

## Artículo científico

## ¿Cumplir con la legislación nos garantiza consumir agua segura?

M.M. Juárez<sup>a,b,c</sup>, H.R. Poma<sup>a</sup> y V.B. Rajal<sup>a,b,\*</sup><sup>a</sup> Instituto de Investigaciones para la Industria Química, CONICET, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina<sup>c</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

## Historia del artículo:

Recibido el 9 de junio de 2015

Aceptado el 18 de octubre de 2015

On-line el 1 de diciembre de 2015

## Palabras clave:

Agua para consumo humano

Calidad de agua

Parásitos en aguas

## RESUMEN

La legislación vigente para el control microbiológico del agua de consumo en nuestro país, y en muchos otros, no contempla la búsqueda de parásitos ni de virus patógenos para el hombre. Si bien los métodos de potabilización vigentes para la supresión de bacterias del agua logran eliminar la gran mayoría de las formas parasitarias; algunos elementos de resistencia de estos organismos no se afectan por los tratamientos de cloración. Otro tipo de riesgo lo constituye el agua proveniente de pozos poco profundos de zonas rurales, los que son muy susceptibles de contaminarse.

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar los elementos parasitarios y los virus presentes en agua de consumo humano de la provincia de Salta. Para ello se colectaron muestras de 60 l de 6 puntos localizados en la provincia, considerando 2 fuentes muy usadas para la obtención de este recurso: red domiciliar y pozo poco profundo. Las muestras se colectaron tanto en época seca como húmeda. Se utilizaron técnicas de ultrafiltración para la concentración de patógenos, microscopía óptica con cámara de Neubauer para la cuantificación de los elementos parasitarios y PCR en tiempo real para la detección de organismos virales.

En aguas de pozo y de red se hallaron variedad de géneros de protozoarios. Solo en aguas de pozo se encontraron helmintos y, en una de ellas, adenovirus. Los resultados demostraron la poca relación existente entre la presencia de indicadores bacterianos (establecidos por legislación) y la de patógenos como parásitos o virus. Numerosas muestras que cumplen con la normativa vigente (por lo cual el agua se consideraría apta para consumo humano) presentaron parásitos o virus patógenos, evidenciando la necesidad imperiosa de actualizar la legislación vigente, incluyendo indicadores parasitarios que permitan certificar la seguridad del agua de consumo, disminuyendo así los riesgos de enfermedades de hidrotransmisión.

© 2015 IAHR y WCCE. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Does complying with the legislation guarantee us consuming safe water?

## ABSTRACT

Current legislation on microbiological control of water for human consumption in our country, and in many others, does not include the search of human-pathogenic parasites or viruses. Even though water purification methods used for the removal of bacteria from water do also remove the great majority of parasitic forms, some of their resistance elements are not affected by chlorination treatments. Ground-water obtained from shallow wells in semi-rural areas may also constitute a risk since they are very susceptible to contamination.

The aim of this work was to quantify parasitic elements and viruses present in water for human consumption in the Province of Salta, in Argentina. For that, 60 L water samples were collected in six points located in the Province, including two sources of water: the distribution network and shallow wells. Samples were collected during dry and wet seasons. Ultrafiltration techniques were used to concentrate the water in pathogens. Optical microscopy using a Neubauer chamber for the quantification of parasite elements and real-time PCR for the quantitative detection of viruses were used.

## Keywords:

Water for human consumption

Water quality

Parasites in water

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [vbrajal@gmail.com](mailto:vbrajal@gmail.com) (V.B. Rajal).

We found a great variety of protozoa genera in both groundwater and in the distribution network. Only in groundwater samples we found helminths and in one of them also adenovirus. Results showed that there is little relation between the presence of bacterial indicators (established by legislation) and pathogens as parasites and viruses. Numerous water samples that are within the limits established by legislation (for which they would be considered acceptable as water for human consumption) had pathogenic parasites or viruses. This shows the urgent need to update the current legislation to include parasitic indicators that allow certifying that the water is safe for human consumption, therefore decreasing the risk of waterborne diseases.

© 2015 IAHR y WCCE. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## 1. Introducción

El agua es el principal vehículo de exposición humana a los peligros microbiológicos, participando como bebida, en las actividades recreativas, en el riego de alimentos o en la conformación de aerosoles. Tanto bacterias como virus y parásitos pueden encontrarse contaminando este recurso. En el caso de estos últimos, la transmisión de parasitosis puede perdurar con el tiempo debido a que la gran mayoría de ellos posee un estadio que le confiere resistencia a los factores ambientales por largos períodos. Esto, unido al hecho de que en general no se realizan controles regulares de parásitos en las aguas que se usan como fuente de bebida, y menos aún en las que se usan como riego o con fines recreativos, hace que el riesgo de contraer parasitosis por hidrottransmisión sea desconocido y, en el mejor de los casos, subestimado [1].

Es importante tener presente que los procesos de potabilización incluyen varias etapas físicas y químicas, siendo la desinfección el paso final, en donde el objetivo es oxidar la materia orgánica remanente y destruir los microorganismos presentes. En este paso, un problema particular que se presenta es que los niveles de cloración usados para destruir efectivamente otros microorganismos, fundamentalmente bacterias, no son efectivos en el caso de elementos parasitarios tales como los quistes de *Cryptosporidium* [2], género causante de brotes mundiales de diarrea de transmisión hídrica [3].

Las legislaciones vigentes en los distintos países plantean requerimientos particulares que deben cumplirse para el agua según su uso [4–7]. Las mayores exigencias en calidad física, química y microbiológica están previstas para el agua de consumo humano, con concentraciones máximas permitidas de distintos analitos y microorganismos, que deben cumplirse siguiendo en muchos casos metodología específica para los análisis [8]. La calidad microbiológica del agua se asegura, según la legislación, mediante la determinación de la presencia de microorganismos bacterianos indicadores [9]. Siguiendo las normativas internacionales, la legislación vigente en nuestro país establece (al igual que la legislación de la mayoría de los países de Iberoamérica), para el control de la contaminación microbiana de las aguas, el uso de indicadores estándares bacterianos durante la monitorización rutinaria. Aunque la presencia de alguna de estas bacterias indicadoras puede resultar ilustrativa de la calidad del agua, no se correlaciona con la presencia de otros microorganismos, como parásitos y virus, que pueden encontrarse en el agua y representan también un peligro para la salud [10–13]. Como consecuencia de esto, en los últimos años se ha incrementado la monitorización de virus y también de parásitos en agua, dado que estos son responsables de numerosas enfermedades de distinta gravedad, con particular interés en aquellos que emplean las rutas oral-fecal y respiratoria.

A pesar de extensas investigaciones, ningún parásito o virus ha sido identificado todavía como un indicador universal único; características ambientales específicas pueden promover la existencia de un indicador parasitario o viral en particular para cada sitio de estudio [14].

En el contexto planteado surge la necesidad de contar con una metodología de monitorización que permita identificar y cuantificar tanto parásitos como virus en muestras de agua, debido a que estos organismos no son bien representados por los indicadores bacterianos. No obstante, es asombrosa la variedad de géneros parasitarios [15] y de grupos virales que pueden encontrarse en este recurso, por lo que, con la finalidad de reducir los costos y las horas de trabajo, se han realizado estudios para establecer ciertos elementos parasitarios y virus entéricos humanos como indicadores de la contaminación en aguas recreativas [16,17].

Existen numerosos métodos de determinación de parásitos, entre los cuales la técnica *gold standard* es la microscopía óptica [18] que, si bien permite identificar los elementos, no aporta información sobre la capacidad infecciosa de los mismos. En el caso de los virus las posibilidades de búsqueda y cuantificación se basan principalmente en cultivos celulares o métodos moleculares [19], y en este último caso nuevamente se dificulta la interpretación de los resultados por cuanto no se puede afirmar sobre la infectividad. En este sentido es importante destacar el método ideal, que sería aquel que además de ser rápido, barato y específico, permitiera obtener resultados cuantitativos y que brinden información sobre la viabilidad o infectividad de los microorganismos, para que esos resultados puedan ser empleados en la evaluación cuantitativa del riesgo para la población expuesta.

El objetivo de este trabajo fue el estudio de la calidad de agua destinada a higiene y consumo en 2 poblaciones semirurales y una urbana de la provincia de Salta, ubicada en el noroeste argentino, para evaluar su cumplimiento con la normativa e interpretar su inocuidad real en el marco de la legislación vigente. Para ello se realizaron caracterizaciones fisicoquímicas y microbiológicas. En este último caso se identificaron y cuantificaron bacterias, hongos, parásitos y virus mediante métodos tradicionales de cultivo, microscopía óptica y métodos moleculares. Este estudio permitirá abordar posteriormente una nueva etapa conducente a estimar el riesgo o compromiso para la salud al que se encuentra expuesta la población comprendida en la zona de muestreo que utiliza este recurso para su vida cotidiana.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Descripción de la zona de estudio

Se seleccionaron puntos de monitorización ubicados en la ciudad de Salta y en 2 zonas semirurales próximas a ella (fig. 1). La ciudad de Salta es la capital de la provincia del mismo nombre, en el noroeste de la República Argentina. Cuenta con aproximadamente 536.000 habitantes [20] y se encuentra ubicada en el Valle de Lerma, rodeada de áreas suburbanas o semirurales, cada vez más pobladas, aunque con ciertas limitaciones en cuanto a los servicios básicos de suministro de agua y saneamiento.

Las áreas semirurales se caracterizan por el desarrollo de actividades agrícolas (cultivo de tabaco, hortalizas y maíz



**Figura 1.** Puntos de monitorización en la provincia de Salta, ubicada en el Noroeste argentino. A: Ubicación de las tres zonas estudiadas, Zona norte, Capital y Zona sur; B: ampliación de la Zona norte y Capital donde se localizan los puntos de monitorización; C: ampliación de la Zona sur donde se localizan los puntos de monitorización. PS1: pozo San Luis 1; PS2: pozo San Luis 2; PV: pozo Vaqueros; RC: red Capital, RS: red San Luis; RV: red Vaqueros.

principalmente), ganaderas (bovino, porcino, caprino) y la producción de numerosas granjas avícolas. En estas zonas el agua para consumo humano, no potabilizada ni analizada regularmente, se distribuye a partir de cisternas comunitarias o proviene de pozos poco profundos. Por otro lado, la disposición de excretas de las familias establecidas en la zona (casas privadas o asentamientos en terrenos fiscales) se realiza en cámaras sépticas y pozos ciegos. Otras muchas familias, en su mayoría inmigrantes que llegan en las temporadas de cosecha, no disponen de esas instalaciones, por lo que las deposiciones se realizan al aire libre y en las cercanías del lugar de trabajo [21]. La ausencia de redes cloacales y la deficiente disposición de excretas representa un alto riesgo para la contaminación de aguas.

En esas zonas semirurales no se realizan monitorizaciones sistemáticas en el agua de pozo, lo que impide la detección de posible

contaminación, por lo que el problema puede pasar inadvertido [22].

El clima en la zona de estudio es subtropical serrano, con estación seca, caracterizado por precipitaciones abundantes durante el verano (noviembre a marzo) y una estación seca marcada durante el otoño, invierno y primavera (abril a octubre).

## 2.2. Esquema de muestreo

Se establecieron 6 puntos de monitorización, 3 de ellos correspondientes a conexiones domiciliarias pertenecientes a la red pública de distribución de agua, uno en la ciudad de Salta Capital (RC) y 2 en zonas semirurales cercanas a la capital, ubicadas una en el municipio de Vaqueros (RV) y el otro en la localidad de San Luis (RS). Los restantes 3 puntos correspondieron a pozos poco

profundos ubicados en domicilios en donde no llega la red, o donde el servicio es limitado, 2 en la localidad de San Luis (El Encón) (PS1 y PS2) y uno en Vaqueros (PV). Se obtuvieron 6 muestras de cada uno de los puntos durante los años 2012 y 2013. Tres de esas muestras se recolectaron durante el trimestre del año en el que el sistema acuífero presenta menor volumen (agosto-octubre, estación seca [ES]) y las restantes se tomaron durante el trimestre que presenta mayores precipitaciones (diciembre-febrero, estación húmeda [EH]), ocasionando que el sistema acuífero, de donde se obtiene el agua para consumo, presente mayor volumen.

Se recolectaron por un lado 250 ml de agua en un recipiente estéril para el análisis bacteriológico y, por otro, 60 l en bidones de plástico de 20 l, limpios y previamente enjuagados con la misma agua a analizar, para su concentración y posterior detección de virus y parásitos.

### 2.3. Análisis fisicoquímico y bacteriológico

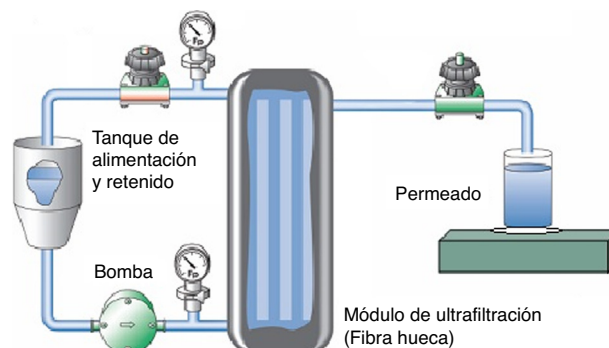
La caracterización fisicoquímica de las muestras de agua se realizó *in situ*. Se midieron: pH, conductividad (Cond), turbidez (Turb), oxígeno disuelto (OD) y temperatura (T) utilizando un analizador multiparamétrico U10 (HORIBA, Japón).

Para el análisis bacteriológico se tomaron muestras de agua de 250 ml, en botellas de plástico esterilizadas y tapadas a las que se agregó 0,25 ml de solución de tiosulfato de sodio 1,8% para evitar la actividad germicida de trazas de cloro que pudiese existir [8]. Las muestras se conservaron a 4 °C hasta su análisis en el laboratorio, antes de pasadas 6 h desde su obtención. Se determinó la concentración de las bacterias indicadoras de calidad microbiológica, según lo establece la legislación vigente [5]: coliformes totales (CT) y fecales (CF), empleando el método de tubos múltiples en caldo MacConkey e incubando a 37 ± 0,5 °C y 44 ± 0,5 °C, respectivamente, durante 24 h. La densidad bacteriana de la muestra se estimó en términos del Número más probable en 100 ml (NMP/100 ml). Adicionalmente, aplicando la técnica de filtración por membrana se determinaron: *Escherichia coli* (ECL) en agar mTEC modificado (Fluka, EE. UU.) a 44,5 °C durante 24 h [23], *Enterococcus* (EN) en agar mE (Difco, EE. UU.) a 41 °C por 48 h y confirmación en agar esculina-hierro (EIA) a 41 °C por 20 min [23], *Salmonella* spp. en agar *Salmonella-Shigella* (Britania) a 37 °C por 48 h y *Pseudomonas* spp. en *Pseudomonas* agar P (Britania) a 37 °C por 24 h. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias en 100 ml.

### 2.4. Concentración de las muestras

Las cantidades de parásitos y virus presentes en aguas son generalmente pequeñas, por lo tanto, y para alcanzar el límite de detección de los métodos de diagnóstico, se hace necesario realizar una etapa de concentración de las muestras en organismos patógenos. Con tal finalidad se empleó un sistema de ultrafiltración por fibra hueca (UF) (fig. 2) previamente validado [24,25].

Brevemente, se vierten los 60 l de agua en el tanque de alimentación del sistema. Por medio de una bomba peristáltica se impulsa el fluido a través del módulo de UF, que posee una superficie de filtración de 20.000 cm<sup>2</sup> y un peso molecular de corte de 10 kD, capaz de retener incluso a los virus más pequeños (Polyflux® Capillary Dialyzer 21L, Gambro®). La solución que atraviesa los poros de la membrana pasa a constituir el permeado o filtrado, mientras que lo rechazado, que se va concentrando en microorganismos, es recirculado al tanque de alimentación conformando el retenido. El proceso continúa hasta obtener el menor volumen posible de retenido. Posteriormente se incorpora una solución de elución con el objetivo de liberar aquellas partículas víricas o de parásitos adsorbidas a la membrana y en la línea. Entre el retenido y la solución de elución se alcanzó un volumen máximo de 50 ml, que fue medido para determinar el factor de concentración de



**Figura 2.** Representación esquemática del sistema de ultrafiltración para la concentración de virus y parásitos en aguas.

los organismos patógenos, que rondó entre las 1.500 y las 6.000 veces. El concentrado obtenido se conservó a 4 °C y se empleó posteriormente para la detección de virus y parásitos.

A todas las muestras de agua se les adicionó una cantidad conocida de un organismo viral modelo, el bacteriófago PP7 (fago de *Pseudomonas aeruginosa*), utilizado como control interno para determinar la eficiencia de recuperación del proceso de UF y evaluar cualquier posible situación de inhibición en las posteriores etapas de detección de virus [24].

Es importante mencionar que el volumen de muestra utilizado (60 l) para la concentración puede constituir el factor limitante para la detección de parásitos y virus, por cuanto condiciona el límite de detección de las metodologías utilizadas. Se podría disminuir el límite de detección, y aumentar por consiguiente la sensibilidad, utilizando volúmenes mayores de muestras de agua [26] o realizando concentraciones adicionales al concentrado obtenido por ultrafiltración [27].

### 2.5. Detección cuantitativa de virus entéricos

A partir de los concentrados obtenidos de la etapa anterior se realizó la detección y cuantificación de adenovirus, norovirus y enterovirus en las aguas estudiadas. Para esto se realizaron los siguientes pasos: a) extracción y purificación de los ácidos nucleicos con el kit PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen®), según el protocolo indicado por el fabricante. El empleo de este kit permite la copurificación del ADN y del ARN; b) retrotranscripción del extracto anterior para generar ADNc de los organismos virales que poseen genomas de ARN (enterovirus, norovirus y PP7), para lo que se empleó el kit SuperScript III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen®); c) amplificación y cuantificación mediante PCR en tiempo real (qPCR) empleando un equipo GenAmp 5700 Sequence Detection System (Applied Biosystems®). Los sistemas de cebadores y sondas Taqman® utilizados para detectar los diferentes grupos virales (adenovirus, enterovirus, norovirus genogrupo II y fago PP7) fueron descritos previamente [16].

### 2.6. Análisis parasitológicos

Como consecuencia de un inconveniente técnico pudieron solamente analizarse 30 de las 36 muestras obtenidas; las 6 muestras no analizadas corresponden a la estación húmeda (una de cada punto de monitorización). Para la búsqueda de elementos parasitarios se empleó el concentrado refrigerado remanente del análisis viral, y se realizó una concentración adicional. Para ello se lo sometió a sedimentación espontánea en tubo (SSTT), debido a que esta técnica presenta una alta eficacia para la detección de parásitos intestinales, incluyendo *Fasciola hepatica* y *Strongyloides stercoralis* [28].



**Tabla 1**

Estadística descriptiva de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos encontrados en las 18 muestras de agua para la estación seca (ES) y 18 para la estación húmeda (EH)

Parámetros	N		Media <sup>a</sup>		Rango <sup>a</sup>		Percentiles 25-75 <sup>a</sup>		Valor de p
	ES	EH	ES	EH	ES	EH	ES	EH	
T (°C)	18	18	19,10	21,1	15,30-22,20	18,00-25,00	17,60-20,00	19,80-22,00	<b>0,0027</b>
pH	18	18	6,94	7,45	6,15-8,10	6,80-8,46	6,54-7,30	7,06-7,73	<b>0,0037</b>
Turb (NTU)	18	18	4,06	8,67	0,00-17,00	0,00-38,00	0,00-4,00	1,00-11,00	0,1050
Cond (mS/cm)	18	18	0,19	0,20	0,11-0,31	0,15-0,29	0,16-0,24	0,16-0,24	0,4856
OD (mg O <sub>2</sub> /l)	18	18	6,37	6,72	2,75-8,61	4,30-8,14	5,63-7,64	6,15-7,75	0,4991
CT (log NMP/100 ml)	11	9	4,25	3,54	1,56-5,36	1,56-4,97	3,97-5,18	3,36-4,18	0,1913
CF (log NMP/100 ml)	9	7	2,52	1,57	1,56-4,36	0,85-1,96	2,18-2,36	1,56-1,96	<b>0,0128</b>
ENT (log UFC/100 ml)	11	6	1,67	1,41	0,30-2,79	0,85-2,20	1,00-2,28	1,04-1,60	0,5756
EC (log UFC/100 ml)	8	7	1,41	1,05	0,85-1,83	0,60-1,60	1,28-1,58	0,60-1,45	<b>0,0356</b>
SAL (log UFC/100 ml)	10	8	1,28	1,22	0,30-2,27	0,48-2,06	0,78-1,93	0,60-1,56	0,8422
PSE (log UFC/100 ml)	11	10	2,75	2,23	1,11-3,61	1,00-3,45	1,82-3,41	1,81-2,75	0,1539
RAM (log UFC/100 ml)	18	16	5,03	5,28	1,30-6,81	3,72-6,74	4,32-6,08	4,48-5,97	0,5891
Hyl (log UFC/10 ml)	9	12	1,97	1,66	0,30-2,93	0,30-2,34	1,81-2,62	1,15-2,20	0,3773
GLA (elementos/l)	5	3	4,20	5,00	2,00-8,00	3,00-8,00	3,00-5,00	3,00-8,00	0,6117
AMEq (elementos/l)	5	7	3,40	8,71	1,00-8,00	2,00-15,00	2,00-3,00	4,00-15,00	0,0544
AMEt (elementos/l)	1	5	25,00	2,60	25,00-25,00	1,00-4,00	NA	2,00-3,00	<b>0,0160</b>
ACA (elementos/l)	0	4	NA	2,75	NA	1,00-4,00	NA	1,00-3,00	NA
CHM (elementos/l)	0	2	NA	5,00	NA	2,00-8,00	NA	2,00-8,00	NA
BHO (elementos/l)	0	2	NA	3,00	NA	1,00-5,00	NA	1,00-5,00	NA
BAC (elementos/l)	0	1	NA	3,00	NA	3,00-3,00	NA	NA	NA
ANC (elementos/l)	0	1	NA	15,00	NA	15,00-15,00	NA	NA	NA
ASC (elementos/l)	1	0	8,00	NA	8,00-8,00	NA	NA	NA	NA
NEM (elementos/l)	2	1	6,00	2,00	4,00-8,00	2,00-2,00	4,00-8,00	NA	0,3333
AdV (log cg <sup>b</sup> /l)	1	0	2,36	NA	2,36-2,36	NA	NA	NA	NA

Los números en negrita señalan valores de p significativos ( $p < 0,05$ ).

ACA: quistes de *Acanthamoeba* sp.; AdV: adenovirus humanos; AMEq: quistes de amebas; AMEt: trofozoítos de amebas; ANC: huevos de ancylostomideos; ASC: huevos de *Ascaris lumbricoides*; BAC: *Balantidium coli*; BHO: quistes de *Blastocystis hominis*; CF: coliformes fecales; CHM: quistes de *Chilomastix mesnili*; Cond: conductividad; CT: coliformes totales; EC: *Escherichia coli*;

ENT: enterococos; GLA: quistes de *Giardia lamblia*; Hyl: hongos y levaduras; N: número de muestras con mediciones por encima del límite de detección; NA: no aplica; NEM: larvas de nematodos; OD: oxígeno disuelto; PSE: *Pseudomonas*; RAM: aerobios mesófilos; SAL: *Salmonella*; T: temperatura; Turb: turbidez.

<sup>a</sup> Solamente las muestras positivas fueron tomadas para calcular el promedio, el rango y el percentil.

<sup>b</sup> Copias genómicas.

La identificación de trofozoítos, quistes, huevos y larvas se llevó a cabo mediante examen microscópico directo (a 100 ×, 400 × o 1.000 ×, según corresponda al elemento buscado) de las muestras sedimentadas. Se efectuaron preparados en fresco y contrastados con solución de lugol para ayudar a la búsqueda de protozoos de pequeño tamaño. La técnica de observación microscópica se eligió debido a que el montaje húmedo directo sigue siendo el más usado en el diagnóstico de parásitos intestinales [29].

El recuento se realizó por duplicado usando una cámara de Neubauer mejorada, midiéndose siempre los volúmenes de las muestras para efectuar la cuantificación de los elementos encontrados.

## 2.7. Análisis estadístico

La estadística descriptiva y los test empleados fueron realizados utilizando el software Infostat [30].

El test paramétrico de ANOVA fue empleado para estudiar el comportamiento estacional y espacial de las variables medidas.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua

Se analizaron 36 muestras (con excepción de los análisis parasitológicos de 6 muestras), 18 correspondientes a la ES y 18 a la EH según se describió antes. El conjunto de datos de las variables de calidad de agua evaluadas, incluyendo fisicoquímicas, bacteriológicas, parasitológicas y virales fue dividido en 2 grupos estacionales de acuerdo a los registros de precipitaciones para el período en cuestión (tabla 1). Solamente los registros de las variables temperatura, pH y coliformes fecales presentaron variaciones estacionales

que fueron estadísticamente significativas (ver valores de p en la tabla 1).

La temperatura mostró mayores valores, como era esperable durante la EH, coincidiendo con los meses de primavera-verano. Como se informó en trabajos previos realizados en pozos de agua poco profundos en la región [31], se registraron valores de pH más bajos durante la estación seca, probablemente como consecuencia de la mayor influencia de la contaminación cuando el cuerpo de agua presenta menor volumen.

Cuando el conjunto de datos se dividió de acuerdo a las fuentes de las muestras (pozos y agua de red) se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la concentración de oxígeno disuelto, en la turbidez y en la mayoría de las variables bacteriológicas (CT, CF, RAM, ENT, EC y PSE) (datos no mostrados). En los pozos de agua se registraron los mayores recuentos bacterianos, con una consecuente reducción del OD y un aumento de la turbidez como consecuencia de la contaminación antrópica presente en los acuíferos de la zona de estudio. El riesgo de contaminación de aguas subterráneas depende principalmente de la interacción entre 2 factores: la carga contaminante dispuesta en el suelo que, como se explicó previamente, suele ser elevada en la zona de estudio, y la vulnerabilidad natural a la contaminación de un acuífero. La vulnerabilidad que presentan las áreas de estudio es muy alta, las napas freáticas se encuentran a poca profundidad y los suelos de estas zonas son de desarrollo incipiente, perfil A-C, textura gruesa y excesivamente drenados [32]. Sin embargo, a pesar de las marcadas diferencias en los recuentos bacterianos entre el agua de red y la de los pozos poco profundos, no se obtienen diferencias significativas en los recuentos de elementos protozoarios parásitos humanos.

La mayoría de las muestras analizadas durante la ES (62%) fue positiva para alguna de las bacterias analizadas, mientras que la mitad de los análisis (50%) fueron positivos durante la EH. Los

**Tabla 2**  
Cuantificación de protozoarios (promedio de elementos/l) en las muestras de agua de red (RC, RS y RV) y de pozos (PS1, PS2 y PV) analizadas en las estaciones seca y húmeda

Elementos protozoarios	Estación seca						Estación húmeda					
	RC	RS	RV	PS1	PS2	PV	RC	RS	RV	PS1	PS2	PV
<i>G. lamblia</i> (q)	3 (1)	Nd	3 (2)	Nd	8 (2)	Nd	Nd	Nd	Nd	1 (1)	Nd	6 (2)
Ameba (q)	3 (1)	Nd	1 (1)	Nd	4 (2)	Nd	6 (2)	8 (1)	Nd	1 (1)	8 (1)	8 (2)
Ameba (t)	Nd	Nd	Nd	8 (1)	Nd	Nd	2 (2)	Nd	Nd	Nd	1 (1)	3 (2)
<i>Acanthamoeba</i> sp. (q)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	3 (2)	8 (1)	Nd	Nd	Nd	1 (1)
<i>C. mesnili</i> (q)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	1 (1)	4 (1)	Nd
<i>B. coli</i> (t)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	1 (1)	Nd

Entre paréntesis se indica el número de muestras con detecciones positivas.  
Nd: no detectado; (q): quistes; (t): trofozoitos.

promedios de los recuentos bacterianos determinados fueron mayores durante la ES, con excepción del recuento de aerobios mesófilos. Ambas situaciones se deben en general al efecto de la dilución por las precipitaciones abundantes durante la EH.

En relación con los virus evaluados no se detectaron enterovirus ni norovirus. De las muestras analizadas en solo una (PS1) se detectaron 229 cg/l adenovirus durante la ES. El bajo porcentaje de muestras positivas puede deberse a que no se alcanzó el límite de detección con el volumen de agua procesado (60l), por lo que se sería conveniente en análisis futuros concentrar mayores volúmenes; por ejemplo, Abbaszadegan et al. (1999) [26] usaron una muestra 25 veces mayor (1.512l) para aplicar la técnica de PCR en la detección de virus en aguas subterráneas. Sin embargo, Huang et al. (2000) [27] solo usaron 40l para la detección, pero aplicaron otra concentración adicional al concentrado obtenido por filtración.

En el caso de los parásitos, al encontrarse variedad de elementos, el análisis de los hallazgos se realiza detalladamente a continuación.

### 3.2. Cuantificación de protozoos. Estacionalidad de los hallazgos

Se encontró una gran variedad de géneros de protozoarios en las aguas analizadas (tabla 2 y fig. 3). Los elementos parasitarios hallados en mayor cantidad y en todos los puntos monitorizados fueron las amebas (tabla 2). Fue más frecuente la aparición de la forma quística y la mayor cantidad se registró en la EH, con un máximo de 8 elementos por litro de agua en RS, PS2 y PV. La mayor concentración de protozoarios durante esta estación se halla en relación con la abundancia de lluvias, que lavan el suelo y arrastran los elementos incorporándolos al agua [33]. Resulta llamativo que entre las muestras más contaminadas se encuentren aguas provenientes de la red, especialmente teniendo en cuenta que teóricamente el proceso de potabilización del agua sigue las siguientes etapas luego de la captación y canalización: floculación, decantación, filtración y cloración, para finalmente ser almacenada y distribuida

([https://www.aguasdelnortesalta.com.ar/sistema\\_agua.php](https://www.aguasdelnortesalta.com.ar/sistema_agua.php)). Tampoco se podría descartar que pueda producirse una recontaminación del recurso durante las etapas finales (almacenamiento y/o distribución por la red), sobre todo pensando en amebas de vida libre, que son capaces de multiplicarse en estas etapas.

Un estudio diferencial de las especies a las que pertenecen esos quistes brindaría mayor información acerca del riesgo al que la población está sometida al consumir los elementos antes mencionados. Si bien pueden hallarse especies comúnmente presentes en el ambiente y no patógenas en humanos, tal es el caso de *Entamoeba coli* y *E. moshkovskii*, también podría encontrarse *E. histolytica*, agente causal de disentería amebiana [34]. El estadio de trofozoito también se encontró presente en algunos sitios, con mayor frecuencia en la estación húmeda en PS2, PV y RC, pero también en la estación seca en PS1, hallazgos a tener en cuenta debido a la posibilidad de que dichos elementos pertenezcan a géneros capaces de ser infectivos en este estadio, tales como *Acanthamoeba*, *Balamuthia* o *Naegleria* [35]. Desafortunadamente tampoco se cuenta con datos epidemiológicos de la población de la zona en este sentido que permitan correlacionar con los resultados obtenidos.

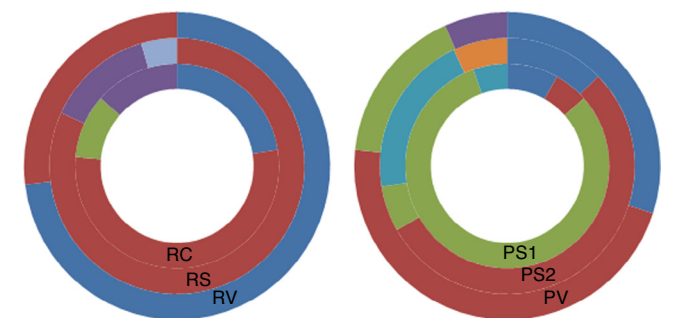
*Acanthamoeba* sp., quiste de ameba claramente diferenciable morfológicamente, fue encontrado en 3 de los sitios, 2 de red y un pozo (RC, RS y PV), siempre en la EH. Su hallazgo es de especial atención debido a las enfermedades que genotipos de este género pueden producir ingresando por vía nasal en personas con el sistema inmunológico deprimido, o por vía ocular en usuarios de lentes de contacto [36], cuando esta agua es usada con fines recreativos.

*Giardia lamblia*, género que junto a *Cryptosporidium* se encuentra muy relacionado con la transmisión hídrica [37], fue el segundo protozoario más frecuentemente hallado en los puntos de muestreo. Su frecuencia y cantidad fue mayor en la ES que en la EH.

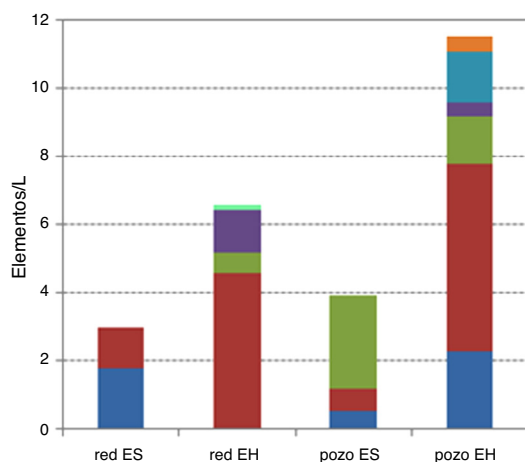
En aguas de pozo se encontraron también quistes de otros géneros productores de enfermedades intestinales [38], tales como: *Chilomastix mesnili* (en PS1 y PS2) y *Balantidium coli* (en PS2), solo durante la EH.

Igual situación estacional ocurrió con *Blastocystis hominis* (no incluida en la tabla 2 por no tratarse de un protozoario), especie productora de gastroenteritis [39] que sigue estudiándose dentro de la parasitología, aunque está reclasificada [40] y solo apareció en una sola muestra del punto RS (un elemento/l).

La distribución de especies resultó muy diferente cuando se trata de aguas de red o de pozo (fig. 3). En las primeras predominan los quistes de ameba, en cambio en los pozos la variedad de géneros encontrados es mayor, predominando los quistes de ameba solo en PS1 y PS2, mientras que en PV predominan ampliamente sus trofozoitos. Esta mayor aparición de elementos metabólicamente activos en los pozos puede explicarse debido al menor tratamiento antimicrobiano que poseen este tipo de aguas, lo que hace que las amebas presentes no se vean obligadas a estar solamente en su forma de resistencia, el quiste [41].



**Figura 3.** Distribución de especies parasitarias en los sitios de muestreo. Aguas de red (izq.), aguas de pozo (der.).  
■ *Giardia lamblia* (quistes [q]), ■ Ameba (q), ■ ameba (trofozoito [t]), ■ *Acanthamoeba* sp. (q), ■ *Chilomastix mesnili* (q), ■ *Balantidium coli* (t), ■ *Blastocystis hominis* (q).



**Figura 4.** Cuantificación de protozoarios en aguas de redes y de pozos, divididos por estación. Los valores corresponden al promedio del total de las muestras analizadas para cada fuente de agua (9 en la estación seca y 6 en la húmeda). EH: estación húmeda; ES: estación seca.

■ *Blastocystis hominis* (quiste [q]), ■ *Balantidium coli* (trofozoito [t]), ■ *Chilomastix mesnili* (q), ■ *Acanthamoeba* sp. (q), ■ ameba (t), ■ ameba (q), ■ *Giardia lamblia* (q).

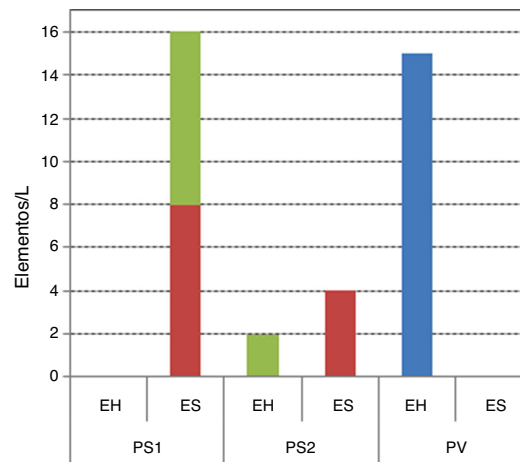
En un análisis global de estacionalidad de aparición de protozoarios (fig. 4) se observa que su cantidad aumenta en la EH, tanto en redes como en pozos, siendo mayor el aumento en estos últimos. Sin embargo, el análisis estadístico solo mostró diferencias significativas entre estaciones en el caso de los trofozoítos de amebas, igual situación a la sucedida con los coliformes fecales y *Escherichia coli* (tabla 1). Algunos elementos aparecen solo durante la estación húmeda (quistes de *Acanthamoeba* sp. y quistes de *C. mesnili* en agua de pozo; trofozoítos de *B. coli* en agua red). Dicha estación coincide con los meses cálidos, en los que hay una mayor demanda de agua de red por la población, y también un gran aumento de actividades humanas al aire libre, fuente de contaminación para aguas subterráneas de pozos poco profundos.

### 3.3. Cuantificación de helmintos. Estacionalidad de los hallazgos

Solo en aguas de pozo se encontraron metazoarios. La explicación para ello radica en el mayor tamaño de los estadios vegetativos y de resistencia de los helmintos, lo que hace que difícilmente puedan pasar la etapa de filtración durante la potabilización de las aguas de red, aunque sí pueden encontrarse en pozos poco profundos, ya que el suelo contaminado circundante puede entrar por la abertura de los mismos.

Los helmintos que informamos se encontraron en una sola de las 5 muestras analizadas para cada punto de monitorización (2 en la EH y 3 en la ES) (fig. 5). Durante la EH se encontró una elevada cantidad de huevos de ancilostomídeos en el punto PV y larvas de nemátodos en PS2; durante la ES fueron hallados huevos de *Ascaris lumbricoides* en PS1 y PS2, y larvas de nemátodos solo en el primero.

En general, las uncinariosis y otras nematodiosis son parasitosis de climas tropicales y subtropicales, donde hay alta pluviosidad. Y, si bien no podemos dejar de mencionar que los huevos de *Ascaris* encontrados son posibles elementos infectivos para contraer ascariosis, el hallazgo más relevante en este grupo lo constituyen los huevos de ancilostomídeos en PV. Estos parásitos, también llamados uncinarias, grupo que incluye a los parásitos humanos: *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* y *Strongyloides stercoralis*, poseen huevos morfológicamente indistinguibles [42]. De acuerdo al ciclo de vida es menos probable encontrar huevos de *Strongyloides*, aunque la provincia de Salta es endémica para esta parasitosis [43]. *Necator* y *Ancylostoma* producen cuadros graves, en donde los niños presentan la situación más preocupante debido



**Figura 5.** Cuantificación de helmintos en la única muestra de cada pozo monitorizado (PS1, PS2 y PV) en la que se detectaron. Se analizaron en total 2 muestras de cada pozo durante la estación seca (ES) y 3 durante la estación húmeda (EH). ■ Nemátodos (larva), ■ *Ascaris lumbricoides* (huevo [h]), ■ ancilostomídeos (h).

a la anemia a la que pueden llegar provocada por la gran succión de sangre que realizan una vez lesionada la pared intestinal [44]. Si bien el elemento infectivo para contraer este tipo de parasitosis no es el huevo, sería adecuado realizar un estudio en el suelo de la zona, debido a que al haber tal cantidad de estos elementos en el agua de pozo sería esperable encontrar larvas tipo II, las que sí constituyen una verdadera amenaza, ya que son el elemento capaz de penetrar la piel humana [44].

En cuanto a la estacionalidad, los ancilostomídeos aparecieron solo en la EH (fig. 5); por el contrario, los huevos de *Ascaris lumbricoides* lo hicieron en la ES. Las larvas de nemátodos aparecieron en muestras diferentes en las 2 estaciones y en bajas cantidades, resultado que podría explicarse por la mayor fragilidad en tal fase de desarrollo.

### 3.4. Calidad según la legislación y presencia de patógenos

Un punto crucial que revelan los resultados obtenidos es que existe un porcentaje de muestras que cumplen con la normativa vigente, considerando por lo tanto el agua apta para consumo humano. Sin embargo, en ella se encontraron otro tipo de microorganismos capaces de producir procesos patológicos, tales como los parásitos o los virus (tabla 3), mostrando por lo tanto que esa agua no es segura para el consumo humano.

Muy llamativamente, en RC no hay muestras fuera de la normativa; sin embargo, el 80% de ellas contiene otro tipo de patógenos. En las muestras de las otras 2 redes (RV y RS) existe cierto porcentaje de muestras fuera de la normativa, y en el caso de RS el 100% supera los límites de microorganismos aerobios mesófilos. Por otro lado, dentro de las muestras que cumplen con la legislación hay un porcentaje entre el 33% y el 66% con resultados positivos para otros elementos patógenos.

Las muestras de pozos son las que presentaron mayores problemas para adecuarse a la legislación, y entre las pocas que lo hicieron solo en el punto PS2 no se encontraron otros patógenos en ninguna de las muestras analizadas.

Considerando el conjunto de puntos de monitorización discriminados en aguas de red y aguas de pozo, observamos, para las muestras que cumplen con la normativa, que entre el 46% y el 75% de las primeras y entre el 0% y el 100% de las segundas presentaron otro tipo de patógenos.

Esta situación revela una necesidad urgente de actualización en la legislación vigente, en la que se tengan en cuenta otros

**Tabla 3**  
Concentraciones límite (CL) para agua de consumo humano, según el Código Alimentario Argentino (CAA) o de la Agencia Ambiental Europea (EEA), porcentajes de las muestras analizadas que superan esos límites (> CL) y porcentajes de ellas que se encuentran dentro de esos límites pero tienen patógenos (< CL, c/pat)

Indicadores bacterianos		CT	CF	EC	ENT	PSE	RAM
Muestra	CL Legislación	≤ 3 NMP/100 ml CAA, 2012	Ausencia en 100 ml CAA, 2012	Ausencia en 100 ml CAA, 2012	Ausencia en 100 ml EEA <sup>a</sup> , 2012	Ausencia en 100 ml CAA, 2012	≤ 500 UFC/ml CAA, 2012
RC	> CL (%)	0 (0/5)	0 (0/5)	0 (0/5)	0 (0/5)	0 (0/5)	0 (0/5)
	< CL, c/pat (%)	80 (4/5)	80 (4/5)	80 (4/5)	80 (4/5)	80 (4/5)	80 (4/5)
RV	> CL (%)	20 (1/5)	0 (0/5)	0 (0/5)	40 (2/5)	20 (1/5)	40 (2/5)
	< CL, c/pat (%)	50 (2/4)	40 (2/5)	40 (2/5)	0 (0/3)	50 (2/4)	67 (2/3)
RS	> CL (%)	20 (1/5)	0 (0/5)	0 (0/5)	0 (0/5)	40 (2/5)	100 (5/5)
	< CL, c/pat (%)	50 (2/4)	40 (2/5)	40 (2/5)	40 (2/5)	33,3 (1/3)	-
PV	> CL (%)	100 (5/5)	80 (4/5)	80 (4/5)	80 (4/5)	100 (5/5)	100 (5/5)
	< CL, c/pat (%)	-	100 (1/1)	100 (1/1)	100 (1/1)	-	-
PS1	> CL (%)	100 (5/5)	100 (5/5)	80 (4/5)	80 (4/5)	100 (5/5)	100 (5/5)
	< CL, c/pat (%)	-	-	100 (1/1)	0 (0/1)	-	-
PS2	> CL (%)	100 (5/5)	83,3 (4/5)	100 (5/5)	80 (4/5)	100 (5/5)	80 (4/5)
	< CL, c/pat (%)	-	0 (0/1)	-	0 (0/1)	-	0 (0/1)
R	> CL (%)	13 (2/15)	0 (0/15)	0 (0/15)	13 (2/15)	20 (3/15)	47 (7/15)
total	< CL, c/pat (%)	61 (8/15)	53 (8/15)	53 (8/15)	46 (6/13)	58 (7/12)	75 (6/8)
P	> CL (%)	100 (15/15)	87 (13/15)	87 (13/15)	80 (12/15)	100 (15/15)	93 (14/15)
total	< CL, c/pat (%)	-	100 (2/2)	100 (2/2)	33 (1/3)	-	0 (0/1)

El número de muestras en una u otra situación en relación con el número total de muestras analizadas para cada indicador bacteriano se indica entre paréntesis. CT: coliformes totales, CF: coliformes fecales, EC: *Escherichia coli*, ENT: enterococos, PSE: *Pseudomonas*; RAM: recuento de aerobios mesófilos. R total: suma de los 3 puntos de monitorización de agua de red; P total: suma de los 3 puntos de monitorización de agua de pozo.  
Fuente: Código Alimentario Argentino [5]; Agencia Ambiental Europea [6].  
<sup>a</sup> Se tomó como referencia la norma de EEA, ya que no hay valores de referencia en el CAA para este indicador.

patógenos que pueden contaminar este recurso, cuyo uso no es nada más y nada menos que el consumo humano, debido a que los indicadores usados actualmente no revelan la presencia de estos posibles peligros.

### 3.5. Otros elementos encontrados en el análisis microscópico

Durante el análisis microscópico de las muestras se hallaron elementos diferentes a parásitos, que si bien no constituían el objeto de estudio, cabe la mención de esta información adicional al tratarse de aguas de consumo humano.

Se han hallado microalgas, cuya cantidad y variedad de especies presentes en el agua está en relación con su contaminación química; se considera que cuanto mayor es la diversidad de especies presentes en el medio, las aguas son de mejor calidad en cuanto a su polución [45]. Sistemáticamente todas las muestras de agua de RV (2 de la estación seca y 3 de la estación húmeda) poseían amplia variedad de estos elementos. Esta situación merece un análisis posterior considerando el lugar de toma y potabilización de este recurso en esa localidad (Vaqueros), debido al tamaño de los elementos encontrados en aguas que se distribuyen por la red.

También se han encontrado rotíferos, organismos reconocidos en la limnología como componentes del microplancton, los que se usan como bioindicadores en la vigilancia de la contaminación porque son relativamente fáciles de cultivar y sensibles a los contaminantes [46]. El objetivo de la determinación de su presencia es idéntico al de las microalgas, ambos son herramientas de pruebas ecotoxicológicas. Se han detectado en una de las 2 muestras tomadas durante la estación seca en los puntos PS1 y PV.

Si bien estos hallazgos merecen un estudio especial en las muestras donde fueron encontrados nos cabe la pregunta: ¿se trata de aguas poco contaminadas químicamente? Si la respuesta de los expertos fuera positiva sería un punto muy a favor, que hablaría de una buena calidad química de la fuente de captación de esa agua destinada a consumo e higiene humana.

## 4. Conclusiones

Los resultados han demostrado la poca relación existente entre la presencia de indicadores bacterianos de contaminación en aguas, según lo establecido por legislación, y la presencia de elementos patógenos tales como parásitos o virus. Hasta el 75% de las muestras de agua de red y hasta el 100% de las de pozo que cumplan con la normativa vigente contenían algún patógeno no bacteriano.

Mientras se encuentra mayor concentración de bacterias en la ES, la situación en relación con los parásitos se presenta a la inversa, con mayor concentración en la EH.

La fuente de agua (pozo o red) influye en la cantidad y diversidad de la contaminación, presentándose en los pozos mucha mayor contaminación bacteriana y la posibilidad de presencia de helmintos.

Por otro lado, aunque en general las parasitosis más comunes transmitidas por el agua de consumo son la giardosis y la criptosporidiosis, se han encontrado elementos que constituyen elevado peligro para la salud humana, tales como los huevos de ancilostomídeos.

Finalmente, los resultados obtenidos en este trabajo muestran la necesidad imperiosa de actualizar la legislación vigente, para incluir también indicadores parasitarios que permitan certificar la seguridad del agua de consumo para disminuir los riesgos de enfermedades de hidrotransmisión. En cuanto a la posibilidad de inclusión de indicadores virales deberían realizarse más estudios al respecto, debido a que en el presente se detectó solo una muestra positiva para adenovirus.

## Financiación

El presente trabajo se desarrolló gracias a la financiación del Fogarty International Center (National Institutes of Health), Universidad de California Davis, Estados Unidos, a través del UCD-INIQUI Agreement n.º 06001055-02 y del Proyecto n.º 2070/4 financiado por el Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Salta (CIUNSA). La Dra. María Mercedes Juárez y el Dr. Hugo Ramiro



Poma cuentan o contaron con becas del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dra. Neli Romano Armada la gentil confección de la figura de ubicación de los puntos de monitorización.

## Bibliografía

- [1] Díaz C. Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua en zonas rurales; 2003 [consultado 11 May 2015]. Disponible en: <http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/contenido/capitulo13.html>.
- [2] Peletz R, Mahin T, Elliott M, Montgomery M, Clasen T. Preventing cryptosporidiosis: The need for safe drinking water. *Bull World Health Organ* 2013;91:238–8A.
- [3] Fayer R, Morgan U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: Transmission, detection and identification. *Int J Parasitol* 2000;30:1305–22.
- [4] EC. Council Directive of 16 June 1975 concerning the quality required of surface water intended for the abstraction of drinking water in the Member States-75/440/EEC; 1975. p. 26.
- [5] Código alimentario argentino. Ley 18284, Decreto Reglamentario 2126/71. Capítulo XII, artículos: 982 al 1079 -Bebidas hídricas, agua y agua gasificadas- Actualizado al 10/2012; 2012.
- [6] European Environment Agency. European bathing water quality in 2011. Copenhagen: EEA; 2012.
- [7] WHO. Guidelines for drinking-water quality: Incorporating first addendum. Recommendations. Vol 1. Progress on drinking water and sanitation. 3rd ed. World Health Organization. Geneva, Switzerland; 2006.
- [8] Eaton AD, Clesceri LS, Rice EW, Greenberg AE. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed Washington, DC: American Public Health Association; 2005.
- [9] Gilpin B, James T, Nourozi F, Saunders D, Scholes P, Savill M. The use of chemical and molecular indicators for fecal source identification. *Water Sci Technol* 2003;47:39–43.
- [10] Jiang S, Noble R, Chu W. Human adenoviruses and coliphages in urban runoff-impacted coastal waters of Southern California. *Appl Environ Microb* 2001;67:179–84.
- [11] Miagostovich MP, Ferreira FF, Guimarães FR, Fumian TM, Diniz-Mendes L, Luz SL, et al. Molecular detection and characterization of gastroenteritis viruses occurring naturally in the stream waters of Manaus, central Amazonia, Brazil. *Appl Environ Microb* 2008;74:375–82.
- [12] Aslan A, Xagorarakis I, Simmons FJ, Rose JB, Dorevitch S. Occurrence of adenovirus and other enteric viruses in limited-contact freshwater recreational areas and bathing waters. *J Appl Microbiol* 2011;111:1250–61.
- [13] Wyn-Jones A, Carducci A, Cook N, D'Agostino M, Divizia M, et al. Surveillance of adenoviruses and noroviruses in European recreational waters. *Water Res* 2011;45:1025–38.
- [14] Skrabber S, Gassilloud B, Gantzer C. Comparison of coliforms and coliphages as tools for assessment of viral contamination in river water. *Appl Environ Microb* 2004;70:3644–9.
- [15] Juárez MM, Rajal VB. Parasitosis intestinales en Argentina: principales agentes causales encontrados en la población y en el ambiente. *Rev Argent Microbiol* 2013;45:191–204.
- [16] Poma HR, Gutiérrez Cacciabue D, Garcé B, Gonzo EE, Rajal VB. Towards a rational strategy for monitoring microbiological quality of ambient waters. *Sci Total Environ* 2012;433:98–109.
- [17] Gutiérrez Cacciabue D, Juárez MM, Poma HR, Garcé B, Rajal VB. Cuantificación y evaluación de la estacionalidad de elementos parasitarios en ambientes acuáticos recreativos de la Provincia de Salta, Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2014;46:150–60.
- [18] García LS. Practical guide to diagnostic parasitology. Washington, DC: ASM Press; 1999.
- [19] Lamb RA, Krug RM. *Orthomyxoviridae*, the viruses and their replication. En: *Fields Virology*. 4th Edition Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2001. p. 1487–531.
- [20] INDEC. Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas (CNPV). Argentina; 2010.
- [21] Clemente M. Posgrado en salud social y comunitaria: Hospital de Referencia Dr. Francisco Herrera. Salta: EUNSA; 2005.
- [22] Foster S, Ventura M, Hirata R. Contaminación de las aguas subterráneas: un enfoque ejecutivo de la situación de América Latina y el Caribe en relación con el suministro de agua potable. Lima, Perú: OMS, OPS, CEPIS; 1987.
- [23] Environmental Protection Agency (EPA). Test methods for *Escherichia coli* (Method 1103.1) and Enterococci (Method 1106.1) by the membrane filter procedure, EPA-600/4-85-076 Cincinnati, OH; 1985.
- [24] Rajal VB, McSwain BS, Thompson DE, Leutenegger CM, Kildare B, Wuertz S. Validation of hollow fiber ultrafiltration and real-time PCR for the quantification of viruses from environmental water samples. *Water Res* 2007;41:1411–22.
- [25] Poma HR, Rajal VB, Blanco Fernández MD, Barril PA, Giordano MO, Masachessi G, et al. Evaluation of concentration efficiency of the *Pseudomonas aeruginosa* phage PP7 in various water matrixes by different methods. *Environ Monit Assess* 2013;185:2565–76.
- [26] Abbaszadeegan M, Stewart P, Le Chevallier M. A strategy for detection of viruses in groundwater by PCR. *Appl Environ Microb* 1999;65:2444–9.
- [27] Huang PW, Laborde D, Land V, Matson O, Smith AW, Jiang X. Concentration and detection of caliciviruses in water samples by reverse transcription-PCR. *Appl Environ Microb* 2000;66:4383–8.
- [28] Tello R, Terashima A, Marcos LA, Machicado J, Canales M, Gotuzzo E. Highly effective and inexpensive parasitological technique for diagnosis of intestinal parasites in developing countries: Spontaneous sedimentation technique in tube. *Int J Infect Dis* 2012;16:414–6.
- [29] Queiroga Gonçalves A. Epidemiología y diagnóstico de *Calodium hepaticum* y parásitos intestinales en áreas remotas amazónicas. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona; 2014.
- [30] Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL; 2014.
- [31] Cruz MC, Gutiérrez Cacciabue D, Gil JF, Gamboni O, Vicente MS, Gonzo EE, et al. The impact of point source pollution on shallow groundwater used for human consumption in a threshold country. *J Environ Monitor* 2012;14:38–49.
- [32] Baumgartner A, Cozzi E. Tesis de licenciatura en recursos naturales. Universidad Nacional de Salta; 1998.
- [33] Jacob P, Henry A, Meheut G, Charni-Ben-Tabassi N, Ingrand V, Helmi K. Health risk assessment related to waterborne pathogens from the river to the tap. *Int J Environ Res Public Health* 2015;12:2967–83.
- [34] Ali IK, Hossain MB, Roy S, Aye-Kumi PF, Petri WA, Haque R, et al. *Entamoeba moshkovskii* infections in children, Bangladesh. *Emerg Infect Dis* 2003;9:580–4.
- [35] Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *Immunol Med Mic* 2007;50:1–26.
- [36] Khan NA. *Acanthamoeba*. Biology and pathogenesis. England: British Library Cataloguing-in-Publication Data; 2009.
- [37] Castro-Hermida JA, García-Preseido I, Almeida A, Gonzalez-Warleta M, Correia Da Costa JM, Mezo M. Presence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* through drinking water. *Sci Total Environ* 2008;405:45–53.
- [38] Schuster FL, Ramirez-Avila L. Current world status of *Balantidium coli*. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:626–38.
- [39] Hotez P. The other intestinal protozoa: Enteric infections caused by *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli*, and *Dientamoeba fragilis*. *Semin Pediatr Infect Dis* 2000;11:178–81.
- [40] Salinas JL, Vildozola Gonzales H. Infection by *Blastocystis*: A review. *Rev Gastroenterol Peru* 2007;27:264–74.
- [41] Dupuy M, Berneb F, Herbelinc P, Binet M, Berthelot N, Rodiera MH, et al. Sensitivity of free-living amoeba trophozoites and cysts to water disinfectants. *Int J Hyg Environ Health* 2014;217:335–9.
- [42] Ash LR, Orihel TC. Atlas de parasitología humana. 5.ª edición. Madrid: Editorial Panamericana; 2007.
- [43] Krolewiecki AJ, Lammie P, Jacobson J, Gabrielli AF, Levecke B, Socias E, et al. A public health response against *Strongyloides stercoralis*: Time to look at soil-transmitted helminthiasis in full. *Negl Trop Dis* 2013;7:e2165.
- [44] Becerril Flores MA, Romero Cabello R. Parasitología médica. España: Editorial Mc Graw Hill Interamericana; 2004.
- [45] Seeligmann C, Tracanna BC, Martínez de Marco S, Isasmendi S. Algas fitoplanctónicas en la evaluación de la calidad del agua de sistemas lóticos en el Noroeste argentino. *Limnetica* 2001;20:123–33.
- [46] Wallace RL. Rotifers: Exquisite metazoans. *Integr Comp Biol* 2002;42:660–7.