










## Evaluación de la calidad microbiológica de efluentes de aguas residuales municipales tratadas con fines de riego de cultivos

### Microbiological quality assessment of treated municipal wastewater effluents for crop irrigation purposes

Gurrola-Ramírez, A.<sup>1</sup> , Chaidez, C.<sup>1</sup> , Navarro-Ocaña, A.<sup>2</sup> , Medrano-Félix, J.A.<sup>3</sup> ,  
González-Gómez, J.P.<sup>1</sup> , González-López, I.<sup>1</sup> , Silva-Beltrán, N.P.<sup>4</sup> ,  
Castro-del Campo, N.<sup>1</sup> , López-Cuevas, O.<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup>Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA), Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a Eldorado, km. 5.5, Campo El Diez, C.P. 80110. Culiacán, Sinaloa, México.

<sup>2</sup>Department of Public Health, Faculty of Medicine, Universidad Nacional Autónoma de México. México City, México.

<sup>3</sup>Investigadoras e Investigadores por México-Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Coordinación Regional Culiacán. Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA), Sinaloa, México.

<sup>4</sup>Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Sonora, Campus Cajeme. Ejido Providencia, Ciudad Obregón C.P. 85010, Sonora, México.



**Please cite this article as/Como citar este artículo:**

Gurrola-Ramírez, A., Chaidez, C., Navarro-Ocaña, A., Medrano-Félix, J.A., González-Gómez, J.P., González-López, I., Silva-Beltrán, N.P., Castro-del Campo, N., López-Cuevas, O. (2024). Microbiological quality assessment of treated municipal wastewater effluents for crop irrigation purposes. *Revista Bio Ciencias*, 11, e1543. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1543>

**Article Info/Información del artículo**

Received/Recibido: May 18<sup>th</sup> 2023.

Accepted/Aceptado: October 27<sup>th</sup> 2023.

Available on line/Publicado: December 11<sup>th</sup> 2023.

#### RESUMEN

La producción masiva de cultivos demanda enormes volúmenes de agua para el riego. La escasez de agua ha llevado a los productores a buscar fuentes de agua alternativas adecuadas. Se ha documentado el uso de aguas residuales tratadas con fines agrícolas; sin embargo, las altas cargas microbianas representan un alto riesgo para los consumidores de productos agrícolas contaminados. Este estudio evaluó la calidad microbiológica de las aguas residuales tratadas de tres canales artificiales pertenecientes a dos plantas de tratamiento de aguas residuales municipales en Sinaloa, México. Se cuantificó la concentración de coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* mediante métodos estándar en 60 muestras de aguas residuales tratadas. Los coliformes fecales y *E. coli* se cuantificaron de  $4,0 \times 10^2$  a  $3,9 \times 10^7$  CFU/100 mL y de  $1,0 \times 10^2$  a  $1,0 \times 10^7$  CFU/100 mL, respectivamente. *Salmonella* se aisló de 45 muestras, con el valor más alto de 16,14 MPN/L. La mayoría de las muestras examinadas excedieron los límites permisibles nacionales e internacionales de coliformes fecales en agua para fines agrícolas. Por lo tanto, las aguas residuales municipales tratadas del centro de Sinaloa, México, no son aptas para el riego agrícola de productos hortofrutícolas.

**PALABRAS CLAVE:** Riego de cultivos, *E. coli*, Coliformes fecales, *Salmonella*, Aguas residuales municipales tratadas.

**\*Corresponding Author:**

**Oswaldo López-Cuevas.** Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA), Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a Eldorado, km. 5.5, Campo El Diez, C.P. 80110. Culiacán, Sinaloa, México. Teléfono (667) 267 2848. E-mail: [osvaldo.lopez@ciad.mx](mailto:osvaldo.lopez@ciad.mx)

---

## ABSTRACT

---

Massive crop production requires enormous volumes of water for irrigation. Water scarcity has led growers to seek suitable alternative water sources. Treated wastewater for agricultural purposes has been documented; however, high microbial loads pose a high risk to consumers of contaminated produce. This study aimed to evaluate the microbiological quality of treated wastewater from three artificial canals belonging to two treated municipal wastewater plants in Sinaloa, Mexico. Fecal coliforms, *Escherichia coli*, and *Salmonella* concentrations were quantified in 60 treated wastewater samples using standard methods. Fecal coliforms and *E. coli* ranged from  $4.0 \times 10^2$  to  $3.9 \times 10^7$  CFU/100 mL and  $1.0 \times 10^2$  to  $1.0 \times 10^7$  CFU/100 mL, respectively. *Salmonella* was isolated from 45 samples, with the highest value of 16.14 MPN/L. Most of the examined samples exceeded the national and international permissible limits for fecal coliforms in water used for agricultural purposes. Consequently, treated municipal wastewater from central Sinaloa, Mexico, is unsuitable for agricultural irrigation of horticultural products.

---

**KEY WORDS :** Crops irrigation, *E. coli*, Fecal coliforms, *Salmonella*, Treated municipal wastewater.

---

## Introducción

Los recursos naturales y las condiciones climáticas hacen de México un país con vastas y firmes tierras para la producción de hortalizas y granos de alta calidad. En particular, existen regiones de producción intensiva, como el noroccidental estado de Sinaloa, México, con la mayor producción y exportación de productos hortícolas, que suman hasta 11.39 millones de toneladas en una superficie cultivada de 1.029 millones de hectáreas durante 2022 (CODESIN, 2023). Sin embargo, la escasez de agua ha obligado a los agricultores a explorar nuevas estrategias para el riego de cultivos, y una alternativa potencial es el uso de aguas residuales tratadas. Las aguas residuales en cuestión son una combinación de efluentes domésticos e industriales de centros comerciales, instituciones públicas, drenaje urbano y fuentes agrícolas y ganaderas. Estas aguas residuales se someten a un tratamiento de saneamiento que las transforma en aguas residuales tratadas (TWW), que posteriormente se vierten a los cuerpos de agua superficiales a través de canales antes de llegar a las aguas costeras.

En los últimos años, tanto las aguas residuales municipales tratadas como las no tratadas han acaparado cada vez más atención como recursos hídricos fiables para el riego de cultivos en zonas propensas a la sequía (Belay *et al.*, 2020). Esta práctica es especialmente destacada en los países de renta baja, donde los agricultores buscan alternativas, y la reutilización de aguas

residuales tratadas surge como una estrategia de riego viable para lograr un desarrollo sostenible (WHO, 2006; Drechsel & Evans, 2010; Akpor & Muchie, 2011). Algunos países, como Jordania y Arabia Saudí, han desarrollado políticas nacionales para la reutilización de sus efluentes de aguas residuales tratadas, logrando avances considerables en su aplicación. Es evidente que estos países cuentan con sistemas fiables de tratamiento terciario de aguas residuales, con aplicaciones primarias en servicios agrícolas (riego de jardines y cultivos), comerciales e industriales (Ouda, 2016).

China lleva décadas aplicando las aguas residuales municipales tratadas (TMWW) a la agricultura, y millones de hectáreas se riegan anualmente con esos efluentes. La amplia aceptación de las TWW en la agricultura se debe a necesidades agronómicas y económicas; sin embargo, las TWW de baja calidad pueden suponer un riesgo grave para la salud pública, sobre todo para los cultivos de regadío vulnerables a contraer patógenos (Xie, 2009). Microorganismos patógenos como los patotipos de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., Norovirus, Adenovirus, virus de la Hepatitis A, *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis*, y *Giardia lamblia* se han encontrado con frecuencia en TMWW (Yin & Patel, 2018). Además, se han documentado algunas desventajas y problemas de salud asociados con la reutilización de TWW, incluidas enfermedades cutáneas (Trang et al., 2007) y enfermedades diarreicas (Ferrer et al., 2012). Además, estudios indirectos que emplean el análisis cuantitativo de riesgos microbiológicos han demostrado los riesgos potenciales para la salud asociados con el uso de TWW en el riego de cultivos (Dickin et al., 2016).

Estudios realizados en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México, han informado de graves consecuencias para la salud humana en la región debido a las aguas residuales no tratadas (Cifuentes et al., 1994; Jiménez et al., 2005). Entre los problemas de salud más comunes a los que se enfrenta la población local se encuentran las infecciones parasitarias, como la ascariasis (Jiménez et al., 2005).

Por lo tanto, los productores y el gobierno deben implementar medidas para minimizar los impactos adversos para la salud y el medio ambiente, incluyendo tecnologías confiables de tratamiento de agua y políticas públicas para utilizar razonablemente las TMWW (Akpor & Muchie, 2011; Ouda, 2016). Los organismos indicadores como las bacterias coliformes, *Escherichia coli* y estreptococos fecales sirven como indicadores indirectos de contaminación fecal y se asocian con la presencia potencial de patógenos específicos en las aguas residuales (Paillard et al., 2005). En México, la normatividad regulatoria establece a los coliformes fecales, *Escherichia coli* y huevos de helmintos como criterios microbiológicos para la aptitud de las aguas residuales para su descarga en cuerpos de agua nacionales, así como para su uso con fines agrícolas como riego de parques urbanos y cultivos diversos, incluyendo forrajes, granos y hortalizas (NOM-001-ECOL-1996; NOM-001-SEMARNAT-2021; NOM-003-ECOL-1997). Sin embargo, con base en la NOM-001-ECOL-1996, la aptitud del agua residual para uso agrícola debe tener recuentos de coliformes fecales menores a  $2 \times 10^3$  MPN/100 mL o CFU/100 mL, sin límites específicos para bacterias patógenas.

Dos plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, ubicadas en los municipios de Culiacán y Navolato, Sinaloa, México, específicamente en las ciudades de Culiacancito y Villa Adolfo López Mateos, respectivamente, son responsables de tratar la mayor parte de las aguas residuales generadas por la ciudad de Culiacán y varias ciudades y pueblos aledaños. La planta Norte de Culiacancito emplea un sistema biológico primario avanzado y puede producir hasta 1.533 L/s, mientras que la planta de Villa Adolfo López Mateos utiliza lagunas biológicas de oxidación-estabilización y produce 12 L/s. En conjunto, ambas plantas producen aproximadamente 133.488 m<sup>3</sup> /24 h. El sistema de drenaje consiste en canales artificiales exteriores de ambas plantas, que fusionan y descargan sus aguas hacia la región costera (Figura 1). A lo largo de estos canales hay tierras de cultivo adyacentes en las que se cultivan hortalizas y cereales que pueden regarse con esta agua. Sin embargo, las fuentes de contaminación puntual y difusa contribuyen a aumentar la carga microbiana de los canales. El uso de aguas residuales municipales mal tratadas para el riego agrícola plantea riesgos para la salud de los consumidores. El objetivo de esta investigación es evaluar la aptitud de las TMWW para el riego agrícola mediante la evaluación de las concentraciones de coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., determinando así la calidad microbiológica del agua de las dos plantas de aguas residuales municipales tratadas en Sinaloa, México.

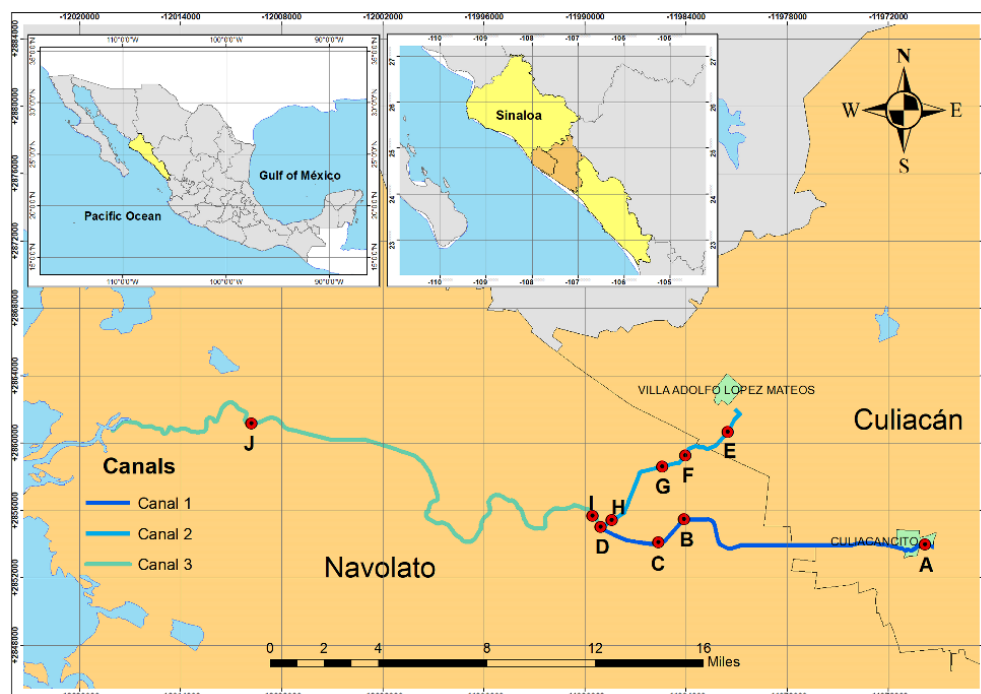


Figura 1. Representación geográfica de los puntos muestreados en la zona estudiada.

## Material y Métodos

### Área de estudio

El área de estudio abarca los municipios de Culiacán y Navolato en el estado de Sinaloa, México (ver material complementario Tabla 1). La planta de TMWW Norte, ubicada en el municipio de Culiacancito (coordenadas: 24° 49' 27" N; 107° 33' 08" O), recibe cerca del 85 % de las aguas residuales de la ciudad de Culiacán. Esta planta emplea un sistema de lagunas aireadas con proceso biológico y sedimentación forzada, manejando un afluente de hasta 1700 L/s y generando una descarga de 1533 L/s, que desemboca en el canal artificial "Cedritos" (referido como canal 1). La planta de TMWW "El Tamarindo", ubicada en la comunidad de Villa Adolfo López Mateos, Navolato (24°, 53', 26" N; 107°, 38', 16" O), es una planta de laguna de oxidación (estabilización) y proceso biológico anaerobio facultativo, con un afluente de 13 L/s y una descarga de 12 L/s, tratando un volumen diario de 1123 m<sup>3</sup> (comunicación personal obtenida de la oficina de la Junta Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Culiacán). Las plantas de TMWW descargan en el canal "El Papachal" (canal 2). Ambos canales siguen su cauce y convergen en el poblado de "El Paraíso" (después de fusionarse, se les denomina en conjunto canal 3), el cual continúa hasta llegar a su desembocadura en la Bahía de Santa María, Navolato (Figura 1).

### Toma de muestras

El muestreo de aguas residuales municipales tratadas y el análisis microbiológico se realizaron entre noviembre de 2018 y abril de 2019, correspondientes al periodo de mayor actividad agrícola y alta demanda de agua de riego para cultivos, incluyendo granos y hortalizas. Se recolectaron un total de 60 muestras, tomando una muestra cada mes en 10 puntos de muestreo geográficamente referenciados a lo largo de los tres canales que conducen a la región costera de Navolato (material complementario Tabla 1). Se colectó un litro de agua residual tratada en cada punto de muestreo utilizando botellas estériles de polipropileno de acuerdo al método de muestreo descrito en el PROY-NMX-AA-003/3-SCFI-2008. Las muestras se transportaron a 4 °C al Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA) del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), estación Culiacán. El análisis se realizó dentro de las 24 horas siguientes a la toma de la muestra.

## Cuantificación de coliformes fecales y *E. coli*

El análisis de coliformes fecales (FC) y *E. coli* se realizó por el método de filtración por membrana, siguiendo la norma mexicana NMX-AA-102-SCFI-2006, con algunas modificaciones. Brevemente, las muestras se sometieron a diluciones seriadas (1:10) en solución de fosfato tamponada (pH 7.2) y luego se filtraron a través de membranas estériles de nitrocelulosa de 0.45 µm (GN-6 Metricel, Pall Corp., NY, EUA). Posteriormente, las membranas se incubaron en agar cromogénico ECC (CHROMagar™ ECC, París, Francia) durante 24 h a 44 °C. La cuantificación simultánea de *E. coli* y coliformes fecales se determinó basándose en los diferenciales de color de las colonias, tal como indica el fabricante. La presencia de FC se confirmó mediante la producción de gas indicada por el ascenso de Durham en caldo de lactosa-peptona (PLB Medium, Difco, Madrid, España) tras 24-48 h de incubación a 44.5 °C. *E. coli* se confirmó por producción de gas mediante inoculación de colonias presuntivas en medio EC (EC, Difco, Madrid, España) e incubación a 37 °C durante 24 h. Al mismo tiempo, se inocularon colonias presuntivas en caldo de triptona, seguido de la adición del reactivo de Kovacs para comprobar la producción de indol.

## Cuantificación de *Salmonella*

Para enumerar *Salmonella* se empleó el método del número más probable (MPN), siguiendo el protocolo No. 1200 establecido por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos (US-EPA, 2012). Se prepararon concentraciones seriadas de caldo soya tripticaseína (TSB). A cada una de ellas se añadieron 20, 10 y 1 mL de muestras de TMWW, seguidas de incubación a 36 °C ± 1.5 °C durante 24 horas. Posteriormente, a partir de los tubos que presentaban crecimiento bacteriano, se extendieron gotas de 30 µL sobre Agar Rappaport-Vassiliadis semisólido modificado (MSRV, BD-DIFCO, Maryland, EE.UU.) y se incubaron a 42 °C durante 24 horas. Se aislaron las colonias con características de *Salmonella* y se sembraron en el agar desoxicolato de xilosa-lisina (XLD, Bioxon, México), y se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Las colonias que mostraban características de *Salmonella* en el agar XLD se cultivaron en agar de soya tripticaseína (TSA), y se realizaron pruebas bioquímicas utilizando un conjunto de agar-hierro-lisina (LIA-Difco Medium, Madrid, España), agar hierro triple azúcar (TSI-Medium, Difco, Madrid, España) y caldo de urea (Urea Broth, Difco Madrid, España). Las pruebas bioquímicas se incubaron a 37 °C durante 24 horas y se identificaron las presuntas *Salmonella* spp.

## Confirmación y serotipado de *Salmonella* por PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final se llevó a cabo según el protocolo previamente diseñado y validado en nuestro laboratorio (datos no mostrados) utilizando los oligonucleótidos del gen *pfk* sentido-5'-ACACCTCCTCTTCTCACCAGCGTATC-3, y antisentido-5'-CGGCTTTGATTTCCGCCACCAGA-3' (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.). Brevemente, la extracción de DNA se realizó a partir de presuntas colonias puras de *Salmonella* (c.a. 1X10<sup>6</sup> CFU) inoculadas en tubos estériles de 0,6 mL que contenían 100 µL de



agua nanopura (PISA, México). La muestra se agitó en vórtex durante un minuto y después se lisó por choque térmico en un termociclador a 94 °C durante 15 min, seguido de incubación en hielo durante 10 min. Los lisados celulares se centrifugaron a 6.700 x g durante 5 min y se recuperó el sobrenadante. La concentración de DNA se ajustó a una concentración final de 50 ng/μL utilizando un espectrofotómetro NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.).

Se prepararon 10 microlitros de mezcla para las reacciones de PCR (Taq® DNA Pol 0.5 U, tampón de amplificación libre MgCl<sub>2</sub> 1.0 X, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, mezcla de dNTP's 400 mM [Promega®, USA], cada primer sentido y antisentido 200 mM, 1 μL de la muestra de DNA (c.a. 50 ng), y agua libre de nucleasas para alcanzar un volumen final de 10 μL). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador Mastercycler® de gradiente (Eppendorf, Hamburgo, Alemania), incluyendo un paso inicial de 5 min a 95 °C para la desnaturalización del DNA; posteriormente se incluyeron 30 ciclos de 50 s a 95 °C, 50 s a 60 °C y 1 min a 72 °C. Se realizó un ciclo final de 5 min a 72 °C para la extensión final, y la estabilización de la reacción se realizó a 4 °C. Los productos de PCR se analizaron inmediatamente mediante electroforesis en geles de agarosa al 0.8% (Promega®, EE.UU.) en tampón TAE 1X (Eppendorf®, EE.UU.) durante 40 minutos a 70 V y se tiñeron con GelRed®. Las muestras se consideraron positivas cuando se observó un producto amplificado de 170-180 pb (material complementario, figura 1). De cada muestra, se seleccionaron de tres a seis aislados de *Salmonella* confirmadas por PCR y se serotipificaron según el esquema de Kauffmann-White (Grimont & Weill, 2007) en el Laboratorio de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

## Resultados

### Recuento de bacterias indicadoras

Se encontraron coliformes fecales (FC) en el 100 % de las 60 muestras analizadas (Tabla 1). El Canal 1 presentó las mayores concentraciones de FC, fluctuando entre 8.0x10<sup>5</sup> CFU/100 mL (punto de muestreo C en febrero) y 3.9x10<sup>7</sup> CFU/100 mL (punto de muestreo A en noviembre). El canal 2 presentó recuentos de FC que oscilaron entre 4.0x10<sup>2</sup> CFU/100 mL (punto de muestreo E en marzo) y 1.0x10<sup>6</sup> CFU/100 mL (punto de muestreo F en noviembre). Por último, el canal 3 mostró niveles de FC que fluctuaban entre 4.0x10<sup>2</sup> CFU/100 mL (punto de muestreo J en enero) y 6.0x10<sup>6</sup> CFU/100 mL (punto de muestreo I en marzo); este último recuento se registró inmediatamente después de la fusión de los canales 1 y 2. Los niveles más altos de FC se cuantificaron en el canal 1 (punto de muestreo E en noviembre). Los recuentos más elevados de FC se cuantificaron en noviembre, en el punto de muestreo A del canal 1, el más cercano a la planta de TMWW norte .

*Escherichia coli* también se cuantificó en el 100% de las 60 muestras analizadas (Tabla 1). Los mayores recuentos de *E. coli* se registraron en el canal 1, con recuentos entre 4.0x10<sup>5</sup> CFU/100 mL (puntos de muestreo B en marzo y D en febrero) y 1.0x10<sup>7</sup> CFU/100 mL (punto de muestreo A en noviembre). En el canal 2, las concentraciones de *E. coli* fluctuaron

entre  $3.4 \times 10^2$  CFU/100 mL (punto de muestreo G en abril) y  $1.3 \times 10^5$  CFU/100 mL (punto de muestreo G en enero). En el canal 3, los valores fluctuaron de  $1.0 \times 10^2$  CFU/100 mL (punto de muestreo J en febrero) a  $2.7 \times 10^6$  CFU/100 mL (punto de muestreo I en noviembre).

**Tabla 1. Concentraciones de coliformes fecales y *Escherichia coli* en las TMWW analizadas por ubicación y periodo de tiempo evaluado.**

Canales	Punto de muestreo	Meses/Concentraciones de coliformes fecales <sup>s</sup> y <i>Escherichia coli</i> <sup>e</sup> (CFU/100 mL)					
		Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr
Canal 1	A	$3.9 \times 10^{7s}$	$5.3 \times 10^6$	$3.1 \times 10^6$	$7.5 \times 10^6$	$8.25 \times 10^6$	$7.4 \times 10^6$
		$1.0 \times 10^{7e}$	$4.4 \times 10^6$	$7.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^6$	$7.0 \times 10^5$	$8.2 \times 10^5$
	B	$6.5 \times 10^6$	$2.3 \times 10^6$	$4.7 \times 10^6$	$8.0 \times 10^6$	$2.25 \times 10^6$	$3.2 \times 10^6$
		$5.2 \times 10^6$	$6.0 \times 10^5$	$1.4 \times 10^6$	$6.1 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$	$5.0 \times 10^5$
C	$9.2 \times 10^6$	$5.9 \times 10^6$	$4.4 \times 10^6$	$8.0 \times 10^5$	$3.0 \times 10^6$	$3.4 \times 10^6$	
	$5.7 \times 10^6$	$5.0 \times 10^5$	$1.1 \times 10^6$	$5.4 \times 10^5$	$9.0 \times 10^5$	$9.2 \times 10^5$	
D	$1.0 \times 10^7$	$7.2 \times 10^6$	$7.8 \times 10^6$	$6.3 \times 10^6$	$4.0 \times 10^6$	$4.5 \times 10^6$	
	$6.7 \times 10^6$	$2.3 \times 10^6$	$8.0 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$	$5.0 \times 10^5$	$6.3 \times 10^5$	
Canal 2	E	$1.3 \times 10^5$	$6.7 \times 10^4$	$5.8 \times 10^4$	$2.5 \times 10^3$	$4.0 \times 10^2$	$5.3 \times 10^2$
		$8.0 \times 10^2$	$2.1 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$	$2.0 \times 10^3$	$4.0 \times 10^2$	$5.2 \times 10^2$
	F	$1.0 \times 10^6$	$9.8 \times 10^3$	$6.0 \times 10^2$	$7.7 \times 10^3$	$8.0 \times 10^2$	$7.3 \times 10^2$
		$8.0 \times 10^2$	$9.0 \times 10^3$	$5.0 \times 10^2$	$2.9 \times 10^3$	$7.0 \times 10^2$	$4.5 \times 10^2$
G	$1.2 \times 10^5$	$5.4 \times 10^3$	$7.7 \times 10^5$	$9.5 \times 10^3$	$5.5 \times 10^2$	$4.8 \times 10^2$	
	$5.1 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$	$1.3 \times 10^5$	$1.0 \times 10^3$	$4.0 \times 10^2$	$3.4 \times 10^2$	
H	$6.7 \times 10^4$	$6.7 \times 10^4$	$2.0 \times 10^3$	$2.7 \times 10^3$	$3.5 \times 10^3$	$2.0 \times 10^3$	
	$3.3 \times 10^3$	$5.3 \times 10^4$	$1.8 \times 10^3$	$2.7 \times 10^3$	$1.4 \times 10^3$	$4.0 \times 10^2$	
Canal 3	I	$4.1 \times 10^6$	$6.0 \times 10^6$	$5.1 \times 10^6$	$2.6 \times 10^6$	$6.0 \times 10^6$	$5.7 \times 10^6$
		$2.7 \times 10^6$	$2.5 \times 10^6$	$1.7 \times 10^6$	$2.2 \times 10^5$	$7.0 \times 10^5$	$5.4 \times 10^5$
	J	$4.6 \times 10^3$	$7.6 \times 10^3$	$4.0 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$	$8.5 \times 10^2$	$7.0 \times 10^2$
		$1.2 \times 10^3$	$3.0 \times 10^2$	$2.0 \times 10^2$	$1.0 \times 10^2$	$8.5 \times 10^2$	$3.0 \times 10^2$

### Cuantificación de *Salmonella*

Se detectó *Salmonella* en el canal 1 durante todos los meses de muestreo, con una concentración máxima de 16.14 MPN/L registrada en el punto de muestreo B en noviembre. Por el contrario, los recuentos más bajos de *Salmonella* se registraron en los canales 2 y 3 durante el periodo de muestreo de diciembre ( $<0.6473$  MPN/L). Curiosamente, independientemente del periodo de muestreo, las concentraciones de *Salmonella* del canal 1 superaron sistemáticamente a las del canal 2 (Tabla 2). En noviembre, el canal 3 también mostró los valores más altos de



*Salmonella* cuando alcanzó los 14.3 MPN/L (punto de muestreo I, inmediatamente después de la unión de los canales 1 y 2). Los datos sugieren que los recuentos más elevados de *Salmonella* en el canal 3 fueron aportados principalmente por el canal 1. En cuanto a los meses de muestreo, en noviembre se encontraron las concentraciones más altas de *Salmonella*, al igual que las de FC y *E. coli*.

**Tabla 2. Concentración de *Salmonella* en MPN/L y serotipos por lugar y periodo evaluados.**

Canales y puntos de muestreo		<i>Salmonella</i> MPN/L* y serotipos <sup>€</sup> por meses de muestreo					
		Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr
Canal 1	A	12.45 <sup>¥</sup> Enteritidis <sup>€</sup> Senftenberg	0.65 Agona	9.84 Goerlitz	3.97 Give	5.5 Give	2.79 Give
	B	16.14 Goerlitz	1.3 Goerlitz	7.14 Goerlitz	2.02 NS	3.6 Muenchen	4.57 NS
	C	8.22 Agona	0.65 Agona	5.01 NS	4.57 Enteritidis	<0.6473 Give	2.26 Agona
	D	12.53 Give	<0.6473 ND	11.81 Give	5.9 NS	1.8 Agona	3.39 ND
Canal 2	E	0.484 Muenchen	<0.6473 ND	0.234 NS	0.0775 NS	<0.6473 Saphra	<0.6473 ND
	F	3.01 NS	<0.6473 ND	0.456 NS	0.312 NS	10.3 Oranienbur Saphra	0.0325 Javiana
	G	2.02 NS	<0.6473 ND	1.39 Sandiego	0.036 NS	0.4 NS	0.0325 NS
	H	0.64 NS	<0.6473 ND	2.02 Senftenberg	2.09 NS	0.18 NS	0.144 NS
Canal 3	I	14.3 NS	<0.6473 ND	3.01 Muenchen	3.39 Oranienburg	3.9 Gatineau	4.8 Give
	J	8.1 Sandiego	<0.6473 ND	3.28 Sandiego	0.0775 Senftenberg	<0.6473 ND	<0.6473 ND

ND: serotipos no detectados NS: No seleccionado para serotipado.

De cuarenta y cinco cepas de *Salmonella* confirmadas por PCR, se alcanzó el serotipado en 33, correspondientes a 11 serotipos de *Salmonella*, con diferentes frecuencias y diversos puntos de muestreo a lo largo del periodo de muestreo (Tabla 2). Los serotipos detectados fueron Give (7 cepas), Agona (5 cepas), Goerlitz (4 cepas), Muenchen, Senftenberg y Sandiego (3 cepas cada uno), Enteritidis, Saphra y Oranienburg (2 cepas, cada uno), Gatineau y Javiana (una cepa, cada uno).

## Discusión

En nuestro estudio, los coliformes fecales y *E. coli* rebasaron los límites máximos permitidos en la mayoría de los puntos y periodos de muestreo, donde se permite un máximo de  $2 \times 10^3$  CFU/100 mL de coliformes fecales para riego agrícola de acuerdo a la normatividad mexicana y de la WHO (NOM-003-ECOL-1997; NOM-001-ECOL-1996; NOM-001-SEMARNAT-2021; WHO, 2006). De manera similar, la Comunidad Económica Europea estableció que los coliformes fecales deben ser menores a  $2 \times 10^3$  CFU/100 mL para fines de riego en cultivos de consumo crudo, campos deportivos y parques públicos.

Nuestros resultados demuestran que el canal 1, perteneciente a la planta Norte, mantuvo sistemáticamente las mayores cargas de coliformes fecales, *E. coli* y *Salmonella* durante el estudio en todos los puntos de muestreo. Esto indica que el canal 1 es la principal fuente de contaminación microbiana vertida al sistema. Aunque los canales 2 y 3 presentaron cargas microbianas inferiores, ninguno de ellos cumplía la normativa nacional. Por lo tanto, basándonos en nuestros hallazgos y en las recomendaciones de normativas, esta agua no cumple los criterios para el riego de hortalizas. Aunque las aguas residuales y el agua potable se someten a tratamientos para eliminar los microorganismos patógenos y prevenir las enfermedades transmitidas por el agua, los estudios sugieren que el tratamiento convencional de las aguas residuales no garantiza su completa eliminación (Howard *et al.*, 2004). Se espera que los sistemas primarios biológicos avanzados sean mejores que las lagunas de estabilización biológica (Rodríguez-Miranda *et al.*, 2015); sin embargo, en nuestra investigación, observamos algunas fuentes de contaminación puntuales y no puntuales a través de ambos canales, pero mayores en el canal 1 (por ejemplo, arroyos, drenes de campos agrícolas y descargas de rastros). Aunque no pudimos confirmar los efectos de las contaminaciones puntuales y no puntuales, podrían influir en una mayor contaminación microbiológica en el canal 1.

Otros fenómenos podrían influir en las cargas microbianas de las masas de agua en momentos concretos. Por ejemplo, en diciembre, los conteos de FC y *E. coli* disminuyeron entre una y dos unidades exponenciales. Al respecto, es importante mencionar que el 4 de diciembre de 2018 (tres días antes del muestreo) precipitaron lluvias torrenciales en el centro de Sinaloa, lo que pudo haber ocasionado que las cargas bacterianas fueran arrastradas hacia los canales, provocando menores conteos microbianos en ese mes en particular.

En nuestro estudio, la *Salmonella* estaba presente en casi el 50 % de las muestras de TMWW (como confirman los recuentos de *Salmonella* y la detección de serotipos, Tabla 2).

En particular, se observó una concentración significativamente mayor en el canal 1, mientras que los valores del canal 2 fueron considerablemente inferiores. Entre las cepas de *Salmonella* seleccionadas de cada muestra positiva, fue posible identificar al menos un serotipo, y en algunos casos, se identificaron varios serotipos en una misma muestra.

En cuanto a la presencia de *Salmonella*, no existen regulaciones mexicanas específicas para el límite máximo permisible; sin embargo, Wilkes et al. (2009) mostraron que *E. coli* y coliformes fecales son los indicadores más apropiados de la presencia de *Salmonella*, en comparación con *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* y coliformes totales. Identificaron un umbral de *E. coli* de 89 CFU/100 mL, que se correlacionaba con la identificación de aproximadamente el 10% de las muestras positivas para *Salmonella*. Además, Paillard et al. (2005) mencionaron que los organismos indicadores como los coliformes, *Escherichia coli* y estreptococos fecales se correlacionan con la posible presencia de un patógeno concreto en las aguas residuales.

Varios de los serotipos de *Salmonella* identificados en nuestra investigación fueron reportados previamente en ríos y canales de riego derivados de ríos (Burgueño-Román et al., 2019) y tomates (Estrada-Acosta et al., 2014) en Culiacán, Sinaloa. Estos hallazgos apoyan la idea de que el agua de riego contaminada con *Salmonella* podría conducir a la contaminación de frutos en el campo. Este fenómeno tiene potenciales repercusiones: el riesgo laboral de los jornaleros agrícolas por el contacto directo con las TMWW con presencia de bacterias patógenas, la posible contaminación de alimentos y la consecuente amenaza para los consumidores. Esta información también es valiosa, ya que aporta nuevos conocimientos sobre la incidencia y los serotipos de *Salmonella* en TMWW de Culiacán, Sinaloa, México.

En un estudio reciente realizado por Yanagimoto et al. (2020) en Japón, 71 de las 72 muestras analizadas (99 %) dieron positivo para *Salmonella*. Obtuvieron 689 aislados de *Salmonella* pertenecientes a 38 serotipos, incluidas diez cepas no tipables. El serotipo más común fue Schwarzengrund (11 %), seguido de Anatum (9 %) y Newport (5 %).

Varios serotipos de *Salmonella* encontrados en nuestro estudio (Enteritidis, Senftenberg, Agona, Give, Muenchen, Oranienburg, Javiana y Sandiego) han sido reportados previamente por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (US-CDC) como responsables de brotes de salmonelosis. Las posibles fuentes de contaminación por *Salmonella* fueron el agua de riego y las hortalizas contaminadas procedentes de diversos lugares de México (CDC, 2018). Mohle-Boetani et al. (1999) reportaron a *Salmonella* Saphra como la causa de un brote de salmonelosis en California en 1997, asociado al consumo de melones Cantaloupes cultivados y empacados en Altamirano, Guerrero, México. Aunque no se pudo identificar el origen exacto de la contaminación, este estudio subraya el riesgo de infección por consumir alimentos contaminados con serotipos de *Salmonella* similares a los encontrados en nuestra investigación. Otros estudios han informado de brotes de *Salmonella* por consumo de productos frescos regados con agua de mala calidad (Jung et al., 2014; Adegoke et al., 2018).

Aunque se han estudiado los riesgos para la salud de la reutilización de aguas residuales en actividades agrícolas, la mayoría de los estudios han estimado el riesgo de infección basándose

en las cargas bacterianas totales en las aguas residuales. Las bacterias patógenas en el campo han recibido relativamente poca atención (Farhadkhani *et al.*, 2018). Por lo tanto, es crucial monitorear las concentraciones de bacterias patógenas en varias etapas de riego y en cultivos cultivados para evaluar los posibles riesgos para la salud humana asociados con el uso de aguas residuales.

## Conclusión

Las concentraciones de coliformes fecales y *E. coli* en la mayoría de las TMWW analizadas superaron  $1 \times 10^3$  CFU/100 mL, que es el límite más alto permisible para el agua utilizada en la agricultura de acuerdo con la normatividad mexicana. Además, la presencia de concentraciones y serotipos de *Salmonella* en varios puntos de monitoreo indica riesgos potenciales para la salud de las personas que puedan consumir hortalizas frescas regadas con esta agua. Aunque las regulaciones nacionales no especifican límites mínimos para *Salmonella*, la mayoría de las leyes internacionales requieren *Salmonella* no detectable en el agua de riego. Por lo tanto, esta investigación demostró que las TMWW del centro de Sinaloa, México, no son aptas para el riego agrícola.

## Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo: autor 2, autor 9; Realización metodológica: autor 1, autor 3, autor 4, autor 9; Gestión del software: autor 5, autor 6; Validación experimental: autor 1, autor 4, autor 9; Análisis de resultados: autor 1, autor 4, autor 5, autor 9; Gestión de datos: autor 1, autor 9; Redacción y preparación del manuscrito: autor 1, autor 5, autor 6, autor 9; Lectura, revisión y edición: autor 2, autor 3, autor 4, autor 5, autor 6, autor 7, autor 8; Gestión del proyecto: autor 2, autor 9; Obtención de financiación: autor 2. Todos los autores leyeron y aceptaron la versión pública de este manuscrito: GRA, CC, NOA, MFJA, GGJP, GLI, SVNP, CCN y LCO.

## Financiamiento

Este proyecto fue financiado parcialmente por la Beca de Estudios de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT Beca No. 636072) a Aramis Gurrola Ramírez. Esta investigación también fue apoyada por los fondos del Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA), Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Célida Isabel Martínez Rodríguez su apoyo técnico durante la etapa experimental.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Referencias

- Adegoke, A. A., Amoah, I. D., Stenström, T. A., Verbyla, M. E., & Mihelcic, J. R. (2018). Epidemiological evidence and health risks associated with agricultural reuse of partially treated and untreated wastewater: A review. *Frontiers in Public Health*, 6, 376581. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2018.00337>
- Akpor, O. B., & Muchie B. (2011). Environmental and public health implications of wastewater quality. *African Journal of Biotechnology*, 10(13), 2379-2387. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1797>
- Belay, Z., Gengel, E., & Chala, B. (2020). Assessment of microbiological quality and drug resistance patterns of raw vegetables irrigated with Hasassa River, West Arsi Zone, Oromia Region, Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research*, 14(9), 507–15. <https://doi.org/10.5897/AJMR2019.9205>
- Burgueño-Roman, A., Castañeda-Ruelas, G. M., Pacheco-Arjona, R., & Jimenez-Edeza, M. (2019). Pathogenic potential of non-typhoidal Salmonella serovars isolated from aquatic environments in Mexico. *Genes & Genomics*, 41, 767-779. <https://doi.org/10.1007/s13258-019-00798-7>
- Centers for Disease Control and Prevention [Centers for Disease Control and Prevention website]. (2022, January 20). Outbreak of Salmonella Infections Linked to Hy-Vee Spring Pasta Salad-Final Update. <https://www.cdc.gov/salmonella/sandiego-07-18/index.html>.
- Cifuentes, E., Blumenthal, U., Ruiz, G., Bennett, S., & Peasey, A. (1994). Escenario epidemiológico del uso agrícola del agua residual: El Valle del Mezquital, México. *Salud pública de México*, 1(1), 3-9. <https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/5724/6307>
- Consejo para el Desarrollo Económico de Sinaloa [Consejo para el Desarrollo Económico de Sinaloa website]. (2023, September 27). Sinaloa en números: Evolución de los indicadores de la agricultura en Sinaloa durante el 2022. <https://sinaloaennumeros.codesin.mx/wp-content/uploads/2023/06/Reporte-24-del-2023-de-Agricultura-en-sinaloa-2022.pdf> <https://sinaloaennumeros.codesin.mx/wp-content/uploads/2023/06/Reporte-24-del-2023-de-Agricultura-en-sinaloa-2022.pdf>
- Dickin, S. K., Schuster-Wallace, C. J., Qadir, M., & Pizzacalla, K. (2016). A review of the health risks and routes of exposure to the use of wastewater in agriculture. *Environmental Health Perspectives*, 124(7), 900-909. <https://doi.org/10.1289/ehp.1509995>
- Drechsel, P., & Evans, A. E. V. (2010). Wastewater use in irrigated agriculture. *Irrigation and Drainage Systems*, 24(1), 1-3. <https://doi.org/10.1007/s10795-010-9095-5>
- Estrada-Acosta, M., Jiménez, M., Chaidez, C., León-Félix, J., & Castro-del Campo, N. (2014). Irrigation water quality and the benefits of implementing good agricultural practices during tomato (*Lycopersicon esculentum*) production. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(7), 4323-4330. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-3701-1>

- Farhadkhani, M., Nikaeen, M., Yadegarfar, G., Hatamzadeh, M., Pourmohammadbagher, H., Sahbaei, Z., & Rahmani, H. R. (2018). Effects of irrigation with secondary treated wastewater on physicochemical and microbial properties of soil and produce safety in a semi-arid area. *Water Research*. 144, 356-364. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.07.047>
- Ferrer, A., Nguyen-Viet, H., & Zinsstag, J. (2012). Quantification of diarrhea risk related to wastewater contact in Thailand. *EcoHealth*. 9(1), 49-59. <https://doi.org/10.1007/s10393-012-0746-x>
- Grimont, P. A., & Weill, F. X. (2007). Antigenic formulae of the Salmonella serovars. WHO collaborating centre for reference and research on Salmonella, 9, 1-166. <http://www.scacm.org/free/Antigenic%20Formulae%20of%20the%20Salmonella%20Serovars%202007%209th%20edition.pdf>.
- Howard, I., Espigares, E., Lardelli, P., Martín, J. L., & Espigares, M. (2004). Evaluation of microbiological and physico-chemical indicators for wastewater treatment. *Environmental Toxicology*. 19(3), 241–249. <https://doi.org/10.1002/tox.20016>
- Jiménez, C. B., Siebe, G. C., & Cifuentes, G. E. (2005). El reúso intencional y no intencional del agua en el valle de Tula (The intentional and nonintentional reuse of water in the Tula valley). In: *El agua en México vista desde la academia*, B. Jiménez & L. Marín (ed.). 1st digital Edition. Academia Mexicana de Ciencias, México D.F. México, pp. 47-49. <https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2010/12/El-agua-en-M%C3%A9xico-vista-desde-la-academia.pdf>
- Jung, Y., Jang, H., Matthews, K. R. (2014). Effect of the food production chain from farm practices to vegetable processing on outbreak incidence. *Microb Biotechnol*. 7(6), 517–27. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12178>
- Mohle-Boetani, J. C., Reporter, R., Werner, S. B., Abbott, S., Farrar, J., Waterman, S. H., & Vugia, D. J. (1999). An outbreak of Salmonella serogroup Saphra due to cantaloupes from Mexico. *The Journal of Infectious Diseases*. 180(4), 1361-1364. <https://doi.org/10.1086/314995>
- NMX-AA-102-SCFI-2006. (2006). Calidad del agua–Detección y enumeración de organismos Coliformes, Organismos Coliformes termotolerantes y Escherichia coli presuntiva – Método de filtración por membrana (Cancela a la NMX-AA-102-1987). *Diario Oficial de la Federación*.
- NOM-001-ECOL-1996. (1996). NORMA Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en lasdescargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. *Diario Oficial de la Federación*. 24 de Diciembre de 1996.
- NOM-003-ECOL-1997. (1998). NORMA Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. *Diario Oficial de la Federación*. 22 de Abril de 1998.
- NOM-001-SEMARNAT-2021. (2021). NORMA Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación. *Diario Oficial de la Federación*.
- Ouda, O. K. (2016). Treated wastewater use in Saudi Arabia: challenges and initiatives. *International Journal of Water Resources Development*. 32(5), 799-809. <https://doi.org/10.1080/07900627.2015.1116435>
- Paillard, D., Dubois, V., Thiebaut, R., Nathier, F., Hogland, E., Caumette, P., & Quentine, C. (2005). Occurrence of Listeria spp. In effluents of French urban wastewater treatment plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(11), 7562-7566. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7562-7566.2005>



- PROY-NMX-AA-003/3-SCFI-2008. (2008). Aguas residuales-Muestreo (Todas las partes cancelan al PROY NMX-AA-003-SCFI-2006) Parte 3 Guía para el muestreo de aguas residuales. Diario Oficial de la Federación.
- Rodríguez-Miranda, J. P., García-Ubaque, C. A., & Pardo-Pinzón, J. (2015). Selección de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales municipales. *Tecnura*, 19(46), 149-164. <http://www.scielo.org.co/pdf/tecn/v19n46/v19n46a13.pdf>
- Trang, D. T., Mølbak, K., Cam, P. D., & Dalsgaard, A. (2007). Incidence of and risk factors for skin ailments among farmers working with wastewater-fed agriculture in Hanoi, Vietnam. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 101(5), 502-510. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2006.10.005>
- United States Environmental Protection Agency. (2012). Method 1200: Analytical Protocol for Non-Typhoidal Salmonella in Drinking Water and Surface Water. (EPA. EPA 817-R-12-004). U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, USA. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/epa817r12004.pdf>
- Wilkes, G., Edge, T., Gannon, V., Jokinen, C., Lyautey, E., Medeiros, D., Neumann, N., Ruecker, N., Topp, E., & Lapen, D. R. (2009). Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenic bacteria, Cryptosporidium oocysts, Giardia cysts, and hydrological indices for surface waters within an agricultural landscape. *Water Research*. 43(8), 2209–2223. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.01.033>
- World Health Organization. (2006). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Volume 4, Excreta and greywater use in agriculture. Geneva. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/78265>
- Xie, J. (2009). Addressing China's Water Scarcity: Recommendations for Selected Water Resource Management Issues. World Bank. ©World Bank. License: CC BY 3.0 IGO." <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/2585>
- Yanagimoto, K., Yamagami, T., Uematsu, K., & Haramoto, E. (2020). Characterization of Salmonella isolates from wastewater treatment plant influents to estimate unreported cases and infection sources of salmonellosis. *Pathogens*. 9(1), 52. <https://doi.org/10.3390/pathogens9010052>
- Yin, H. B., & Patel, J. (2018). Comparison of methods to determine the microbial quality of alternative irrigation waters. *Agricultural Water Management*. 201, 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.01.012>