



Convenio Específico: Municipalidad de Bahía Blanca y Fundación de la Universidad Nacional del Sur.

Programa: *“Investigación de poblaciones bacterianas y parasitarias de interés ambiental en aguas y sedimentos. Aplicación de una metodología para la realización de ensayos ecotoxicológicos”.*

Responsables: Dra. Mónica Baldini – Cátedra de Microbiología General y Dr. Sixto Raúl Costamagna – Cátedra de Parasitología Clínica de la Universidad Nacional del Sur.

Informe Final Integrado

(Agosto 2013 a Julio 2014)



Análisis bacteriológico en aguas y sedimentos en inmediaciones del balneario Maldonado, en los afluentes del estuario y en el efluente de la planta depuradora de líquidos cloacales de la 3ª Cuenca Bahía Blanca.

Lugar de realización: Lab. de Microbiología General. UNS.

Personal responsable: Dra. Mónica D. Baldini, Lic. M. Eugenia Streitenberger

1. INTRODUCCIÓN

Cuando por efecto de la actividad humana, se aumenta el ingreso de la materia orgánica al medio acuático, se provocan cambios en el equilibrio original que desembocan en un aumento de las poblaciones o en alteraciones de la biota original, lo que a su vez genera gran consumo de oxígeno y más producción de dióxido de carbono, incrementando el volumen total de biomasa. Si además se agregan bacterias de origen fecal, la calidad del agua se deteriora marcadamente. La contaminación fecal ha sido, y sigue siendo, un peligro asociado al uso de las aguas, ya que supone la incorporación de microorganismos patógenos procedentes de personas enfermas o portadoras, y la potencial transmisión por vía hídrica a la población susceptible. Por ello el control sanitario de riesgos microbiológicos es importante, y constituye una medida sanitaria básica para mantener un grado de salud adecuado en la población.

Los estuarios funcionan como importantes sumideros y transformadores de nutrientes transportados desde el continente hacia el mar.

Desde hace 4 años se realizan muestreos bacteriológicos de agua en la zona más interna del estuario de Bahía Blanca. En Junio de 2013 se observó que en la zona cercana al balneario Maldonado (Puerto Almirante Brown), los valores de *Escherichia coli* (*Ec*) y *Enterococcus* spp. superaron en un orden de magnitud a los recuentos de coliformes fecales y enterococos obtenidos en los efluentes de la Planta de Tratamiento de Líquidos Cloacales para la 3ªCuenca (PTLC) (Informe CTE Enero-Junio 2013). Esto hizo pensar en la existencia de alguna otra fuente de contaminación fecal que afectaba la zona, además de los volcados de la PTLC, y planteó la necesidad de ponerlos en evidencia. Por esto en el presente estudio se incluyó el análisis microbiológico de los afluentes que llegan al estuario.

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

El estuario de Bahía Blanca recibe los aportes fluviales de dos cursos de agua que desembocan en el flanco septentrional. El río Sauce Chico nace en el Sistema de Ventania, abarca una superficie de 1.588 km² y descarga en el Canal Principal unos 3 Km aguas debajo de la cabeza del estuario. El ritmo del caudal hidrológico es semejante al ritmo de las lluvias, registrando dos crecidas anuales, en marzo y octubre. Si bien el caudal anual medio es bajo (1,9 m³. s⁻¹), puede alcanzar picos de entre 10 y 50 m³. s⁻¹ con un pico máximo registrado de 106 m³. s⁻¹ en 1977 (Torrero y Campos, 2008).

El arroyo Napostá Grande nace en el Sistema de Ventania y atraviesa la ciudad de Bahía Blanca en su curso inferior, para desembocar 1 Km aguas abajo del puerto de Ingeniero White. Su recorrido es de 90 km y drena una cuenca de 1450 km². Durante el período 1936-44 fueron medidos caudales correspondientes a una subcuenca de 200 km² en la parte alta, que arrojó valores de caudal máximo, mínimo y medio de 220 m³ seg⁻¹, 0,061 m³ seg⁻¹ y 0,425 m³ seg⁻¹ respectivamente. Datos más recientes que incluyen alrededor de dos tercios de la cuenca, dan como módulo 0,8 m³ seg⁻¹ (Perez y Perillo, 2002; Carrica, 2004).

El influjo en el estuario desde otros tributarios menores es intermitente y sólo significativo durante períodos de elevadas precipitaciones locales: el Canal Maldonado es un canal derivador del Arroyo Napostá, el cual desemboca en el estuario junto al balneario Maldonado; y el Arroyo Saladillo de García el cual desemboca en cercanías de General Daniel Cerri.

En el presente Convenio se incorporó la búsqueda de *Salmonella spp.* en los cursos de agua dulce por la importancia que reviste desde la salud pública. *Salmonella spp.* es uno de los **patógenos** de mayor importancia, dado el impacto socioeconómico que ocasiona tanto en los países industrializados como en aquellos que se encuentran en vía de desarrollo. La transmisión de este microorganismo puede darse a través de diversos alimentos, principalmente de origen avícola, esto ha ocasionado brotes que afectan a centenares de personas alrededor del mundo (Rincón *et al.*, 2011). Está asociada a las enfermedades diarreicas, las cuales continúan siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad sobre todo en lactantes, niños y ancianos (Durango *et al.*, 2004). La enfermedad se contrae por la ingestión de alimentos o de aguas contaminadas o por personas infectadas que manipulan alimentos. Aunque fundamentalmente son bacterias intestinales, están muy distribuidas en el ambiente y se encuentran con frecuencia en vertidos de granjas, en las

[Escriba aquí]



aguas residuales humanas y en cualquier material con contaminación fecal. La *Salmonella* proveniente de las heces de animales puede permanecer en pastos y aguas, contaminando otros animales, de esta manera, los insectos puede ser un vehículo de dispersión al posarse sobre las heces contaminadas y llevarlas a múltiples lugares (Marin *et al*, 2009).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Descripción de las estaciones de muestreo.

Entre Agosto de 2013 y Julio de 2014 se realizaron muestreos en:

- 1- Agua y sedimentos en el área cercana al balneario Maldonado (Puerto Almirante Brown) (Figura 1).
- 2- Agua en la Planta de tratamiento de líquidos cloacales para la 3° Cuenca (PTLC) (Figura 1)
- 3- Cursos de agua dulce superficial que descargan en el estuario de Bahía Blanca (Figura 1):
 - 3.1 Canal Maldonado,
 - 3.2 Saladillo de García,
 - 3.3 Rio Sauce Chico
 - 3.4 Arroyo Napostá.

Las muestras de sedimentos fueron tomadas con una frecuencia trimestral y las de agua mensual.



Figura 1: Detalle de la zona de estudio con la ubicación de las estaciones de muestreo.



2.2. Análisis bacteriológico.

2.2.1. Metodología para la identificación de *Salmonella* spp.

Salmonella spp. es un género bacteriano, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo que fermenta la glucosa con producción de ácido y gas. Para su detección se utilizó la técnica de filtración por membrana (0,45 μm de poro) lo que permitió trabajar con volúmenes mayores de agua (250 mL).

El protocolo empleado consta de las siguientes etapas: 1) preenriquecimiento en Agua Peptonada Tamponada (BPW), que logra la revivificación de las salmonelas lesionadas por las condiciones adversas del ambiente, se incrementa su vitalidad y desarrollo 2) enriquecimiento selectivo, en caldo base de tetrionato (CBT) para incrementar las poblaciones de salmonela y restringir la proliferación de la microbiota competitiva 3) detección presuntiva utilizando Rapid CheK (sensibilidad 1 *Salmonella*/25 mL de muestra) 4)

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

confirmación de los resultados positivos por aislamiento en agar sulfito bismuto (SB) y tipificación bioquímica (Pascual Anderson y Calderón, 2000).

En el embudo de un sistema de filtración reutilizable se colocó un filtro de membrana de 47 mm de diámetro, con tamaño de poro de 0,45 μm (Milipore Mixed Cellulose Ester, Fisher Scientific) y se filtraron 250 mL de muestra. Finalizada la filtración se colocó la membrana en un erlenmeyer con 100 ml de BPW y se incubó a 37 °C por 24 h. Del crecimiento en BPW se tomó una alícuota de 10 ml y se sembró en un erlenmeyer con 100 mL de CBT e incubó por 24 h a 42 °C. Posteriormente, se tomaron 10 ml de CBT y se realizó el test Rapid Chek. Este procedimiento se realizó con cada una de las muestras provenientes de los afluentes.

La metodología empleada así como la fundamentación de los demás grupos fisiológicos bacterianos estudiados, han sido ampliamente descriptas en informes anteriores.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Área cercana al Balneario Maldonado (Puerto Almirante Brown).

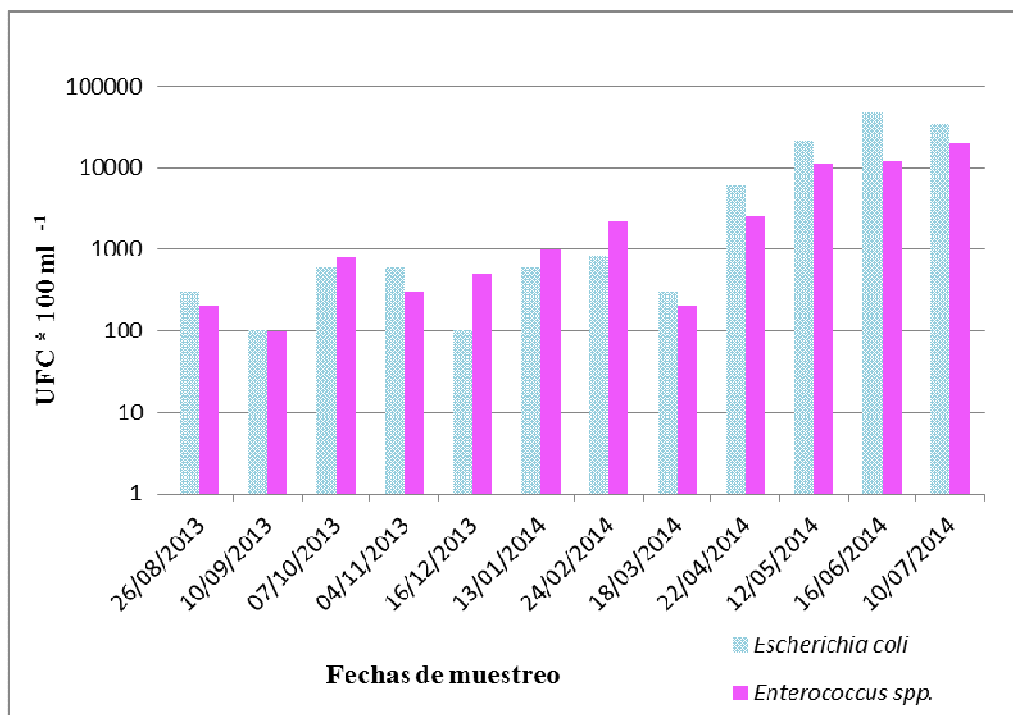
3.1.1. Distribución temporal de los indicadores de contaminación fecal.

La distribución temporal de los indicadores de contaminación fecal *Escherichia coli* (*Ec*) y *Enterococcus* spp. (Figura 2) mostró en la mayoría de los casos, valores superiores a los exigidos por la normativa nacional e internacional para aguas de contacto primario (≤ 126 UFC*100ml⁻¹ para *Ec* y 35 UFC*100 ml⁻¹ para *Enterococcus* spp.) (USEPA, 2003), con valores máximos de 48000 UFC/100ml para *Ec* y de 20000 UFC/100ml para *Enterococcus* spp., siendo **ampliamente superiores** a los registrados en estudios previos en la zona (Streitenberger y Baldini, 2010). Se vio en los últimos 4 meses (Figura 2) una tendencia al aumento de los indicadores. Esto es coincidente con la obstrucción del colector cloacal de la PTLC, lo que llevó a la empresa ABSA a derivar los líquidos cloacales crudos al canal Maldonado (11/04/14, <http://www.cafexmedio.com.ar/index.php/bahia-blanca/2012-la-obstruccion-de-un-colector-cloacal-provoca-graves-problemas-en-diferentes-barrios-de-la-ciudad.html>).

[Escriba aquí]



Figura 2: Distribución temporal de *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp. en el área cercana al Balneario Maldonado expresada como Unidades formadoras de colonias en 100ml de agua (UFC/100ml).



3.1.2. Indicadores de contaminación fecal en sedimentos

En la tabla 1 se observa que en el año 2012 los valores máximos de *EC* fueron de 430 UFC/g peso seco y de enterococos de 1160 UFC /g peso seco. En el 2013 hubo máximos de 7300 UFC *Ec* /g peso seco y 4600 UFC enterococos/g peso seco y en el 2014 de 8000 y 6500 respectivamente. Esto indica claramente el aumento en la acumulación de las bacterias indicadoras en sedimentos a lo largo del tiempo.

La concentración de bacterias en la columna de agua puede disminuir debido a diversos factores ambientales que limitan su supervivencia de algunas horas a pocos días; en contraste, en el sedimento tienen protección y nutrientes que aumentan su persistencia de semanas a meses, por lo tanto, el sedimento constituye un reservorio potencial de bacterias fecales y patógenas ((Fernandes Cardoso de Oliveira and Watanabe Pinhata, 2008; Badgley *et al.*, 2010). Además, la resuspensión hacia la columna de agua constituye un riesgo a la salud y a la



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

vida acuática por lo que es importante considerar los niveles de indicadores fecales en el agua y el sedimento en ambientes naturales, en zonas de recreación y sitios de cultivo de organismos acuáticos (Craig *et al.*, 2002, Anderson *et al.*, 2005). De esta manera, **la concentración de bacterias en el sedimento se ha considerado un indicador más estable de contaminación fecal y un registro de “la historia” de ese lugar** (Haller *et al.*, 2009).

Tabla 1: Recuento de los indicadores de contaminación fecal (*Escherichia coli* y *Enterococcus* spp.) en sedimentos en el 2012, 2013 y 2014; expresados como Unidades formadoras de Colonias por gramo de peso seco (UFC/ g peso seco).

Fechas	<i>Escherichia coli</i> (UFC g⁻¹ peso seco)	<i>Enterococcus</i> spp. (UFC g⁻¹ peso seco)
17/05/2012	430	320
11/10/2012	190	1160
19/03/2013	160	160
17/06/2013	120	350
18/09/2013	500	2300
04/11/2013	7300	4600
13/01/2014	300	800
22/04/2014	6060	6500
10/07/2014	8000	5850

3.1.3. Distribución temporal de bacterias heterótrofas de origen terrestre y marino.

Los recuentos de bacterias heterótrofas de origen marino superaron a las terrestres en todas las fechas de muestreo, excepto en Mayo de 2014 (Figura 3). Este incremento de bacterias heterótrofas de origen terrestre pudo deberse a las intensas precipitaciones de ese mes, que favorecieron la escorrentía de bacterias provenientes del suelo.

En el medio marino se encuentra una gran diversidad de organismos que interactúan y compiten por la disponibilidad de alimento; dentro de este sistema las bacterias son las principales participantes en el flujo de la energía heterotrófica y la mineralización de la materia orgánica. Durante la descomposición de la materia orgánica un 60-80% del carbono presente se libera como dióxido de carbono y el restante 20-40% es utilizado en la formación

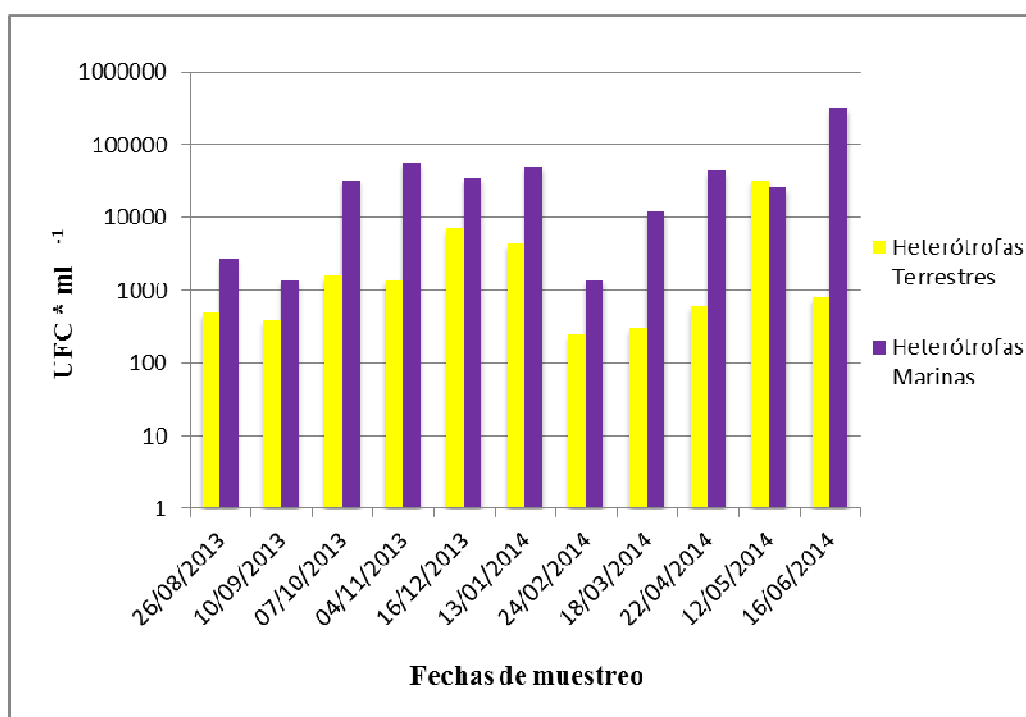
[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

de sustancia celular, incrementándose así la biomasa bacteriana. Además contribuye, sustancialmente, a la nutrición de otros niveles tróficos tanto en la masa de agua como en el sedimento. La intensidad y naturaleza de los intercambios realizados por los microorganismos dependen, fuertemente, de la distribución cualitativa y cuantitativa de sus diversas comunidades y de su dinámica en los diferentes nichos ecológicos en que se localizan. De esta manera, las diferencias en la abundancia de las poblaciones bacterianas en diferentes áreas se pueden atribuir a las concentraciones existentes de la materia orgánica fácilmente asimilable. El número de bacterias heterótrofas es mayor cerca de las costas y va disminuyendo conforme se aleja de la plataforma continental debido a la baja disponibilidad de nutrientes en la región oceánica. En cuanto a la distribución vertical, el mayor número de poblaciones heterótrofas se encuentran siempre en la zona productiva eufótica; sin embargo, el máximo no se presenta al principio de la zona sino entre los 10-50 m y a los 200 m el número disminuye considerablemente, volviendo a incrementarse en la interfase agua-sedimento (Saitz-Ceballos *et al.*, 1985).

Figura 3: Recuento de bacterias heterótrofas de origen terrestre y marino en aguas en el área cercana al balneario Maldonado, expresados como Unidades Formadoras de Colonias por ml de agua (UFC/ml).



[Escriba aquí]



3.2. Indicadores de contaminación fecal en la PTLC.

En las Figuras 4 y 5 se presentan los resultados de los indicadores de contaminación fecal, coliformes fecales y *Enterococcus* spp. en la PTLC. En la mayoría de las muestras, los valores de coliformes fecales (Figura 4) estuvieron por debajo de lo exigido por la Autoridad del Agua, Resolución ADA N° 336/03, el cual es de ≤ 2000 coliformes fecales 100 ml^{-1} (Ministerio de Asuntos Agrarios y Producción, 2003), siendo en el mes de Febrero el recuento más bajo desde que se comenzó con los muestreos en el 2010 (3,6 NMP/100ml). En Noviembre de 2013 no se pudo tomar la muestra ya que no estaba en funcionamiento la planta. Esto se debió a una obstrucción del colector cloacal que llevó a la empresa ABSA a derivar los líquidos cloacales al canal Maldonado (23/10/13, <http://www.adnbahiablanca.com.ar/m-info.asp?id=14045&idcat=1&idsub=48>). En Diciembre se vió un aumento muy importante en los recuentos de coliformes (orden 10^5). Esto podría deberse a que la Planta necesitó un tiempo hasta volver a entrar en régimen. A partir de Abril de 2014 no se pudieron tomar las muestras en la planta ya que nuevamente hubo una obstrucción del colector cloacal que llevó a volcar los efluentes al canal Maldonado.

La misma tendencia se observó en los enterococos (Figura 5) con valores mínimos de 10 y máximos de $2,5 \cdot 10^4$ UFC/100ml.

Los resultados sugieren que cuando la planta tiene un correcto funcionamiento los valores de los indicadores cumplen con la legislación vigente.



Figura 4: Recuento de coliformes fecales durante el período muestreado, expresado como Numero Más Probable en 100ml de agua (NMP/100ml).

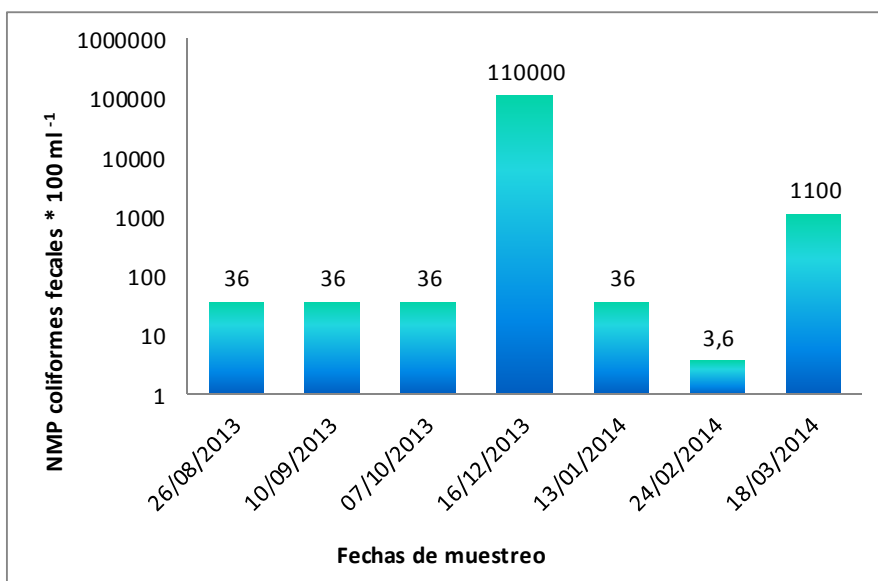
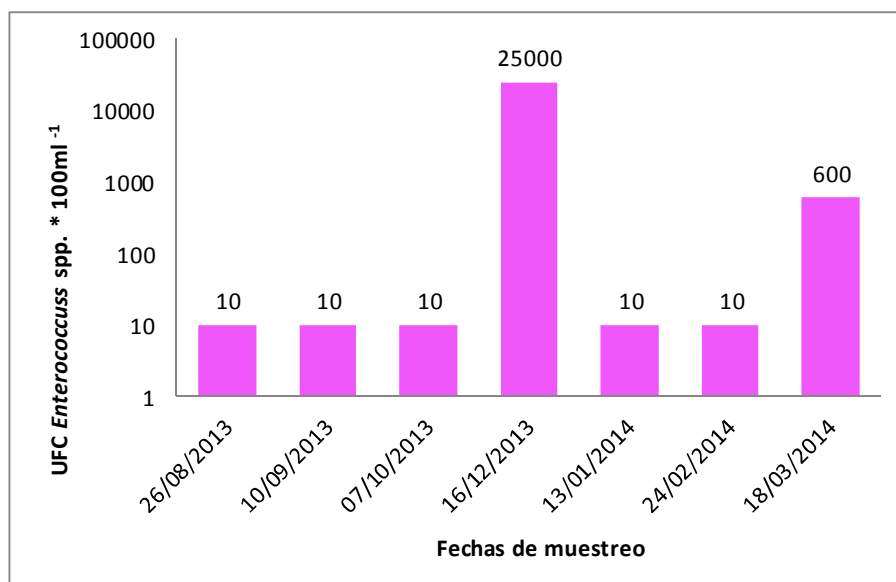


Figura 5: Distribución temporal de *Enterococcus* spp. en aguas de la PTLC 3° Cuenca expresado como Unidades formadoras de colonia por 100ml de agua (UFC/100ml).



[Escriba aquí]

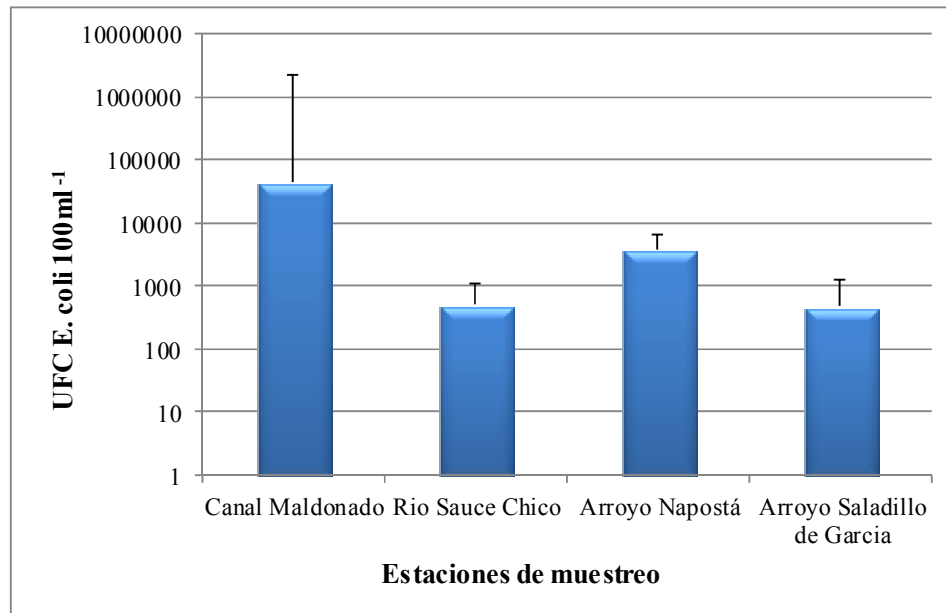


3.3. Afluentes del estuario de Bahía Blanca.

3.3.1. Cuantificación del indicador de contaminación fecal *Ec*.

Como se observa en la Figura 6, las medias geométricas de *Ec* del Arroyo Saladillo de García y del Río Sauce Chico fueron muy similares, con valores de 490 y 529 UFC/100ml respectivamente. La media geométrica en el arroyo Napostá fue de 3764 UFC/100ml y en el canal Maldonado de 44473 UFC/100ml. Las elevadas concentraciones de *Ec* en estos cursos, son reflejo de los volcados que reciben a lo largo de sus recorridos ya que atraviesan la ciudad de Bahía Blanca. Además, en el caso particular del canal Maldonado, se evidencian grandes fluctuaciones en los recuentos, con mínimos de 1100 y máximos de $7,5 \cdot 10^6$ UFC/100ml.

Figura 6: Distribución espacial de *EC* en los afluentes que llegan al estuario de Bahía Blanca, expresado como medias geométricas \pm ES.



3.3.2. Distribución espacial de bacterias heterótrofas de origen terrestre.

Las medias geométricas de heterótrofas de origen terrestre en el Arroyo Saladillo de García, Arroyo Napostá y Río Sauce Chico fueron similares (Figura 7), con valores de 2817, 3679 y 3917 UFC/ml respectivamente. Sin embargo, se evidencian variaciones en los recuentos en el Río Sauce Chico con mínimos de 400 y máximos de $1,1 \cdot 10^5$ UFC/ml. Los

[Escriba aquí]

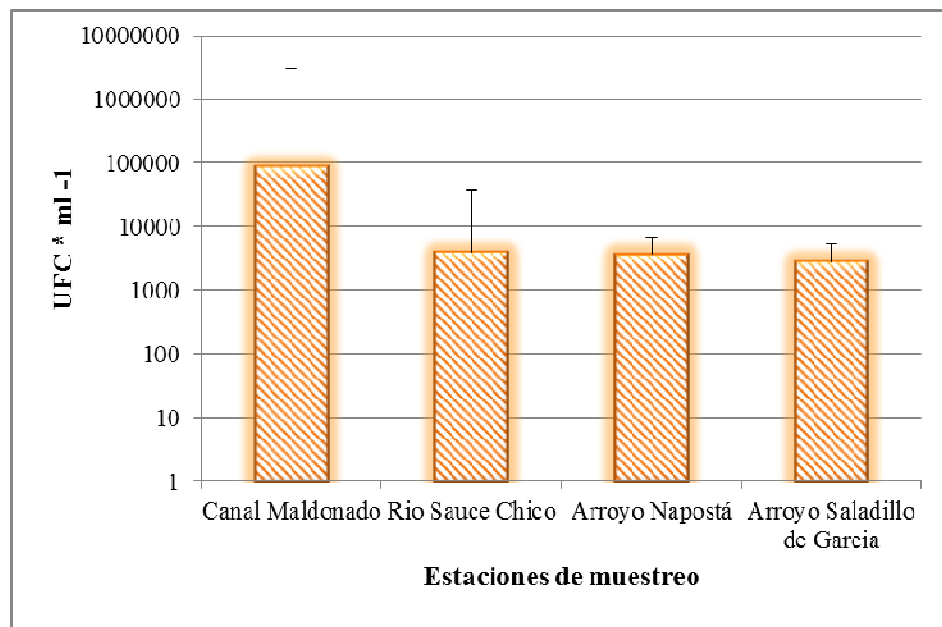


altos valores coinciden con los períodos de mayores precipitaciones pluviales donde se provocan deslaves continentales los cuales son descargados hacia el estuario llevando materia orgánica en suspensión y microorganismos del suelo.

Al igual que el indicador de contaminación fecal *Ec*, los recuentos de bacterias heterótrofas fueron altos y con grandes fluctuaciones en el canal Maldonado, indicando volcados intermitentes ricos en materia orgánica.

A partir del mes de Abril se evidenció un aumento en los valores de los indicadores en el Canal Maldonado (*Ec* y heterótrofas), así como en el Puerto Almirante Brown tanto en agua como en sedimentos (Figura 2, Tabla 1). Esto permite inferir el efecto del volcado de efluentes crudos al canal Maldonado y la influencia que este ejerce en la zona cercana al balneario Maldonado.

Figura 7: Distribución espacial de bacterias heterótrofas de origen terrestre en los afluentes que llegan al estuario de Bahía Blanca, expresado como medias geométricas \pm ES.



3.3.3. Análisis cualitativo de *Salmonella* spp. en los afluentes.

Se detectó el **patógeno intestinal** *Salmonella* spp. en 250 ml de agua en el canal Maldonado en los meses de Marzo, Abril, Junio y Julio; y en el arroyo Napostá en los meses

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

de Junio y Julio (Tabla 2). **Esto alerta sobre el riesgo para la salud** por tratarse de una zoonosis, es decir es una enfermedad que puede ser transmitida de los animales a las personas. Numerosas especies animales portan este microorganismo en su intestino, pudiendo o no manifestar la enfermedad y mantenerse como portadores sanos eliminando la bacteria en forma más o menos constante a través de la materia fecal. Prácticamente todos los serotipos de *Salmonella* podrían ser capaces de producir una gastroenteritis en el hombre. El que se produzca la enfermedad va a depender de la cantidad de bacterias presentes en el alimento, así como de condiciones propias del consumidor (edad, estado inmunológico y otros). Se ha demostrado en algunos estudios, que la dosis infectante puede ser tan baja como 10 bacterias. Esta infección intestinal se caracteriza por presentar síntomas de aparición brusca, tales como fiebre, dolor de cabeza, dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarrea. La enfermedad se autolimita, lo que significa que el paciente se recupera después de 2 a 4 días. La persona convaleciente continúa eliminando salmonelas por la materia fecal durante algunas semanas (Insunza y Soto, 1998).

Tabla 2: Presencia/Ausencia de *Salmonella* spp. en 250 ml de agua en los meses muestreados.

Meses muestreados	Presencia <i>Salmonella</i> spp./250ml
ago-2013	negativo
sep-2013	negativo
oct-2013	negativo
nov-2013	negativo
dic-2013	negativo
ene-2014	negativo
feb-2014	negativo
mar-2014	positivo
abr-2014	positivo
may-2014	negativo
jun-2014	positivo
jul-2014	positivo



4. CONCLUSIONES

*Se puntualiza el deterioro que ha sufrido en los últimos años la zona cercana al balneario Maldonado, esto se evidencia por el aumento de los indicadores bacterianos, tanto en aguas como en sedimentos.

*Los resultados evidencian que cuando la PTLC para la 3° Cuenca funciona correctamente se logran disminuir drásticamente los recuentos de bacterias indicadoras.

*En cuanto a los afluentes, los que mayor aporte de bacterias fecales realizan al estuario son el Canal Maldonado y el arroyo Napostá. Ambos atraviesan gran parte de la ciudad recibiendo contaminación antrópica. En los dos cursos se detectó la presencia de salmonelas. Cortes-Lara (2003), señala que en concentraciones mayores de 1000 coliformes fecales/ml hay un 50 % de probabilidad de encontrar *Salmonella* sp y cualquier otro patógeno de origen intestinal (bacterias, virus o parásitos).

*El arroyo Saladillo de García y el río Sauce Chico, tienen un comportamiento similar en cuanto a la concentración de bacterias indicadoras, no constituyendo un problema de contaminación para el estuario, por lo que no se considera necesario seguir con el muestreo de los mismos. En el río Sauce Chico se nota un aumento de los recuentos de las poblaciones de bacterias heterótrofas de origen terrestre durante las épocas de lluvias.

*Cabe mencionar que aun cuando la PTLC funciona correctamente, se siguen detectando *Ec* y enterococos en niveles preocupantes, en el área cercana al balneario Maldonado. Esto confirma la existencia de desagües clandestinos que se vuelcan en el Canal Maldonado afectando la zona.

*Es importante recordar que la zona interna del estuario tiene baja renovabilidad de agua y por lo tanto presenta alta fragilidad. Se requiere optimizar el tratamiento de líquidos cloacales, y controlar los volcados clandestinos al canal Maldonado, ya que se corre el riesgo de alterar

[Escriba aquí]



irreversiblemente las condiciones ambientales del estuario, con el consiguiente riesgo sanitario.

5- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON KL, WHITLOCK JE, HARWOOD VJ. 2005. Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 3041-8.
- BADGLEY BD, NAYAK BS AND HARWOOD VJ. 2010. The importance of sediment and submerged aquatic vegetation as potential habitats for persistent strains of *enterococci* in a subtropical watershed. *Water Research*, 44: 5857- 5866.
- CARRICA JC Y LEXOW C. 2004. Evaluación de la recarga natural al acuífero de la cuenca superior del arroyo Napostá Grande, provincia de Buenos Aires. *Revista de la Asociación Geológica Argentina*, 59:281-290.
- CORTES- LARA M. 2003. Importancia de los coliformes fecales como indicadores de contaminación en la Franja Litoral de Bahía de Banderas, Jalisco-Nayarit. *Revista Biomédica*, 14:121-123.
- CRAIG DL, FALLOWFIELD HJ, CROMAR NJ.2002. Enumeration of fecal coliforms from recreational coastal sites: evaluation of techniques for the separation of bacteria from sediments. *Journal of Applied Microbiology*, 93: 557-65.
- DURANGO J, ARRIETA G, MATTAR S. 2004. Presencia de *Salmonella* spp. en un área del Caribe colombiano: un riesgo para la salud pública. *Revista Biomédica*, 24:89-96.
- FERNANDES CARDOSO DE OLIVEIRA AJ, WATANABE PINHATA JM. 2008. Antimicrobial resistance and species composition of *Enterococcus* spp. isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. *Water Research*, 42:2242– 2250.
- HALLER L, AMEDEGNATO E, POTE J, WILDI W. 2009. Influence of freshwater sediment characteristics on persistence of fecal indicator bacteria. *Water Air and Soil Pollution*, 203: 217-27.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

- INSUNZA M y SOTO A. 1998. Salmonelosis: Una enfermedad que se transmite por alimentos. *TecnoVet*, 4, n. 2. Disponible en:
<http://www.revistas.uchile.cl/index.php/RT/article/view/6249/6105>.
- MARIN C, HERNANDIZ N, LAINEZ M. 2009. Biofilm development capacity of *Salmonella* strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants. *Poultry Science*, 88: 424-431.
- MINISTERIO DE ASUNTOS AGRARIOS Y PRODUCCIÓN. 2003. Resolución ADA N° 336/2003. 8 pp.
- PASCUAL ANDERSON M y CALDERÓN V. 2000. Microbiología Alimentaria. 2ª edición. Díaz de Santos, S. A., Madrid, España. 441 pp.
- PÉREZ DE Y PERILLO GME. 2002. Transporte de sedimentos del Arroyo Napostá Grande, Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires. *Revista de la Asociación Argentina de Sedimentología*, 9:189-199.
- RINCÓN D, RUEDA R, MEDINA J. 2011. Transmisión de *Salmonella* enterica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. *Salud UIS*, 43: 167-177.
- SAITZ-CEBALLOS S, FERRARA-GUERRERO M, ROMERO J. 1985. Distribución cuantitativa de bacterias y levaduras heterótrofas en las costas de Sinaloa y Nayarit, México. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología*, 86-106.
- STREITENBERGER ME, BALDINI MD. 2010. Deterioro de un área recreacional por efectos del volcado de líquidos cloacales. *Revista Argentina de Microbiología*, 42: 307-310.
- TORRERO MP Y CAMPOS AM. 2008. Hidrogeomorfología de la cuenca en el río Sauce Chico, Argentina. *Revista Geográfica de Valparaíso*, 41:1-13.
- U.S.E.P.A. (U. S. Environmental Protection Agency). 2003. Bacterial Water Quality Standards for Recreational Waters (Freshwater and Marine Waters) Status Report. U. S. Environmental Protection Agency publication n. EPA- 823-R-03-008. Office of Water, Washington, D.C.

Lic. Streitenberger María Eugenia

Dra. Baldini Mónica

[Escriba aquí]



Investigación de Parásitos de Interés Ambiental

Lugar de realización: Cátedra de Parasitología Clínica. UNS.

Personal responsable: Dr. Sixto Raúl Costamagna

Introducción

La escasez del recurso hídrico ha incrementado el uso de aguas depuradas y de fuentes alternativas para riego de cultivos y/o recreación. Es por ello que deben cumplirse premisas sanitarias que hagan que la reutilización de aguas no suponga un riesgo para la salud humana. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (1989) recomienda alcanzar niveles mínimos de calidad que aseguren la preservación de la salud humana y del medio ambiente. Concretamente, establecía la presencia de ≤ 1 huevo de nematodo intestinal/litro de agua para su utilización en riego y, más recientemente (OMS, 2006), $\leq 0,1$ huevos de nematodos intestinales/litro de agua.

En la última década han sido numerosos los estudios parasitológicos de aguas de bebida y/o recreación en Argentina y otros lugares del mundo. En la ciudad de Bahía Blanca existe una alta prevalencia de parásitos intestinales en niños y adultos residentes en áreas periféricas de la ciudad, especialmente en las zonas linderas al arroyo Napostá¹. Otros estudios han demostrado una alta contaminación parasitaria en verduras de huertas de la ciudad, especialmente en las que se utiliza el agua del arroyo Napostá para riego^{1,3}.

Más recientemente en nuestra ciudad, un estudio demostró la presencia de parásitos intestinales en heces de perros en el barrio Villa Nocito⁴ - lindero al canal Maldonado - en el cual las especies de *Anylostoma* spp y *Trichuris vulpis* presentaron los más altos porcentajes, seguido de *Toxocara* spp. Esta alta prevalencia de parásitos de importancia sanitaria en heces de perros halladas en la vía pública, significa un importante riesgo ambiental, y sirve como información para avanzar sobre la investigación de enfermedades zoonóticas - parasitarias como la Toxocariosis, Larva Migrans Cutánea y otras que afectan especialmente a niños.

Con estos antecedentes, resultó importante poder caracterizar en los cursos de agua, y en el efluente cloacal de la planta depuradora de la 3^a cuenca, la presencia de parásitos de interés sanitario.

Todas las descargas evaluadas en el presente trabajo, impactan directamente sobre su cuerpo receptor final: el estuario de Bahía Blanca.

Muestreo y Análisis

Se recolectaron muestras en los siguientes sitios:

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

- Río Sauce Chico (en la desembocadura sobre el estuario)
- Arroyo Saladillo de García (en la ruta de acceso a Gral. Cerri)
- Canal Maldonado (la desembocadura sobre el estuario)
- Arroyo Napostá (la desembocadura sobre el estuario)
- Descarga Cloacal 3^{ra} cuenca

En la Fotografía 1, se observa el área de trabajo y los diferentes sitios de muestreo.



Fotografía 1. Referencias: (1) Río Sauce Chico; (2) Arroyo Saladillo de García; (3) Descarga Cloacal 3^{ra} cuenca; (4) Canal Maldonado; (5) Arroyo Napostá

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

En la Tabla I, se muestran los meses de muestreo en los diferentes cursos de agua.

Tabla I. Sitios de Muestreo y fechas en las que se monitoreo.

	Fecha	Río Sauce Chico	Arroyo S. García	Canal Maldonado	Arroyo Napostá	Descarga C. 3 ^{ra} Cuenca
Agua	Agosto/13	X	X			X
	Septiembre/13			X	X	X
	Octubre/13	X	X			X
	Noviembre/13			X	X	
	Diciembre/13	X	X			X
	Enero/14			X	X	X
	Febrero/14	X	X			X
	Marzo/14			X	X	X
	Abril/14	X	X			
	Mayo/14			X	X	
	Junio/14	X	X			X *
	Julio/14			X	X	X *

En varias oportunidades, en la descarga de la 3^{ra} cuenca no fue posible realizar el muestreo, ya que la planta no estaba descargando efluente líquido, y el mismo, por problemas en las tuberías era derivado sin tratamiento al canal Maldonado. Por esta razón, durante el mes de junio y julio, se procedió a tomar una muestra del canal Maldonado, y considerarla representativa de la descarga cloacal *.

Todos los muestreos se realizaron sobre el tramo final de los cursos de agua próximo a su descarga en el estuario de Bahía Blanca, para evitar muestrear aguas arriba de alguna potencial fuente de contaminación.

Para el muestreo se empleó la metodología 9711 B y C (APHA-AWWA-WPCF, 17^a edición).

La muestra de agua fue filtrada utilizando filtros con poro de 1 µm de diámetro, con núcleo, de polipropileno, colocados en portafiltros Purowater FHT-34. Se utilizó una bomba de aspiración portátil, Flojet serie 4000, que permitió caudales de 19 litros por minuto y presiones de hasta 45 PSI y fuente de alimentación de 12 Voltios y un caudalímetro marca Zenner, como se muestra en la siguiente Fotografía 2.



Fotografía 2. Equipo de filtración: bomba de agua, porta filtro y Caudalímetro.

Se filtraron, en cada sitio de muestreo, entre 380 a 540 litros dependiendo de las condiciones de calidad del curso de agua al momento de la toma de cada muestra. En algunas oportunidades, y por las condiciones de turbidez del agua, los volúmenes de filtrado fueron menores por saturación de los poros del filtro.

Una vez en el laboratorio, los filtros fueron procesados de acuerdo a la técnica descrita por Madore². En primer lugar se lavó el filtro en forma reversa, empleando 2,7 litros de una solución Tween 80 al 0,1% (v/v). Cada filtro fue desmenuzado y colocado en la solución de Tween 80 al 0,1%. A continuación se procedió al lavado con agua destilada, y posterior centrifugación hasta volumen cero a 1200 g durante 10 minutos. Los pellets resultantes fueron colocados en un mismo frasco y lavados nuevamente por duplicado. Esta última muestra fue fraccionada en dos frascos, uno de los cuales fue almacenado en heladera hasta su procesamiento posterior, mientras que la otra porción fue colocada en una solución de Formol 5% (v/v) para la búsqueda e identificación al microscopio óptico de quistes, larvas y/o trofozoítos o alguna otra forma parasitaria que nos permitiera identificar géneros y especies de parásitos presentes en cada muestra.

Todos los pellets fueron observados al microscopio óptico, con 100, 400 y 1000 aumentos.

Se efectuó coloración Tricrómica en aquellos casos que lo requerían; Auramina-fenol y Kinyoun para *Cryptosporidium* sp y otros coccidios de interés.

Para la identificación de quistes de *Giardia* sp y *Cryptosporidium* sp se utilizó, además, inmunofluorescencia directa (Meri flúor Crypto y Giardia, Meridian Diagnóstics).



Resultados

Resultado Parcial del IV Trimestre: Mayo, Junio y Julio de 2014.

Muestreo de Mayo

1. Canal Maldonado (380 litros)

Se observaron quistes y trofozoítos de amebas en abundante cantidad. Larvas de nematodos en abundante cantidad (con bulbo esofágico presente). Cabe recordar que los efluentes cloacales sin tratamiento de la 3^{era} cuenca eran descargados por este curso.

2. Arroyo Napostá (380 litros)

No se observaron elementos parasitarios, en ninguno de los ensayos practicados.

3. Descarga cloacal 3ra cuenca (sin efluente)

Debido a una rotura en la cañería que conduce los líquidos cloacales hacia la planta de tratamiento, los efluentes no llegaban al sistema, y la planta de tratamiento no registraba caudal de vertido al momento del muestreo.

Muestreo de Junio

1. Río Sauce Chico (450 litros)

No se observaron elementos parasitarios, en ninguno de los ensayos practicados.

2. Arroyo Saladillo de García (450 litros)

Se observaron huevos de la familia Ascarididae.

3. Descarga cloacal 3ra cuenca (sin efluente)

Debido a una rotura en la cañería que conduce los líquidos cloacales hacia la planta de tratamiento, los efluentes no llegaban al sistema, y la planta de tratamiento no registraba caudal de vertido al momento del muestreo. El efluente era derivado hacia el canal Maldonado, por lo que decidimos tomar una muestra del mismo para su análisis.

Se observaron larvas de nematodos y pequeños quistes de amebas uninucleadas.

Muestreo de Julio

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

1. Canal Maldonado (450 litros)

Se observaron larvas de Nematodos.

2. Arroyo Napostá (450 litros)

No se observaron elementos parasitarios en ninguno de los ensayos realizados.

3. Descarga cloacal 3ra cuenca (sin efluente)

Debido a una rotura en la cañería que conduce los líquidos cloacales hacia la planta de tratamiento, los efluentes no llegaban al sistema, y la planta de tratamiento no registraba caudal de vertido al momento del muestreo. El efluente era derivado hacia el canal Maldonado, por lo que decidimos tomar una muestra del mismo para su análisis. Se observaron larvas de nematodos en abundancia.

Resultados integrados – Evaluación Final de todo el período de monitoreo.

En la Tabla II, se presentan a continuación los parásitos hallados en los diferentes cursos de agua desde agosto de 2013 hasta julio de 2014.

Tabla II. Elementos parasitarios hallados en los causes estudiados

	Sauce Chico	S. García	Maldonado	Napostá	3 ^{era} Cuenca
Ord. Amoebida (quistes pequeños)		+	+		+++++
Ord. Amoebida (quistes grandes)				+	+
Flia. Acanthamoebidae (quistes)		+			
<i>Iodamoeba buetschlii</i> (quistes)					+
Flia. Ascarididae (huevos)	++				
<i>Blastocystis hominis</i> (quistes)		+	+		
<i>Cryptosporium</i> sp. (quistes)					+++
Ph. Nematoda (larvas)			+++		++++
Ord. Rhabditida (larvas)					+
Flia. Toxocaridae (huevos)	+				+
Flia. Trichostrongylidae (huevos)					+
Flia. Ancylostomatidea (huevos)			+		+

Si analizamos la cantidad de elementos a parasitarios hallados durante los diferentes meses de muestreo, se puede observar que la mayor incidencia se registra en los meses cálidos, esto se repite aquí, al igual que en otros lugares del mundo en donde la prevalencia de las parasitosis se incrementa con el aumento de la temperatura ambiente.

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

Esto se debe a que durante los meses cálidos de verano, la población en general, utiliza el agua como principal herramienta para combatir el calor, como recreación, y en su tiempo de esparcimiento. Este contacto íntimo con las aguas contaminadas, desencadena tanto en personas sanas, como en inmunosuprimidas, el desarrollo de parasitosis de diferentes agentes etiológicos, especialmente aquellos parásitos cuya vía de infestación ocurre a través del agua.

El gráfico I, muestra a continuación la cantidad de elementos parasitarios hallados en cada mes de muestreo.

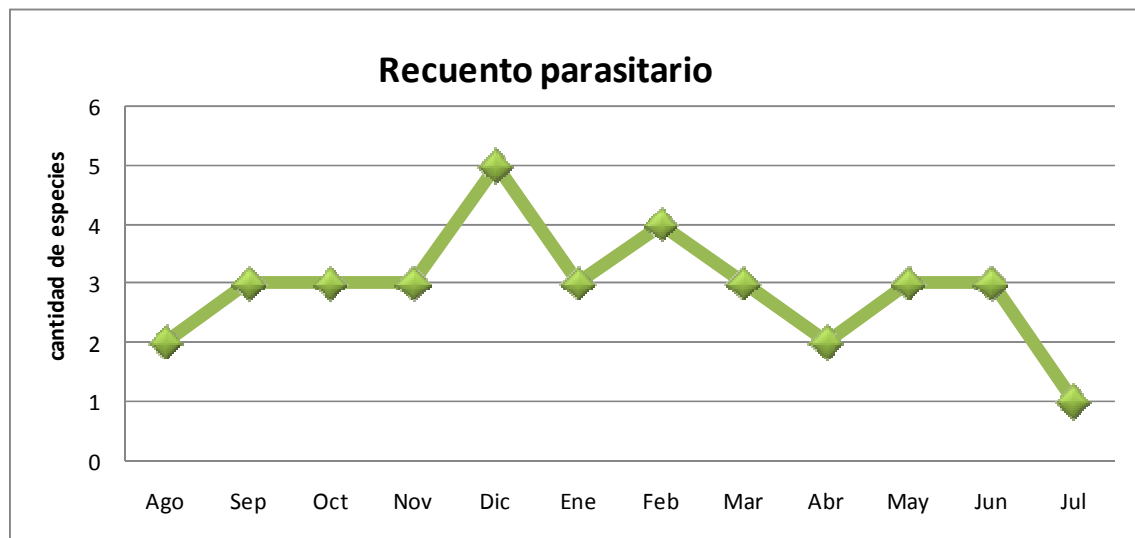


Gráfico I. Hallazgo de especies parasitarias en los diferentes meses de muestreo.

Cabe destacar, como se aprecia en el gráfico I, que durante el mes de enero, el valor determinado no es elevado. Esto podría explicarse a las intensas lluvias registradas durante ese período, que incrementó el caudal de los ríos y arroyos, enturbió el agua, saturando los filtros e imposibilitando una buena toma de muestra, ya sea por la calidad de la misma (muy sucia) y por la escasa cantidad de volumen filtrado.

Como era de esperar, los meses más fríos presentan menor cantidad de elementos parasitarios en los causes. Para el resto de los meses, se sostiene un recuento de 2 a 3 especies, esto es debido a que siempre se mantuvo el muestreo sobre la descarga cloacal, efluente que presentó la mayor cantidad de registros parasitarios, como era de esperar.

Son innumerables los trabajos de investigación que reportan diariamente en todo el mundo, la presencia de parásitos de importancia sanitaria en agua, tierra, heces de perros, etc.

Entre los parásitos más destacados de este estudio, según se detallan en la tabla II, los quistes de amebas de vida libre han resultado entre los más frecuentemente hallados. Esta situación no difiere de las reportadas en otras ciudades del mundo^{4,5,6}, donde se han determinado diferentes especies de amebas y hasta el grado de patogenicidad para el hombre. Las amebas de vida libre (AVL) son ubicuas, halladas principalmente en aguas

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

ambientales – lagos, lagunas, ríos – también en piscinas y hasta en agua de red para consumo, en general alimentándose de bacterias, pero suelen comportarse en algunas ocasiones como parásitos oportunistas. Por esta característica se les denomina también amebas anfitoicas, aludiendo a su capacidad de sobrevivir tanto en vida libre como en el interior de hospedadores, pudiendo ocasionar meningoencefalitis amebiana primaria (MEAP), encefalitis granulomatosa amebiana (EGA) o queratitis amebiana (QA)^{7,8,9}.

Las amebas comprenden un grupo enormemente diverso, desde las amebas gigantes (*Amoeba proteus*, *Chaos carolinense*) hasta otras con potencial patogénico para el hombre (Géneros: *Acanthamoeba*, *Naegleria* y *Balamuthia*) encontrándolas en aire, suelo, agua de mar, ríos, lagos, fuentes, piscinas, etc.

La infección humana por AVL es poco frecuente, sin embargo hay un incremento de casos con la emergencia del VIH/SIDA en los reportes de MEAP y EGA, ya que los pacientes inmunosuprimidos son particularmente susceptibles a estas infecciones. Por otro lado, los casos de QA son más frecuentes por el uso de los lentes de contacto.

Es de destacar que en nuestro informe, las AVL fueron reportadas en casi todos los cuerpos estudiados, excepto el arroyo Sauce Chico. Su mayor abundancia, como era de esperar, se determinó en las aguas residuales de la descarga cloacal.

Cryptosporidium spp., es otro de los parásitos hallados con mayor frecuencia en nuestro estudio, coincidiendo también con la bibliografía nacional e internacional.

Cryptosporidium parvum está ampliamente distribuido en la naturaleza, principalmente en el medio acuático. Es frecuente encontrarlo en ríos y lagos, sobre todo si ha habido ganado por los alrededores. Una vez eliminados por las heces, los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* tienen una supervivencia de 18 meses en condiciones húmedas y frías, durante las cuales pueden permanecer viables.

Las infecciones en humanos son casi exclusivamente causadas por *Cryptosporidium parvum*, frecuentemente encontrado en vacuno y ovino, causando la infección en muchas otras especies de mamíferos^{10,11}.

La mayoría de los brotes de *Cryptosporidium parvum* ocurrieron por consumo de agua de bebida o por exposición a los ooquistes en aguas de piscina, ríos, parques acuáticos, lagos recreativos u otras actividades acuáticas. El mayor brote reportado fue en 1993 en Milwaukee (USA), cuando se contaminó la red municipal de abastecimiento de agua. En este brote enfermaron más de 400.000 personas y fallecieron 100. En Julio-Agosto de 1998, en Sydney (Australia) también se contaminó la red municipal de abastecimiento de agua y, aunque no se reportó ningún caso de la enfermedad, se emitió una recomendación de hervir el agua, por lo menos un minuto, antes de utilizarla para consumo.

Los procesos típicos de desinfección de agua no matan al *Cryptosporidium* spp., y para eliminarlo es necesario recurrir a procesos de filtración.

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

En nuestra ciudad, en el año 2002 y 2003, investigaciones realizadas por los mismos autores de este trabajo, reportaron la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en agua de red, piscinas, arroyo Napostá y canal Maldonado¹.

Por último, haremos mención a la presencia de larvas del Fylum *Nematoda* halladas en este estudio.

La importancia de estas larvas, están ligada a las geohelmintosis que pudieran presentarse en pacientes, ya sea por la ingestión de huevos procedentes del suelo contaminado o por penetración a través de la piel de las larvas que están en el suelo.

Las parasitosis provocadas por geohelminthos son endémicas en los países en desarrollo y constituyen un indicador de las condiciones sanitarias y ecológicas del entorno de sus hospederos¹². Los conglomerados urbanos con deficiente saneamiento ambiental y las características del ciclo de vida de estos parásitos intestinales determinan que las poblaciones más pobres sean las más vulnerables¹². Más de mil millones de personas en el mundo están infestadas por al menos una especie de geohelmintho — entre las que se encuentran *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis* y miembros de la familia *Ancylostomidae*. En Argentina, en áreas húmedas y cálidas del norte (Salta, Formosa, Misiones, Chaco, entre otras) las geohelmintosis son un problema de Salud Pública importante y aún no resuelto resolución.

Como se mencionó inicialmente, también las mascotas, principalmente los perros, desempeñan un papel importante en la transmisión de geohelminthos de importancia zoonótica. Estudios realizados en muestras de suelo han detectado parásitos capaces de infestar a humanos^{13,14}. Se ha demostrado que los huevos de *Toxocara canis* pueden infestar a un hospedador susceptible después de estar en el suelo un largo tiempo en condiciones extremas de temperatura. La detección de huevos de geohelminthos en las heces de perros también ha sido reportada en nuestra ciudad¹⁵.

Indistintamente de la forma evolutiva hallada en este trabajo, las larvas del Filum *Nematoda* y del Orden *Rhabditida*, los huevos de las Familias *Toxocaridae*, *Trichostrongylidae* y *Ancylostomatidea* conforman un espectro amplio y representativo del grupo de geohelminthos de importancia en Salud Humana.

Conclusiones

Los resultados de este trabajo y el conocimiento acumulado a partir de otros estudios realizados en nuestra ciudad y en diferentes partes de Argentina permiten concluir que existe una marcada presencia y distribución de los parásitos de importancia sanitaria.

Por su parte, la frecuencia de algunos de ellos, depende principalmente de factores socioambientales y económicos, como el hacinamiento, la alimentación, las condiciones de la vivienda, la higiene y el método de disposición de excretas utilizado.

[Escriba aquí]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Dpto. Biología Bioquímica y Farmacia

En estudios sobre pacientes realizados por los mismos autores del presente trabajo, se determinó un alto número de casos con infestación zoonóticas observadas en la misma zona de trabajo, razón que plantea la necesidad de profundizar estudios epidemiológicos que integren los diversos aspectos de este complejo problema a fin de implementar acciones y programas sanitarios eficaces.

Se requieren mejores controles sanitarios y la promoción de prácticas adecuadas para la disposición de las excretas humanas y animales. Paralelamente se deben desarrollar planes de educación y fomentar el concepto de responsabilidad individual, colectiva y sanitaria en materia ambiental.

Asimismo, los profesionales de la salud que desarrollan sus actividades en las áreas bajo estudio, deberán considerar la posibilidad de aparición de enfermedades asociadas a las formas parasitarias detectadas.



Referencia bibliográfica

1. COSTAMAGNA S.R., VISCIARELLI E., LUCCHI L. y BASUALDO J. Parásitos en aguas del arroyo Napostá, aguas de recreación y de consumo en la ciudad de Bahía Blanca (Provincia de Buenos Aires, Argentina). *Parasitol Latinoam* 60: 122 - 126, 2005.
2. MADORE MS, ROSE J B, GERBA CH et al. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and selected surface waters. *J Parasit* 1987; 73: 702-5.
3. TORNO CAFASSO O, VISCIARELLI E, COSTAMAGNA S R, et al. Estudio de la contaminación parasitaria de verduras, en huertas de la zona suburbana de Bahía Blanca (Prov. Buenos Aires, Argentina). Iras Jornadas Municipales sobre Medio Ambiente. Bahía Blanca, 7 al 9 de agosto de 1991.
4. BELTRÁN DE ESTRADA MARÍA Y UYEMA T. NORMA. Amebas de vida libre en muestras de agua de piscinas del departamento de Lima. *Rev Med Exp*. Vol. 14 • Nº 1 • 1997.
5. VÍCTOR MUÑOZ, HERNÁN REYES, PAOLA TOCHE, CARLOS CÁRCAMO y BEATRIZ GOTTLIEB. Aislamiento de amebas de vida libre en piscinas públicas de Santiago de Chile. *Parasitol Latinoam* 58: 106 - 111, 2003 FLAP.
6. MARÍA LAURA GERTISER, ELENA VISCIARELLI, NORMA BASABE, MARÍA JOSÉ PEREZ, SIXTO RAÚL COSTAMAGNA. *Acanthamoeba* spp. en piscinas cubiertas de la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Acta Bioquím Clín Latinoam* vol.44 no.4 La Plata oct./dic. 2010
7. MARCIANO-CABRAL F, CABRAL G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev*. 2003; 16(2): 273-307.
8. ODDÓ D. Infecciones por amebas de vida libre. Comentarios históricos, taxonomía y nomenclatura, protozoología y cuadros anátomo-clínicos. *Rev Chil Infectol*. 2006; 23(3): 200-14.
9. SCHUSTER FL, VISVESVARA GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of human and animals. *Int J Parasitol*. 2004; 34(9): 1001-27
10. KHAN O.A. A Review of Cryptosporidiosis. Carlo Denegri Foundation - *Atlas on Medical Parasitology*.
11. DAWSON D. (2003) Foodborne Protozoan Parasites. ILSI-International Life Sciences Institute. Report prepared under the responsibility of the ILSI Europe Emerging Pathogen Task Force.
12. NAVONE GT, GAMBOA MI, OYHENART EE, ORDEN AB. Parasitosis Intestinales en poblaciones Mbya-Guaraní de la provincia de Misiones. Aspectos epidemiológicos y nutricionales. *Cad Saude Publica*. 2006; 22:109-18.
13. ALONSO JM, STEIN M, CHAMORRO MC, BOJANICH MV. Contamination of soil with eggs of *Toxocara* in a subtropical city in Argentina. *J Helminthol*. 2001;75:165-8
14. MILANO A, OSCHEROV E. Contaminación de aceras con enteroparásitos caninos en Corrientes Argentina. *Parasitol Latinoam*. 2005;60:82-5
15. BAILLIE, E.; ARGANIN, I.; COSTAMAGNA, S. R. Contaminación de la vía pública con parásitos de importancia zoonótica, en un sector de Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Asociación Médica de Bahía Blanca*, Vol 17, Nº 2, Abril-Junio 2007.