

Evaluación microbiológica de las aguas de riego de la zona agrícola de Barbacoas, estado Aragua

Patricia Gil¹, Yusmary Espinoza^{2*} y Lesly Malpica²

¹Instituto de Producción Animal. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101, Aragua. Venezuela

²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Maracay 2101, Aragua. Venezuela

RESUMEN

El uso de aguas residuales en agricultura es una de las herramientas más valiosas que tienen los países en vía de desarrollo para incrementar la producción agrícola ya que involucra el uso eficiente del agua; sin embargo, esta práctica puede causar severo daño a la salud humana debido a los patógenos asociados a estas aguas. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica de las aguas utilizadas para riego de hortalizas, a través de microorganismos indicadores de contaminación fecal. El área de muestreo fue un sistema de lagunas de oxidación localizado en la zona agrícola de Barbacoas, estado Aragua. Además, se evaluó un desagüe de las aguas provenientes de la población de Barbacoas y una laguna natural, adyacentes al área de estudio. Se cuantificaron en medios de cultivo coliformes totales y fecales, protozoarios y huevos de helmintos, así como la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella*. Todas las aguas provenientes de las lagunas y del desagüe sobrepasaron los límites considerados en las normas revisadas para coliformes totales y fecales. Los resultados indicaron la presencia de *Escherichia coli* y la ausencia de *Salmonella*. Se concluye que el agua proveniente de las lagunas no es apta para ser empleada con fines de irrigación.

Palabras clave: agua residual, coliformes, helmintos, irrigación, lagunas de oxidación, protozoarios.

Microbiological evaluation of the irrigation waters of the agricultural zone of Barbacoas, Aragua state

ABSTRACT

The use of waste water in agriculture is valuable tools for developing countries to increase the agriculture production; nevertheless, this practice can cause severe damage to human health due to the pathogen agents associated with these water. Due to this, in this work the microbial pollution was studied the oxidation located in the agricultural zone of Barbacoas, Aragua state, in order to evaluate its functioning for agricultural ends. For the evaluation of these waters, there was a quantification of total and fecal coliform, protozoos and helminth eggs, as well as the presence of *Escherichia coli* and *Salmonella*. The most quantity of total bacteria, fungi and helminth eggs were found in all lagoon followed by the C lagoon. All of the water lagoons plus the water drainage exceed the norms established for total and fecal coliforms. The result indicated the presence of *Escherichia coli* and the total absence of *Salmonella*. It was demonstrated that a 100% of the samples are not suitable to be used as irrigation water purpose by.

Key words: coliform, protozoos, helminth, irrigation, residual water, lagoons of oxidation.

*Autor de correspondencia: Yusmary Espinoza

E-mail: yespinoza@inia.gob.ve

INTRODUCCIÓN

El uso de aguas residuales en agricultura es una de las herramientas valiosas que tienen los países en vía de desarrollo para, por una parte, controlar la contaminación ambiental y por otra, hacer frente al reto de incrementar la producción agrícola, a pesar de la escasez del recurso hídrico (Botero *et al.*, 2002). Dependiendo de la fuente, esta práctica puede causar daño severo a la salud humana y al ambiente, debido a los patógenos asociados, así como a los metales pesados y otros constituyentes no deseados. De acuerdo a Sandoval y Collí (2004), el problema de la utilización de aguas residuales municipales, por lo general, es más de índole microbiológico que químico, ya que el agua puede transmitir diversos microorganismos en los que se pueden incluir variedades patógenas de *Escherichia coli*, especies de *Listeria* y *Salmonella*, así como protozoarios y virus. Aunque el uso de aguas residuales para riego aporta un gran número de nutrientes, algunos estudios indican que el uso de aguas no tratadas para la irrigación agrícola es la práctica que más influye en la reducción de la calidad sanitaria de frutas y hortalizas (Cazarez *et al.*, 2004; Allende *et al.*, 2008).

Determinar la calidad sanitaria de los cuerpos de agua proporciona herramientas indispensables para la toma de decisiones con relación al control de los vertimientos, tratamiento de las aguas y conservación del ecosistema, evitando así el riesgo de contaminación de las personas, animales y el ambiente (Sardiñas *et al.*, 2006). La calidad sanitaria del agua está basada en la presencia y cantidad de organismos indicadores, identificados como aquellos similares a los patógenos en concentración y reacción frente a factores ambientales, pero más fáciles, rápidos y económicos de identificar (Del Pilar *et al.*, 2005). Los microorganismos más utilizados como indicadores de calidad sanitaria en aguas son los coliformes totales (CT) y fecales (CF), aunque también se pueden emplear protozoarios y helmintos. El examen de calidad sanitaria tiene por objeto determinar la presencia de ciertos grupos de bacterias que revelen una contaminación reciente por materia fecal u orgánica (Silva *et al.*, 2004).

Los CT son especies de bacterias de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. La mayoría de estos organismos se encuentran en el suelo, agua y en la materia en descomposición, excepto el género *Escherichia* que vive sólo en organismos de sangre caliente, como el hombre y otros animales. Los CF son bacterias del género *Escherichia* y *Klebsiella*, reconocidos como indicadores de contaminación fecal en el agua, principalmente por material de origen humano (Cazarez *et al.*, 2004).

Los quistes de protozoos tienen tres características que les permiten transformarse en importantes agentes

etiológicos de enfermedades transmitidas por el agua: estables en el medio ambiente, efectivos aún en bajas dosis infecciosas y no son destruidos por el cloro en las concentraciones usadas para la potabilización del agua de bebida (Lura *et al.*, 2002). Los principales mecanismos en la transmisión son la ingestión de agua contaminada, así como el contacto y la recontaminación del agua por una deficiente higiene doméstica. Estos parásitos causan diarreas en la población humana, siendo los grupos más sensibles los niños menores de 5 años y adultos mayores de 70 años. En EUA, los protozoos parásitos podrían ser los responsables de cerca de 7% de las 672 epidemias originadas desde 1946 a 1980 por el consumo de agua (Solarte *et al.*, 2006).

Los helmintos son otros organismos que en sus diferentes estadios infecciosos (huevos embrionados o larvas) causan problemas sanitarios al llegar a los cultivos, a través del agua de riego contaminada con aguas residuales. El agua constituye un vehículo directo o indirecto de diseminación de helmintos, aún cuando se encuentren en bajas concentraciones, dando lugar a enfermedades del tracto digestivo. En años recientes, el incremento del uso del agua residual para irrigación ha aumentado el riesgo potencial de transmisión de enfermedades causadas por los helmintos, debido principalmente al prologando tiempo de supervivencia en el ambiente de los huevos de estos parásitos (Leal *et al.*, 2006; Valbuena *et al.*, 2002).

Uno de los métodos de saneamiento de aguas para reuso más conocidos son las lagunas de oxidación, las cuales se emplean en regiones donde hay disponibilidad de grandes extensiones de tierra a costos razonables, alta incidencia de luz solar y temperatura normalmente elevada. Estas lagunas son excavaciones de poca profundidad en las cuales se desarrolla una población microbiana que elimina patógenos relacionados con excrementos humanos, sólidos en suspensión y materia orgánica (Tebbutt, 1993).

En 1992, se estableció en la zona agrícola de Barbacoas, estado Aragua, Venezuela, un sistema de lagunas de oxidación para el tratamiento de las aguas servidas. Las aguas provenientes de las lagunas de oxidación son usadas tanto para el riego de cultivos de hortalizas como para uso recreacional. Las hortalizas producidas en esta zona son comercializadas por toda la región central del país, siendo distribuidas en diferentes establecimientos y mercados populares. Desde la implantación de este sistema, no se ha realizado una evaluación microbiológica para medir el funcionamiento de estas lagunas.

El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica de las aguas provenientes de un sistema de lagunas para riego y recreación, mediante la determinación de microorganismos indicadores (CT, CF, *Escherichia coli* y *Salmonella*) y otros microorganismos (protozoarios y helmintos) asociados a la calidad del agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del sistema

Este trabajo se llevó a cabo en el sistema de lagunas de oxidación de la zona agrícola del Asentamiento Campesino Ruiz Pineda, ubicado en Barbacoas, municipio Ruiz Pineda, estado Aragua (10° 33' - 9° 15' N y 66° 30' - 67° 53' O). El sistema consta de dos lagunas de oxidación (laguna A y laguna B) y dos tuberías de impulsión de descarga de aguas servidas procedentes del pueblo. Una de las tuberías de impulsión de descarga entra a la laguna A, y la laguna B recibe las aguas procedentes de la laguna A. La otra tubería de desagüe (D) de aguas servidas desemboca en un río ubicado cerca de las lagunas, siendo la corriente de este caudal de agua dirigida a la zona agrícola. Adicionalmente, dentro de la zona agrícola existe una laguna natural (laguna C) que se comunica con la cuenca del río Guárico.

Toma de muestras

El muestreo fue realizado en ambas lagunas de oxidación, el desagüe D y la laguna C. Tanto la laguna C como el desagüe D fueron tomadas como control. Para asegurar la representatividad de cada una de las lagunas, se seleccionaron 14 puntos de agua dentro de cada laguna repartidos de acuerdo a la entrada de agua a la laguna. La toma de muestra en D, se realizó por cuatro tomas de agua (dos temprano en la mañana y dos avanzada la tarde), luego con las cuatro tomas se realizó una muestra compuesta.

La metodología para la toma de muestras se basó en un muestreo aleatorio a dos profundidades: superficial (5-50 cm) y profunda (50-70 cm). Una vez tomada la submuestra se conformó una muestra compuesta (una formada por 6 submuestras para la zona cercana a la entrada del desagüe y dos formadas por 4 submuestras) para cada una de las profundidades, dando como resultado un total de seis muestras para cada laguna (tres superficiales y tres profundas). Las muestras para la cuantificación de bacterias coliformes se recolectaron en frascos de vidrio estériles de 1 L, mientras que para la cuantificación de protozoarios y helmintos en garrafones de polietileno de 8 L. Luego de colectadas, las muestras de agua fueron inmediatamente almacenadas en hielo seco a aproximadamente 10°C y transportadas al laboratorio donde se almacenaron a 4°C. Los análisis microbiológicos se realizaron dentro de las primeras 24 h posteriores a la recolección de las muestras.

Análisis microbiológico

Los CT se cuantificaron utilizando la técnica del número más probable -NMP-(Woomer, 1994), siguiendo

la metodología propuesta por Turco (1994). Las muestras (1 mL) fueron diluidas en 9 mL de solución salina siguiendo una dilución seriada hasta 10⁻⁴. Posteriormente se sembraron tres tubos por cada muestra en caldo lauril triptosa, colocando en cada uno, un tubo Durham invertido. Luego fueron incubados en un baño de maría a 35 ± 1°C durante 24 ± 1 h. Se consideraron positivos aquellos tubos con turbidez y producción de gas en el interior del tubo Durham. Los tubos positivos fueron luego inoculados para la cuantificación de CF, para lo que se utilizó un complejo enzimático conteniendo un tubo Durham invertido. Luego de sembrados, se incubaron a 45 ± 1°C durante 24 ± 1 h, considerándose positivos aquellos tubos con presencia de gas en el tubo Durham (Turco, 1994). El NMP fue determinado utilizando una tabla con 95% de confianza.

Para evaluar la calidad de las muestras de agua tomadas en las diferentes lagunas con respecto a los organismos indicadores de contaminación fecal se utilizó la Norma Venezolana para la clasificación y el control de la calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos (GORBV, 1995).

Para la determinación de *Escherichia coli*, 1 mL de muestra fue sembrado en medio de enriquecimiento líquido "veal infusion" (Horwitz, 2000) incubado a 37°C, y al cabo de 24 h se sembró en agar McConkey e incubó a 37°C durante 24 h. A las colonias que resultaron sospechosas (colonias rosadas brillantes y opacas, pequeñas y abundantes) se les realizaron pruebas bioquímicas, utilizando medios diferenciales e indicadores que incluyeron al agar Kligler y caldo urea, incubado en cada caso a 37°C durante 24 h. Una vez ejecutadas estas pruebas, se realizaron ensayos confirmatorios utilizando el IMViC (indol, rojo de metilo, Voges Proskauer y citrato) (Horwitz, 2000).

La determinación de *Salmonella* se realizó mediante un pre-enriquecimiento de la muestra con agua peptonada tamponada y un enriquecimiento con caldo tetrionato, el cual se incubó a 40°C por 24 h. Esto se llevó a cabo con el objetivo de recuperar aquellas células posiblemente lesionadas debido a la manipulación de la muestra. Posterior al enriquecimiento, la muestra se sembró en agar selectivo xilosa lisina tergitol 4 (XLT₄) y agar verde brillante. A las colonias sospechosas de *Salmonella* se les efectuaron pruebas bioquímicas utilizando agar Kligler, caldo urea y agar lisina hierro (LIA). Para el caso de LIA, los microorganismos que no decarboxilan lisina, pero fermentan la glucosa producen un viraje al amarillo en el medio (APHA, 1995).

La cuantificación de protozoarios se realizó usando una cámara de Sedgewick Rafter siguiendo la metodología sugerida por Dehority (2004). En la lámina de Sedgewick Rafter se colocó 1 mL de muestra y se dejó

reposar durante una hora antes de cuantificar usando un microscopio óptico, que tenía adaptada en el ocular un cuadrícula de 0,5 x 0,5 mm, previamente calibrada. Esto dio un área total de cuadrícula de 0,25 mm². Se contaron 50 cuadrículas, lo que representó un área de 12,5 mm² (0,25 x 50 mm), en un área total de la superficie de la cámara de 1000 mm² (20 x 50 mm), lo que equivale a evaluar 1/80^{avo} de la cámara. De este modo, el número de protozoarios por mL de dilución se obtuvo multiplicando el conteo promedio de 50 cuadrículas por 80. El número de protozoarios de la muestra original se corrigió por el factor de dilución (100).

Para la determinación de huevos de helmintos se empleó la técnica de sedimentación – centrifugación con formol-éter (NOM, 1998). Para la expresión de los resultados se utilizó la fórmula donde la muestra original se corrigió por el. Los huevos de helmintos fueron expresados como número de huevos de helmintos/mL, a partir de la utilización del factor de dilución (150).

Diseño del Experimento

Los datos fueron arreglados en un diseño completamente aleatorizado, efectuando un análisis de varianza sobre los parámetros medidos por medio del paquete estadístico SAS (2005), para el efecto de la profundidad de las lagunas sobre su contaminación, y comparar las lagunas de oxidación con la laguna natural. La separación de medias fue realizada usando la prueba de mínima diferencia significativa con nivel de significancia menor a 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Coliformes totales y fecales

La mayor concentración de CT fue observada en D, con un valor de 1,10 x 10⁹ NMP/100 mL. En cuanto a las lagunas, en general el mayor valor se encontró en la laguna A, seguido por la laguna C y por último en la laguna B (Cuadro 1). Cuando se compararon las diferentes profundidades muestreadas en las lagunas observamos que no existe un patrón común entre ellas. En la laguna A la cantidad de CT fue significativamente mayor ($P < 0,05$) a la profundidad 50-70 cm comparado con las muestras superficiales, mientras que no se observaron diferencias entre profundidades en las restantes lagunas. Valores similares han sido señalados por Botero *et al.* (2002) y Valbuena *et al.* (2002), quienes evaluaron las lagunas de estabilización del sistema de tratamiento de aguas residuales de la Universidad del Zulia (Venezuela), de las que se deriva agua para el riego agrícola en el área. Respecto a CF, en el Cuadro 1 se observa su disminución al pasar por las lagunas de oxidación. Los valores observados van

desde 1 x 10⁸ a 1 x 10⁵ NMP/100 mL. No se observó diferencia significativa entre las lagunas de oxidación y la laguna natural C a nivel superficial. Cuando se comparan entre las dos lagunas de oxidación, observamos que a nivel superficial existe una mayor cantidad no significativa de CF en la laguna B y una cantidad significativamente mayor a profundidades >50cm comparada con la laguna A. Sin embargo, se esperaba lo contrario, es decir mayor cantidad de CF en A, debido a que esta laguna está recibiendo un flujo de agua con valores de 1,10 x 10⁸ NMP/100 mL, proveniente de D. Al alcanzar la laguna A la flora microbiana CF disminuye (5,07 x 10⁵ NMP/100 mL en la superficie y 4,8 x 10⁵ NMP/100 mL en la profundidad) y se ve incrementada (8,8 x 10⁵ y 3,00 x 10⁶ NMP/100mL, para la superficie y profundidad, respectivamente) al pasar a la laguna B. Esto indica que no está ocurriendo el proceso de oxidación y sedimentación que deberían experimentar la laguna B. Por otra parte, en la laguna C se observó un valor de CF de 1,04 x 10⁶ y 4,20 x 10⁵ NMP/100 mL, para la superficie y profundidad, respectivamente, lo cual revela que la contaminación observada en D está llegando hasta esta laguna natural.

Estos resultados evidencian una contaminación reciente con material fecal, ya que las bacterias coliformes son capaces de sobrevivir solo por períodos cortos de tiempo a temperatura ambiente (Sardiñas *et al.*, 2006). Por otra parte, la presencia de CF en la laguna C evidencia que existe entrada a la laguna de aguas contaminadas y se presume que estas aguas pueden provenir del desagüe (D), debido a que la corriente de este caudal de agua se dirige a la zona agrícola.

En general, aunque se observa una disminución superior al 90% de la cantidad de CT y CF en las lagunas de oxidación, la cantidad tanto en la superficie como en las profundidades de las lagunas es considerada alta. En este sentido, la legislación venezolana (GORBV, 1995), y en

Cuadro 1. Cuantificación de coliformes (totales y fecales) de aguas provenientes de desagüe, lagunas de oxidación y laguna natural ubicadas en la zona agrícola Barbacoas, estado Aragua.

Fuente del agua	Profundidad (cm)	Coliformes (NMP/100 mL)	
		Totales	Fecales
Desagüe D		1,10 x 10 ⁹	1,10 x 10 ⁸
Laguna A	0-50	2,40 x 10 ⁷ b	5,07 x 10 ⁵ b
	50-70	8,87 x 10 ⁸ a	4,80 x 10 ⁵ b
Laguna B	0-50	2,80 x 10 ⁵ b	8,80 x 10 ⁵ b
	50-70	9,87 x 10 ⁵ b	3,00 x 10 ⁶ a
Laguna C	0-50	1,10 x 10 ⁷ b	1,04 x 10 ⁶ b
	50-70	2,20 x 10 ⁸ b	4,20 x 10 ⁵ b

^{a,b} Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencia estadística ($P \leq 0,05$)

lo referente al empleo de aguas servidas con fines agrícolas, se establece que los CT no deben exceder el promedio mensual de 5 000 NMP/100 mL, y para CF este mismo indicador no debe ser mayor de 1 000 NMP/100 mL. Por su parte, la Organización Mundial de la Salud (1989) clasifica a las aguas residuales a ser utilizadas para riego como tipo A cuando el cultivo será consumido crudo, y el límite permitido para CF es $\leq 1\ 000$ CF/100 mL, mientras que la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (2004) recomienda unas guías de uso para aguas residuales más estrictas en el caso de riego de cultivos a ser consumidos crudos, donde se exige ausencia total de CF en 100 mL de agua.

Escherichia coli y *Salmonella*

El Cuadro 2 muestra los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas y confirmatorias realizadas a las muestras de agua, para detectar la presencia de *E. coli* y *salmonella*. Los resultados indican la presencia de *E. coli*, tanto en el agua del desagüe como en todas las lagunas estudiadas a ambas profundidades, incluyendo a la laguna natural. *Escherichia coli* es un microorganismo capaz de fermentar tanto glucosa como lactosa, no puede liberar azufre de monosulfato de sodio en forma de H_2S (Caffer y Terragno, 2001), y no posee la enzima ureasa. Es capaz de formar ácidos durante la fermentación de la glucosa por la vía acida-mixta (rojo de metilo) y no por la vía butanodiólica. Una de las características de *E. coli* es que no puede crecer utilizando citrato como única fuente de carbono (Cuadro 2).

La presencia de *E. coli* en todas las lagunas muestreadas implica un riesgo de salud pública, tanto para los habitantes de la zona de Barbacoas, como para los consumidores de las hortalizas que provienen de dicha zona, ya que existen evidencias que demuestran que el uso de agua de riego contaminada puede incrementar la frecuencia de microorganismos patógenos detectados en las hortalizas (Díaz-Sobac y Vernon-Carter, 1999). Por

otra parte, la presencia de *E. coli* en la laguna C no solo implica un riesgo para la zona de Barbacoas, sino para toda la zona central de Venezuela, ya que esta laguna se comunica con el río Guárico. Las aguas provenientes de este río son usadas no solo para riego sino también para recreación, por lo tanto, existe riesgo sanitario para las para las comunidades usuarias de estos cuerpos de agua.

Protozoarios y huevos de helmintos

Los resultados muestran la presencia de protozoarios en la totalidad de las muestras de aguas analizadas, con valores de 4 333 a 5 750 microorg./L (Cuadro 3). Cuando se compara las diferentes lagunas, se observa que no existió diferencia significativa ($P \leq 0,05$) entre ellas a las profundidades estudiadas. Sin embargo, se aprecia en los valores, tanto de protozoarios como de huevos de helmintos, un sentido descendente de laguna B (50 - 70 cm) > laguna A (0 - 50 cm) = C (50 - 70 cm) > laguna A (0 - 50 cm) = laguna C (0 - 50 cm). Al comparar los valores obtenidos con D, observamos que la población de protozoarios incrementó en la laguna B a 50-70 cm, lo cual es indicativo que a esta profundidad parece propiciar la proliferación de protozoarios (Cuadro 3).

Los protozoarios son considerados bioindicadores del estado de funcionamiento de las depuradoras de aguas residuales, estimándose como los principales consumidores de las poblaciones bacterianas en los sistemas acuáticos, jugando un rol importante como productores primarios de las cadenas tróficas. Este proceso es realizado en dos fases: mineralización del material orgánico y saneamiento donde disminuye la concentración de bacterias (Solarte *et al.*, 2006). Es claro que el proceso de saneamiento, donde debe haber una disminución de las bacterias en los cuerpos de agua, no se está llevando a cabo tal como lo demuestra el elevado número de CT y CF encontradas en este estudio. Sin embargo, un alto número de protozoarios parásitos ha sido señalado por Botero *et al.* (2003) y

Cuadro 2. Pruebas bioquímicas para la determinación de *Escherichia coli* en aguas provenientes de desagüe, lagunas de oxidación y laguna natural ubicadas en la zona agrícola Barbacoas, estado Aragua.

Fuente del agua	Profundidad (cm)	Kligler					IMViC			
		Glucosa	Lactosa	Gas	H_2S	Urea	Indol	Rojo de Metileno	Voges Proskavor	Citrato
Desagüe D		+	+	+	-	-	+	+	-	-
Laguna A	0-50	+	+	+	-	-	+	+	-	-
	50-70	+	+	+	-	-	+	+	-	-
Laguna B	0-50	+	+	+	-	-	+	+	-	-
	50-70	+	+	+	-	-	+	+	-	-
Laguna C	0-50	+	+	+	-	-	+	+	-	-
	50-70	+	+	+	-	-	+	+	-	-

Signos + en las filas

Cuadro 3. Cuantificación de protozoarios y huevos de helmintos en aguas provenientes de desagüe, lagunas de oxidación y laguna natural ubicada en la zona agrícola Barbacoas, estado, Aragua.

Fuente de agua	Profundidad (cm)	Protozoarios (microg./L)	Helmintos (huevos/L)
Desagüe D		5000	270
Laguna A	0 – 50	4750	1377a
	50 – 70	4417	1090a
Laguna B	0 – 50	4333	385b
	50 – 70	5750	1220a
Laguna C	0 – 50	4333	225b
	50 – 70	4750	170b

^{a,b} Letras diferentes dentro de la misma filas indican diferencia estadística ($P \leq 0,05$)

Botero *et al.* (2006) en aguas residuales contaminadas con CT y CF, por lo que existe una alta probabilidad que los protozoarios cuantificados en este estudio sean parásitos, y no protozoarios capaces de depurar aguas residuales.

Los protozoos tienen importancia en la industria del procesamiento del agua, pues ésta es un vehículo para la transmisión de la mayoría de estos protozoarios. Un estudio realizado por Devera *et al.* (2006) determinó una elevada prevalencia de contaminación por parásitos intestinales en hortalizas, entre las cuales los protozoarios fueron los más frecuentes. Esta contaminación pudo haber ocurrido por el agua de irrigación, ya que la principal forma de contaminación de hortalizas ocurre a través del agua contaminada por material fecal de origen humano. Por otra parte, aguas de irrigación cargadas con alto contenido de protozoarios pueden tener un efecto negativo sobre la flora microbiana del suelo. Los protozoarios limitan la densidad de población de bacterias promotoras de crecimiento vegetal como: *Azospirillum*, *Derxia*, *Burkholderia*, *Azotobacter*, su abundancia causa que se inhiba su efecto positivo sobre el cultivo vegetal (Trolldenier, 1989). No existe ninguna norma nacional o internacional para los valores máximos permitidos para protozoarios.

Al igual que los protozoarios, los huevos de helmintos tuvieron una presencia en la totalidad de las muestras de aguas evaluadas, observándose diferencias entre los tratamientos, con un rango de 170 a 1 377 huevos/L. Promediando ambas profundidades muestreadas, la laguna A presentó un mayor número de huevos de helmintos (1234 huevos/L) en comparación con las otras dos lagunas. Es evidente el aumento de los huevos/L cuando se compara D con las lagunas de oxidación. Se considera que esta cantidad de huevos es muy elevada, lo que representa un riesgo considerable para la salud pública. El número de huevos detectado en laguna C es similar en ambas profundidades y el número

de huevos encontrado es muy cercano al hallado en el desagüe. La profundidad de muestreo fue significativa solo en la laguna B donde se observó un mayor número a la profundidad de 50-70 cm.

La presencia de huevos de helmintos es uno de los principales problemas de salud pública al reutilizar el agua residual. En un estudio realizado en aguas residuales urbanas por Menocal y Chiroles (2004), obtuvieron que 74% de los análisis dieron positivos, mientras que Valbuena *et al.* (2002) obtuvieron 100% positivos en muestras de aguas residuales analizadas para huevos de helmintos. En Venezuela no existe una normativa en relación con la presencia de huevos de helmintos en aguas para su reutilización, y se siguen los lineamientos de la OMS (1989), que establecen que la tolerancia para el número de huevos viables de helmintos en agua residual debe ser ≤ 1 huevo/L de agua residual empleada en irrigación agrícola. Se han hecho estudios que indican que estas directrices pueden modificarse, aumentando hasta 10 huevos/L sin que se registre riesgo a la salud humana (Ayres *et al.*, 1992). Al igual que en el caso de los coliformes, los valores obtenidos en las tres lagunas estudiadas superan lo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1989).

CONCLUSIONES

Las muestras de agua analizadas arrojaron un alto porcentaje de microorganismos indicadores de calidad sanitaria (coliformes totales y fecales, *E coli*, protozoarios y huevos de helmintos), evidenciando un alto grado de contaminación de las aguas. Esto las clasifica como no aptas para ser usadas como aguas de riego y mucho menos como uso recreacional.

Por otra parte, la alta carga microbiana de origen fecal nos indica que las lagunas de oxidación no están asegurando ningún grado de remoción de esta flora por lo que no adecuan las aguas residuales de origen urbano para su reuso en agricultura.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association. Washington, EUA.
- Allende, A., Selma, M.V., Lopez-Golvez, F., Villaescusa, R. y M.I. Gil. 2008. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 155–163.

- Ayres R.M.; R. Stott, D.D. Mara; D.L. Lee, 1992. Wastewater reuse in agriculture and the risk of intestinal nematode infection. *Parasitol. Today* 8: 32-35.
- Botero L.; I. Arnedo; M. Bracho; O. Díaz. 2006. Determinación de la presencia de parásitos y bacteriófagos en un sistema de tratamiento de aguas residuales. *Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. Punta del Este, Uruguay. pp. 1-10.
- Botero, L.; J.L. Zambrano; C. Oliveros; D. León; M. Sarcos; M. Martínez. 2002. Calidad microbiológica del agua de un sistema de lagunas de estabilización a ser empleada en irrigación. *Rev. Fac. Agron. (Venezuela)* 19: 312-323.
- Caffer, M.I.; R. Terragn. 2001. Manual de procedimientos para la caracterización de Salmonella. Servicio Enterobacterias, Departamento Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires, Argentina. 37 p.
- Cazarez, G.; P. Gortares; W. Rubio; C. Martínez; P. Meza; C. Chaidez. 2004. Presencia y supervivencia de coliformes fecales, *Salmonella spp.* y *Listeria spp.* en agua de uso agrícola en el valle de Culiacan. XIV Congreso Nacional. Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales. Mazatlán, Sinaloa. 12 al 14 de Mayo, 2004.
- Del Pilar, M.; S. Ávila; S. Estupiñán; A. Gómez. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *NOVA (Colombia)* 3: 69-79.
- Devera, R; Y. Blanco; H. González; L. García. 2006. Parásitos intestinales en lechugas comercializadas en mercados populares y supermercados de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 26: 100-107.
- Díaz-Sobac, R.; J. Vernon-Carter. 1999. Inocuidad microbiológica de frutas frescas y mínimamente procesadas. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 2: 133-136.
- Dehority, B. 2004. *Rumen Microbiology*. Nottingham University Press. Nottingham, UK. pp. 372.
- FAO. 2001. Normas sobre la calidad del agua. Secretaria de estado de medio ambiente y recursos naturales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia.
- GORBV. 1995. Normas para la clasificación y control de la calidad de los cuerpos receptores de agua y vertidos o efluentes líquidos. Norma N° 5021, Decreto 883. *Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela*. Caracas, Venezuela.
- Horwitz (ed.). 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.
- Leal, M.; S. Gelover; K. Reyes; L. Gómez. 2006. Inactivación de huevos de helminto mediante fotocatalisis solar con TiO₂. XXX Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Punta del Este, Uruguay. pp. 1 – 5.
- Lura, M.; D. Beltramino; B. Abramovich; E. Carrera; M. Haye; L. Contini. 2002. El agua subterránea como agente transmisor de protozoos intestinales. *Rev. Chil. Pediatr (Chile)* 73: 415-424.
- Menocal, L.; S. Chiroles. 2004. Consideraciones generales acerca de los huevos de helmintos en aguas residuales. *Cub@: Medio Ambiente y Desarrollo* 4. Disponible en: http://www.medioambiente.cu/revistama/7_03.asp. (Consultado: Mayo 2009)
- NOM. 1998. Límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público (NOM-003-ECOL-1997). Normas Oficiales Mexicanas para la protección Ambiental. *Diario Oficial de la Federación*. México. pp. 1-6.
- OMS. 1989. Directrices sanitarias sobre el uso de agua residuales en agricultura y acuicultura, Informe de Grupo Científico. Organización Mundial de la Salud. Serie de Informes Técnicos 778. Ginebra, Suiza.
- Palese, A; V. Pasquale; G. Celano; G. Figliouolo; S. Masi; C. Xiloyannis. 2009. Irrigation of olive groves in Southern Italy with treated municipal wastewater: Effects on microbiological quality of soil and fruits. *Agr. Eco. Environ.* 129: 43-51.
- Sandoval, L.; J. Collí. 2004. Tratamiento integral de agua residual municipal, su desinfección y reuso en la agricultura. XXIX Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. San Juan, Puerto Rico.
- Sardiñas, O.; S. Chiroles; M. Fernández; Y. Hernández; A. Pérez. 2006. Evaluación físico-química y microbiológica del agua de la presa El Cacao (Cotorro, Cuba). *Higiene y Sanidad Ambiental*, 6: 202-206. Disponible en: [http://www.ugr.es/~dpto_prev/revista/pdf/Hig%20Sanid%20Ambient%206%20202-206%20\(2006\).pdf](http://www.ugr.es/~dpto_prev/revista/pdf/Hig%20Sanid%20Ambient%206%20202-206%20(2006).pdf) (Consultado: Mayo 2009)
- SAS. 2005. *Procedures guide*. Release 9, 2da ed. SAS Institute. Cary, EUA.
- Silva, J.; L. Ramírez; A. Alfieri; G. Rivas; M. Sánchez.

2004. Determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria; Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego. Edo. Carabobo, Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 24: 46-49.
- Solarte, Y.; M. Peña; C. Madera. 2006. Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colom. Med* 37: 74-82.
- Tebutt, T. 1993. Fundamentos de Control de la Calidad del Agua. 3^{ra} ed. Editorial Limusa. Ciudad de México, México.
- Tomasini, A. C. 2002. Muestreo y preservación para *coliformes fecales* y huevos de Helminto, "Serie autodidáctica de medición de la calidad del agua", Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Comisión Nacional del Agua, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Ciudad de México, México.
- Trolldenier, G. (1989) Plant nutritional and soil factors in relation to microbial activity in the rhizosphere, with particular emphasis on denitrification. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 152: 223-30
- Turco, R.F. 1994. Coliform bacteria. *In: Weaver, R.W.; J.S. Angle; P.S. Bottomley (Eds). Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties. SSSA Book Series, No 5. pp. 145-158.*
- USEPA, 2004. Guidelines for water reuse. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, EUA. 281 p. Disponible en: <http://www.epa.gov/nrmrl/pubs/625r04108/625r04108.pdf> (Consultado: Enero 2009)
- Valbuena, D.; O. Díaz-Suárez; L. Botero-Ledesma; R. Cheng-Ng. 2002. Detección de helmintos intestinales y bacterias indicadoras de contaminación en aguas residuales, tratadas y no tratadas. *Interciencia* 27: 710-714.
- Woomer, P.L. 1994. Most probable number counts. *In: Weaver, R.W.; J.S. Angle; P.S. Bottomley (Eds). Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties. SSSA Book Series, No 5. pp. 59-79.*