PEPPER. 2001. ICC/PCR detection of enteroviruses and hepatitis A virus in environmental samples. *Canadian Journal of Microbiology* 47(2): 153-157.
- ROSE, J. B. Y C. P. GERBA. 1991. Use of risk assessment for development of microbial standards. *Water Science and Technology* 24(2): 29-34.
- ROTBART, H. A. 1995. Enterovirus. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Tenover, F. C. Tenover & R. H. Tenover (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press. Washington, DC, pp 1004-1011.
- RUECKERT, R. R. 1996. Picornaviridae: The viruses and their replication. In: Fields, B. N., D. M. Knipe & P. M. Howley (Eds.). *Virology*. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, pp 609-654.
- SARMIENTO-PÉREZ, L., P.MÁS-LAGO, I. AVALOS-RENDÓN, R. PALOMERA-PUENTES, J. BARRIOS-OLIVERA, & M. BELLO-CORREDOR. 1999. Valoración de una novedosa tecnología para la detección de enterovirus en aguas negras. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 51(3): 166-171.
- SARMIENTO-PÉREZ, L., I. AVALOS-RENDÓN, Y. RAMOS-VALDÉS, P. MÁS-LAGO, M. BELLO-CORREDOR, R. PALOMERA-PUENTES & J. BARRIOS-OLIVERA. 2000. Detección rápida de enterovirus mediante un método directo de reacción en cadena de la polimerasa. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 52(1): 15-20.
- SILVANO, M., D. FERETTI, C. COLLIVIGNARELLI, L. GUZZELLA, I. ZERBINI, G. BERTANZA & R. PEDRAZZANI. 2000. The influence of different disinfectants on mutagenicity and toxicity of urban wastewater. *Water Research* 34(17): 4261-4269.
- SOBSEY, M. D., D. A. BATTIGELLI, G. A. SHIN & S. NEWLAND. 1998. RT-PCR amplification detects inactivated viruses in water and wastewater. *Water Science and Technology* 38(12): 91-94.

- STANWAY, G. 1990. Structure, function and evolution of picornaviruses. *Journal of General Virology* 71(11): 2483-2501.
- TANAKA, J. 2000. Hepatitis A shifting epidemiology in Latin America. *Vaccine* 18(200):S57-S60.
- TATE, C. H. & K. FOX-ARNOLD. 1990. Health and aesthetic aspects of water quality. In: Pontius, F. W. (Ed.). *Water quality and treatment*. AWWA. McGraw-Hill, New York, pp 63-154.
- THOMPSON, S. S., M. FLURY, M. V. YATES & W. A. JURY. 1998. Role of the air-water-solid interface in bacteriophage sorption experiments. *Applied and Environmental Microbiology* 64(1): 304-309.
- THURSTON-ENRIQUEZ, J. A., C. N. HAAS, J. JACANGELO & C. P. GERBA. 2003. Chlorine inactivation of adenovirus type 40 and feline calicivirus. *Applied and Environmental Microbiology* 69(7): 3979-3985.
- UNESCO. 2003. Water for people water for life. United Nations World Water Development Report. World Water Assessment Programme. Barcelona, Spain 36 p.
- USEPA. 1999. Safe Drinking Water Is In Our Hands. Office of Water. EPA815-F-99-004. August 1999: 1-26.
- VAN HANNEN, E. J., G. ZWART, M. P. VAN AGTERVELD, H. J. GONS, J. EBERT & H. J. LAANBROEK. 1999. Changes in bacterial and eukaryotic community structure after mass lysis of filamentous cyanobacteria associated with viruses. *Applied and Environmental Microbiology* 65(2): 795-801.
- VAN HEERDEN, J., M. M. EHLERS, W. B. VAN ZYL, & W. O.K. GRABOW. 2003. Incidence of adenovirus in raw and treated water. *Water Research* 37(2003): 3704-3708.
- VANTARAKIS, A. C. & M. PAPAPETROPOULOU. 1998. Detection of enteroviruses and adenoviruses in coastal waters of SW Greece by nested polymerase chain reaction. *Water Research* 32(8): 2365-2372.
- VAGHN, J. M. & J. F. NOVOTNY. 1991. Virus inactivation by disinfectants. In: Hurst, C. J. (Ed.). *Modeling the environmental fate of microorganisms*. U.S. EPA. American Society for Microbiology, pp 217-241.
- VILLA, S., H. GUISCAFRÉ, H. MARTÍNEZ, O. MUÑOZ & G. GUTIÉRREZ. 1999. Mortalidad estacional por diarrea entre niños mexicanos. *Bulletin of the World Health Organization* 77(5): 375-380.
- WALLER, K, S. H. SWAN, G. DELORENZE & B. HOPKINS. 1998. Trihalomethanes in drinking water and spontaneous abortion. *Epidemiology* 9(2): 134-140.
- WALTER, J. E. & D. K. MITCHELL. 2000. Role of astroviruses in childhood diarrhea. *Current Opinion Pediatrics* 12(3): 275-279.
- WALTER, J. E., D. K. MITCHELL, M. L. GUERRERO, T. BERKE, D. O. MATSON, S. S. MONROE, L. K. PICKERING & G. RUIZ-PALACIOS. 2001. Molecular epidemiology of human astrovirus diarrhea among children from periurban community of Mexico City. *Journal Infectious Diseases* 183: 681-686.
- WEINBAUER, M. G., D. FUKS & P. PEDUZZI. 1993. Distribution of viruses and dissolved DNA along a coastal trophic gradient in the Northern Adriatic Sea. *Applied and Environmental Microbiology* 59(12): 4074-4082.
- WEINBAUER, M. G. & M. G. HÖFLE. 1998. Significance of viral lysis and flagellate grazing as factors controlling bacterioplankton production in eutrophic lake. *Applied and Environmental Microbiology* 64(2): 431-438.
- WHO. 1996. *Guidelines for drinking water quality*: volume 2. Health criteria and other supporting information. 2<sup>nd</sup> Ed. World Health Organization, Geneva, pp 10-99.
- WOMMACK, K. E., R. T. HILL, M. KESSEL, E. RUSSEK-COHN & R. R. COLWELL. 1992. Distribution of viruses in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology* 58(9): 2965-2970.
- WOMMACK, K. E., J. RAVEL, R. T. HILL & R. R. COLWELL. 1999. Hybridization analysis of Chesapeake Bay viroplankton. *Applied and Environmental Microbiology* 65(1): 241-250.
- WOMMACK, K. & R. R. COLWELL. 2000. Viroplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(1): 69-114.
- YATES, M. V., C. GERBA & L. M. KELLEY. 1985. Virus persistence in groundwater. *Applied and Environmental Microbiology* 49(4): 778-781.
- YATES, M. V., S. R. YATES, J. WAGNER & C. P. GERBA. 1987. Modeling virus survival and transport in the subsurface. *Journal Contamination Hydrology* 1: 329-345.

Recibido: 15 de octubre de 2003.

Aceptado: 11 de junio de 2004.