

ARTÍCULO ORIGINAL

Huevos de helmintos como indicadores de contaminación de origen fecal en aguas de riego agrícola, biosólidos, suelos y pastos

María Claudia Campos, Milena Beltrán, Nancy Fuentes, Gerardo Moreno

Departamento de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. La disposición de las aguas residuales y de los biosólidos provenientes de los sistemas de depuración es una práctica común en la agricultura debido a su alta concentración de nutrientes, lo cual mejora el rendimiento de las cosechas. Sin embargo, la presencia en ellos de microorganismos patógenos de origen fecal genera riesgos sanitarios para los agricultores y los consumidores.

Objetivo. Determinar la presencia y la concentración de huevos de helmintos en aguas utilizadas para riego agrícola, así como en biosólidos, suelos y pasto.

Materiales y métodos. Se recolectaron y analizaron muestras de agua, biosólidos, suelos y pasto, para la detección y el conteo del total de huevos de helmintos y de huevos viables, y para la evaluación de su comportamiento en aguas utilizadas en el riego agrícola y el cultivo de pasto para ganado lechero en los que se habían utilizado biosólidos como enmienda orgánica.

Resultados. En las aguas se encontraron concentraciones totales de 0,1 a 3 huevos de helmintos por litro y de 0,1 a 1 huevos viables de helmintos por litro. En biosólidos y suelos, hubo entre 3 y 22 huevos de helmintos por 4 g de peso seco, y entre 2 y 12 huevos viables por 4 g de peso seco. En los pastos, hubo un número total de menos de 2 a 9 huevos de helmintos por g de peso fresco y menos de 1 a 3 huevos viables por g de peso fresco. La permanencia en cada una de las matrices varió de días a meses, lo cual puede representar un riesgo sanitario para la población que trabaja en los cultivos y para los consumidores.

Conclusiones. La presencia de huevos de helmintos en las matrices evaluadas confirmó el riesgo sanitario de este tipo de entornos, por lo cual es importante su control e inclusión en las normas sobre el uso de aguas residuales y biosólidos en la agricultura.

Palabras clave: helmintos; indicadores de contaminación; aguas residuales; riesgo sanitario; zonas agrícolas.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3352>

Helminth eggs as parasitic indicators of fecal contamination in agricultural irrigation water, biosolids, soils and pastures

Introduction: A very common practice in agriculture is the disposal of wastewater and biosolids from water treatment systems due to their high nutrient content, which substantially improves crop yields. However, the presence of pathogens of fecal origin creates a sanitary risk to farmers and consumers.

Objective: To determine the presence and concentration of helminth eggs in irrigation waters, biosolids, agricultural soils, and pastures.

Materials and methods: Water, biosolids, soil, and pasture samples were collected and analyzed for helminth egg detection, total eggs and viable eggs counts. The behavior of helminth eggs was evaluated in irrigation waters and dairy cattle grassland, where biosolids had been used as an organic amendment.

Results: Concentrations between 0.1-3 total helminth eggs/L, and 0.1-1 viable helminth eggs/L were found in water. In biosolids and soil, we found 3-22 total helminth eggs/4 g of dry weight, and 2-12 viable helminth eggs/4 g of dry weight, and in grass, we found <2-9 total helminth eggs/g of fresh weight, and <1-3 viable helminth eggs/g of fresh weight. The presence of helminth eggs in each matrix varied from days to months, which may represent a sanitary risk to farmers as well as to consumers.

Contribución de los autores:

María Claudia Campos: preparación de los proyectos, diseños experimentales y escritura del manuscrito

Milena Beltrán: análisis de muestras y escritura del manuscrito

Nancy Fuentes: análisis de muestras

Gerardo Moreno: diseño experimental

Todos los autores participaron en la toma de muestras y el análisis de resultados.

Conclusions: The presence of helminth eggs in the assessed matrixes confirms the sanitary risk of such practices. Therefore, it is important to control and incorporate regulations related to the use of wastewater and biosolids in agriculture.

Key words: Helminths; pollution indicators; waste water; health risk; agricultural zones.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3352>

Diversos autores a nivel mundial han evaluado ampliamente el uso de los huevos de helmintos como indicadores de contaminación fecal. Estos se han detectado en diferentes matrices ambientales relacionadas con la reutilización del agua residual o con la disposición de biosólidos provenientes de las depuradoras, por lo que el contacto de los agricultores o los consumidores puede resultar en su infección con agentes patógenos. El riesgo se genera por el contacto directo con el agua residual contaminada, los biosólidos y los alimentos regados con dicha agua o cultivados en suelos donde se han utilizado biosólidos como enmienda orgánica (1-4).

Los huevos de helmintos se encuentran en el ambiente y son de gran importancia en salud pública, debido a su mínima dosis infectiva y a su alta resistencia a diversas condiciones ambientales, como la temperatura, el pH y la humedad, así como a la desinfección con cloro (4-6). Se los utiliza, asimismo, como indicadores de la presencia de parásitos por contaminación fecal en aguas residuales tratadas, y en lodos y biosólidos generados por sistemas de tratamiento (6,7). Los géneros más predominantes son *Ascaris*, *Trichuris*, *Ancylostoma* e *Hymenolepis* (8,9).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), 1.450 millones de infecciones en el mundo presentan infección por *Ascaris lumbricoides*, con efectos adversos en su salud (ascariasis), y síntomas como anemia, náuseas, oclusión de las vías biliares y obstrucción intestinal, lo que ocasiona alrededor de 3.000 muertes al año (8).

Según el Informe Quincenal Epidemiológico Nacional (IQEN) del Instituto Nacional de Salud, en Colombia el riesgo sanitario por este tipo de parásitos

es alto, aunque únicamente se han reportado los casos de teniasis por *Taenia solium* entre 2008 y 2010 en trabajadores que tenían contacto directo con cerdos, debido a la disposición inadecuada de los excrementos. La mayoría de los casos de riesgo de infección por helmintos se presenta en la población de bajos recursos y con hábitos higiénicos deficientes, como se ha constatado en el país; por ejemplo, en el departamento de Bolívar, se observó que el 92 % de las personas estaban parasitadas: 56 % con *A. lumbricoides*, 53 % con *Trichuris trichiura*, 6 % con *Ancylostoma* spp., 4 % con *Hymenolepis nana*, 3 % con *Strongyloides stercoralis*, 0,9 % con *Taenia* spp. y 0,6 % con *Enterobius vermicularis* (10). Estos casos podrían estar relacionados, no solo con el nivel de vida de la población, sino con el contacto o consumo de aguas o alimentos contaminados.

En el 2006, la OMS estableció como permisible una concentración de huevos de helmintos de máximo uno por litro en aguas residuales tratadas para cultivos que se consumen crudos (8). Por otra parte, la norma de la *United States Environmental Protection Agency* (EPA) también establece límites en el contenido de huevos de helmintos en biosólidos utilizados en agricultura, y considera admisible un límite máximo de un huevo por cada 4 g de sólidos totales (7). Sin embargo, estas concentraciones no siempre se pueden lograr en los países en desarrollo debido a la alta prevalencia de los huevos en la población y, por consiguiente, en el agua y los lodos provenientes de los sistemas de tratamiento de aguas residuales (2,5,11).

Dada la falta de datos a nivel nacional, es importante evaluar la presencia y la concentración de helmintos, así como su comportamiento en diferentes matrices ambientales y en su estadio de huevo, bajo las condiciones climáticas y los sistemas de tratamiento existentes. Además, aunque se cuenta con varios métodos de análisis, es necesario unificar una metodología para su identificación y conteo, así como para la de los huevos viables de helmintos, los cuales se consideran infectivos.

En este contexto, el objetivo del estudio fue presentar los datos obtenidos sobre la identificación y el conteo de huevos de helmintos en aguas residuales

Correspondencia:

Claudia Campos, Departamento de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 N° 43-82, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: 320 8320, extensión 4138

Fax: 320 8320, extensión 4021

campos@javeriana.edu.co

Recibido: 06/05/16; aceptado: 09/04/17

crudas y tratadas, en biosólidos, en suelos tratados con estos y en pastos provenientes de tales suelos, en los departamentos de Cundinamarca y Antioquia, ambos ubicados en la zona andina de Colombia.

Materiales y métodos

Se determinaron y cuantificaron el total de huevos de helmintos y el de huevos viables en aguas, suelo, biosólidos y pastos. Pese a que las normas de la OMS (2006) y de la USEPA (1999) solo estipulan que debe informarse el número total de huevos, es importante determinar su viabilidad o capacidad de desarrollarse hasta la etapa infectiva; los huevos que contenían una larva completamente desarrollada y móvil, se consideraron viables.

Evaluación de huevos de helmintos en aguas residuales

Distrito de riego y drenaje La Ramada. Se evaluó la calidad del agua utilizada para riego agrícola en el distrito La Ramada, en el cual se cultivan hortalizas que se distribuyen en Bogotá y otros municipios.

El agua proviene del río Bogotá y su punto de captación está localizado en la estación de bombeo Chicú, a la altura de la cuenca media, punto en el cual el río ya ha recibido vertidos domésticos e industriales. Como estaciones de muestreo se seleccionaron el punto de captación y varios de los canales que distribuyen el agua a lo largo del distrito. Dichas estaciones se denominan Chicú, La Isla, Entrada Ciénaga Gualí-Tres Esquinas, Salida Ciénaga Gualí-Tres Esquinas, La Herrera y El Tabaco. Se recogieron ocho muestras de cada estación, para un total de 48.

Sistema de tratamiento primario químicamente asistido

Para analizar el efecto del sistema de tratamiento primario químicamente asistido en la eliminación de los huevos de helmintos, se seleccionaron las aguas afluentes y efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre. El agua que llega a esta planta proviene de la utilizada por cerca de 2'000.000 de habitantes de la zona norte de Bogotá y se caracteriza por incluir vertidos de tipo doméstico.

Como alternativa al uso del agua del río Bogotá, se ha considerado la posibilidad de regar con estos efluentes los cultivos del distrito de riego La Ramada.

Para determinar si existían diferencias a lo largo del día, se tomaron 12 muestras del afluente y 60 del efluente en horas de la mañana y de la tarde.

La toma de muestras, así como su conservación y transporte, se ajustaron a las normas de la EPA (12).

Todas las muestras se procesaron en el curso de las 24 horas después de su recolección, garantizando la correspondiente cadena de custodia.

El protocolo utilizado para el análisis de los huevos de helmintos en el agua de los canales de riego y la planta El Salitre fue el propuesto en la Norma Oficial Mexicana NMX-AA-113-SCFI de 1999 (13).

Evaluación de los huevos de helmintos en biosólidos

Para determinar la concentración de huevos de helmintos en biosólidos provenientes de los sistemas de tratamiento de las aguas residuales domésticas, se analizaron muestras de biosólidos de la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre. Este material proviene de los lodos de sedimentación primaria sometidos a un proceso de estabilización anaerobia mesofílica. Se recolectó una muestra por mes durante dos años y 11 meses, para un total de 35 muestras. El protocolo utilizado fue el propuesto en la Norma Oficial Mexicana NOM-004 ECOL de 2002 (14).

Evaluación de huevos de helmintos en suelo

Biosólidos utilizados para el cultivo de pasto en Cogua, Cundinamarca. Para evaluar la concentración y la disminución de los huevos de helmintos a lo largo del tiempo, se construyeron parcelas de 0,15 m de profundidad y 56 m² de área, y en cada una se mezcló el suelo nativo con biosólidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre y se sembró pasto ballico (género *Lolium*) (*ray grass*) para la alimentación del ganado lechero. Las parcelas estaban localizadas en el Centro Experimental San Francisco Javier de la Universidad Javeriana, vereda El Mortiño, municipio de Cogua, Cundinamarca.

Se analizaron tres tratamientos con diferentes proporciones en la mezcla de suelo y biosólidos, así como dos controles (únicamente suelo y únicamente biosólidos).

Los tratamientos y controles seleccionados al azar se repitieron tres veces en un total de 15 parcelas. En las preparaciones se utilizaron porcentajes de peso sobre peso, de la siguiente forma: tratamiento 1 (T₁), 75 % de suelo y 25 % de biosólidos; tratamiento 2 (T₂), 67 % de suelo y 33 % de biosólidos, y tratamiento 3 (T₃), 50 % de suelo y 50 % de biosólidos. Como controles se emplearon únicamente suelo o únicamente biosólidos.

El muestreo de las parcelas incluyó dos fases: la primera, desde el día 0, o día correspondiente a la siembra del pasto, hasta el día 120, y la segunda, de 24 a 28 meses después de sembrado el pasto.

La muestra de análisis estaba compuesta, a su vez, de cinco muestras tomadas de las mezclas y los controles en forma de X, cuatro de los extremos y una del centro de cada parcela (15). Se recolectaron 75 muestras para el análisis de huevos de helmintos en la primera fase y, 30 en la segunda fase, para un total de 105 muestras que se procesaron en el curso de las 24 horas después de su recolección, garantizando la correspondiente cadena de custodia.

Biosólidos utilizados para el cultivo de pasto en Entreríos, Antioquia. La segunda evaluación de la concentración y la disminución de huevos de helmintos en suelos se hizo en el municipio de Entreríos, Antioquia.

Se evaluó el riesgo sanitario generado por el uso de biosólidos en el cultivo de pastos en un agroecosistema de vocación lechera. Estos provenían de la sedimentación primaria y secundaria de la planta de tratamiento de aguas residuales San Fernando, en Medellín, y se habían estabilizado mediante un tratamiento anaerobio mesofílico.

Se trabajó en dos parcelas: la primera de control, donde solo se usaron fertilizantes tradicionales, y la segunda, o experimental, donde se aplicaron los biosólidos; esto, con el fin de comparar su efecto como enmienda orgánica con fertilizantes de origen químico. La parcela experimental y la de control se subdividieron en otras cuatro, en las que se utilizaron biosólidos diluidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales San Fernando o el fertilizante tradicional, según el caso.

Se recolectaron muestras de los biosólidos sin diluir, diluidos antes de ser aplicados y a los 45 días (cuando el pasto ya había crecido y el ganado entraba a pastar); este ciclo se repitió tres veces, para un total de 18 muestras. En la parcela de control se recolectaron 12 muestras de suelo de las cuatro subdivisiones. La muestra analizada, a su vez, estaba compuesta de cinco muestras tomadas del suelo en forma de X, cuatro de los extremos y una en el centro de cada subdivisión (16).

Para el análisis de los biosólidos, del suelo y de las mezclas, se utilizó el protocolo propuesto en la Norma Oficial Mexicana NOM-004 ECOL de 2002 (14).

Evaluación de los huevos de helmintos en el pasto

Pasto sembrado en Cogua, Cundinamarca. Para evaluar el riesgo de contaminación de los pastos sembrados con adición de biosólidos, se recolectaron muestras de las parcelas ya descritas: 30 en la primera fase y 15 en la segunda. Cada muestra estaba compuesta, a su vez, por otras cinco recolectadas al azar en cada parcela, las cuales se analizaron dentro de las 24 horas después de su recolección, garantizando la correspondiente cadena de custodia (17).

Pastos sembrados en Entreríos, Medellín, Antioquia. Se recolectaron pastos de la parcela experimental y de la de control del estudio hecho en Antioquia, aplicando el protocolo de muestreo ya descrito. Las muestras de pastos se recolectaron cada dos meses, 12 en cada parcela, para un total de 24 muestras en la primera y la tercera fases de evaluación. En la segunda fase no se evaluaron los pastos.

El protocolo utilizado para el análisis de pastos fue el propuesto por Kozan, *et al.*, en 2005 (17).

Protocolos usados para el análisis de las diferentes matrices

Los protocolos usados para el análisis parasitológico de huevos de helmintos en las diferentes matrices mencionadas, se presentan en el cuadro 1.

Resultados

Evaluación de huevos de helmintos en aguas residuales

En las muestras evaluadas en las estaciones del distrito de riego y drenaje La Ramada, se encontraron de 0,1 a 3 huevos de helmintos por litro y de 0,1 a 1 huevos viables por litro (cuadro 2). En algunos casos se superaron los límites máximos establecidos por la OMS (un huevo o menos por litro) para las aguas de riego de hortalizas, que es el cultivo más común en ese distrito, así como los establecidos en la Resolución 1207 de 2014 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, de 1,0 huevos o larvas de helminto por litro (18).

En los análisis mensuales de las aguas afluentes y efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre, los valores registraron una disminución después del tratamiento en las muestras tomadas tanto en la mañana como en la tarde, excepto en uno de los casos (cuadro 3). Sin embargo, su concentración fue cercana o inferior a 1 huevo por litro, es decir, cumplían el requisito para las aguas de riego de hortalizas. La concentración

total de huevos en el afluyente varió entre 0,6 y 0,9 por litro, en tanto que a la salida fue de 0,2 a 0,3 por litro. La concentración de huevos viables en la entrada fue de menos de 0,1 a 0,5 por litro y, en la salida, de menos de 0,1 por litro.

Análisis de huevos de helmintos en biosólidos y suelos

En el análisis mensual de los biosólidos generados en la planta El Salitre, se registró una concentración total de 3 a 22 huevos de helmintos por 4 g de peso seco y una de huevos viables

de 2 a 12 por 4 g de peso seco (cuadro 4), lo cual supera la exigencia de la norma de la EPA para uso agrícola (un huevo o menos por 4 g de peso seco) y la establecida en el Decreto 1287 del 2014 por el Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio de Colombia (menos de un huevo viable por 4 g de biosólidos para la categoría A, o de uso agrícola) (19).

En los tratamientos 1, 2 y 3 en el día 0, se observaron entre 0,8 y 2 huevos viables de helminto por 4 g de peso seco, valor inferior al límite de cuantificación en los controles (cuadro 5). Llama

Cuadro 1. Protocolos utilizados para el análisis de huevos de helmintos en las diferentes matrices ambientales

Protocolo para la determinación de huevos de helmintos en aguas (NMX-AA-113-SCFI, 1999)	Protocolo para la determinación de huevos de helmintos en suelos y biosólidos (NOM-004 ECOL, 2002)	Protocolo para la determinación de huevos de helmintos en pastos (Kozan, et al.) (17)
<p>Sedimentación</p> <ul style="list-style-type: none"> Se recolectaron 10 litros de agua y se dejaron sedimentar por 24 horas a temperatura ambiente. 	<p>Elución de la muestra</p> <ul style="list-style-type: none"> Se pesó el equivalente a 10 g del peso seco de la muestra y se adicionó al vaso de la licuadora, con 800 ml de Tween 80 al 0,1 % (v/v). Se encendió la licuadora por 5 segundos y luego se apagó por otros 5 segundos. Se repitió este procedimiento tres veces. Se agregó la mezcla en un vaso de precipitado, se enjuagó el vaso de la licuadora con 200 ml de Tween 80 al 0,1 % (v/v) y se adicionaron al mismo vaso de precipitado. Se dejó sedimentar durante 3 horas. 	<p>Elución de la muestra</p> <ul style="list-style-type: none"> Se pesó 1 kg del material vegetal y se dividió en porciones de 200 g. Se tuvo en cuenta que según el tipo de vegetal la cantidad de muestra disponible podría ser menor, por lo cual la cantidad de solución detergente variaba dependiendo de la cantidad de muestra recolectada y debía ser proporcional a la cantidad de vegetal pesado. Se anotó la cantidad de vegetal pesado para tenerlo en cuenta en el momento del cálculo. Se preparó el baño ultrasónico reemplazando el agua destilada por 1,5 litros de solución detergente y cada porción se sometió a proceso de sonicación individualmente durante 10 minutos. Después de cada sonicación se retiraba el material vegetal para descartarlo y recuperar la solución de lavado; se transfirió a un vaso de precipitado de 2 litros de capacidad. Se transfirió la solución de lavado de cada porción a tubos plásticos de centrifugación de 250 ml de capacidad.
<p>Filtración</p> <ul style="list-style-type: none"> Se aspiró el 90 % del sobrenadante empleando el método de vasos comunicantes y se descartó. Se filtró el sedimento a través de un tamiz de 160 µm, con el fin de remover los sólidos grandes. Se enjuagó con 5 litros de agua de la llave (el protocolo original plantea que se debe enjuagar con agua destilada, pero se hizo dicho cambio para economizar el recurso), y se recuperó en el mismo recipiente. Se dejó sedimentar durante 3 horas. 	<p>Filtración</p> <ul style="list-style-type: none"> Se aspiró el 90 % del sobrenadante empleando el método de vasos comunicantes y se descartó. Se filtró el sedimento a través de un tamiz de 160 µm con el fin de remover los sólidos grandes. Se enjuagó con 1 o 2 litros de agua de la llave (el protocolo original plantea que se debe enjuagar con agua destilada, pero se realizó dicho cambio para economizar el recurso), y se recuperó en el mismo recipiente. Se dejó sedimentar durante 3 horas. 	
<p>Centrifugación y flotación</p> <ul style="list-style-type: none"> Se aspiró el 90 % del sobrenadante empleando el método de vasos comunicantes y se descartó. Se centrifugó el sedimento a 660 g durante 5 minutos y se descartó el sobrenadante, al cual se añadieron 10 volúmenes de solución de ZnSO₄ de densidad de 1,3. Se agitó y se centrifugó a 660 g durante 5 minutos. Se recuperó el sobrenadante, se añadió 1 litro de agua destilada y se descartó el sedimento. Se dejó sedimentar durante 3 horas. 	<p>Centrifugación y flotación</p> <ul style="list-style-type: none"> Se aspiró el 90 % del sobrenadante empleando el método de vasos comunicantes y se descartó. Se centrifugó el sedimento a 660 g por 5 minutos y se descartó el sobrenadante, y se adicionaron al sedimento 10 volúmenes de solución de ZnSO₄ con densidad de 1,3. Se agitaron vigorosamente los tubos y se centrifugó el sedimento a 660 g durante 5 minutos. Se recuperó el sobrenadante y se adicionó 1 litro de agua destilada. Se descartó el sedimento de los tubos Se dejó sedimentar durante 3 horas. 	<p>Centrifugación</p> <ul style="list-style-type: none"> Se centrifugó a 1.500 g durante 15 minutos. Se descartó el sobrenadante y se recuperaron los sedimentos de todos los tubos en un único tubo. Se enjuagaron todos los tubos dos veces con la solución detergente; se agregaron al tubo con sedimento y se distribuyó el sedimento en tubos de centrifugación de 50 ml con, aproximadamente, 5 ml cada uno.

Extracción

- Se aspiró el sobrenadante empleando el método de vasos comunicantes y se descartó.
- Se centrifugó el sedimento a 660 g durante 5 minutos.
- Se descartó el sobrenadante y se recuperó el sedimento.
- Se agregaron 15 ml de ácido acetoacético y 10 ml de éter dietílico o etil acetato. Este procedimiento se hizo en cámara de extracción usando máscara de protección con cartuchos especiales para solventes. Se agitó la muestra durante 2 minutos teniendo la precaución de aflojar la tapa después de cada agitación para liberar los gases.
- Se centrifugó a 660 g durante 3 minutos. La muestra quedó separada en tres fases distintas. Todos los residuos pesados, incluidos los huevos, larvas y protozoarios, estaban ubicados en el sedimento; sobre este se encontró la capa nítida de la solución tampón y las grasas; los otros materiales quedaron en la fase superior compuesta por éter dietílico o etil acetato, formando una capa densa en la parte superior del tubo. Se eliminaron las dos capas superiores usando una pipeta Pasteur y se recuperó el sedimento.
- Se agregaron 5 ml de H_2SO_4 , 0,1N.
- Se incubó la muestra a 26 °C durante cuatro semanas dejando las tapas flojas para permitir el intercambio de aire, y se completó el nivel evaporado con agua destilada.

Extracción

- Se aspiró el sobrenadante empleando el método de vasos comunicantes y se descartó.
- Se centrifugó el sedimento a 660 g durante 5 minutos.
- Se descartó el sobrenadante y se recuperó el sedimento.
- Se agregaron 15 ml de ácido acetoacético y 10 ml de éter dietílico o etil acetato. Este procedimiento se hizo en cámara de extracción y se usó máscara de protección con cartuchos especiales para solventes. Se agitó la muestra durante dos minutos, teniendo la precaución de aflojar la tapa después de cada agitación para liberar los gases.
- Se centrifugaron los tubos a 660 g durante 3 minutos. La muestra quedó separada en tres fases distintas. Todos los residuos pesados, incluidos los huevos, larvas y protozoarios, quedaron ubicados en el sedimento; sobre este se encontró la capa nítida de solución tampón, y las grasas y los otros materiales quedaron dentro del éter dietílico o etil acetato formando una capa densa en la parte superior del tubo donde se centrifugó la muestra. Se eliminaron las dos capas superiores usando una pipeta Pasteur y se recuperó el sedimento.
- Se agregaron 5 ml de H_2SO_4 , 0,1N para un primer lavado de la muestra
- Se centrifugó a 660 g durante 5 minutos.
- Se aspiró el sobrenadante y se dejaron 5 ml para un segundo lavado con H_2SO_4 , 0,1N.
- Se centrifugó a 660 g durante 5 minutos y se aspiró el sobrenadante dejando 5 ml del mismo.
- Se incubó la muestra a 26 °C durante cuatro semanas dejando las tapas flojas para permitir el intercambio de aire y se completó el nivel evaporado con agua destilada.

Extracción

- Se agregaron 15 ml de ácido acetoacético y 10 ml de éter dietílico o etil acetato a cada tubo. Este procedimiento se hizo en cámara de extracción usando máscara de protección con cartuchos especiales para solventes. Se agitó la muestra durante 2 minutos; se tuvo la precaución de aflojar la tapa después de cada agitación para liberar los gases.
- Se centrifugó a 660 g durante 3 minutos. La muestra quedó separada en tres fases distintas. Los residuos pesados, incluidos los huevos, larvas y protozoarios, quedaron ubicados en el sedimento; sobre éste se observó la capa nítida de la solución tampón; las grasas y los otros materiales quedaron dentro del éter dietílico o etil acetato, formando una capa densa en la parte superior del tubo. Se eliminaron las dos capas superiores usando una pipeta Pasteur y se recuperó el sedimento en un único tubo por porción.
- Se agregaron 5 ml de H_2SO_4 , 0,1N.
- Se repitió el procedimiento para cada solución de lavado correspondiente a cada porción de 200 g (cada porción de 200 g contaba con un tubo independiente para la lectura en el microscopio).
- Se incubaron todos los tubos resultantes de cada muestra a 26 °C durante cuatro semanas dejando las tapas flojas para permitir el intercambio de aire y se completó el nivel evaporado con agua destilada.

Lectura en el microscopio

- Una vez finalizado el período de incubación, se centrifugó el sedimento a 660 g durante 5 minutos.
- Se aspiró el sobrenadante cuidadosamente para no remover el sedimento y se descartó.
- Se puso el sedimento gota a gota sobre una lámina portaobjetos convencional, y luego se cubrió con laminilla.
- Se observó bajo un microscopio de luz con 10X. Los huevos que contenían una larva completamente desarrollada y móvil se consideraron viables; estas características se confirmaron observando con un objetivo de 40X; los demás huevos se consideraron no viables. Se hizo la lectura en el sedimento completo.
- El cálculo de la concentración total de huevos y la de huevos viables/l se hizo aplicando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{A}{(V)} \quad (1)$$

donde:

N: número total de huevos o de huevos viables/l

A: número total de huevos y de huevos viables contados en el sedimento

V: volumen original de la muestra en litros

Lectura en el microscopio

- Una vez finalizado el período de incubación y antes de realizar la lectura bajo el microscopio, se lavó el sedimento final con hipoclorito de sodio (10 %) en igual volumen y se dejó reposar durante 10 minutos. Se aforó con agua destilada
- Se centrifugó a 660 g durante 5 minutos y se decantó hasta dejar 5 ml del sobrenadante.
- Se hizo un segundo enjuague con agua destilada y se centrifugó bajo las mismas condiciones.
- Se aspiró el sobrenadante cuidadosamente para no remover el sedimento y se descartó dejando hasta 5 ml del volumen final.
- Se colocó el sedimento gota a gota sobre una lámina portaobjetos convencional, y luego se cubrió con laminilla.
- Se observó bajo un microscopio de luz con 10X. Los huevos que contenían una larva completamente desarrollada y móvil se consideraron viables; estas características se confirmaron observando con un objetivo de 40X; los demás huevos no se consideraron viables. Se hizo la lectura del sedimento completo.
- El cálculo de la concentración total de huevos y de huevos viables por 4 g de peso seco, se hizo aplicando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{A}{(2,5)} \quad (2),$$

donde:

N: número total de huevos o de huevos viables por 4 g de peso seco

A: número total de huevos y de huevos viables contados en el sedimento en 10 g de pesos seco

Lectura en el microscopio

- Se colocó el sedimento gota a gota sobre una lámina portaobjetos convencional, y luego se cubrió con laminilla.
- Se observó bajo un microscopio de luz con 10X. Los huevos que contenían una larva completamente desarrollada y móvil se consideraron viables; estas características se confirmaron observando con un objetivo de 40X; los demás huevos no se consideraron viables. Se hizo la lectura del sedimento completo.
- La suma de los huevos viables más los no viables encontrados debía ser igual a la cantidad total de huevos en la muestra. Se calculó el número total de huevos y el de huevos viables por kg de peso fresco de la muestra, aplicando la siguiente fórmula:

$$HH/Kg PF = \frac{N1_{viables} + N2_{viables}}{+ N3_{viables} + N4_{viables} + N5_{viables}} \quad (3),$$

donde:

HH/kg PF: número total de huevos o de huevos viables/kg de peso fresco

N1, 2, 3, 4 y 5: número total de huevos

o de huevos viables contados en cada uno de los tubos de la porción de 200 g, después del periodo de incubación

Nota: en todos los protocolos la identificación de los huevos de helmintos se hizo mediante la observación bajo el microscopio; el género se determinó mediante las características morfológicas.

la atención el resultado del control de biosólidos, lo cual podría explicarse por el alto grado de agregación del material, lo que dificulta la recuperación de los parásitos.

Al comparar las concentraciones en el inicio con las registradas a los 30 y 60 días, se encontraron variaciones según los tratamientos, con un aumento en el tratamiento 3 (de una concentración inicial de

Cuadro 2. Concentración promedio de huevos de helmintos en aguas del distrito de riego y drenaje La Ramada

Estación de muestreo (n=48*)	HHT/L	HHV/L
Chicú	0,1	0,1
La Isla	3	1
Entrada Gualí-Tres Esquinas	1,4	0,9
Salida Gualí-Tres Esquinas	1,2	0,2
El Tabaco	0,1	0,1
La Herrera	0,2	0,1

HHT/L: total de huevos de helminto por litro; HHV/L: total de huevos viables de helminto por litro

* Los resultados presentados en la tabla son la media de los muestreos realizados en cada estación.

Cuadro 3. Concentración media de huevos de helmintos en las aguas afluentes y efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre

Estación de muestreo (n=72)	HHT/L		HHV/L	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
Afluyente* (n=12)	0,6	0,9	0,5	< 0,1
Efluente* (n=60)	0,3	0,2	< 0,1	< 0,1

HHT/L: total de huevos de helminto por litro; HHV/L: huevos viables de helminto por litro; PTAR: planta de tratamiento de aguas residuales

* Los resultados son la media de los muestreos realizados en las aguas afluentes y efluentes.

Cuadro 4. Concentración de huevos de helminto en biosólidos deshidratados de la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre

Periodo	HHT/4g/PS*	HHV/4g/PS*
Primer año (n=7)	17	8
Segundo año (n=12)	22	12
Tercer año (n=11)	22	6
Cuarto año (n=5)	3	2

HHT/4g/PS: número total de huevos de helminto por 4 gramos de peso seco; HHV/4g/PS: huevos de helminto viables por 4 g de peso seco

* Los resultados son la media de todas las muestras analizadas.

1 pasó a 3 huevos viables por 4 g de peso seco) y una disminución en el tratamiento 1 (de 2 pasó a 0,9 huevos viables por 4 g de peso seco). En las muestras de control no se detectaron huevos viables de helmintos.

Por otra parte, en los días 75 y 120 se observó un aumento en todos los tratamientos (entre 5 y 22 huevos viables por 4 g de peso seco), excepto en la muestra de control de los suelos. Este aumento podría deberse al cambio en las características físicas del suelo (menos agregados y mayor humedad a causa de las lluvias) y en la distribución de los huevos en dicha matriz. A los 24 meses, las concentraciones disminuyeron en todos los tratamientos y en el control de biosólidos, pero se

siguieron registrando concentraciones de menos de 0,4 a 6 huevos viables por 4 g de peso seco en todas las parcelas, lo que evidencia su gran resistencia a las condiciones ambientales, incluso después de dos años de la aplicación.

Durante el período de evaluación, la humedad fluctuó entre 35 y 59 % y, la temperatura del suelo, entre 10 y 20 °C. En el mes 28, se observó un aumento en el conteo total de huevos y en el de huevos viables en las muestras del tratamiento 2 y en las de control de biosólidos. La concentración de huevos viables en la segunda fase también presentó una disminución entre el mes 24 y el 28, excepto en el caso de las muestras de control de biosólidos, en las cuales se observó un aumento.

En las parcelas en el norte de Antioquia (cuadro 6), se observaron concentraciones totales de huevos de helmintos de 9 a 12, y de 3 a 5 huevos viables por 4 g de peso seco, con el uso de biosólidos diluidos. A los 45 días de la aplicación, las concentraciones totales de huevos de helmintos en la parcela experimental fluctuaron entre 0,4 y 8, y las de huevos viables, entre 0,4 y 4 por 4 g de peso seco; y en la parcela de control, la concentración total fue de 0,8 a 4 y de menos de 0,4 a 2 huevos viables por 4 g de peso seco, sin haber aplicado biosólidos.

La presencia de huevos de helmintos en esta parcela se relacionó con el paso de animales y la presencia de materia fecal de animales en el momento de la toma de la muestra. Tanto en la parcela experimental como en la parcela de control, se observó una disminución de la concentración total de huevos y de la de huevos viables, aunque siguieron registrándose después de 45 días.

Análisis de huevos de helmintos en el pasto

Con relación al pasto sembrado en las parcelas con mezcla de suelo y biosólidos en Cogua, Cundinamarca (cuadro 7), durante la primera fase de evaluación que se extendió hasta el día 120, todos los resultados estuvieron por debajo del límite de cuantificación de la técnica. En la segunda fase no se observaron variaciones en los resultados.

En los pastos sembrados con biosólidos diluidos en Entreríos, Antioquia, (cuadro 8), en la parcela experimental se observaron, valores de menos de 2 a 9 en la concentración total de huevos, y de menos de 1 a 3 en la de huevos viables por 4 g de peso fresco; y en la parcela de control, de 0,8 a 4 en la concentración total y de 0,4 a 1 en la de los huevos viables por 4 g de peso fresco.

Cuadro 5. Concentración promedio de huevos de helmintos en biosólidos y en mezclas de estos con suelo utilizadas para el cultivo de pasto en Cundinamarca, fases 1 y 2

Fase 1*					
Tratamiento n=75	Día 0** HHV/4g/PS	Día 30 HHV/4g/PS	Día 60 HHV/4g/PS	Día 75 HHV/4g/PS	Día 120 HHV/4g/PS
T ₁	2	0,8	0,9	6	10
T ₂	0,8	0,9	0,8	5	11
T ₃	1	3	3	11	22
CS	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4
CB	<0,4	<0,4	<0,4	4,0	11
Fase 2					
Tratamiento n=30	Mes 24** HHT/4g/PS	Mes 24 HHV/4g/PS	Mes 28 HHT/4g/PS	Mes 28 HHV/4g/PS	
T ₁	8	2	5	1	
T ₂	13	2	8	5	
T ₃	14	6	10	4	
CS	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	
CB	8	0,8	14	10	

HHV/4g/PS: huevos de helminto viables por 4 g de peso seco; HHT/4g/PS: número total de huevos de helminto por 4 g de peso seco; T₁: 75 % de suelo + 25 % de biosólidos; T₂: 67 % de suelo + 33 % de biosólidos; T₃: 50 % de suelo + 50 % de biosólidos; CS: muestra de suelo de control; CB: muestra de biosólidos de control; * En la primera fase no se informó el total de huevos de helminto. ** Los resultados corresponden al promedio de las tres réplicas analizadas por tratamiento. <: menor que el límite de cuantificación del protocolo

Cuadro 6. Concentración promedio de huevos de helmintos en biosólidos y mezclas de estos con suelo utilizadas para el cultivo de pasto en Antioquia después de 45 días de aplicación

Estación de muestreo n=30	HHT/4g/PS			HHV/4g/PS		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
Bd	9	9	12	4	3	5
SCA	2	3	2	0,8	2	0,4
SCB	2	0,8	0,8	0,4	0,4	<0,4
SCC	4	1	1	2	0,4	0,4
SCD	2	0,8	0,8	0,8	0,4	<0,4
SEA	8	2	4	1	1	1
SEB	4	3	2	2	2	0,8
SEC	4	7	2	1	4	0,4
SED	5	0,4	2	1	0,4	0,4

Bd: biosólidos diluidos; SCA, SCB, SCC y SCD: muestras de suelo de control A, B, C y D; SEA, SEB, SEC y SED: muestras experimentales de suelo A, B, C y D; <: menor que el límite de cuantificación del protocolo; HHT/4g/PS: número total de huevos de helminto por 4 g de peso seco; HHV/4g/PS: huevos de helminto viables por 4 g de peso seco

Como se observa en los resultados en todas las matrices, no es suficiente tener el conteo total de los huevos, pues los huevos viables que pueden ser infectivos siguen presentes; por ello, se requieren los 26 días de incubación para establecer dicha diferencia.

Discusión

La evaluación de la presencia de huevos de helmintos en aguas residuales utilizadas para riego agrícola es de gran importancia debido al riesgo

que representa para la población el contacto directo o indirecto con el agua sin tratar o los alimentos contaminados (20).

En Colombia se han realizado dos encuestas nacionales de parasitismo intestinal, una en 1966 y otra en 1980, y en ellas se reportaron los siguientes porcentajes de prevalencia de huevos de helmintos: *A. lumbricoides*, 33,6 %; *T. trichiura*, 37,5 %, y *Ancylostoma* spp., 23 % (21,22). En la Amazonia colombiana, Ordóñez, *et al.*, encontraron una alta prevalencia de geohelminths en niños de 2 a 16

Cuadro 7. Concentración promedio de huevos de helmintos en pastos cultivados en Cundinamarca, fases 1 y 2

Fase	Parcela	Subdivisiones	HHT/g/ PF*	HHV/g/ PF*
Fase I	n=30	T1	<0,4	<0,4
		T2	<0,4	<0,4
		T3	<0,4	<0,4
		T4	<0,4	<0,4
		CS	<0,4	<0,4
		CB	<0,4	<0,4
Fase II	n=15	T1	<0,4	<0,4
		T2	<0,4	<0,4
		T3	<0,4	<0,4
		T4	<0,4	<0,4
		CS	<0,4	<0,4
		CB	<0,4	<0,4

HHT/g/PF: número total de huevos de helminto por g de peso fresco; HHV/g/PF: huevos viables de helminto por g de peso fresco. * Media de las tres repeticiones

Cuadro 8. Concentración de huevos de helmintos en pastos de Medellín, Antioquia

Estación de muestreo n=24	HHT/4g/PF			HHV/4g/PF		
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase I	Fase II	Fase III
	SCA	4	<2	1	1	<2
SCB	1	<1	3	0,4	<1	<1
SCC	1	4	<2	0,4	1	<2
SCD	0,8	<1	<2	0,4	<1	<1
SEA	NA	<2	7	NA	<2	1
SEB	9	1	5	3	1	<1
SEC	9	4	3	1	1	1
SED	6	8	3	1	3	1

HHT/4g/PF: número total de huevos de helminto por 4 g de peso fresco; HHV/4g/PF: huevos viables de helminto por 4 g de peso fresco; NA: no aplica; SC: A, B, C, y D: subdivisiones de control; SE: A, B, C y D: subdivisiones experimentales

años. El parásito más frecuentemente encontrado fue *S. stercoralis*, con 49,3 %, y el menos frecuente fue *A. lumbricoides*, con 9,9 % (20).

En el 2008, en un estudio en Norte de Santander, se analizaron muestras de agua del río Pamplonita, el cual provee el agua para el consumo de zonas urbanas y rurales, así como para actividades de tipo agrícola, industrial y doméstico. En las muestras se encontraron *Ascaris* spp., *Hymenolepis* spp., *Toxocara* spp. y *Trichuris* spp. (23).

A pesar de las bajas concentraciones encontradas en los canales de riego del distrito La Ramada, es importante recordar que la mayor concentración se puede detectar en los sedimentos, ya que los parásitos llegan allí por gravedad y pueden volver a la columna de agua por procesos de resuspensión. Los agricultores manifestaron que bombean a diferentes profundidades dependiendo de la época del año, ya que el caudal que pasa por los canales varía. En el sedimento se pueden presentar procesos de agregación con las partículas sedimentadas, lo cual disminuye la movilidad de los parásitos (24). Lo mismo ocurre en algunos sectores de las redes de conducción del agua antes de llegar a la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre, los cuales presentan zonas de sedimentación donde pueden quedar parte de los huevos de helmintos eliminados en el alcantarillado. Sin embargo, es importante anotar que la zona de donde proviene el agua se caracteriza por estar habitada por personas con mejores condiciones de vida y de salud.

La mayoría de autores coinciden en que el género *Ascaris* es el indicador más adecuado para la

inactivación y la eliminación de parásitos en el lodo y las aguas residuales, ya que sus huevos pueden permanecer en los suelos por períodos de hasta siete años bajo condiciones ambientales adversas y conservan su viabilidad durante meses (1,6,24). La OMS sugiere que en las aguas superficiales utilizadas sin restricción para riego, las concentraciones totales deberían ser de menos de 1 huevo por litro y, de menos de 0,1, en los sitios donde vivan menores de 15 años (8,23). Los resultados obtenidos en algunas de las muestras del distrito de riego La Ramada y del efluente de la planta El Salitre superan dicha concentración. Esto sugiere que deben hacerse tratamientos adicionales para disminuir dichas concentraciones (25,26).

Chávez, *et al.* (27), evaluaron la correlación existente entre la concentración de huevos de helmintos en aguas residuales tratadas de la ciudad de México, así como la concentración de sólidos suspendidos totales tanto en el agua de entrada como de salida en la planta de tratamiento, con el fin de establecer el rango de tamaño de las partículas con gran cantidad de huevos de helmintos. En ese estudio se determinó la estrecha correlación entre un volumen de partículas de 20 a 80 μm con la presencia de helmintos en las aguas de los efluentes. Para este tamaño de partículas, los valores totales de sólidos suspendidos estuvieron entre 115 y 170 mg/L.

La ventaja de los sistemas químicamente asistidos, como es el caso de la planta El Salitre, consiste en que los procesos que emplean menos dosis de coagulantes combinados con floculantes de alta carga dan lugar a efluentes con bajo contenido de sólidos suspendidos. Un efluente con menos de 20 a 40 mg/l de sólidos suspendidos puede tener una concentración total de 3 a 10 huevos por litro y, con menos de 20 mg/l de sólidos suspendidos, un contenido de un huevo o menos por litro.

Los tratamientos primarios avanzados ofrecen reducciones de 90 a 99 % de huevos de helmintos y, a partir de un contenido de 120 huevos por litro, pueden producir entre 0,5 y 3 huevos por litro de agua efluente, lo que ayudaría a reducir estos parásitos en el sistema aquí evaluado (26).

Otras condiciones que ayudan a disminuir el riesgo sanitario se relacionan con el tipo de riego aplicado (inundación, aspersión o goteo), con el tiempo que transcurre desde el último riego y el momento de la cosecha, y con el lavado o cocción de los alimentos antes de su consumo (28,29).

En cuanto a la norma colombiana, la Resolución 1207 de 2014 establece un límite máximo de 1,0 huevos y larvas de helmintos por litro en aguas residuales tratadas (18).

Con base en estudios microbiológicos y epidemiológicos, la OMS ha elaborado guías que determinan la calidad del agua según el tipo de cultivo que se vaya a regar. Para la categoría A, el contenido total de huevos de helminto debe ser de 0,1 o menos por litro en cultivos de alimentos que comúnmente se consumen crudos, en campos deportivos y en parques públicos. En la categoría B, el contenido debe ser de 1 huevo o menos por litro (si hay niños menores de 15 años expuestos en los campos, este valor debe ser de 0,1 o menos huevos por litro), para el riego de cultivos de cereales industriales, cultivos para forraje, árboles frutales y praderas. La categoría C corresponde al riego localizado de cultivos de la categoría B, cuando ni los trabajadores ni el público están expuestos; para esta, no se ha establecido un límite de huevos (8).

A pesar de estas guías, el conteo de los parásitos es difícil ya que los protocolos utilizados no contemplan la capacidad de recuperar todos los huevos de helmintos en el ambiente. Ayres, *et al.*, encontraron una buena correlación entre los huevos presentes y el porcentaje de recuperación, y sugieren que este puede verse afectado más por la calidad y la cantidad de materia orgánica que por el número absoluto de huevos presentes en la muestra (30). Jiménez, *et al.*, reportaron que el porcentaje de recuperación de huevos en muestras de lodos variaba considerablemente según las técnicas, en un rango de 20 a 80 % (26).

En cuanto a los parásitos encontrados en diferentes matrices ambientales, el más común ha sido *A. lumbricoides*, seguido de *T. trichiura*, *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp., *H. nana*, *H. diminuta*, *Taenia* spp. y *E. vermicularis*. Se han observado también huevos de origen animal con potencial zoonótico y un gran número de quistes, ooquistes de protozoos, y huevos y larvas de nematodos de vida libre (31-33).

La presencia y el número de huevos de helmintos en los biosólidos varían con la tasa de infección predominante en la comunidad y, dado que son resistentes a las condiciones ambientales, pueden seguir siendo infecciosos durante varios años (5). Johnson, *et al.*, encontraron huevos de *Ascaris suum* en biosólidos después de 29 semanas de almacenamiento (34). La supervivencia varía considerablemente según factores como la humedad

y la temperatura, pero, en general, los huevos son resistentes al ambiente durante largos periodos, tanto que se los considera los microorganismos patógenos más resistentes (5,6,34).

Estos parámetros también son determinantes para definir el tipo de aplicación de los biosólidos, la cantidad aplicada y la restricción según el tipo de cultivo (7,35,36). El análisis de dichos parámetros, y su influencia en la concentración y la supervivencia de los huevos de los helmintos considerados en este estudio, pueden encontrarse en Cárdenas, *et al.*, y en Campos, *et al.* (37,38).

La concentración total de huevos de helmintos y la de huevos viables en biosólidos aplicados en el suelo, varía entre un muestreo y otro, lo cual se explicaría por el hecho de que estos organismos no se encuentran de manera homogénea en los controles y en las mezclas, y su tasa de recuperación depende del tamaño de partícula del suelo, de que las muestras tomadas sean homogéneas y de que el volumen sea el mismo. Al tratarse de parásitos, estos necesitan de un huésped en el cual puedan desarrollar su ciclo infectivo y de reproducción, y es poco probable que esto ocurra en el ambiente. También pueden aumentar debido al aporte de escorrentías o estiércol proveniente de animales que transitan por la zona (5,39).

La diferencia en la concentración y la reducción de los huevos de helmintos en el suelo depende en gran parte de la textura, la temperatura, la humedad y la exposición a la luz solar, ya que estos factores influyen bastante en su supervivencia. La humedad es el parámetro más importante, ya que se ha observado que la supervivencia puede ser del 60 al 70 % en suelos con humedades entre el 20 y el 50 % (40).

Los huevos de helminto sobreviven por meses e, incluso, por años. Storey, *et al.*, encontraron que *Taenia saginata* y *A. lumbricoides* habían sobrevivido en suelos y pastos enriquecidos con biosólidos, y que el número de huevos había disminuido en el día 200, con una densidad de población de 0,3 huevos por gramo de suelo (41).

En el caso de la concentración total de huevos y de huevos viables en pastos, si bien se encuentran bajas concentraciones en algunos casos, se ha observado que el riesgo de contaminación del ganado por el consumo de pastura contaminada por huevos de origen humano y animal es muy bajo, a menos que el pasto se haya visto sometido

a pastoreo o pisoteo intensivo, lo cual favorecería su contaminación con el suelo y, en consecuencia, la del ganado al consumirlo (4,33,40).

Agradecimientos

A la Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá y a las Empresas Públicas de Medellín, por el soporte técnico y económico para la realización de los estudios.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Financiación

Estos proyectos fueron financiados por la Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá y las Empresas Públicas de Medellín.

Referencias

1. **Jiménez B.** Helminth ova removal from wastewater for agriculture and aquaculture reuse. *Water Sci Technol.* 2007;55:485-93.
2. **Jiménez B, Barrios A, Maya C.** Helminth ova control in wastewater and sludge for advanced and conventional sanitation. *Water Sci Technol.* 2007;56:43-51.
3. **Nelson K, Darby J.** Inactivation of viable *Ascaris* eggs by reagents during enumeration. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67:5453-9. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.12.5453-5459.2001>
4. **Gaspard P, Schwartzbrod J.** Determination of the parasitic contamination of irrigated vegetables. *Water Sci Technol.* 1993;27:295-302.
5. **Jiménez B.** Helminth ova control in sludge: A review. *Water Sci Technol.* 2007;56:147-55.
6. **Maya C, Torner F, Lucario E, Hernández E, Jiménez B.** Viability of six species of larval and non-larval helminth eggs for different conditions of temperature, pH and dryness. *Water Res.* 2012;46:4770-82. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.06.014>
7. **Environmental Protection Agency.** Biosolids generation use and disposal in the United States. Washington, D.C.: Environmental Protection Agency; 1999. p. 1-57.
8. **World Health Organization.** Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Volume II. Wastewater use in agriculture. Geneva: WHO; 2006. p. 191.
9. **Mahvi A, Kia E.** Helminth eggs in raw and treated wastewater in the Islamic Republic of Iran. *East Mediterranean Health J.* 2006;12:137-43.
10. **Agudelo S, Gómez L, Coronado X, Orozco A, Valencia C, Restrepo L, et al.** Prevalencia de parasitosis intestinales y factores asociados en un corregimiento de la Costa Atlántica Colombiana. *Rev Salud Pública.* 2008;10:633-42. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642008000400013>
11. **Navarro I, Jiménez B, Cifuentes E, Lucario S.** Application of helminth ova infection dose curve to estimate the risks associated with biosolid application on soil. *J Water Health.* 2009;7:31-44. <https://doi.org/10.2166/wh.2009.113>
12. **American Public Health Association.** Standard methods for examination of water and wastewater. 20th edition. Washington, D.C.: American Public Health Association; 2005. p. 321-2.
13. **Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.** Norma oficial mexicana. Determinación de huevos de helminto - Método de prueba. NMX-AA-113-SCFI. México: Diario Oficial; 1999. p. 1-11.
14. **Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.** Norma oficial mexicana. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. NOM-004-ECOL. México: Diario Oficial; 2002. p. 18-60.
15. **Instituto Geográfico Agustín Codazzi.** Manual de métodos analíticos. Instructivo para toma de muestras de suelo. Bogotá: Instituto Geográfico Agustín Codazzi; 2007. p. 4-5.
16. **Centro de Investigaciones y Asesorías Agropecuarias.** Instructivo de toma de muestras para tejido vegetal del laboratorio de fertilidad de suelos, foliares y agua. Bogotá: Universidad Jorge Tadeo Lozano; 2006. p. 4-5.
17. **Kozan E, Gonenc B, Sarimehmetoglu O, Hasan A.** Prevalence of helminth eggs on raw vegetables used for salads. *Food Control.* 2005;16:239-42. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.02.005>
18. **República de Colombia.** Resolución 1207 de 2014. Uso de aguas tratadas. Fecha de consulta: 10 de abril de 2015. Disponible en: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=59135>.
19. **República de Colombia.** Decreto 1287 de 2014. Uso de biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas. Fecha de consulta: 10 de abril de 2015. Disponible en: <http://wsp.presidencia.gov.co/Normativa/Decretos/2014/Documents/JULIO/10/DECRETO%201287%20DEL%2010%20DE%20JULIO%20DE%202014.pdf>.
20. **Epstein E.** Pathogen health aspects of land application. *BioCycle.* 1998;39:62-7.
21. **Fernández J, Reyes P, Moncada L, López M, Chávez M, Knodson A, et al.** Tendencia y prevalencia de la geohelmintiasis en La Virgen, Colombia. 1995-2005. *Rev Salud Pública.* 2007;9:289-96. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642007000200012>.
22. **Ordóñez LE, Angulo ES.** Desnutrición y su relación con parasitismo intestinal en niños de una población de la Amazonia colombiana. *Biomédica.* 2002;22:486-98. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v22i4.1175>
23. **Yáñez LD, Pérez OG.** Estudio de la presencia de formas de resistencia parasitaria (helmintos) en el río Pamplonita, Norte de Santander (Colombia). *Revista Clon UniPamplona.* 2004;2:98-102.
24. **Sengupta M, Andersen T, Dalsgaard A, Olsen A, Thamsborg S.** Resuspension and settling of helminth eggs in water: Interactions with cohesive sediments. *Water Res.* 2012;46:3903-12. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.04.033>
25. **Mara D, Sleight A.** Estimation of *Ascaris* infection risk in children under 15 from the consumption of wastewater-irrigated carrots. *J Water Health.* 2010;8:35-8.

26. **Jiménez B, Maya C, Galván M.** Helminth ova control in wastewater and sludge for advanced and conventional sanitation. *Water Sci Technol.* 2007;56:43-51.
27. **Chávez A, Jiménez B, Maya C.** Particle size distribution as a useful tool for microbial detection. *Water Sci Technol.* 2004;50:179-86.
28. **Jiménez J, Chávez A.** Removal of helminth eggs in an advanced primary treatment with sludge blanket. *Environ Technol.* 1998;19:1061-71.
29. **Ginneken M, Oron G.** Risk assessment of consuming agricultural products irrigated with reclaimed wastewater. An exposure model. *Water Resour Res.* 2000;36:2691-9. <https://doi.org/10.1029/2000WR900106>
30. **Ayres R, Stott R, Lee D, Mara D, Silva S.** Comparison of techniques for the enumeration of human parasitic helminth eggs in treated wastewater. *Environ Technol.* 1991;12:617-23. <https://doi.org/10.1080/09593339109385048>
31. **Ayers R, Stott R, Mara D, Lee D.** Wastewater reuse in agriculture and the risk of intestinal nematode infection. *Parasitol Today.* 1992;8:32-5. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(92\)90309-P](https://doi.org/10.1016/0169-4758(92)90309-P)
32. **Caccio S, Giacomo M, Alicino F, Pozio E.** *Giardia* cysts in wastewater treatment plants in Italy. *Appl Environ Microbiol.* 2003;69:3393-8. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3393-3398.2003>
33. **Özlem E, Sener H.** The contamination of various fruit and vegetable with *Enterobius vermicularis*, *Ascaris* eggs, *Entamoeba histolytica* cyst and *Giardia* cysts. *Food Control.* 2015;16:559-62.
34. **Johnson P, Dixon R, Ross A.** An in-vitro test for assessing the viability of *Ascaris suum* eggs exposed to various sewage treatment processes. *Int J Parasitol.* 1998;28:723-9. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(97\)00210-5](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(97)00210-5)
35. **Schwartzbrod J, Mathieu C, Thévenot M, Baradel J, Schwartzbrod L.** Wastewater sludge: Parasitological and virological contamination. *Water Sci Technol.* 2002;19:33-40.
36. **Navarro I, Jiménez B, Cifuentes E, Lucario S.** Application of helminth ova infection dose curve to estimate the risk associated with biosolid application on soil. *J Water Health.* 2009;7:31-43. <https://doi.org/10.2166/wh.2009.113>
37. **Cárdenas M, Moreno G, Campos C.** Evaluation of fecal contamination indicators (fecal coliforms, somatic coliphages and helminth eggs) in ryegrass sward farming. *J Environ Sci Health. Part A.* 2009;44:249-57. <https://doi.org/10.1080/10934520802597846>
38. **Campos C, Beltrán M, Duarte M, Medina L, Lucena F, Jofre J.** Abatement of helminth eggs and bacterial and viral indicators in soil after land application of treated sludges. *J Water Resour Prot.* 2013;5:1155-64. <https://doi.org/10.4236/jwarp.2013.512122>
39. **National Research Council.** Biosolids applied to land: Advancing standards and practices. Washington D.C.: The National Academies Press; 2002. p. 345. <https://doi.org/10.17226/10426>
40. **Gaspard P, Schwartzbrod J, Wiart J, Galvez L, Dumoutier N.** Parasitological risk associated with the use of biosolids in agriculture: Nematode egg survival on grass, vegetables and soils. Beneficial reuse of water and biosolids. Marbella: Water Environment Federation; 1997. p. 17-27.
41. **Storey G, Phillips R.** The survival of parasite eggs throughout the soil profile. *Parasitology.* 1985;91:585-90.