

INCIDENCIA Y VIABILIDAD DE *Cryptosporidium parvum* EN EL AGUA POTABLE DE CIUDAD OBREGÓN, SONORA, MÉXICO

Martha E. DÍAZ-CINCO, Eva E. LEYVA-MICHEL, Verónica MATA-HARO
y Humberto GONZÁLEZ-RÍOS

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Dirección de Ciencia de los Alimentos, Laboratorio de Microbiología, Carretera a la Victoria km 0.6, Apartado Postal 1735, Hermosillo 83000, Sonora, México.

(Recibido septiembre 2001, aceptado julio 2003)

Palabras clave: ooquistes, *Cryptosporidium*, agua, potabilización

RESUMEN

Cryptosporidium parvum es un protozoo parásito, frecuentemente asociado a *Giardia lamblia*, es causante de diarrea en el hombre y su acción es más severa en niños, ancianos y pacientes inmuno-comprometidos. El agua es un importante vehículo de transmisión, pues se ha encontrado que los ooquistes son resistentes a los procedimientos comunes de potabilización y a concentraciones de hasta 80 mg/L de cloro. Se han reportado brotes epidémicos en diversas regiones del mundo, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo; lo que ha llevado a naciones como Estados Unidos de América a cambiar su reglamentación en cuanto a la calidad microbiológica del agua potable que ingiere la población. En Latinoamérica, los trabajos al respecto son escasos. El objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en el agua de consumo humano en Ciudad Obregón, Sonora y relacionarla con los parámetros fisicoquímicos: pH, cloro libre, turbidez y temperatura, para lo cual, en este estudio se analizaron aproximadamente 1000 litros de agua en cada punto de muestreo, cubriéndose el área urbana de Ciudad Obregón, Sonora. Los filtros fueron transportados en hielo y almacenados en refrigeración hasta su procesamiento, que consistió en la elución de los parásitos del filtro, flotación y clarificación de la muestra, filtración a través de una membrana de 0.25 µm en donde se aplicaron anticuerpos monoclonales y colorantes para su posterior observación en el microscopio de epifluorescencia. Se realizó además, la prueba de eficiencia en la recuperación de los ooquistes, que fue positiva en un 59 %. Se encontraron ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en 69 % de las muestras con una media de 4.75 ooquistes/1000 L. Se determinó la viabilidad de los ooquistes, haciendo tinción con yoduro de propidio para los ooquistes no viables y determinando los ooquistes viables por diferencia de los totales menos los no viables. Los valores promedio de algunos parámetros fisicoquímicos fueron pH, 7.39; cloro libre residual, 0.96; turbidez, 1.14 NTU; temperatura, 29.9 °C y cloruros, 17.5 ppm. Se efectuó un análisis de correlación entre el número de ooquistes totales y viables y los parámetros fisicoquímicos; encontrándose que los ooquistes totales tuvieron una débil asociación con la temperatura.

Key words: oocysts, *Cryptosporidium*, water, potabilization

ABSTRACT

Cryptosporidium parvum is a protozoan parasite, which is frequently associated with *Giardia lamblia*. It causes diarrhea which is more severe in children, elderly and immunocompromised patients. Water is a very important parasite carrier. Oocysts are very resistant to the common

potabilization procedures and resist concentrations up to 80 mg/L of free-chlorine. *C. parvum* was reported as pathogen in 1976, since then, many outbreaks have been reported overall USA and developed countries; however, in undeveloped countries the information is scarce. In this investigation, samples of 1000 liters were filtered in the city of Obregon, Sonora. Afterwards, the filters were transported on ice to the Microbiology laboratory of the Research Center. The procedure involved a elution, flotation and clarification of the samples, in order to recover the parasites. A second filtration was made with a nitrocellulose membrane where the monoclonal antibodies were added and they were observed with an epifluorescence microscope. Efficiency test was performed at the beginning of the study, which gave a 59 % of recovery. Oocysts were found in 69 % of the samples with an average of 4.75 oocysts/1000 L. Physicochemical parameters were determined: shown pH 7.39, free chlorine 0.96, turbidity 1.14 NTU, temperature 29.9°C, chloride 17.5 ppm. Correlation analyses were made among total and viable oocysts and each of the physicochemical parameters. Temperature had significant relation with total oocysts. The results have shown that potable water could be a public health risk.

INTRODUCCIÓN

Cryptosporidium parvum es un parásito patógeno que ocasiona problemas de salud a nivel mundial, principalmente en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Aunque se reconoció como patógeno de humanos en 1976, desde 1982, el número de casos de diarrea asociados con el parásito se incrementó en gran medida como parte de la epidemia de SIDA (Juraneck y Mac Kenzie 1998).

En las últimas décadas, *C. parvum* se ha reconocido como agente causal de parasitosis intestinal en el hombre, con intervalos de prevalencia entre 1 y 5 % en países desarrollados y mayores a 10 % en países en vías de desarrollo; se estima que en México 2.3 % de los niños mayores de tres años sufren criptosporidiosis (Casemore 1990).

El agua es un importante medio de transmisión, entre otros aspectos por su dispersión y la elevada resistencia que poseen los ooquistes a los tratamientos comunes de potabilización, ya que se requieren como mínimo una concentración mayor de 80 mg/L de cloro libre para su destrucción (Korich *et al.* 1990), esta concentración es 400 veces la máxima permitida en agua para consumo humano (0.2 a 1.5 mg/L). Por otro lado, el agua recién procesada que sale de la planta potabilizadora puede contaminarse en el trayecto antes de llegar al usuario por daños en las tuberías. Debido a la aparición de infecciones gastrointestinales atribuibles, entre otros aspectos, a la ingesta de agua potable contaminada por *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium parvum* y, asimismo, a la imposibilidad de utilizar la prueba de bacterias coliformes como indicadores de una posible contaminación por este tipo de organismos, es que se ha tratado de establecer un método seguro y confiable para la detección del parásito.

García y Shimizu (1997), informan que los procedimientos basados en reacciones inmunológicas aumentan

la sensibilidad y la especificidad para la detección de *Giardia* y *Cryptosporidium*, en comparación con los métodos convencionales.

C. parvum puede infectar en forma severa el intestino de personas con deficiencias inmunológicas (por ejemplo pacientes con SIDA), individuos muy jóvenes o ancianos y producirles diarrea. Jawetz *et al.* (1990), afirman que la criptosporidiosis se adquiere por contacto con el excremento de animales y humanos infectados; además por consumo de alimento o agua contaminados con heces. Actualmente el 7 % de los casos de diarrea en los Estados Unidos son causados por *C. parvum*. D'Antonio *et al.* (1985), señalan que un brote de *C. parvum* en Texas en 1984 afectó a 79 personas, e identificando por pruebas epidemiológicas el origen de la contaminación, resultó que un pozo estaba contaminado con aguas negras. Addis *et al.* (1995), reportaron otro brote en Milwaukee en 1993, con más de 400,000 personas afectadas. En este estudio también se menciona que los métodos empleados para el tratamiento del agua potable en los Estados Unidos de América no son eficientes para prevenir la aparición de brotes epidémicos. A raíz de esta problemática se han tomado medidas preventivas, así cuando los epidemiólogos estatales detectan una posible epidemia, deben notificar inmediatamente al Programa de Agua Potable. Además hubo la necesidad de coordinar a las agencias de salud pública y a los servicios de agua potable para redoblar esfuerzos y desarrollar pruebas estandarizadas para *Cryptosporidium* en agua potable.

Rose *et al.* (1988), en un estudio realizado con 39 muestras de agua, observaron que no había correlación entre la cantidad de quistes de *Giardia* y ooquistes de *Cryptosporidium*, con los niveles de coliformes totales y fecales, ni con la turbidez del agua; por lo que consideraron que ambos parámetros no pueden ser utilizados como indicadores de la ausencia o presencia de protozoarios entéricos en el agua.

En un estudio realizado en Sonora, México, se encontró que de 100 niños con diarrea, 23.2 % se les detectó *C. parvum*, (Gómez *et al.* 1996) mientras que en muestras de agua potable tomadas en Hermosillo, Sonora, 37 % contenía ooquistes, lo que significa un riesgo potencial para la población y la importancia de la hidrottransmisión para adquirir este padecimiento (Díaz *et al.* 1999).

El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en el agua de consumo humano en Ciudad Obregón, Sonora y relacionarla con los parámetros fisicoquímicos: pH, cloro libre, turbidez y temperatura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

El presente estudio se elaboró con base en el área de abastecimiento del Organismo Operador de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento de Cajeme (OOM-APAS). Este organismo tiene sectorizadas a las colonias de la ciudad, donde las plantas potabilizadoras 1 y 2 abastecen a la región norte de la ciudad, mientras que las 3 y 4 a las colonias localizadas en la parte sur de la ciudad. Las colonias seleccionadas fueron aquéllas que tiene registradas el OOMAPAS como puntos de muestreo para verificar la calidad del agua potable: se realizaron cuatro recorridos de muestreo en los meses de junio y julio de 1999, en 14 colonias y el tanque de almacenamiento en la región norte, mientras que en la sur 7 colonias y también su tanque de almacenamiento.

En este estudio se analizaron aproximadamente 1000 litros de agua, en cada punto de muestreo, utilizando un filtro de polipropileno con poro nominal de 1 mm (Micro-Wind II, modelo 3MS1, AMF-Cuno, Meriden, Connecticut, EUA) (Musial *et al.* 1987).

Determinación *in situ* de cloro libre residual, temperatura y pH

Durante cada muestreo se procedió a realizar una determinación colorimétrica de cloro libre residual y pH, utilizando un kit (Blue Devil TK-20 Pool and Spa 2-way test kit, PRO2, Rainbow Co. Alpharetta GA) con un rango de 0.4 a 3.0 mg/l para cloro y 6.8 a 8.2 para pH. La temperatura se midió con un termómetro de mercurio con un intervalo de -20 a 100 °C.

Determinación de parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos se determinaron mediante la metodología estandarizada de la APHA (1992); turbidez por nefelometría (Hach Co, Modelo 2100, Loveland CO) y cloruros por el método de Demohr (APHA 1977).

Tratamiento de la muestra

La recuperación de los ooquistes se llevó a cabo en los tres pasos siguientes: elución, donde los ooquistes se despegaron del filtro a contracorriente con una solución de tween 80 al 0.1 %; concentración, aquí se redujo el volumen del eluido para su posterior purificación; y flotación, en la que los ooquistes se separaron empleando una solución de mayor densidad. Todo esto se llevó a cabo siguiendo la técnica descrita por Rose *et al.* (1986) y las modificaciones recomendadas por Aguilar (1997).

Enseguida se procedió a su filtración en membranas de nitrocelulosa, para después aplicar los anticuerpos primarios (Hydrofluor-Combo kit, Meridian Diagnostics, Cincinnati OH), que están dirigidos contra los componentes antigénicos de la superficie de los ooquistes de *Cryptosporidium*, enseguida la muestra se enjuagó e incubó con los anticuerpos secundarios, los cuales están conjugados con isotiocianato de fluoresceína.

Con el fin de lograr una mejor resolución de los ooquistes, se aplicó 1 ml de azul de Evans al 0.002 % sobre la membrana y se dejó reposar entre 10 y 15 minutos.

La muestra se colocó sobre un portaobjetos, agregándose una gota de PBS/glicerol para fijarla y encima se le colocó un cubreobjetos.

Para la identificación y la cuantificación de ooquistes, se realizó un recorrido completo de la preparación en la membrana de filtración utilizando un microscopio de epifluorescencia (Olympus, BH2, Olympus Optical Components LTD Japón), con el objetivo 40 X y el filtro azul, en donde se reconoció a los organismos que mostraban color verde manzana y la morfología característica de los quistes y ooquistes (**Fig. 1**).

Para determinar la viabilidad de los ooquistes se aplicó yoduro de propidio sobre la membrana de nitrocelulosa, posterior al marcado con anticuerpos. La muestra se cubrió con el colorante y se incubó por 30 min a 37 °C.

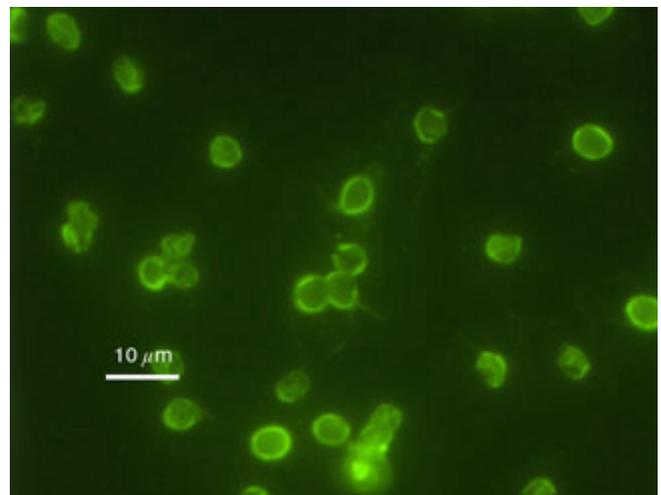


Fig. 1. Ooquistes de *Cryptosporidium parvum*

El yoduro de propidio tiñe de rojo a los ooquistes no viables (Schupp y Erlandsen 1986).

Prueba de eficiencia

Se inocularon 10 ml de una suspensión con aproximadamente 10^5 quistes de *Cryptosporidium* por ml, en 200 ml de agua. Enseguida se tomaron 10 ml de la suspensión y se pasaron por la membrana de nitrocelulosa y se adicionaron los anticuerpos para su detección, observación y conteo al microscopio. Esta cuenta se tomó como el 100 %. El resto de la suspensión se aplicó a 120 litros de agua bidestilada y se pasó por el filtro de propileno. Se siguió el procedimiento de elución, filtración y detección de quistes y se contó el total de quistes encontrados en la membrana. El resultado se tomó como el porcentaje de recuperación.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos, las frecuencias de ooquistes totales presentes en cada una de las muestras, se dividieron en rangos de 0 a 5, 5 a 10, 10 a 15, 15 a 20 y 20 ó más, visualizando que porcentaje del total de las muestras quedó en cada categoría. Lo mismo se realizó para los ooquistes viables. Además, se aplicaron las correlaciones de Spearman (por no existir distribución normal de las variables) entre los ooquistes totales y viables y cada uno de los parámetros fisicoquímicos.

También se realizó una regresión logística con el fin de buscar una posible predicción de la cantidad de ooquistes con base en los parámetros fisicoquímicos, se utilizó un nivel de significancia de $p < 0.05$.

RESULTADOS

El estudio reportó una eficiencia de 59 % en la recuperación de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*. De las 32 muestras analizadas se observaron ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en 69 %. Asimismo, como se puede apreciar en la **tabla I**, 15.62 % de las muestras presentaron 10 ó más ooquistes viables.

La mayoría de las muestras presentaron de 0 a 5 ooquistes totales (**Fig. 2**) y también mostraron un alto porcentaje con 0 a 5 ooquistes viables (**Fig. 3**).

TABLA I. PORCENTAJES DEL TOTAL DE MUESTRAS PARA CADA RANGO DE OOQUISTES TOTALES Y VIALES EN EL AGUA DE CIUDAD OBREGÓN, SON.

	% de los rangos				
	0-5	5-10	10-15	15-20	20-más
Ooquistes totales	71.87	12.50	9.37	3.12	3.12
Ooquistes viables	68.75	15.62	12.50	3.12	0

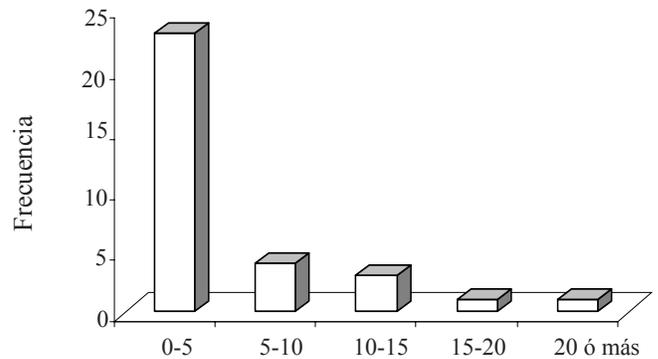


Fig. 2. Frecuencia de ooquistes totales en agua de Ciudad Obregón, Sonora

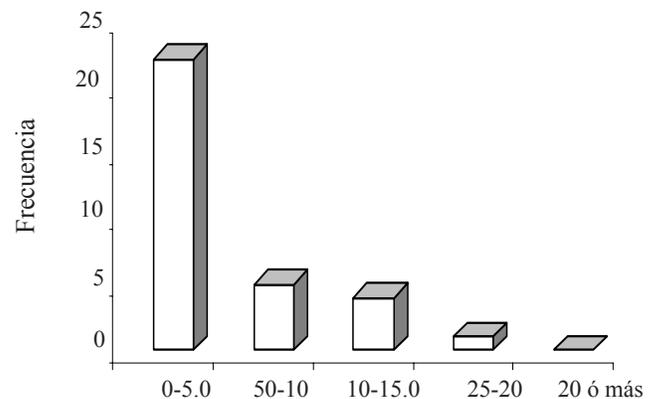


Fig. 3. Frecuencia de ooquistes viables en agua potable de Ciudad Obregón, Sonora

Los valores promedio y su desviación estándar para los parámetros fisicoquímicos se enumeran en la **tabla II**.

Al efectuar las correlaciones de Spearman se encontró una asociación no significativa ($r = 0.3157$, $p = 0.0951$), de los ooquistes totales con la temperatura. (**Tabla III**.)

Al efectuar la regresión logística se encontró una baja relación de los ooquistes viables con el cloro ($p = 0.06$ y $R^2 = 0.1031$), la ecuación encontrada fue: ooquistes viables = $2.4614 - 2.1233 \times \text{cloro}$. Asimismo, se encontró una baja relación de los ooquistes totales con la tempera-

TABLA II. MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR PARA CADA UNO DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

Variable	Media	Desviación estándar	CV %	Mín.	Máx.
Cloro	0.9656	0.354	36.6922	0.5	1.5
Turbidez	1.1431	0.7083	61.9630	0.1	2.6
Temperatura	29.9241	1.9216	6.4215	28.8	33.8
Cloruros	17.5344	4.0221	22.9383	10.0	28.0

TABLA III. CORRELACIÓN DE VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS CON LOS NÚMEROS DE OOQUISTES TOTALES Y DE OOQUISTES VIABLES.

Variable	Ooquistes totales		Ooquistes viables	
	r	p	r	p
pH	-0.1115	0.5432	-0.1048	0.5679
Cloro	-0.2314	0.2023	-0.2940	0.1022
Turbidez	-0.0058	0.9761	0.0636	0.7428
Temperatura	0.3157	0.0951	0.2642	0.1660
Cloruros	0.2876	0.1301	0.1692	0.3802

TABLA IV. ECUACIONES DE REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA LAS VARIABLES OOQUISTES TOTALES Y OOQUISTES VIABLES.

Variables	Ooquistes viables	Ooquistes totales
pH	—	—
Cloro*	- 2.1233	—
Turbidez	—	—
Temperatura*	—	0.6222
R ²	0.1031	0.1618
Intercepto	2.4614	- 17.737

* Significativos a ($p < 0.05$)

tura ($p = 0.02$, $R^2 = 0.1618$), la ecuación encontrada fue: $\text{ooquistes totales} = -17.7370 + 0.6222 \times \text{temperatura}$ (Tabla IV.)

DISCUSIÓN

La eficiencia obtenida en este trabajo, resultó muy alta en cuanto al procesamiento y cuantificación de los ooquistes presentes en las muestras, comparadas con las reportadas por Aguilar (1997) cuya eficiencia promedio fue de 15.24 %, por Hansen y Ongerth (1991) con eficiencia de 26.2 % y por Hutton *et al.* (1995) que señalan una eficiencia promedio de 33 %. Mientras que los intervalos descritos por Rose *et al.* (1991) fueron de 29 a 58 % y por Musial *et al.* (1987) de 12 y 85 %.

Musial *et al.* (1987) informaron que hay pérdida de ooquistes en cada una de las fases de ésta técnica y la eficiencia del proceso depende de la habilidad de cada analista. Este porcentaje de eficiencia no se tomó en cuenta en el análisis de los resultados y se utilizaron los datos obtenidos sólo como una referencia.

Existe el antecedente de un trabajo similar realizado en Hermosillo, Sonora, por Díaz *et al.* (1999), en el que se encontraron ooquistes en 37 % en un total de 41 muestras analizadas. En Ciudad Obregón se detectaron ooquistes en 69 % de un total de 32 muestras analizadas, lo que implica un riesgo potencial mayor. Estos resultados con-

cuerdan con lo señalado por Rose *et al.* (1991), quienes afirman que es posible encontrar un mayor número de ooquistes en aguas superficiales que en las provenientes de pozos, dado que Ciudad Obregón se abastece de agua superficial únicamente y Hermosillo a través de una combinación de agua de pozos y superficial.

Al comparar los promedios de ooquistes totales con los viables, se observa que la mayoría de los ooquistes son viables lo que implica un riesgo potencial mucho mayor para la población. Es importante aclarar que se determinó viabilidad, más no infectividad, dando pie a futuras investigaciones para determinar si dichos ooquistes son capaces de producir enfermedad. Además 15.62 % de las muestras presentaron 10 ó más ooquistes viables, lo que significa que se encuentran dentro de la dosis reportada como infectiva que es de 10 a 25 ooquistes (Upton 2000).

Díaz *et al.* (1999), en un estudio realizado en Hermosillo, Sonora, afirman haber hallado ooquistes de *C. parvum* en 23.2 % de las muestras de heces de niños de 0 a 5 años de edad y señalan que posiblemente el agua podría ser el principal vehículo transmisor.

Aunque se tienen valores considerables de cloro libre residual, la mayoría de las epidemias han ocurrido usando agua desinfectada como menciona Boreham (1987), a pesar de que el cloro reduce las bacterias coliformes, su empleo resulta ineficiente para matar quistes de parásitos y se necesitarían más de 80 ppm de cloro para eliminar los ooquistes de *Cryptosporidium*. Sin embargo, mencionan también que la efectividad del cloro puede tener relación estrecha con el resto de los parámetros fisicoquímicos, como por ejemplo la temperatura, ya que los halógenos son menos efectivos como desinfectantes en agua helada.

El parámetro pH está en el rango en el que no ocasiona alteración a los ooquistes; los valores más bajos (ácidos) pueden tener efecto sobre el número de ooquistes.

La turbidez se observa muy por encima del valor que dicta la Regla para Tratamiento de Aguas Superficiales (SWTR) de la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) que indica una turbidez menor o igual a 0.5 UTN (Unidades de Turbidez Nefelométrica).

Letorney (1994), afirma que los rangos de temperatura para la viabilidad de los ooquistes son muy amplios y van de 20 a 65 °C, en nuestro estudio la temperatura promedio fue de 29.9 °C con una desviación estándar de 1.92. Sin embargo, Sherwood *et al.* (1982) señalan que los ooquistes se mantienen viables por dos semanas a temperaturas desde 5 hasta 20 °C, lo que podría significar que aparentemente tendrían una permanencia menor.

Para el parámetro dureza no hay informes de los valores que pudiesen influir sobre la presencia y la viabilidad de los ooquistes.

Le Chevallier (1991), indica que se pueden diseñar modelos de regresión lineal para predecir los niveles de

Cryptosporidium con base en parámetros fisicoquímicos; menciona que es muy importante el factor tipo de agua, ya que al incrementarse los niveles de coliformes fecales, como indicadores de la presencia de patógenos o turbidez, los niveles de estos parásitos se elevarán automáticamente. Sin embargo, al efectuar la regresión logística, no se encontró un modelo que fuera buen predictor de los valores de ooquistes viables y ooquistes totales a partir de los parámetros fisicoquímicos.

REFERENCIAS

- Addis D., MacKenzie W., Hoxie N., Gradus M., Blair K., Proctor M., Kazmierczak J., Schell W., Oseve P., Frisby H., Cicerello H., Cordell R., Rose J. y Davis J. (1995). Epidemiologic features and implications of the Milwaukee cryptosporidiosis outbreak protozoan parasites and water. The Royal Society of Chemistry.
- Aguilar J. (1997). Evaluación de la presencia de *Cryptosporidium* en el agua para consumo humano de Hermosillo, Sonora. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C (CIAD), Hermosillo, Sonora.
- APHA (1977). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association. Washington D. C.
- APHA (1992). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association. Washington D. C.
- Boreham P. (1987). Transmission of *Giardia* by food and water. *Food Technol. Australia* 39, 2.
- Casemore D. (1990). Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiol. Infect.* 104 1-28.
- D'Antonio R.G., Win R.E., Taylor J.P., Gustafson R.L., Current W.L., Rhodes M.M., Gary W. y Zajac R.A. (1985). A waterborne outbreak of cryptosporidiosis in normal hosts. *Ann. Intern. Med.* 103, 886-888.
- Díaz M., Aguilar J., Gómez C., Torres F. y Mata V. (1999). Relación entre la incidencia de *Cryptosporidium parvum* en agua y niños con diarrea. *Memorias de la VI Reunión Sobre Investigación en Salud del Estado de Sonora*. pp. 131-133.
- García L. y Shimizu R. (1997). Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. *J. Clin. Microbiol.* 35, 1526-1529.
- Gómez CE., Torres FR., y Díaz ME. (1996). Utilización de anticuerpos monoclonales en la detección de quistes de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en heces diarréicas de niños de 0 a 5 años en Hermosillo, Sonora. *Boletín CIAD* 76.
- Hansen J. y Ongerth J. (1991). Effects of time and watershed characteristics on the concentration of *Cryptosporidium* oocysts in river water. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2790-2795.
- Hutton P., Ashbolt N., Vesey G., Walker J. y Ongerth J. (1995). *Cryptosporidium* and *Giardia* in the aquatic environment of Sydney Australia. *En: Protozoan parasites and water* (W. B. Betts, D. Casemore, C. Fricker, H. Smith, J. Watkins EdS.). The Royal Society of Chemistry. Cambridge, Inglaterra. pp.71-75.
- Jawetz E., Melnick J., Adelberg E., Brooks G., Butel J. y Ornston N. (1990). *Microbiología médica*. El Manual Moderno, pp. 576-577.
- Juranek D. D. y Mac Kenzie W. R. (1998). Drinking water turbidity and gastrointestinal illness. *Epidemiol.* 9, 228-231.
- Korich D. G., Mead J. R., Madore M. S., Sinclair N. A. y Sterling C. R. (1990). Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium* viability. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1423-1428.
- Le Chevallier M. (1991). Characterization of *Giardia* and *Cryptosporidium* removal in drinking water treatment plants. *American Water Works Service Company, Inc.* pp. 180-187.
- Letorney Jr. J. (1994). Wanted: distillation for the murder of *Cryptosporidium*. *Water Conditioning and Purification*, 30-31.
- Musial C., Arrowood M., Sterling C. y Gerba C. (1987) Detection of *Cryptosporidium* in water using polypropylene cartridge filters. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 687-692.
- Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- Rose J. B., Cifirino A., Madore M. S., Gerba C. P., Sterling C. R. y Arrowood M. J. (1986). Detection of *Cryptosporidium* from wastewater and freshwater environmental. *Water Sci. Technol.* 18, 223-239.
- Rose J., Darbin H. y Gerba C. (1988). Correlations of the protozoa, *Cryptosporidium* and *Giardia* with water quality variables in a watershed. *Water Sci. Technol.* 20, 271-276.
- Rose J., Gerba C. y Jakubowski W. (1991). Survey of potable water supplies for *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Environ. Sci. Technol.* 25, 1393-1400.
- Sherwood D., Angus K., Snodgrass D. y Tzipori S. (1982). Experimental cryptosporidiosis in laboratory mice. *Infect. Immun.* 38, 471-475.
- Schupp D. y Erlandsen S. 1986. A new method to determine *Giardia* cysts viability: correlation of fluoresceine diacetate and propidium iodide staining with animal infectivity. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 704-707.
- Upton S., Mc Allister C. Freed P. y Barnard S. 1989. *Cryptosporidium* spp. in wild and captive reptiles. *J. Wild Dis.* 25, 20-30.