

Transmisión hídrica de giardiasis en áreas endémicas de parasitosis intestinales. *

Abramovich, Beatriz; Carrera, Elena; Lurá, María C.; Haye, Miguel A.; Zamar, Lilian; Gilli, María I.; Bot, Beatriz

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe - Argentina C.C. 530

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue establecer el papel del agua en la transmisión de parásitos intestinales, a la población que los consume.

El agua fue analizada desde el punto de vista fisicoquímico, bacteriológico y parasitológico. En el agua que abastece al Grupo de población (A), la que es de origen subterráneo y que recibe cloro como único tratamiento, se hallaron quistes de *Giardia lamblia*. Otro de los Grupos estudiados (Grupo control C) es servido por agua de origen superficial con tratamiento completo de potabilización. Efectuado los análisis, no se detectaron protozoos.

Para establecer la implicancia epidemiológica de este hallazgo, se realizaron exámenes coproparasitológicos a niños que residen en ambas zonas.

Realizado el test de hipótesis correspondiente existen diferencias significativas entre ambos grupos de población, con una proporción de giardiasis en el Grupo A francamente superior, coincidente con la presencia de este parásito en el agua que consume.

SUMMARY: The objective of this works was to investigate the role of water in the transmission of intestinal parasites among the population drinking it.

The quality of the water was analyzed from the physicochemical bacteriological and parasitological point of view.

One of the studied groups (Group A) drank groundwater supplied by a community tank and only chlorinated before its distribution. *Giardia lamblia* cysts were found in this water.

Another of the studied group (Group control C) drank water which underwent a complete treatment of potabilization. Parasites were not found in this water.

Coproparasitological examinations were made on children living in the studied areas to establish the epidemiological implication of this finding.

The corresponding hypothesis was used and it established that there were significant differences between both groups, with a higher proportion of giardiasis in Group A, in coincidence with the presence of the parasites in the water the people of the group drink.

Introducción

La diarrea del niño pequeño constituye una causa muy frecuente de internación y consulta en nuestros hospitales.

El agua, ya sea por la cantidad disponible o por su calidad, es un factor importante a tener en cuenta, ya que si la cantidad no es suficiente no se cumplirían las normas mínimas de higiene (1), mientras que si su calidad no es la adecuada, puede servir de medio de transmisión de bacterias, virus o parásitos.

En los países en desarrollo las enfermedades diarreicas debidas al agua contaminada causan cada año unos 900 millones de casos patológicos y provocan la muerte de unos 2 millones de niños (2).

Los tratamientos de potabilización de agua, han sido orientados a evitar enfermedades bacteria-

nas (3). Esto ha traído como consecuencia un predominio en los últimos años de enfermedades de origen hídrico debidas a virus y parásitos (4), siendo estos últimos especialmente resistentes a los factores ambientales y a la desinfección (5-12).

A nivel mundial la *Giardia lamblia* es el agente etiológico identificado con mayor frecuencia en brotes epidémicos de origen hídrico, siguiéndole en importancia el *Cryptosporidium parvum* (13). La mayoría de estos cuadros fueron asociados a agua superficial sometida a tratamiento parcial (cloración) o convencional completo (coagulación química, sedimentación, filtración rápida y desinfección por cloro) pero con inconvenientes en el proceso (14-21).

La transmisión hídrica de la *Giardia lamblia* se ve favorecida por:

—elevada excreción de quistes por persona infectada (10^9 quistes /g de heces) (22, 23). Teniendo en cuenta este dato, se calcula que los efluentes cloacales crudos pueden tener una densidad comprendida entre 9.600 a 240.000 quistes/litro si la

(*) Este trabajo forma parte del proyecto subsidiado por la U.N.L. (CAI + D 93-94)

población infectada fuera, respectivamente, el 1 al 25 % (24);

—bajo inóculo infectante: Se ha comprobado que bastan sólo 10 quistes ingeridos en cápsulas para infectar al hombre (25) y es posible que, incluso una menor cantidad de quistes, presentes en el agua de bebida, puedan resultar suficientes para iniciar la infección (26);

—alta capacidad de sobrevivir en agua, especialmente a bajas temperaturas (27). Se ha hallado que los quistes de *Giardia* pueden permanecer viables hasta 2 meses, dependiendo de la temperatura y tipo de muestra de agua (28);

—inusual resistencia a la acción de agentes germicidas. La cloración, en las dosis y tiempos de contacto usados habitualmente en los procesos de tratamiento de aguas, no es eficaz para eliminar los quistes de *Giardia lamblia* (29). Mientras que para lograr niveles de inactivación de *Escherichia coli*, se requiere un valor de $C.t = 0,014$ (C: concentración de cloro multiplicado por el tiempo de contacto) para los quistes de *Giardia* este valor se acerca a 15, a 25 °C (30).

Debe considerarse, además, que los reservorios de la infección por *Giardia* incluyen seres humanos y animales (31). Varios de éstos, tales como gatos, perros, ovejas, cerdos, cabras, y bovinos constituyen riesgos potenciales de transmisión de la giardiasis, ya que las aguas de escurrimiento contaminadas con sus desechos pueden aportar quistes a las fuentes de agua.

En nuestro país las parasitosis constituyen una afección endémica con elevados índices de prevalencia. Según los datos presentados en las 3as., 4as., y 5as. Jornadas Nacionales de Enteroparasitosis durante los años 1987, 1988 y 1989 respectivamente y el taller sobre enteroparásitos que se desarrollara durante el transcurso del V Congreso Argentino de Microbiología, *Giardia lamblia* es el parásito intestinal de mayor prevalencia (32).

El hecho que la dosis infecciosa es pequeña, sugiere que no es necesario consumir grandes cantidades de agua para contraer la enfermedad.

Pueden presentarse casos esporádicos de infección, en diversos momentos, a lo largo de la red de distribución, sin que nunca se los reconozca como brote. Se requieren estudios epidemiológicos para determinar si la enfermedad endémica se asocia con una ligera contaminación del agua potable (27), ya que hasta la fecha se carece de suficiente información sobre el tema.

Un elevado porcentaje de la población en

nuestro país utiliza agua subterránea como fuente de agua potable, la que solamente es sometida a cloración a la salida de un tanque comunitario, previo a su distribución.

Conociendo la limitación de esta desinfección para la destrucción de los quistes de parásitos, y teniendo en cuenta las otras consideraciones señaladas anteriormente, nuestro objetivo fue estudiar el papel de este tipo de agua de consumo, en la transmisión de parásitos intestinales.

Materiales y Métodos

1) Estudio del agua de consumo

Se delimitaron zonas en la provincia de Santa Fe, que utilizan un sistema de provisión de agua, obtenida de fuentes subterráneas, almacenada en tanques comunitarios donde sólo es tratada con cloro, previo a su distribución.

Se estudió la calidad del agua, tanto de las perforaciones como de los tanques comunitarios mediante la determinación de los siguientes parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos:

Análisis fisicoquímico: pH, Conductividad, Sólidos disueltos totales, Alcalinidad, Dureza, Cloruros, Sulfatos, Amoníaco, Nitritos, Nitratos.

Análisis microbiológicos: Recuento de heterótrofos en placa, Bacterias coliformes, Coliformes termorresistentes.

La toma y conservación de las muestras y las determinaciones analíticas se efectuaron de acuerdo a las técnicas normalizadas de "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters" (26).

El estudio parasitológico se llevó a cabo, mediante una adaptación, realizada por nuestro equipo de trabajo, de la técnica propuesta por Standard Methods (33,34). Esta metodología utilizada permite detectar bajas concentraciones de quistes en grandes volúmenes de agua.

Se filtraron alrededor de 4000 litros de agua, a través de filtros de hilo de polipropileno tejido CUNO Microwynd D-PPPY de 1 micrómetro de porosidad nominal, transportándose luego los cartuchos en forma refrigerada al laboratorio. Cada uno de los filtros fue desmenuzado, lavándose cada porción obtenida con solución de Tween 80 al 0,2%. El líquido de lavado (aproximadamente 2 litros) fue concentrado en sedimentos por centrifugación (10 minutos a 3000 r.p.m.), los que fueron clarificados utilizando técnicas de flotación (con solución de

Sheather). La búsqueda de parásitos se realizó mediante exámenes microscópicos en fresco, con lugol y con coloraciones diferenciales (Ziehl Nielsen y Kinyoun).

2) Investigación epidemiológica de la población:

Dado que se supuso la incidencia de la calidad del agua de bebida en la transmisión de las parasitosis intestinales, se diseñó el trabajo como comparación de dos cohortes (35).

El estudio de cohortes tiene como ventajas:

- * que pueden pautarse con exactitud las características de la población a estudiar y

- * que difieren únicamente en la exposición a un determinado factor, que en este caso, es el tipo de agua de bebida (36).

La cohorte denominada Grupo A, es provista por agua de fuente subterránea; la cohorte denominada Grupo C (control), es servida por agua de origen superficial sometida a tratamiento convencional de potabilización (coagulación, sedimentación, filtración y cloración). En ambas la distribución se realiza por red domiciliaria.

El trabajo con un enfoque epidemiológico, consistió en realizar análisis coparásitológicos en la muestra de la población seleccionada para analizar su grado y tipo de infestación y realizar la comparación posterior entre los grupos y en la respuesta a una encuesta indagatoria complementaria. Fue planificado teniendo en cuenta sobre todo la simplicidad para no realizar suposiciones accesorias que pueden influir en su precisión (37).

Para evitar la presencia de variables extrañas que pudieran sesgar los resultados del estudio, se decidió caracterizar con precisión la población que sería sometida al análisis.

Características de la población: Definidas como de clase media, debían compartir similares condiciones socioeconómicas, culturales y de saneamiento ambiental tales como: vivienda en un lugar determinado, sin movilidad muy grande en el sentido de inmigración y emigración, casa de material, con baño instalado, sin pisos de tierra en el interior de la vivienda, con red domiciliaria de agua, sin posesión de animales de granja. Ambos grupos debían poseer similar proporción de conexiones a red cloacal (inferior al 5 %).

Dentro de esta población se trabajó con niños cuya edad oscilara entre cuatro meses y los doce años, ya que en esta edad los seres humanos presentan un alto riesgo de contraer enfermedades,

debido a la inmadurez inmunológica y escasos hábitos higiénicos (38).

Elección de las muestras: Una vez determinado con exactitud el extracto homogéneo sobre el cual se trabajaría, de acuerdo a las condiciones pautadas, se procedió a seleccionar aleatoriamente las manzanas de las que se seleccionarían los niños a estudiar, siguiendo las normas de muestreo aleatorio simple y estableciendo como condición que no hubieran padecido cuadros de diarrea aguda en el último mes, ni recibido antiparasitarios en los últimos 90 días. Sólo debía seleccionarse un niño por vivienda (siempre que fuera su vivienda habitual) y, preferentemente aquel cuya edad estuviera más cercana a los 5 años.

Se decidió trabajar sobre un número de 40 niños por grupo. Este número fue aumentado a 50 en el Grupo A dado la elevada cifra de niños parasitados hallados. Al recolectar las muestras de materia fecal, el número efectivamente procesado en cada grupo fue: A (n=45); C (n= 34), pues el resto no fue remitido en condiciones aptas para su estudio.

Las encuestas domiciliarias debían ser contestadas por los padres o tutores del niño. Las encuestas y normas para la recolección de materia fecal, eran explicadas por profesionales bioquímicos participantes del proyecto.

Estudio estadístico: Se realizó estadística descriptiva, calculando media y desvío estándar de las proporciones estimadas en todos los casos. Además se utilizó el test de X^2 para la comparación de proporciones y determinar si las diferencias eran o no significativas, calculando siempre el P exacto asociado. El nivel de significancia seleccionado fue del 95%, se calculó la incidencia del tipo de agua consumida en el número de parasitados con quistes de *Giardia lamblia* hallados en cada grupo y el Riesgo Relativo (RR) de la calidad de agua de consumo en la población de parasitados. Se expresó este último también mediante un intervalo de confianza (39). Todos los cálculos estadísticos se realizaron en el Software SPSS (40).

Las encuestas epidemiológicas fueron procesadas de la misma manera.

Resultados y Discusión

Estudio del agua de consumo

Al realizarse la búsqueda de parásitos, se hallaron quistes de *Giardia lamblia* en el agua del

tanque de distribución del Grupo A y en una de las 14 perforaciones que lo abastecen.

Los resultados de los análisis fisicoquímicos y bacteriológicos de dichas muestras, así como los

resultados de los análisis del agua de red de distribución del Grupo control C, se detallan en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos del agua de consumo de los grupos de población

PARAMETROS	GRUPO DE POBLACION		
	A (perforación)	A (bajada de tanque)	C (red de distribución)
pH	7,0	7,2	7,6
Conductividad (umho/cm)	1450	1350	270
Sólidos totales (mg/l)	1000	960	200
Alcalinidad (mg/l)	380	350	16
Dureza (mg/l)	400	385	72
Cloruros (mg/l)	150	115	30
Sulfatos (mg/l)	130	110	45
Amoníaco (NH ₄ ⁺)(mg/l)	0,35	0,10	<0,1
Nitritos (NO ₂ ⁻)(mg/l)	0,10	0,05	<0,01
Nitratos (NO ₃ ⁻)(mg/l)	3,0	4,5	<3,0

Tabla 2. Análisis microbiológico del agua de consumo de los grupos de población

Análisis microbiológico	GRUPO DE POBLACION		
	A (perforación)	A (bajada de tanque)	C (red de distribución)
Rec. heterótrofos en placa (U.F.C./ml)	280	<10	<10
Bacterias coliformes (NMP/100ml)	240	<2,2	<2,2
Colif. termorresistentes (NMP/100ml)	2,2	<2,2	<2,2

De su observación surge que indicadores químicos de contaminación orgánica, como el ion amonio, se hallan por encima de los valores acep-

tados, tanto en el agua de la perforación como en el tanque del Grupo A.

En lo que se refiere a los parámetros bacterio-

lógicos, los resultados hallados en el agua de perforación del Grupo A revelan la presencia de coliformes termorresistentes, mientras que el agua del tanque de dicho Grupo así como el de red de distribución del Grupo C, no presentan alteración alguna. Esto corrobora lo informado por otros investigadores (41, 42) respecto que las bacterias coliformes son predictores inadecuados de la contaminación por protozoarios, sobre todo en aguas sometidas a tratamiento de desinfección.

De modo que adquiere relevancia implementar el denominado concepto de barrera múltiple: protección de las fuentes de agua subterránea, ampliación de las redes cloacales, eliminación de

perforaciones que evidencien o estén expuestas a contaminación fecal, o en su defecto someterlas a filtración y posterior cloración (43).

Análisis estadístico del estudio epidemiológico

La proporción de parasitados, así como la de infectados por *Giardia lamblia* es notablemente mayor en el Grupo A, ya que 31 muestras (69 %) resultaron positivas y de ellas 27 (60 %) evidenciaron la presencia de este parásito (Tabla 3). Mientras que en el Grupo C el porcentaje de parasitados fue 13%, correspondiendo el total de los parásitos hallados a *Giardia lamblia*.

Tabla 3. Medidas descriptivas e intervalos de confianza para la proporción de parasitados y de infectados por *Giardia lamblia*

Grupos de población	Parasitados $\hat{p} \pm SD$	Giardiasis $\hat{p} \pm SD$	Intervalos de confianza ($\alpha = 0,05$) Parasitados <i>Giardia lamblia</i>	
Grupo A (n=45)	0,69 \pm 0,13	0,60 \pm 0,14	(0,4352; 0,9448)	(0,3256; 0,8744)
Grupo C (n=34)	0,13 \pm 0,06	0,13 \pm 0,06	(0,0124; 0,2476)	(0,0124; 0,2476)

Se puede concluir con una confianza del 95 % que la proporción de parasitados en ambos grupos es:

$0,4352 < p < 0,9448$ en el Grupo A; y $0,0124 < p < 0,2476$ en el C.

La proporción de giardiasis en ambos grupos fue comparada con un test de X^2 , resultando que ambas proporciones resultan significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$, $p = 0,00008$).

Calculando el riesgo relativo de consumir agua con cloración como único tratamiento, en el aumento de parasitosis, éste resultó $R = 4,50581$, con un intervalo de confianza del 95 % de $1,74417 < R < 11,64011$; o sea que es de dos a once veces mayor que los que consumen agua con tratamiento convencional completo de potabilización.

Calculando el odds ratio como medida de asociación entre el consumo de agua que sólo es clorada y la presencia de parásitos, resultó $w = 9,375$ o sea la chance de presentar infección por protozoos es mayor que 9 en el Grupo A que en el C.

La diferencia entre $w = 9,375$ y el $R =$

$4,50581$ nos indica que la influencia del tipo de agua es muy fuerte (44).

Conclusiones

Si bien la viabilidad de los quistes de *Giardia lamblia* detectados no se pudo determinar por los métodos disponibles, la presencia de los mismos en el agua de bebida junto a la evidencia epidemiológica en la población, sería suficiente prueba para considerar al agua subterránea como una vía de transmisión de estos parásitos.

De acuerdo al cálculo de Riesgo Relativo, los niños que consumen agua de origen subterráneo con cloración como único tratamiento tienen más de 4 veces de posibilidades de padecer infestaciones por parásitos, que aquéllos que consumen agua de origen superficial con tratamiento completo de potabilización.

La contaminación del acuífero es provocada por filtración de efluentes provenientes de los pozos negros, a través de barreras inadecuadas de suelo.

El tratamiento de cloración a la salida del tanque de distribución, elimina las bacterias indicadoras de contaminación, pero no es suficiente para destruir los quistes de parásitos.

Frente al desafío que representan estos organismos resistentes a los tratamientos habituales del agua, es necesario aplicar las medidas idóneas para reducir a niveles mínimos los riesgos de su transmisión.

Bibliografía

- 1- World Health Organization. 1985. "Amoebiasis and its control". A WHO Meeting Bulletin of the WHO, **63** (3): 417-426.
- 2- Banco Mundial: Desarrollo y Medio Ambiente. Informe Anual 1996.
- 3- Barer, M.R., Wright, A.E. 1990. *Cryptosporidium* and Water. Letters in Appl Microbiol. **11**: 271-277.
- 4- Universidad Nacional de Buenos Aires- Universidad de Arizona (E.U.). 1993. Avances en la detección de virus y parásitos en aguas y líquidos residuales. Curso Internacional.
- 5- West, P.A. 1991. Human pathogenic viruses and parasites: emerging pathogens in the water cycle. J. of Appl. Bacteriol. Symposium Supplement, **70**: 107-114.
- 6- Ongerth, J.E. 1989 *Giardia* cyst contrations in River water. J. Am. Water Works Assoc., **9**: 81-85.
- 7- Robertson, L.J., Campbell, A.T., Smith, H.V. 1992. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures Appl. and Environ. Microbiol. **58** (11): 3494-3500.
- 8- Current, W.L., Garcia, L.S. 1991. Cryptosporidiosis. Clinical Microb. Rev. **4** (3): 325-8.
- 9- Jarrol, E.L., Bingham, A.K., Meyer, E.A., 1981 Effects of chlorine on *Giardia lamblia* cyst viability. Appl. Environ. Microbiol. **41** (2): 483-487.
- 10- Le Chevallier, M.W., Norton, W.D., Lee, R.G. 1991. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in surface water supplies. Appl. and Environ. Microbiol. **57** (9): 2610-2616.
- 11- Korich, D.G., Mead, J.R., Madore, M.S., Sinclair, N.A., Sterling, C.R. 1990. Effect of ozone, chlorine dioxide, chlorine and monochloroamine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. Appl. and Environ. Microbiol., Vol **56** (5): 1423-28.
- 12- Le Chevallier, M.W., Norton, W.D., Lee, R.G. 1991. *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in filtered drinking water supplies. Appl. and Environ. Microbiol. Vol. **57** (9): 2617-2621.
- 13- Moore, A.C., Herwaldt, B., Craun, G.F., Calderón, R., Highsmith, A.K., Juraneck, D., 1994. Waterborne disease in the United States, 1991-1992. J. Am. Water Works. Assoc. **84** (2): 87-99.
- 14- Kirner, J.C., Littler, J.D., Angelo, L.A. 1978. A waterborne outbreak of giardiasis in Camas, Wash. J. Am. Water Works Assoc. **70** (1): 35-40.
- 15- Lippy, E. 1978. Tracing a giardiasis outbreak at Berlin, N. Hamp. J. Amer. Water Works Assoc. **70** (9): 512-519.
- 16- Shaw, P. 1977. A community wide outbreak of giardiasis with evidence of transmission by a municipal water supply. Annals of Int. Medicine. **87**: 426-432.
- 17- Joseph, C., Hamilton, G., O'Connor, S., Nicholas, S., Marshall, R. 1991. Cryptosporidiosis in the Isle of Thanet, an outbreak associated with local drinking water. Epidemiol. Infect. **107**: 509-519.
- 18- Akin, E.W., Jaubowski, W. 1986. Drinking water transmission of giardiasis in the United State. Wat. Sci. Tech. **18** . Nº 10: 219-226.
- 19- Atherton, F., Newman, C.P.C., Casemore, D.P. 1995. An outbreak of waterborne cryptosporidiosis associated with public water supply in the U.K. Epidemiol. Infect. **115**: 123-131.
- 20- Craun, G.F. 1992. Waterborne disease outbreaks in the United States of America: Causes and prevention. Worth Health Statistics Quarterly. **45**: 192.
- 21- Mac Kenzie, W.R., Hoxie, N.J., Proctor, M.E. 1994. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. N. Engl. J. Med. **331**: 161-167.
- 22- Meyer, E.A. 1990. "Giardiasis". Elsevier Ed. (Amsterdam) I, 368.
- 23- Dancinger, M., López, M. 1975. Number of *Giardia* in the feces on infected children. Am. J. Trop. Med. Hyg. **24**: 237.
- 24- Jacobowski, W. 1984. "Giardia and giardiasis". S.L. Erlandsen and E.A. Meyer (Eds). Plenum Press (New York). 263-286.
- 25- Rendtorff, R.C. 1979. "Waterborne transmission of giardiasis". USEPA. EPA. 600/9-79-001. p. 64-81.
- 26- APHA-AWWA-WPCF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18 th. Ed. (Washington). 1992.
- 27- O.P.S. Simposio Regional sobre calidad de agua. Buenos Aires. 1994.
- 28- Bingham, A.K., Jarrol, E.L., Meyer, E.A., Radulescu, S. 1979. *Giardia* spp. Physical factors of excystation in vitro and excystation vs. exclusion as determinants of viability. Exp. Parasitology. **47**: 284-291.
- 29- Jarrol, E.L., Bingham, A.K., Meyer, E.A. 1981. Effect of chlorine on *Giardia lamblia* cyst viability. Appl. Environ. Microbiol., **41**: 483-487.
- 30- Sterling, C.R. 1990 "Cryptosporidiosis of man and animals". CRC Press Inc. (Boca Ratón). p. 51.
- 31- Levine, N.D. 1985. "Veterinary Protozoology". Iowa State University Press (I.A.). p. 97.
- 32- Basualdo, J.A., Paulin, P. 1995. Informe preliminar del grupo de trabajo sobre Epidemiología de las enteroparasitosis en Argentina. Congreso Arg. de Microbiología. Buenos Aires.
- 33- Abramovich, B.L., Vigil, J.B., Lurá, M.C., Haye, M.A. 1994. "Estudio microbiológico de aguas de bebida". La Alimentación Latinoamericana. **203**: 78-82.
- 34- Abramovich, B.L., Lurá, M.C., Haye, M.A., Argañar, F., Nepote, M. 1996. "Detección de *Cryptosporidium* spp. en aguas de consumo de origen subterráneo". Revista Argentina de Microbiología. **28**: 73-76.

- 35- Guerrero, R., González, C.L., Medina, E., 1986. "Epidemiología". E. Addison- Wesley Iberoamericana, S.A.: 65-66.
- 36- Sackett, D., Haynes, B., Guyatt, G., Tugwell, P. 1994. "Epidemiología Clínica". Ed. Panamericana (2a. Ed). 188-190.
- 37- Cox, D.R. 1958. "Planning of experiments". Wiley International Edition: 5-13.
- 38- Roach, P.D., Olson, M.E., Whitley, G., Wallis, P.M. 1993. Waterborne *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in the Yukon, Canadá. Appl. and Environ. Microbiol., 59. Nº1: 67-73.
- 39- Hogue, C., Rubin, G., Schul, K. 1991 "An introduction to epidemiological methods". In Krelly M. Reproductive and perinatal epidemiology. CRS Press Inc. (Boston): 3.
- 40- SPSS. Versión 6.0 for Windows. Licencia 3102899.
- 41- Rose, J.B. Darbin, H., Gerba, C.P. 1988. Correlations of the protozoa *Cryptosporidium* and *Giardia* with water quality variables in a watershed. Proceedings Intl. Conf. Water and wastewater Microbiol., Calif. Feb. 8-11.
- 42- Rose, J.B., Gerba, Ch., Jacobowski, W. 1991. Survey of potable water supplies for *Cryptosporidium* and *Giardia*. Environ. Sci. Tech. 25: 1393-1400.
- 43- OMS. 1995. "Guías para la calidad del agua potable" (Ginebra). Vol. 1.
- 44- Fleiss, J.L. 1981. "Statistical Methods for Rates and Proportions". John Wiley & Sons. 75.38.