

Estacionalidad de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica

Rafael Monge¹, Misael Chinchilla² y Liliana Reyes²

¹ Departamento Control de Alimentos. Ministerio de Salud. Apto. 10123 San José, Costa Rica.

² Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

(Rec. 3-II-1995. Rev. 5-V-1995. Acep. 14-VI-1995)

Abstract: In Costa Rica, a total of 640 samples from eight different vegetables used for raw consumption, were analyzed for the presence of intestinal parasites and fecal coliforms. Eighty samples of each vegetable were analyzed, forty during the dry season and forty in the rainy. A greater, but insignificant ($p > 0.05$) level of fecal coliforms was found during the dry season. Levels of *Escherichia coli*, were higher ($p < 0.05$) during the dry season in lettuce (*Lactuca sativa*) and cilantro (*Coleandrum sativum*) leaves. Cysts of *Endolimax nana*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* and *Cryptosporidium* sp. were found in all vegetables. The greater percentage of positive samples was found during the dry season, although these relation was only corroborated ($p < 0.05$) in radish (*Raphanus sativus*) and cilantro leaves. Only lettuce and cilantro levels showed a positive linear correlation ($p < 0.05$) between occurrences of intestinal parasites and fecal coliforms.

Key words: Parasites, epidemiology, fecal contamination, food microbiology, parasitology, vegetables.

Por su apreciable contenido de ácido ascórbico, carotenos y fibra dietética, los vegetales son ampliamente recomendados como parte de la dieta diaria (Anónimo 1989, Ziegler 1993). No obstante, una serie de prácticas en torno a su producción, cosecha y comercialización, hacen que este grupo de alimentos se convierta en vehículo potencial de microorganismos patógenos.

El apio, lechuga, repollo, coles de bruselas y otros vegetales que generalmente se consumen crudos han sido asociados con brotes epidémicos de diarrea e incluso listeriosis (Geldrieck & Bordner 1971, Bryan 1977, Lee *et al.* 1991, Farber & Peterkin 1991). Además, en este tipo de vegetales se ha encontrado contaminación con huevecillos de parásitos como *Ascaris lumbricoides*, *Trichocephalus trichiurus*, quistes de *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* (Marzochi 1977, Mastrandea & Micarelli 1978, Feachmen *et al.* 1983, Shuval *et al.* 1986, Borchan 1987, Cai 1987, Helmer 1991) y virus como hepatitis A, norwalk y rotavirus (Greffin *et*

al. 1982, Kuritsky *et al.* 1985, Shuval *et al.* 1986, Roseblum *et al.* 1990, Helmer 1991).

La contaminación microbiológica de estos alimentos toma mayor importancia al considerar que el tiempo de supervivencia de los microorganismos patógenos puede ser prolongado, semanas o meses (Feachmen 1983, Straus 1986), particularmente cuando los microorganismos están en las áreas del vegetal más húmedas y protegidas de la desecación y de los rayos directos del sol, como ocurre en la lechuga, repollo, zanahoria y rábano (Shuval *et al.* 1986).

Diversos estudios de campo y laboratorio, han mostrado que los patógenos inoculados en la tierra de cultivo o en las aguas de irrigación de vegetales pueden sobrevivir hasta por dos meses, período suficiente para que alcancen en forma viable al consumidor (Feachmen 1983, Straus 1986).

El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de parásitos intestinales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en las hortalizas que

habitualmente se consumen crudas en el valle central de Costa Rica.

MATERIAL Y METODOS

Selección de los sitios de muestreo: El estudio se realizó en ocho mercados abiertos (Ferias de Agricultor), seleccionados con probabilidad proporcional al tamaño, entre aquellos efectuados los sábados en el valle Central de Costa Rica.

Para la selección de los mercados, estos se clasificaron de acuerdo al número de vendedores; pequeños: menos de 100, medianos: entre 100 y 200 y grandes: más de 200 vendedores.

Muestras: Se analizaron 640 muestras de hortalizas recolectadas durante setiembre y octubre de 1991 (estación lluviosa), enero, febrero, marzo (estación seca) y junio (estación lluviosa) de 1992. Un 50% de las muestras se recolectó durante la estación seca y el otro 50% durante la estación lluviosa.

De cada una de las siguientes hortalizas se estudiaron 80 muestras: repollo (*Brassica oleracea*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), lechuga (*Lactuca sativa*), pepino (*Cucumis sativus*), zanahoria (*Daucus carota*), rábano (*Raphanus sativus*), hojas de culantro (*Coleandrum sativum*) y raíz de culantro. Durante cada período de estudio se tomó, por mercado abierto, una muestra de cinco unidades de cada hortaliza (una unidad por puesto de venta).

Análisis microbiológico: Las muestras se procesaron por la técnica de lavado (Speck 1984), con un volumen de solución salina (NaCl 0.85%), equivalente al doble del peso de cada hortaliza. Se tomó una alícuota (20 ml) para la determinación de coliformes fecales y *Escherichia coli*, siguiendo la técnica del número más probable (NMP) recomendada por Speck, 1984.

El resto del líquido de lavado se centrifugó a 900 G por 30 min y se observó el sedimento en solución salina y lugol para la identificación de huevecillos de helmintos y quistes de amebas.

La identificación de *Giardia intestinalis*, se realizó mediante inmunofluorescencia usando un anticuerpo monoclonal marcado con fluoresceína (Biovis Laboratories Lote 901) y el

diagnóstico de *Cryptosporidium* sp., se efectuó empleando la tinción de Koster modificada (Kageruka *et al.* 1984).

Calificación sanitaria de las hortalizas:

Con base en los criterios de la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (Anónimo 1974) se establecieron dos niveles de calidad sanitaria para las hortalizas evaluadas: i) aceptable (apto para consumo humano), cuando los niveles de coliformes fecales y *Escherichia coli* fueron inferiores o iguales a 10^3 /g, ii) inaceptable (no apto para consumo humano), cuando esos niveles fueron superiores a 10^3 /g.

Análisis estadístico: Los resultados obtenidos se estudiaron de acuerdo a los análisis de regresión simple, correlación lineal y diferencia entre medias, utilizando un $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS

En ca 50% de las muestras de lechuga, hojas y raíz de culantro, la concentración de coliformes fecales osciló entre 10^4 y 10^7 /g (calidad sanitaria inaceptable), hallándose en el 9% de las muestras de culantro (hojas y raíz), una densidad de esos microorganismos mayor a 10^7 /g (Cuadro 1). En ca 42% de las muestras de lechuga y culantro (hojas y raíz), los niveles de *E. coli* oscilaron entre 10^4 y 10^7 /g. En el 4% de las muestras de hojas y raíz de culantro, los niveles de esta bacteria fueron mayores a 10^7 /g (Cuadro 1).

En ca 80% de las otras hortalizas, el nivel de coliformes fecales y *E. coli* fue inferior o igual a 10^3 /g (calidad sanitaria aceptable). La menor contaminación fecal se encontró en tomate, repollo y pepino (Cuadro 1).

Durante la estación seca, los niveles de coliformes fecales se incrementaron; sin embargo, no se encontró una diferencia significativa ($p > 0.05$) con respecto a la concentración de éstos durante la época lluviosa (Cuadro 2). Una situación similar se evidenció con los niveles de *E. coli*; no obstante, éstos aumentaron significativamente ($p < 0.05$) durante la época seca en lechuga y hojas de culantro (Cuadro 2).

Se encontró *Endolimax nana* en el 6.2% y 9.1% de las muestras de hojas y raíz de culantro, respectivamente; así como en el 2.5% de

CUADRO 1

Distribución porcentual de hortalizas (1), según ámbitos de coliformes fecales/g y *E. coli*/g.

Hortalizas	≤ 10 ³ (C:S:A:)		10 ⁴ -10 ⁷ (C:S:I)		>10 ⁷ (C:S:I)	
	Coliformes fecales	<i>E. coli</i>	Coliformes fecales	<i>E. coli</i>	Coliformes fecales	<i>E. coli</i>
Culantro, hojas	42.0	54.3	48.1	42.0	9.9	3.7
Culantro, raíz	40.3	53.2	50.7	42.9	9.1	3.7
Lechuga	45.1	55.0	53.6	45.0	1.3	0.0
Rábano	61.5	73.5	37.3	26.5	9.6	0.0
Repollo	93.0	95.0	7.0	5.0	0.0	0.0
Pepino	80.5	86.5	19.5	13.5	0.0	0.0
Tomate	90.1	93.7	9.9	6.3	0.0	0.0
Zanahoria	74.1	82.7	24.7	17.3	1.2	0.0

(1) n=80 para cada hortaliza

C:S:A: Calidad sanitaria aceptable

C:S:I: Calidad sanitaria inaceptable

CUADRO 2

Concentración promedio de coliformes fecales/g y *E. coli*/g en hortalizas según estación climática

Hortalizas	Coliformes fecales		<i>E. coli</i>	
	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa
Culantro, hojas	2.8x10 ⁶ ± 5.4x10 ⁶	1.9x10 ⁶ ± 4.8x10 ⁶	1.8x10 ⁵ ± 4.8x10 ⁵	2.9x10 ⁵ ± 1.4x10 ⁶
Culantro, raíz	2.7x10 ⁶ ± 7.1x10 ⁶	2.4x10 ⁶ ± 7.2x10 ⁶	1.3x10 ⁶ ± 4.4x10 ⁶	1.2x10 ⁶ ± 5.6x10 ⁶
Lechuga	9.1x10 ⁶ ± 2.1x10 ⁶	4.6x10 ⁶ ± 2.2x10 ⁶	7.2x10 ⁶ ± 1.8x10 ⁶	4.9x10 ⁴ ± 2.4x10 ⁵
Rábano	6.1x10 ⁵ ± 2.3x10 ⁵	2.2x10 ⁵ ± 1.3x10 ⁶	1.6x10 ⁵ ± 7.4x10 ⁵	4.6x10 ³ ± 1.2x10 ⁴
Repollo	7.4x10 ⁴ ± 4.6x10 ⁵	5.2x10 ² ± 1.8x10 ³	1.0x10 ³ ± 5.7x10 ³	3.8x10 ² ± 1.7x10 ³
Pepino	4.7x10 ⁵ ± 1.7x10 ⁶	7.2x10 ⁴ ± 3.3x10 ⁵	2.3x10 ⁴ ± 9.2x10 ⁴	5.0x10 ² ± 2.2x10 ³
Tomate	6.5x10 ³ ± 3.6x10 ⁴	8.0x10 ² ± 4.6x10 ⁴	6.5x10 ² ± 2.6x10 ³	4.9x10 ¹ ± 2.1x10 ²
Zanahoria	3.0x10 ⁴ ± 1.7x10 ⁵	7.3x10 ⁵ ± 4.7x10 ⁶	2.2x10 ³ ± 5.9x10 ³	1.3x10 ³ ± 4.8x10 ³

*P<0.05

las muestras de lechuga. *Entamoeba coli* se evidenció en el 8.6% de las muestras de hojas de culantro y en el 2.4% de las de lechuga. *Entamoeba histolytica*, se determinó en el 6.2% y 5.2% de las muestras de hojas y raíz de culantro respectivamente. Asimismo este protozoario se encontró en el 3.8% y 2.4% de las muestras de lechuga y rábano. En las otras hortalizas estas amebas se evidenciaron en menos del 2% de las muestras (Cuadro 3).

G. intestinalis se encontró en el 2.5% y 5.2% de las muestras de hojas y raíz de culantro,

respectivamente. *Cryptosporidium* sp. se halló en el 5.2 y 8.7% de las muestras de hojas y raíz de culantro y en menos del 3% de las otras hortalizas estudiadas (Cuadro 3). No se hallaron huevecillos de helmintos.

La presencia de parásitos en las hortalizas fue mayor durante la estación seca; no obstante, esta correlación sólo fue significativa (Pearson p<0.05) para el rábano y las hojas de culantro. La existencia de una relación lineal positiva entre los niveles de coliformes fecales, *Escherichia coli* y la presencia de parásitos sólo

CUADRO 3

Porcentaje de hortalizas (1) contaminadas con parásitos intestinales

Parásitos	Culantro		Hortalizas					
	Hojas	Raíz	Lechuga	Pepino	Rábano	Repollo	Tomate	Zanahoria
<i>Cryptosporidium</i> sp.	5.0	8.7	2.5	1.2	1.2	0	1.2	1.2
<i>Endolimax nana</i>	6.2	9.1	2.5	0	0	1.3	0	0
<i>Entamoeba coli</i>	8.6	1.3	1.3	0	2.4	0	0	1.2
<i>Entamoeba histolytica</i>	6.2	5.2	3.8	0	2.4	0	0	0
<i>Giardia intestinalis</i>	2.5	5.2	0	0	0	0	0	0

(1) n= 80 para cada hortaliza

se corroboró (Pearson $p < 0.05$) para la lechuga y la raíz del culantro.

DISCUSION

Algunos estudios realizados en diferentes países indican que la utilización de aguas no tratadas para la irrigación de hortalizas, es la práctica que más influye en la reducción de la calidad sanitaria de estos alimentos (Geldreich y Bordner 1971, Bryan 1977, Shuval *et al.* 1983, Feachmen *et al.* 1983, Castro y Flores 1990, Shuval 1991). En Costa Rica esto podría ser similar, pues se ha determinado que un alto porcentaje de las aguas utilizadas para irrigación, no satisface la recomendación sanitaria dictada por la FAO/OMS (Fernández 1993), que establece como aceptable un nivel máximo de 10^3 coliformes fecales/100ml (Anónimo 1989).

No obstante, nuestros resultados sugieren que el uso de aguas sin tratamiento no es el único factor responsable de la contaminación encontrada, pues a diferencia de otros estudios (Marzochi 1977, Sears *et al.* 1982, Shuval *et al.* 1983, Shuval 1991) no se encontró un aumento significativo en el número de coliformes fecales, *Escherichia coli* y parásitos durante la estación seca, a pesar que se presume una intensificación en el uso de aguas no tratadas durante ese período.

Ante esta situación es necesario estudiar otros factores que afectan la calidad sanitaria de las hortalizas, pues algunos autores sugieren que sólo el 48% de la *E. coli* presente en estos alimentos, proviene de los coliformes fecales del agua de irrigación (Castro y Flores, 1990).

Se ha demostrado que la frecuente contaminación del suelo por repetidas aplicaciones de

agua contaminada o heces de animales, contrasta los factores ambientales adversos y permite que los agentes patógenos permanezcan viables en la tierra por dos meses o más, especialmente en áreas húmedas y sombreadas (Geldreich y Bordner 1971, Feachmen *et al.* 1983 Shuval *et al.* 1986).

Esto podría explicar, al menos parcialmente, la contaminación fecal durante la estación lluviosa en aquellas hortalizas cuya parte comestible está en contacto directo con el terreno, ya que parece que las salpicaduras de tierra al caer la lluvia, no juegan un papel importante en el transporte de los agentes contaminantes a las hortalizas (Geldreich y Bordner 1971), debido a que las bacterias y parásitos depositados en el suelo, principalmente vía excreción fecal, son inmovilizados y fijados en un sitio específico (Shuval *et al.* 1986).

Por otro lado, es necesario analizar las prácticas de manejo poscosecha, ya que diversos estudios señalan que los índices de contaminación fecal de los productos hortícolas son mayores en las áreas de mercado que en las de cultivo (Geldreich y Bordner 1971, Castro y Flores 1990).

Aún cuando la fuente de contaminación no está claramente definida, la presencia de parásitos pone en evidencia el peligro potencial que representan las hortalizas para la salud pública, pues se ha demostrado que las formas quísticas de *Cryptosporidium* sp., provenientes de animales domésticos como perros, gatos, ganado bovino y caprino y de animales silvestres como castores, ratones y ratas almizcleras, pueden causar infección sintomática en humanos (Fayer y Ungar 1986, Casemore 1990, 1991, Vessey y Slade 1991), principalmente en los inmunosupresos (Fayer y Ungar 1986, Casemore

1991). Una situación similar ocurre con las formas quísticas de *E. histolytica* provenientes de gatos y perros (Trissi 1982) y con los quistes de *G. intestinalis* derivados de perros, castores y ganado vacuno y caprino (Pacha *et al.* 1987, Erlandsen *et al.* 1988, Buret *et al.* 1990, Makbulani *et al.* 1992). Por otro lado *G. intestinalis* y *Cryptosporidium* sp. pueden causar diarrea en turistas tal y como se ha confirmado en diversos brotes de diarrea del viajero (López *et al.* 1978, Jokippi *et al.* 1985, Ma *et al.* 1985, Soave y Ma 1985).

La baja dosis infectante (Fayer y Ungar 1986, Petersen *et al.* 1988) y la alta resistencia de las formas quísticas de *G. intestinalis* y *Cryptosporidium* sp. al cloro (Jarrol *et al.* 1980, 1981, Campbell *et al.* 1982, Urbina *et al.* 1984, Fayer y Ungar 1986, Castellón 1991), agente químico usualmente utilizado en la desinfección de vegetales, subrayan la importancia que este grupo de alimentos puede tener en la epidemiología de estos parásitos.

En este sentido, es importante destacar que los vegetales no juegan, a diferencia de otros estudios (Geldreich 1971, Marzochi 1977, Cai 1987), un papel relevante en la diseminación de las helmintiasis. Esto posiblemente se debe a que en Costa Rica este problema ha venido controlándose efectivamente desde 1966 (Mata 1985).

Los importantes índices de contaminación hallados, sugieren la presencia y supervivencia de bacterias entéricas tales como *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. en las hortalizas, ya que los períodos de supervivencia de estas bacterias son iguales a los señalados para los coliformes fecales (Feachmen *et al.* 1983), aunque algunos autores indican que ellas pueden sobrevivir por mayor tiempo, principalmente cuando se encuentran en las áreas húmedas y protegidas del vegetal (Seoanez 1987).

Nuestros resultados permiten inferir que las hortalizas en Costa Rica, pueden jugar un papel importante en la diseminación de enfermedades diarreicas, como ha ocurrido en otros países (Jalal *et al.* 1983, Fattal *et al.* 1984, Shuval 1991).

RESUMEN

Se estudió la presencia de parásitos intestinales y bacterias del grupo coliforme en 640 muestras de las hortalizas que habitualmente se consumen crudas en el valle central de Costa Rica. Durante la estación seca los niveles de coli-

formes fecales fueron mayores; sin embargo no se encontró una diferencia significativa ($p > 0.05$) con respecto a la estación lluviosa. Una situación similar se evidenció con los niveles de *Escherichia coli*, no obstante estos aumentaron significativamente ($p < 0.05$) durante la época seca en lechuga (*Latuca sativa*) y hojas de culantro (*Coleandrum sativum*). Formas quísticas de *Endolimax nana*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* sp. se hallaron en las ocho hortalizas incluidas en el estudio. La presencia de parásitos fue mayor durante la estación seca, aunque esto sólo se corroboró (Pearson $p < 0.05$) en el rábano (*Raphanus sativus*) y las hojas de culantro. La existencia de una relación lineal positiva entre la presencia de parásitos intestinales, coliformes fecales y *Escherichia coli* solo se confirmó (Pearson $p < 0.05$) en la raíz de culantro y lechuga.

REFERENCIAS

- Anónimo. 1974. Microorganisms in foods, 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). University of Toronto, Toronto Canadá. 213 p.
- Anónimo. 1989. Diet and health implications for reducing chronic disease risk. National Academy, Washington D.C. 278 p.
- Anónimo. 1989. Health guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture. Technical Report Series 778. World Health Organization, Ginebra. 74 p.
- Borhan, P. 1987. Transmission of *Giardia* by food and water. Food Tech. Austr. 39: 61-63.
- Bryan, F. 1977. Diseases transmitted by food contaminated by wastewater. J. Food Prot. 40: 45-56.
- Buret A., N. dien Hollandes, P. Walles & D. Befus. 1990. Zoonotic potencial of giardiasis in domestic ruminants. J.I.D. 162: 231-237.
- Cai, S. 1987. A bacteriological and helminthological investigation on sewage irrigated area in Beijing suburb China. Ch. J. Prev. Med. 20: 280-282.
- Castro M.L. & Flórez A. 1990. Evaluación de riesgos para la salud por el uso de las aguas residuales en agricultura: aspectos microbiológicos. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria (CEPIS), Lima. 32 p.
- Campbell I., S. Tzipori & G. Hulchinson. 1982. The effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts. Vet. Rec. 111: 414-415.
- Casemore, D. 1990. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. Epidemiol. Infect. 104: 1-28.
- Casemore, D. 1991. The epidemiology of human cryptosporidiosis and the water route of infection. Wat. Sci. Tech. 24: 157-164.

- Castellón, M. A. 1991. Resistencia del quiste de *Lambliia intestinalis* a diferentes condiciones ambientales. Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 57 p.
- Erlandsen, S., L. Sherlock, M. Januschka, D.G. Schupp, F. W. Schaefer, W. Jakubowski & W. J. Bemrick. 1988. Cross-species transmission of *Giardia* spp.: inoculation of beavers and muskrats with cyst of human, beaver, mouse and muskrats origin. Appl. Environ. Microbiol. 54: 2777-2785.
- Farber J.M. & P.I. Peterkin. 1991. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. Microbiol. Rev. 3: 476-511.
- Fattal B., P. Yekutieli & H. Shuval. 1984. Cholera outbreak in Jerusalem 1970 revisited: the case for transmission by wastewater irrigated vegetables. In J. Goldsmith (ed). Environmental Epidemiology: Epidemiological investigations of community environmental disease. CRC, Nueva Jersey 254 p.
- Fayer R. & L. Ungar. 1986. *Cryptosporidium* sp. and cryptosporidiosis. Microbiol. Rev. 25: 967-975.
- Feahmen R., D. Bradley, H. Garelick & D. Mara. 1983. Sanitation and disease: health aspects of excreta and wastewater management. J. Wiley, Nueva York. 501 p.
- Fernández, M. 1993. Calidad sanitaria de aguas utilizadas en la irrigación de hortalizas de la provincia de Cartago, Costa Rica. Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición Y Salud (INCIENSA), San José, Costa Rica. 60 p.
- Geldrich E. & R. Bordner. 1971. Fecal contamination of fruits and vegetables during cultivation and processing for market: a review. J. Milk Food. Tech. 34: 184-195.
- Greffin M., J. Srouovic & D. Mc Closkey. 1992. Foodborne norwalk virus. Am. J. Epidemiol. 115: 178-184.
- Hellmer, R. 1991. WHO guidelines and their application. Wat. Sci. Tech. 24: 85-92.
- Jalal A. 1983. Cholera in Jordan: critical review of the 1981 epidemic and proposal for epidemiological investigation. Tesis de Maestría. London School of Hygiene and Medicine, Londres. 115 p.
- Jarrold E., A. Bingham & E. Mayer. 1980. *Giardia* cyst destruction: effectiveness of six small quantity water disinfection methods. Am. J. Trop. Hyg. 29: 8-11.
- Jarrold E., A. Bingham & E. Mayer. 1981. Effect of chlorine on *Giardia lamblia* cyst viability. Appl. Env. Microb. 41: 483-487.
- Jokipii L., S. Pohjola & A. Jokipii. 1985. Cryptosporidiosis associated with traveling and giardiasis. Gastroenterology 89: 838-842.
- Kageruka P., J. Brand, H. Taelman & C. Jonas. 1984. Modified Koster staining method for the diagnosis of cryptosporidiosis. Am. Soc. Belge. Med. Trop. 64: 171-175.
- Kuritsby J., M. Asterholm, J. Korlath, K. White & J. Kaplan. 1985. A statewide assessment of the role of norwalk virus in outbreak of foodborne gastroenteritis. J. Inf. Dis. 151: 568-569.
- Lee L., S. Astroff, H. Mc Gee, D. Johnson, F. Downes, D. Camerón, N. Bean & P. Griffin. 1991. An outbreak of shigellosis at an outdoor music festival. Am. J. Epidemiol. 133: 608-615.
- López C., D. Juranek, S. Sinclair, M. Schultz. 1978. Giardiasis in american travelers to Madeira island, Portugal. Am. J. Trop. Med. 27: 1128-1132.
- Ma P., D. L. Kaufman, C. G. Helmick, A. J. D' Souza & T. R. Navin. 1985. *Cryptosporidiosis* in tourist returning from the caribbean. N.Engl. J. Med. 312: 647-648.
- Makbubani M., J. Beja, M. Perlin, F. Schaefer, W. Jakubowski & M. Atlas. 1992. Differentiation of *Giardia duodenalis* from other *Giardia* spp. by using polymerase chain reaction and gene probes. J. Clin. Microbiol. 30: 74-78.
- Marzochi, M. 1977. Estudio de factores involucrados en la diseminación dos eneroparasitas. II Estudio do contaminación de verduras e dolo de hortas na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Rev. Inst. Trop. S.Paulo. 19: 148-155
- Mastrandrea G. & A. Micarelli. 1978. Ricerca parassitaria nei prodotti vegetali prelevati da alcuni mercati rionali della ciltà di Roma. Arch. Ital. Sci. Med. Trop. Parasitol. 49: 5-9.
- Mata, L. 1985. Erradicación de helmintos intestinales en Costa Rica. Rev. Med. Hosp. Nal. Niños Costa Rica 20: 151-164.
- Pacha R., G. Oark, E. Williams, A. Coartes, J. Scherffelmayers & P. Debusschere. 1987. Small rodents and other mammals associated with mountains meadows as reservoirs of *Giardia* ssp. and *Campylobacter* spp. Appl. Environ. Microbiol. 53: 1574-1579.
- Petersen L., M. Cartter & J. Hadler. 1988. A food-borne outbreak of *Giardia lamblia*. J. Inf. Dis. 4: 846-848.
- Roseblum L., I. Mirkin, D. Allen, S. Safford & S. Hadler. 1990. A multifocal outbreak of hepatitis a traced to commercially distributed lettuce. Am. J. Publ. Health 80: 1075-1080.
- Sears S., C. Ferrico, M. Levine, A.M. Cordano, J. Monreal, R.E. Black, K. D'Ottone & B. Roue. 1984. The use of Moore swabs for isolation of *Salmonella typhi* from irrigation water in Santiago, Chile. J. Infect. Dis. 149: 640-642.
- Seoanez, M. 1987. La Contaminación agraria. Instituto de Investigaciones Agrarias, Madrid. 275 p.
- Shuval H., B. Fattal & Y. Wax. 1983. Retrospective epidemiological study of disease with wastewater utilization. Final Report, U.S./EPA, Jerusalén. 222 p.

- Shuval H., A. Adien, B. Fattal, E. Rawitz & P. Yekutieli. 1986. Wastewater irrigation in developing countries. World Bank Technical Paper Number 51, Washington, D.C. 322 p.
- Shuval, H. 1991. Recommendation for the control of cholera in Chile through wastewater and water sanitation. Mission Report June 7-15, World Bank. Nueva York. 45 p.
- Soave, R. & P. Ma. 1985. Cryptosporidiosis: traveler's diarrhea in two families. *Arch. Intern. Med.* 145: 70-72.
- Speck, M. 1984. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, Washington D. C. 914 p.
- Trissi, D. 1982. Immunology of *Entamoeba histolytica* in human and animal hosts. *Rev. Inf. Dis.* 4: 1154-1184.
- Urbina A., L. Mata & J. Rojas. 1984. Cryptosporidiosis: una zoonosis de reciente interés. *Adel. Microbiol. Enf. Infecc.* 3: 159-181.
- Vessey G. & J. Slade. 1991. Isolation and identification of *Cryptosporidium* from water. *Wat. Sci. Tech.* 24: 165-167.
- Zeigler, R. G. 1993. Vegetables, fruits and carotenoides and the risk of cancer. *Am. J. Clin. Nut.* 53: 251-259.