



MONITOREO DE PARÁSITOS PATÓGENOS EN EFLUENTES AGROINDUSTRIALES ¹

MONITORING OF PATOGEN PARASITES IN WASTE WATERS OF AGRICULTURAL INDUSTRIES

Verónica L. Enriquez ²
Adriana E. Soria ²
María C. Salomón ³

Originales
Recepción: 26/08/2002
Aceptación: 05/09/2002

RESUMEN

Las aguas residuales son potenciales portadoras de enteroparásitos patógenos para el hombre cuya dosis infectiva puede ser mínima y prolongado el tiempo de sobrevivencia de huevos y quistes en el ambiente. La reglamentación limita la presencia de huevos de helmintos y, hasta el año 2000, no proponía una técnica para su detección. Este trabajo se realizó para caracterizar parasitológicamente los efluentes procedentes de agroindustrias.

La capacitación en la identificación microscópica demandó la confección de fichas que describen las características de huevos de helmintos. Se efectuaron ensayos con muestras de bodegas y aceiteras en los puntos detectados de contaminación. Los métodos fueron adaptados a las particularidades de los efluentes.

Los resultados no señalaron presencia de helmintos; no obstante, se hallaron *Cyclospora* e *Isospora*, protozoarios que, por su alto poder infectivo, también constituyen un riesgo para el hombre. Sin embargo, no están contemplados por la legislación. Respecto a helmintos, es necesario un estudio comparativo de las técnicas de detección

ABSTRACT

Wastewaters are potential human's pathogenic parasite carriers which could be infective in small quantities. Besides, the eggs and cysts survival time could be prolonged. Regulation, restricts helminths eggs presence and, until 2000, did not propose a detection technique. This research aims to the parasitological characterization of waste water from agrarian industries.

Training about microscopical identification led us to write a helminths eggs characteristics description. Since the detection of pollution points, essays were made with samples from wine vault and olive oil factories. Techniques were adapted, according to wastewater peculiarities.

The results did not show helminths presence, but we found *Cyclospora* and *Isospora*. They are protozoa whose high infective power makes them a human health risk. However, they are not included in current legislation. With respect to helminths, we concluded that it is important to make a detection techniques comparative study for wastewater in order to establish which one is the best for helminths recovery.

- 1 Pertenece al proyecto: Mejoramiento de la calidad en los procesos agroindustriales: Una estrategia para el monitoreo y la jerarquización de los puntos de contaminación ambiental. SECYT. UNCuyo.
- 2 Dpto. de Biomatemática y Físicoquímica. Facultad de Ciencias Agrarias. UNCuyo. Alte. Brown N° 500. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. M5528AHB. ccea@fca.uncu.edu.ar
- 3 Dpto. de Patología. Área de Parasitología. Facultad de Ciencias Médicas. UNCuyo. Centro Universitario. Parque Gral. San Martín. 5500 Mendoza.

para efluentes agroindustriales, con el fin de establecer las que optimicen su recuperación. En cuanto a otras especies es preciso continuar investigando su presencia para evaluar la conveniencia de incorporarlas a la reglamentación.

Since other species identification, it is necessary to investigate their presence in order to evaluate the convenience of incorporating them to water regulation.

Palabras clave

aguas residuales • polución del agua
• parásitos • análisis de agua • contaminación biológica

Key words

waste water • water pollution •
parasites • water analysis • biologic
pollution

INTRODUCCIÓN

A la agricultura se destina alrededor del 70 % del total del agua dulce que se explota en el mundo y cabe esperar que cada vez se utilizará más agua para el riego con el fin de incrementar la producción de alimentos. De tal modo, es indispensable un manejo inteligente que permita conservar, proteger y mejorar las reservas hídricas. La FAO promueve como una solución fundamental la gestión más eficiente del manejo del agua y propone que, en las regiones donde escasea, se deberían contemplar seriamente las reformas políticas e inversiones en la explotación, conservación y utilización de dicho recurso. (15)

Argentina carece de planeamiento en la radicación de industrias lo cual ha dado lugar a la ubicación de las mismas en lugares próximos a los cursos de agua. Como consecuencia, importantes caudales de aguas residuales producidos en los procesos agroindustriales se vuelcan en los canales de riego. Desafortunadamente, no es frecuente aplicar tratamientos que reduzcan la carga contaminante de dichos vertidos. Esta situación representa un peligro potencial para la salud humana, ya que pueden darse distintas circunstancias: consumo directo de agua por pobladores ribereños, riego de cultivos, actividades de esparcimiento y consumo de la fauna ictícola (8, 9). Cabe agregar que las condiciones desérticas de Mendoza se suman a estas realidades y ponen de manifiesto la necesidad de cuidar la calidad del agua, tanto la destinada a potabilización como la de riego.

Las características de los efluentes los convierten en sustrato ideal para el desarrollo, proliferación y propagación de bacterias y parásitos intestinales. Los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales, por lo general, no son eficaces para eliminar los huevos de helmintos (14). La normativa provincial establece límites para la presencia y cantidad de bacterias fecales contaminantes presentes en los líquidos vertidos a cuerpos receptores (7). También restringe la eventual presencia de parásitos pero sólo contempla huevos de helmintos, sin tener en cuenta otros agentes parasitarios productores de patología humana y animal. Monitorear la presencia de estos microorganismos fue el objetivo de la presente investigación, para la cual se analizaron muestras de tres industrias vitícolas y oleícolas de Mendoza.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el 2000 se optimizaron las técnicas a emplear, ajustándolas a las características de los efluentes analizables.

En el 2001 se efectuaron ensayos con muestras tomadas durante la molienda de tres bodegas y tres industrias oleícolas. Estos establecimientos poseen ambas plantas de elaboración en el mismo predio. Dos de ellos utilizan agua de pozo y el restante, agua potable provista por el municipio de Luján de Cuyo. En una de las bodegas se consideraron dos sectores: Fraccionamiento y Envasado. Los mismos se analizaron por separado ya que el recorrido de los efluentes era independiente uno del otro y su vertido se hacía en piletas diferentes. Se estudió el itinerario de las aguas residuales a lo largo del proceso de elaboración para cada uno de los establecimientos. En consecuencia, se decidió analizar -para todos los casos- los puntos de muestreo indicados a continuación:

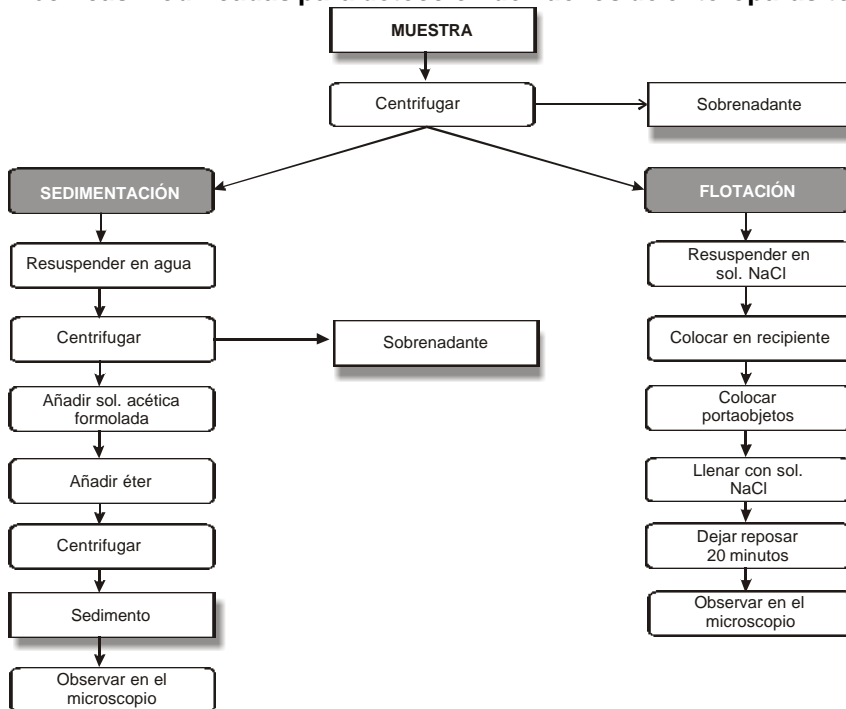
- *Agua que ingresa a la planta*
A fin de evaluar la calidad microbiológica al inicio del proceso de elaboración.
- *Punto intermedio*
Lugar donde se recogen todos los efluentes de la planta, originados exclusivamente durante el proceso de elaboración. Para la bodega, correspondió a las canaletas que se encuentran a la salida de la misma. En el caso de las aceiteras, coincidió con la pileta de vertido del alpechín.
- *Pileta final de vertido de efluentes*
Para evaluar la carga micobiana en los efluentes eliminados. Por otra parte, puede aportarse contaminación de otras fuentes. Una de ellas, la presencia en los alrededores de animales portadores de parásitos.

Puesto que la normativa vigente, hasta el momento de iniciar el presente trabajo, no indicaba métodos para determinar de huevos de helmintos (10), se eligieron dos técnicas para la detección de huevos de parásitos intestinales (3):

- **Centrifugación - Flotación con NaCl:** indicadas para concentrar huevos de helmintos ya que por su densidad flotan fácilmente cuando se suspenden en una solución de alta concentración salina.
- **Centrifugación - Sedimentación con solución acética formolada:** preferentemente para concentrar quistes de protozoarios, mediante el uso de soluciones salinas de baja densidad.

Ambas se fundamentan en que, al encontrarse irregularmente dispersos en las aguas residuales, es necesario concentrar los elementos parasitarios. Se introdujeron modificaciones dado que las muestras contenían gran cantidad de sedimentos. Se validaron las nuevas técnicas por ensayos de recuperación empleándose muestras positivas de materia fecal, diluidas en agua. Finalmente se obtuvieron las técnicas modificadas esquematizadas en el diagrama de flujo (pág. 28). Para complementar el estudio se analizó microbiológicamente las muestras respectivas, según especificaciones de la legislación.(10)

Técnicas modificadas para detección de huevos de enteroparásitos



Cualquiera sea el método de concentración utilizado, la identificación del agente se logra por el análisis de sus características morfológicas, observando en microscopio (100X y 400X) todo el material fresco concentrado (3)

RESULTADOS

I. La determinación de huevos de helmintos exigió una capacitación previa para su reconocimiento y recuperación. En esta etapa se observaron al microscopio muestras positivas de huevos de helmintos, provenientes de materia fecal humana y canina. Consecuentemente se elaboró una descripción de los elementos parasitarios que representa una novedosa herramienta para el analista que se interese en identificar estos elementos patógenos, ya que no se disponía de una guía con estas particularidades. En la tabla 1 (pág. 29) se describe las características del estadio de aquellas especies que, debido a su medio de propagación, presentan una alta probabilidad de ser halladas en efluentes agroindustriales.

II. En distintas fechas se tomaron muestras durante el proceso de molienda, tanto de las bodegas como de las aceiteras. Las mismas se sometieron a análisis. Las observaciones microscópicas no indicaron la presencia de helmintos; sin embargo, en las piletas de vertido de efluentes de una de las bodegas se detectó la existencia de los protozoarios *Isoospora* (en el sector de Fraccionamiento) y *Cycloospora* (en el sector de Envasado). Aunque estos parásitos afectan la salud humana, la legislación no los contempla en su reglamentación. Sus características se describen en la tabla 2 (pág. 29).

Tabla 1. Taxonomía y características microscópicas de huevos de helmintos.

Phylum	Clase	Especie	Huevo
Platyhelminthes	Tremátodes	<i>Fasciola hepática</i> (4)	Ovoides, amarillentos, operculados. 130 -150 por 60 – 90 µm.
	Céstodes	<i>Hymenolepis nana</i> (4)	Esféricos (30 – 50 µm de diámetro). Contienen un embrión hexacanto. Doble envoltura que deja un espacio entre sus dos capas, donde discurren filamentos que nacen de dos mamelones polares de la membrana interna.
		<i>Taenia saginata</i> (4)	Esféricos, rodeados de vitelo. (30 - 40 µm de diámetro). Envoltura (embrióforo) radiada, densa. Contiene un embrión hexacanto.
		<i>Taenia solium</i> (4)	Similares a los de <i>Taenia saginata</i>
Nemathelminthes	Nemátodes	<i>Trichiuris trichiura</i> (2)	No se encuentran totalmente embrionados. Forma de limón o tonel, amarillentos. (50 por 20 µm de diámetro). Doble membrana y envoltura albuminoide. Mamelones (uno en cada polo).
		<i>Ascaris umbricoides</i> (2)	Ovales (40 a 80 por 35 a 50 µm). Membranas gruesas, transparentes. Cubierta albuminoidea mamelonada. No están totalmente embrionados al momento de la postura. Los infértiles son algo más delgados y largos, con envoltura más delgada.

Tabla 2. Taxonomía y características microscópicas de quistes de protozoarios encontrados en efluentes vitícolas.

Phylum	Subclase	Especie	Quiste
Apicomplexa	Coccidea	<i>Isospora belli</i> (2, 4)	Forma oval, pared lisa. 20 a 30 µm por 10 a 20 µm. Contienen esporoblasto. Doble pared retráctil. Estrechamiento en los polos. Interior de ooquistes no esporulados: una estructura esférica (esporonte). Ooquistes esporulados: dos estructuras esféricas (esporoquistes). Dentro de los esporoquistes se hallan cuatro esporozoítos.
		<i>Cyclospora sp.</i> (4)	Estructuras esféricas. 8 a 10 µm. Pared de los ooquistes retráctil y doble. Ooquistes no esporulados: una estructura esférica en su interior (esporonte). Ooquistes esporulados: dos estructuras ovoides en su interior (esporoquistes).

III. Para confirmar la presencia de los protozoarios se inoculó una alícuota de las muestras positivas en dicromato de potasio, el cual induce la esporulación y permite diferenciar distintos quistes de coccidios (*Cyclospora*, *Isospora*, etc.). Este procedimiento resultó en la esporulación de los ooquistes presentes en las muestras. También, para la identificación de ooquistes de coccidios, fue necesario aplicar la técnica de coloración de Kinyou (Zielh-Neelsen modificada, 2). La misma permitió corroborar los hallazgos por la afinidad tintorial de los ooquistes y las características morfológicas observadas con mayor aumento.

IV. Para solventar las dificultades relacionadas con las normativas y técnicas referentes a los análisis efectuados se redactó un manual de procedimientos. Dicho manual cuenta con técnicas microbiológicas y parasitológicas, descripciones morfológicas, fotos y esquemas. (12) (Las bibliotecas de las Facultades de Ciencias Agrarias y Ciencias Médicas de la UNCuyo cuentan con ejemplares.)

V. Las muestras pertenecientes al establecimiento que acusó presencia de protozoarios también arrojaron resultados microbiológicos interesantes: en el sector Fraccionamiento se obtuvieron -para el agua que ingresa a la planta- recuentos de bacterias aerobias mesófilas y coliformes totales fuera de los límites. En el sector Elaboración también se extralimitaron los recuentos tanto de coliformes totales como fecales, para el mismo punto de muestreo.

CONCLUSIONES

En los análisis efectuados fue relevante la aparición en los efluentes de otros elementos parasitarios, no considerados por la legislación. Los protozoarios encontrados, como los helmintos, implican un factor de riesgo para los humanos. Sólo se busca helmintos debido a que el tamaño de sus huevos los hace fáciles de detectar. Sería necesario continuar la investigación de otros parásitos perjudiciales para el hombre y viables en aguas residuales. Si se obtuviera evidencia suficiente sobre su presencia, debería evaluarse la posibilidad de incorporar límites en las normativas.

Contrastando los resultados parasitológicos con los análisis microbiológicos, llama la atención que se dieran condiciones de contaminación biológica en el mismo establecimiento, en los dos sectores (fraccionamiento y envasado), tanto en el agua que ingresa como los efluentes resultantes. El hecho de que el agua, proveniente de pozos propios de la bodega, se reserve en tanques para su posterior distribución hacia la planta, llevó a pensar en la posibilidad de que los reservorios no se encontraran en condiciones sanitarias óptimas y el agua adquiriera una importante carga bacteriana en este punto.

La inadecuada calidad microbiológica del agua implica un detrimento tanto en la sanidad del producto obtenido como en las características microbiológicas de los efluentes originados. Esto se pone de manifiesto con el hallazgo de protozoarios en las piletas de vertido que, si bien se detectaron en este punto, podrían haber apare-

cido al inicio del recorrido. No obstante, los parásitos también podrían provenir de animales que merodeen en los alrededores de las piletas de vertido, ubicadas a la intemperie y sin ningún tipo de protección. Por lo tanto, se aconsejó al industrial que realice un control más estricto del agua y que aplique medidas preventivas en los alrededores de las piletas de vertido.

Cabe señalar que, en el 2000, el Departamento General de Irrigación de Mendoza propuso una técnica para detección de huevos de helmintos. La presente investigación ya estaba en curso cuando apareció la misma y no se logró tener acceso sino después de concluidos los análisis. En consecuencia, sería conveniente realizar un estudio comparativo entre las técnicas de identificación y cuantificación de parásitos que se aplicaron, con las propuestas por la reglamentación. Su finalidad sería determinar aquella que mejor recupere los huevos de helmintos, sometiendo los resultados a un análisis estadístico.

Como se evidenció en la presente investigación, las aguas residuales adquieren características diversas según la procedencia de la muestra a analizar. Por ello, es necesario adaptar los métodos. Por lo tanto, una vez determinada la técnica que optimiza la detección de huevos de helmintos, sería lógico evaluar la misma con muestras de efluentes a fin de adaptarlas a sus características particulares.

Agradecimientos

A Cristina Mana y Rosa Tonelli, por su colaboración y asesoramiento en la identificación de elementos parasitarios.

A J. Fuentes Berazategui, María Belén Rodríguez, Marisa Meca y Graciela Fasciolo, por sus aportes referentes a normativa y técnicas.

Al área de Parasitología de la Facultad de Ciencias Médicas (UNCuyo) por su cooperación en los aspectos operativos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos Malbrán". 2001. Curso de Protozoarios entéricos oportunistas.
2. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 1999. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th edition.
3. Aurazo de Zumaeta, Margarita. 1993. Manual del Programa de mejoramiento de la calidad analítica de los laboratorios de la región. Identificación y cuantificación de enteroparásitos en aguas residuales. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. Lima. Perú.
4. Borremans, C. 2000. Curso: Identidad, microbios y defensa. Guía de apoyo teórico. Facultad de Ciencias Médicas (UNCuyo).

5. Broussous, P.; Cassignard, R.; Cuinier, C. y otros. ???? Guía práctica: La higiene en Enología de la vendimia al embotellado. Inst. Technique de la Vigne et du Vin. Paris. Versión española Eduardo Puig. Universidad Politécnica de Cataluña.
6. Chaia, G. 1975. Atlas de Parasitología. San Pablo. Brasil. Johnson y Johnson S.A.
7. Departamento General de Irrigación. 1996. Reglamento general para el control de contaminación hídrica. Gobierno de Mendoza.
8. Diario Los Andes. 01/08/1998. El Pescara, solución en papeles pero sigue la contaminación. Mendoza.
9. Diario Los Andes. 01/03/2002. El Pescara continúa contaminando barrios y fincas. Mendoza.
10. Ente Provincial del Agua y de Saneamiento. 1996. Res. EPAS N° 35/96.
11. García, Lynne Shore. 2001. Diagnostic medical parasitology. 4ª ed. Washington D.C. U.S.A. American Society for Microbiology.
12. Soria, A. E. y Enriquez de Montivero, V. L. 2002. Manual operativo del usuario. Análisis parasitológico y microbiológico de efluentes agroindustriales. Facultad de Ciencias Agrarias (UNCuyo).
13. Zaman. 1988. Atlas Color de Parasitología Clínica. 2° ed. Edit. Médica Panamericana.

Sitios en internet:

14. Tratamiento de aguas residuales. CEPIS [en línea]. Actualizado el 05/23/2002 12:09 [citado el 10/21/2002]. <http://www.cepis.ops-oms.org>
15. 16 de octubre de 2002: Día mundial de la alimentación. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. [en línea] [citado el 10/21/2002]. <http://www.rlc.fao.org>