



UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO

División de Ciencias e Ingenierías

**ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LA CALIDAD
DE LODOS RESIDUALES Y BIOSÓLIDOS PARA
USARLOS COMO MEJORADORES DE SUELOS
Y ZONAS AGRÍCOLAS**

TESIS

Para obtener el grado de

LICENCIADA EN INGENIERIA AMBIENTAL

Presenta

Alicia Itzel Medina Ortíz

Directora de Tesis

Dra. Elizabeth Miranda Tello

Chetumal, Quintana Roo. México. Julio del 2008.



UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO

División de Ciencias e Ingenierías

**ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LA CALIDAD
DE LODOS RESIDUALES Y BIOSÓLIDOS PARA
USARLOS COMO MEJORADORES DE SUELOS
Y ZONAS AGRÍCOLAS**

TESIS

Para obtener el grado de

LICENCIADA EN INGENIERIA AMBIENTAL

Presenta

Alicia Itzel Medina Ortíz

Directora de Tesis

Dra. Elizabeth Miranda Tello

Asesores Propietarios

M.C. Juan Carlos Reveles

M.C. José Martín Rivero Rodríguez

Asesores Suplentes

Dr. Víctor Hugo Delgado Blas

M.C. Juan A. Rodríguez Garza

Chetumal, Quintana Roo. México. Julio del 2008.



UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO

División de Ciencias e Ingenierías

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité de Tesis del Programa de
Licenciatura y aprobada como requisito para obtener el grado de:

LICENCIADA EN INGENIERIA AMBIENTAL

COMITÉ DE TESIS

Director: _____

Dra. Elizabeth Miranda Tello

Asesor Propietario: _____

M.C. Juan Carlos Reveles

Asesor Propietario: _____

M.C. José Martín Rivero Rodríguez

Asesor Suplente: _____

Dr. Víctor Hugo Delgado Blas

Asesor Suplente: _____

M.C. Juan A. Rodríguez Garza

Chetumal, Quintana Roo. México. Julio de 2008.

Dedicatoria

Dedico esta tesis al único que nunca me ha fallado, ni dejado sola, al único que dá de su vida, de su amor, de su paz, de su tiempo sin que yo sé lo pida, al que en los momentos mas drásticos me pone la vida, y aunque yo flaqueé nunca he dudado de su amor y aceptación sincera e incondicional, al que desde antes de empezar la carrera de Ingeniería Ambiental y durante mi formación profesional estuvo haciéndome fuerte como búfalo a pesar de mi incredulidad, de todo y contra todos; y aunque no lo crean muchos no era yo sola, ni mi intelecto tan asombroso, para generar en pocas ocasiones celos, hubo situaciones en las que llegué a perder la cabeza, exámenes, y estudiar sin poder pasar, pero sola no pude; sólo este gran amigo pudo ponerme adelante y ponerme un espíritu de abnegación a pesar de todos los tropiezos y de estar lejos de mi familia, sin fuerzas, y en ocasiones sin una buena alimentación; siempre poniéndome en el camino a aguantadores de mi carácter quienes me ayudaron incansablemente para no desistir, y especialmente a quienes me protegieron y cuidaron; a ese amigo que le prometí, que si me aceptaban en la UQROO, terminaría la carrera hasta el final, y al que por él fueron todas las cosas, a Jesús Cristo, mi salvador. ¡Gracias por todo Padre!

Agradecimientos

Agradezco al Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal, por su apoyo en mi formación profesional académica. Al CONACYT por su apoyo económico a través de la beca nivel 1 como estudiante con clave QROO-2005-C01-55927. Mi agradecimiento se extiende al Laboratorio de Química, y en general a los laboratorios del Departamento de Biotecnología ambiental.

A mi directora de tesis, Dra. Elizabeth Miranda Tello, por haberme aceptado como su estudiante, por su asesoría, dedicación y paciencia.

Al Dr. David González Solís, Profesor de ECOSUR, por su paciencia y asesoría en la identificación de especies de poliquetos.

Al Dr. Juan Manuel Arce por su asesoría y paciencia en el trabajo de Laboratorio, así como a mi compañera de laboratorio Elena Alcocer y por su colaboración en el proceso de resultados; y también a los compañeros que tuve el honor de conocer. Así como a mi compañero Jorge Dzul por facilitarnos los datos y estar pendiente de las compostas. A Don Felipe por su ayuda en el secado de las compostas. A Don Felipe, quien me ayudo secando los lodos.

A los investigadores de ECOSUR y la UQROO que con su apoyo y comprensión hicieron esto posible.

A mis amigos que incondicionalmente me ayudaron animándome a seguir adelante con esta ilusión y pese a toda dificultad: Jazmín, Alejandra, Lupe, Marisol, Marcos, Ana, Iliana, Dulce, Patricia, Susana, Nidia, Ligia, Mónica, Ernesto, Doña Elda, Doña Vita, Doña Alicia, Julisa y Nelly. A todos aquellos quienes me ayudaron con su apoyo, consejos y presencia o con su ausencia también, haciendo de lo imposible posible y brindándome su sincera amistad, y sobre todo aun en la distancia estando conmigo y en mi corazón.

Y por último especialmente agradezco a Dios por la vida, por mis padres Jorge y Gloria, mi hermana Aída, y mi sobrina Isabelita que es la princesa y luz de mi corazón, y a mis tíos, por haber confiando en mi, y por todo el gran esfuerzo que hicieron, por ponerme exactamente lo que es mejor para mi, para mi fortalecimiento y para dar a conocer su voluntad en mi. ¡Gracias, los amo mucho!

Índice General

Índice General.....	I
Índice de Figuras.....	V
Índice de Tablas.....	VII

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.1.- Importancia de la calidad microbiológica en la reutilización de los lodos residuales y biosólidos para usarlos como mejoradores de suelos y zonas agrícolas.

1.1.1 ¿Qué es un lodo residual y un biosólido?	1
1.1.2. Organismos que afectan a la salud (organismos indicadores).....	2
1.1.3. Normas mexicanas aplicables de la calidad microbiológica de los lodos residuales y de los biosólidos.....	4
1.1.4. Normas internacionales de la calidad microbiológica de los lodos y biosólidos.....	5

1.2.- Características generales de los microorganismos de estudio.

1.2.1 Enterobacterias.....	8
1.2.1.1 <i>Escherichias</i> . Patología, diagnostico y tratamiento.....	9
1.2.1.2. <i>Sallmonellas</i> . Patología, diagnostico y tratamiento.....	11
1.2.2 Helmintos. Generalidades de los helmintos.....	14
1.2.2.1. <i>Taenia y Cisticercosis</i> . Patología, diagnostico y tratamiento.....	15
1.2.2.2. <i>Áscaris Lumbricoides</i> . Patología, diagnóstico y tratamiento.....	17
1.2.2.3. <i>Uncinariasis</i> . Patología, diagnóstico y tratamiento.....	18
1.2.2.4. <i>Trichuris trichura</i> . Patología, diagnóstico y tratamiento..	19

1.3.- Antecedentes.....20

1.4.- Justificación.....21

1.5.- Objetivos e Hipótesis.....22

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS

2.1.- Métodos de Muestreos de lodos y biosólidos.

2.1.1.- Muestreo, preparación y almacenamiento de las muestras.....23

2.2.- Método para la cuantificación de coliformes fecales.....24

2.2.1.- Preparación de medios de cultivo.....25

2.2.2.- Preparación de diluciones.....25

2.2.3.- Prueba presuntiva.....25

2.2.4.- Prueba confirmativa.....26

2.2.5.- Cálculos y expresión de resultados.....26

2.3.- Método para la cuantificación de *Salmonella spp.*.....27

2.3.1.- Preparación de medios de cultivo.....28

2.3.2.- Preparación de diluciones.....28

2.3.3.- Aislamiento e identificación bioquímica de *Salmonella spp.*29

2.3.4.- Cálculos y expresión de resultados.....29

2.4.- Método para la cuantificación de huevos de helmintos.

2.4.1 Preparación de soluciones.....30

2.4.2 Concentración y separación de huevos de helmintos.....30

2.4.3 Determinación de viabilidad y observación al microscopio.....31

2.4.4 Expresión de resultados.....31

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.- Cuantificación de Organismos indicadores de contaminación biológica.

3.1.1.- En compostas experimentales.....32

3.1.1.1.- Coliformes fecales.....33

3.1.1.1.1.- Detección luego del proceso de compostaje...34

3.1.1.1.2.- Detección luego del proceso de intemperización.....36

3.1.1.2.- Salmonella spp.....	37
3.1.1.2.1.- Detección luego del proceso de compostaje...37	
3.1.1.2.2.- Detección luego del proceso de intemperización.....	39
3.1.1.3.- Huevos de Helminfos.....	41
3.1.2.- En compostas piloto.....	42
3.1.2.1.- Coliformes fecales.....	43
3.1.2.1.1.- Detección luego del proceso de compostaje...43	
3.1.2.1.2.- Detección luego del proceso de intemperización.....	44
3.1.2.2.- Salmonella spp.....	46
3.1.2.2.1.- Detección luego del proceso de compostaje...46	
3.1.2.2.2.- Detección luego del proceso de intemperización.....	48
3.1.2.3.- Huevos de Helminfos.....	49
3.2.- Comparación de resultados con los límites permisibles de la NOM- 004-SEMARNAT-2002, y sus observaciones.....	50

CAPITULO IV

CONCLUSIONES.....	52
--------------------------	-----------

CAPITULO V

ANEXOS

Anexo 1. - Medios de cultivo para Coliformes fecales.....	53
Anexo 2. - Preparación de medios de cultivo para Salmonella.....	55
Anexo 3. - Preparación de Soluciones para Huevos de Helminfos.....	58
Anexo 4.- Tabla para la identificación de bacterias por medio de las bioquímicas.	59
Anexo 5.- Resultados de los cultivos en Agar Verde Brillante.....	60
Anexo 6.- Resultados de la observación de las pruebas bioquímicas en los medios TSI y LIA.....	63

Anexo 7.- Comparación de resultados con los límites permisibles de la
NOM-004-SEMARNAT-2002.....68

CAPITULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....70

Índice de Figuras

Capítulo I

Figura 1.1.- Esquema de La producción de lodos primarios y secundarios em una planta de tratamiento de aguas residuales.....	2
Figura 1.2.- Producción de lodos residuales en La PTAR “Centenario” de La Ciudad de Chetumal.....	2
Figura 1.3.- Representación de dos ejemplares <i>Taenia solium</i> y <i>Áscaris lumbricoides</i> . Se observa el frasco de la izquierda contiene segmentos de <i>Taenia solium</i> y de la derecha <i>Áscaris lumbricoides</i> . (Flisser. A, et al, 2005).....	18

Capítulo III

Fig. 3.1 Compostas experimentales puestas en tinajas de plástico.....	32
Fig. 3.2 Tubos completamente positivos de <i>Salmonella spp.</i>	40
Fig. 3.3 Se observaron oligoquetos: Oligoqueto, la lombriz común (a); y un Aqueto, una sanguijuela (b)— y un Platelmino, una planaria (c).....	42
Fig. 3.4.- Compostas piloto en la planta de tratamiento de aguas residuales “Centenario”.....	42
Fig. 3.5.- Tubos positivos de <i>Salmonella spp</i> , prueba piloto.....	47

Capítulo V

Anexo 5

Fig. 5.1.- Caja control, color anaranjado profundo.....	60
Fig. 5.2.- Medio con inóculo de lodo crudo.....	60
Fig. 5.3.- Medio con inóculo de composta 1.....	60
Fig. 5.4.- Medio con inóculo composta 2.....	60
Fig. 5.5.- Medio con inóculo composta 3.....	61
Fig. 5.6.- Medio con inóculo composta 4.....	61
Fig. 5.7.- Medio con inóculo composta 5.	61
Fig. 5.8.- Medio con inóculo composta 6.....	61
Fig. 5.9.- Medio con inóculo composta 7.....	62

Fig. 5.10.- Medio con inóculo composta 8.62

Anexo 6

Fig. 6.1 Cepa 1 a la izquierda y cepa 2 a la derecha, obtenidas del AN de la composta 1.....65

Fig. 6.2 Cepa 3 a la izquierda y cepa 4 a la derecha, obtenidas del AN de la composta 2.....65

Fig. 6.3 Cepa 5 y 6 donde encontramos el TSI A/A, obtenidas del AN de la composta 3.66

Fig. 6.4 Cepa 7 a la izquierda y cepa 8 a la derecha, obtenidas del AN 2 colonias diferentes, en la composta 4.66

Fig. 6.5 Cepa 9 a la izquierda y cepa 10 a la derecha, obtenidas del AN de 2 colonias distintas en la composta 5.66

Fig. 6.6.-Cepa 11 obtenida del AN de la composta 6.67

Fig. 6.7.- Cepa 12 a la izquierda y cepa 13 a la derecha, obtenidas del AN de 2 colonias distintas típicas, en la composta 7.67

Fig. 6.8.- Cepa 14 obtenida del AN colonia típica de la composta 8.67

Índice de Tablas

Capítulo I

Tabla 1.1 Principales microorganismos patógenos y parásitos presentes en aguas y lodos residuales. (Curso pre congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Cancún, México* (EPA/G25/10-89/006))..... 3

Tabla 1.2 Niveles de calidad de lodos y sus diferencias, entre distintos países..... 4

Tabla 1.3 Límites permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos (NOM-004-SEMARNAT-2002).....5

Tabla 1.4.- Limitaciones microbiológicas para el uso agrícola de orgánicos. (J. M. Gómez Palacios; I. B. Estrada de Luis, 2005)..... 7

Capítulo II

Tabla 2.1 Tiempo máximo de preservación de muestras en el análisis de los parámetros. (NOM-004-SEMARNAT-2002.).....23

Capítulo III

Tabla 3.1 Mezclas realizadas para las compostas a nivel experimental.....33

Tabla 3.2.- Parámetros iniciales de las muestras experimentales, tomados el 10/12/ 2007.....33

Tabla 3.3.- Resultados de Coliformes fecales de las compostas experimentales, 10 diciembre del 2007.....34

Tabla 3.4.- Compostas experimentales secadas al sol. Enero del 2008.....36

Tabla 3.5.- Coliformes fecales presentes en las compostas experimentales. 31 de Enero del 2008.....36

Tabla 3.6.- Resultados de *Salmonella spp.* de las compostas experimentales en Caldo Selenito Cistina. Diciembre del 2007.....38

Tabla 3.7.- Resultados de *Salmonella spp.* de las compostas experimentales. Febrero del 2008, temperatura alcanzada entre 40 y 50 ° C.....40

Tabla 3.8.- Huevos de helmintos viables en las compostas experimentales...41

Tabla 3.9.- Mezclas de las compostas piloto.....43

Tabla 3.10.- Resultados de Coliformes fecales de las compostas piloto, Febrero del 2008.....43

Tabla 3.11.- Resultados de Coliformes fecales de las compostas piloto, Marzo

del 2008.....	45
Tabla 3.12.- Resultados de <i>Salmonella spp.</i> de las compostas piloto. Febrero del 2008.....	46
Tabla 3.13.- Resultados de <i>Salmonella spp.</i> de las compostas piloto, Marzo del 2008.....	48
Tabla 3.14.- Presencia / ausencia de Huevos de Helminos.....	49

Capítulo V

Anexo 4.- Tabla para la identificación de bacterias por medio de las bioquímicas.	59
---	----

Anexo 6.

Tabla 6.1 Resultados de las bioquímicas para la identificación de <i>Salmonella spp.</i> , en las muestras de las compostas piloto, 13 diciembre del 2007.....	63
---	----

Anexo7

Tabla 7.1.- Análisis de resultados de las muestras experimentales.....	68
Tabla 7.2.- Análisis de resultados de las muestras piloto.....	69

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1.- Importancia de la calidad microbiológica en la reutilización de los lodos residuales y biosólidos para usarlos como mejoradores de suelos y zonas agrícolas.

1.1.1.- ¿Qué es un lodo residual y un biosólido?

Los lodos residuales son sólidos en suspensión que se generan en diversos procesos del sistema de tratamiento de aguas; contienen la mayor parte de materia indeseable que es separada de la misma y cantidades variables de humedad. El costo del acondicionamiento y disposición final de estos lodos por métodos convencionales de estabilización, digestión y almacenamiento en rellenos sanitarios o incineración, puede representar hasta el 40% del gasto en una planta de tratamiento de aguas residuales (CAPA, 2005).

Los lodos se clasifican de acuerdo a su origen en tres tipos: lodos primarios, que se extraen de los módulos de pre-tratamiento y tratamiento primario; lodos secundarios, que se generan como resultado de la conversión de productos de desecho solubles de efluentes primarios y partículas que escapan del tratamiento primario y por último, lodos químicos, que se obtienen en algunos casos del tratamiento de agua residual con sales de aluminio, hierro o cal para mejorar la remoción de los sólidos suspendidos (Figura 1.1). La planta de tratamiento de aguas residuales "Centenario", en la Ciudad de Chetumal opera con el tipo de proceso de lodos activados en su modalidad de aireación extendida, y da tratamiento diario a 6,912m³ de aguas residuales, produciendo un promedio de 3m³ de lodos por día (Figura 1.2) (CAPA, 2005).

Cuando estos lodos son estabilizados, reciben el nombre de biosólidos, y son cada día más usados en diversos usos benéficos (EPA 832-F00-064, 2000).

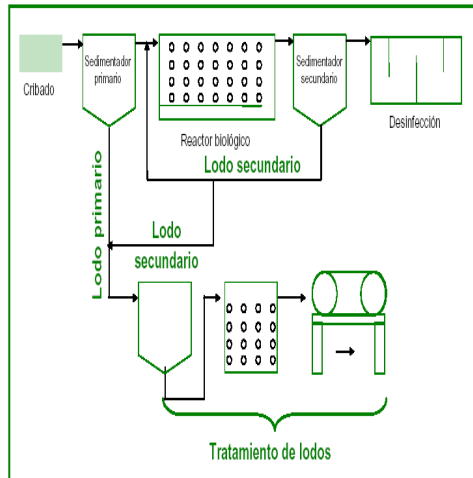


Figura 1.1 Esquema de la producción de lodos primarios y secundarios en una planta de tratamiento de aguas residuales. **Figura 1.2.** Producción de lodos residuales en la PTAR "Centenario" de la Ciudad de Chetumal.

Los biosólidos pueden utilizarse en terrenos alterados que necesitan recuperación como en el caso de los terrenos agrícolas, bosques, selvas o campos de pastoreo, por lo que mejoran algunas propiedades del suelo como son: la textura y la capacidad de absorción del agua, provocando el buen crecimiento de las raíces de las plantas y fortaleciéndolas para soportar las sequías. Los macro y micronutrientes que contienen son esenciales para el crecimiento vegetal. Dichos nutrientes se incorporan poco a poco a las plantas en crecimiento, al ser menos solubles en el agua contienen una menor capacidad de lixiviación al agua subterránea o de arrastrarse a las aguas superficiales, por lo que se dice que le devuelven al suelo su firmeza, evitando la contaminación a los mantos freáticos, aguas subterráneas, lagunas y otras aguas dulces (EPA 832-F00-064, 2000).

1.1.2.- Organismos que afectan a la salud (organismos indicadores).

Los organismos que dañan al humano (patógenos) incluyen bacterias, virus, hongos y todos los parásitos (Romero, 2007).

Los indicadores de la contaminación biológica por organismos que afectan a la salud, presentan las siguientes características:

1. Parámetros de crecimiento (temperatura, pH, etc.) similares a los de los patógenos, cuya detección y cuantificación resulta difícil o a veces imposible.

2. Son susceptibles de determinación por técnicas analíticas sencillas, fiables, precisas y no costosas.
3. Presentan resistencia a los tratamientos similar o mayor que los patógenos.
4. La concentración y la evolución de los organismos indicadores debe tener una correlación con las de la población patógena.
5. Capacidad de soportar los desinfectantes y el estrés ambiental al mismo nivel que los patógenos potencialmente presentes.

Como un único organismo indicador no predice la presencia de todos los patógenos, es mejor tener varios organismos indicadores, siendo las bacterias la mejor opción (Gómez y Estrada, 2005). Los coliformes fecales son los indicadores de contaminación biológica más utilizados, ya que están presentes siempre en aguas y lodos residuales; sin embargo en la Tabla 1.1 vemos otros organismos patógenos presentes en aguas y lodos residuales.

Tabla 1. 1 Principales microorganismos patógenos y parásitos presentes en aguas y lodos.

Patógeno	Género	Enfermedad - Síntomas
Bacterias	<i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Yersinia spp.</i> <i>Vibrio cholera</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Escherichia coli</i> (linajes patogénicos)	(Salmonelosis, fiebre tifoidea) (Shigelosis (disentería bacilar) (Gastroenteritis (diarrea y dolor abdominal) (Cólera) Gastroenteritis (diarrea) Gastroenteritis (diarrea)
Helmintos	<i>Necator americanus</i> <i>Hymenolepis nana</i> <i>Taenia solium</i> <i>Taenia saginata</i> <i>Trichuris trichiura</i> <i>Áscaris suum</i> <i>Áscaris lumbricoides</i>	(Enfermedades por uncinarias) (Teniasis, cisticercosis (perturbaciones oculares, cardíacas, del sistema nervioso central, o digestivas). (Nerviosismo, insomnio, anorexia, disturbios digestivos, dolor abdominal). (Nerviosismo, insomnio, anorexia, disturbios digestivos, dolor abdominal). (Dolor abdominal, diarrea, anemia, pérdida de peso). (Puede producir síntomas tales como abscesos de tos, dolor en el pecho y fiebre). (Disturbios abdominales y nutricionales, dolores abdominal, vómito, inquietud, síntomas neurológicos, obstrucción intestinal).
Protozoos	<i>Cryptosporidium</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i> <i>Balantidium coli</i> <i>Toxoplasma gondii</i>	(Gastroenteritis) (Enteritis aguda, infecciones en el intestino delgado) (Giardiasis. Calambres abdominales, pérdida de peso) (Diarrea y disentería) (Toxoplasmosis)
Virus	Poliovirus Rotavirus Agente Norwalk Reovirus Virus de la hepatitis A Coxsackievirus A y B Echovirus	(Poliomielitis) (Gastroenteritis aguda con severa diarrea) (Gastroenteritis epidémica con severa diarrea) (Infecciones respiratorias y gastroenteritis) (Hepatitis infecciosa) (Encefalitis, meningitis, conjuntivitis, neumonía, hepatitis, fiebre, resfriado común). (Meningitis, neumonía, encefalitis, fiebre, resfriado común, diarrea.)

La interacción de todas estas bacterias en lodos y biosólidos nos indica si hay eficiencia dentro de los procesos de eliminación de patógenos regulando su calidad para su completa estabilización y adecuado uso.

En el curso del XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, celebrado en Cancún en 2004, se explicó que la persistencia de ciertas enfermedades depende estrechamente de la diversidad y los cambios climáticos, fenómenos demográficos y el desarrollo socioeconómico de cada país, algunos ejemplos se muestran en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2 Niveles de calidad de lodos y sus diferencias, entre distintos países (Barrios, 2004).

País	Tipo de lodo	Coliformes fecales, NMP/gr. ST	<i>Salmonella</i> spp NMP/gr. ST	Huevos de helmintos, huevos/gr. ST
Ghana	Lagunas.	10 ⁴	—	76
Egipto	Primario líquido.	—	—	45.5
Estados Unidos	Primarios y secundarios.	Hasta 10 ⁷	Hasta 10 ²	0.1-11.7
México	Fisicoquímicos.	Hasta 10 ¹¹	Hasta 10 ⁸	36-150

En México los organismos indicadores que marca la NOM-004-2002 en lodos y biosólidos son los coliformes fecales, la *Salmonella* spp. y los huevos de helmintos viables. Mientras que en los Estados Unidos, la USEPA, marca como indicadores biológicos a *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Áscaris* y algunos indicadores virales. En la Unión Europea la calidad del suelo y composta dependen de los Coliformes (totales y fecales), *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp, y *Clostridium* sp (Gómez y Estrada, 2005; NOM 2002; Barrios 2004).

1.1.3.- Normas Mexicanas aplicables de la calidad microbiológica de los lodos residuales y de los biosólidos.

Existe una única norma oficial mexicana que hay que cumplir, para poder utilizar a los lodos y biosólidos como fertilizantes agrícolas y como mejoradores de suelos. Dicha norma ambiental, establece las especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes de lodos y biosólidos para su aprovechamiento y disposición final (Tabla 1.3).

Los lodos que se generan en las plantas de tratamiento de aguas residuales del estado de Quintana Roo, han sido estudiados previamente por laboratorios acreditados en el año 2005. Los resultados mostraron que eran inocuos a la salud humana al no contener sustancias tóxicas, cumplir las pruebas CRETIB, y tener una carga microbiana no significativa, por lo que se pensó que eran excelentes candidatos para ser aprovechados luego de su estabilización (CAPA, 2005).

Tabla 1.3. Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos (NOM-004-SEMARNAT-2002).

Clase	Indicador bacteriológico de contaminación	Patógenos	Parásitos	Aprovechamiento
	Coliformes fecales NMP/gr. en base seca	<i>Salmonella spp.</i> NMP/gr. en base seca.	Huevos de helmintos, gr. en base seca	
A Excelente	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 1	<ul style="list-style-type: none"> • Usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación. Los establecidos para la clase B y C.
B Excelente o Bueno	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 10	<ul style="list-style-type: none"> • Usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación. Los establecidos para la clase C.
C Excelente o Bueno	Menor de 2000 0000	Menor de 300	Menor de 35	<ul style="list-style-type: none"> • Usos forestales. • Mejoramientos de suelos. • Usos agrícolas.

1.1.4.- Normas internacionales de la calidad microbiológica de los lodos y biosólidos.

En la Unión Europea, países como Luxemburgo, Bélgica, Holanda y Suecia, los cuales cuentan con una disminución rápida, por exigencia legal y factores medioambientales y sociales al reciclado de lodos residuales. Y las legislaciones de Holanda y Francia han prohibido tentativamente el envío de los lodos a vertedero, obligando a que exista un tratamiento antes de su reciclado o disposición. Pero en países como Irlanda, Portugal y en menor medida Grecia, todavía tienen deficiencias para una producción adecuada de

lodos con respecto a su infraestructura de saneamiento y depuración. Por excelencia en rehúso tenemos a Francia, Dinamarca, Gran Bretaña y España, con porcentajes en torno al 50% de aplicación al suelo. En el área mediterránea se muestran índices menores de rehúso y reciclado, por sus factores orográficos, de estructura de la propiedad agrícola y estructura del sector industrial, sobre todo en los países de Italia y Grecia (Berbel, 2004).

En un estudio de la “Calidad de lodos residuales en Grecia dispuestos para el uso de la agricultura”, a los lodos que se producen de las plantas de tratamiento se les determinan las características cualitativas y cuantitativas aplicando las restricciones de la unión Europea, Directiva 91/271/EC (Andreadakis *et al.*, 2001).

El porcentaje de aplicación agrícola de lodos es mayor en los países de Francia, Gran Bretaña y Dinamarca, pero la solución mas adoptada es la aplicación directa. Para que exista la posibilidad de que estos lodos o biosólidos sean comercializados en la Unión Europea, es necesario cuidar aspectos importantes como una buena calidad microbiológica, sin olvidar las normativas que inciden para una correcta gestión de los bio residuos (Berbel, 2004).

Dentro de la Unión Europea, la Directiva sobre la aplicación agrícola de lodos residuales - 86/278/CE, nos da las limitaciones de carácter microbiológico para el uso agrícola. En ella se señalan los principales microorganismos indicadores: Coliformes (totales y fecales), *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.*, otras Enterobacterias, y algunos virus. (Gómez y Estrada, 2005).

En Francia, el decreto No. 97-1133 (08/01/998), clasifica un biosólido como higienizado para uso en agricultura, si presenta concentraciones de microorganismos patógenos como *Salmonella* <8 NMP/10gr. ps; Enterovirus <3 NMP/10gr. ps y Huevos viables de nemátodos <3 huevos/10gr. ps (Guzmán y Campos, 2004).

En los Estados Unidos, la Norma 503 de la Agencia de Protección Ambiental “EPA” (por sus siglas en ingles), en la regla “Estándares para la aplicación de lodos de aguas residuales (40 CFR part. 503), exige que los lodos residuales pasen por el proceso de estabilización antes de ser aplicados, para que sean minimizados los olores, destruir los agentes patógenos causantes de las enfermedades y para que se reduzca la atracción de vectores. (EPA 832-F00-064, 2000). En el apartado D de dicha norma, se incluyen los criterios de clasificación de los biosólidos como Clase “A” o clase “B”, con respecto al contenido de patógenos. Dentro de la clase “A” tenemos *Salmonella* <3 NMP/4 gr. ps; Coliformes fecales 1000 NMP/gr. ps; Enterovirus <1 UFP/4gr. ps y Huevos viables de helminto <1 huevo viable/4gr. ps. En la clase B, los patógenos son detectables, a una concentración de Coliformes fecales hasta 2×10^6 NMP o UFC/gr. ps (Guzmán y Campos, 2004). Estos deben de ser reducidos para no poner en riesgo la salud pública y el medio ambiente, y tener un cuidado especial en las prolongadas acciones para prevenir la exposición del biosólido cuando se utilice (EPA/625/R-92/013).

En la Tabla 1.4 se resumen la características de las limitaciones microbiológicas de la USEPA de lodos A y B; y de la Comisión de la Unión Europea, en fertilizantes, lodos con tratamiento, y el manejo de desechos biológicos.

Tabla 1.4. - Limites microbiológicos para el uso agrícola de residuos orgánicos (Gómez y Estrada de Luis, 2005).

	Legislación Estados Unidos Biosólidos EPA 40 CFR Part. 503.		UE Decisión Comisión 94/923/CE 14 Nov. (*1,*2)	Fertilizantes R. D. 924/2005 de 8 de julio.	UE 3 Daft D. lodos (*3)	UE 2 Daft. D. Biolog Waste Management
	Clase B	Clase A (*) ¹			Lodos con tratamiento o avanzado	
<i>Salmonella spp.</i>	—	3 UFC/4gr.	Ausencia en 25 gr.	Ausencia en 25 gr.	Ausencia en 50 gr.	Ausencia en 50 gr.
C. fecales	2x10 ⁶ UFC/gr.	<1,000 UFC/gr.	—	—	—	—
<i>E. coli</i>	—	—	<1,000 UFC/gr.	<1,000 NMP	<500 UFC/gr.	—
<i>Clostridium perfringens</i>	—	—	—	—	—	Ausencia en 1gr.

UE Unión Europea. (*)¹ Productos con clasificación excepcional EQ (sin limitación de uso).
 (*)² Modificada por la Decisión de la Comisión 98/188/CE que prohíbe expresamente la concesión de Ecoetiqueta a productos que contengan lodos de depuración en su composición.
 (*)³ Se establecen distintas exigencias y restricciones de uso para tratamientos avanzados y convencionales.

1.2.- Características de los microorganismos de estudio.

Las formas de dañar son muy distintas entre patógenos (bacterias, virus, hongos o parásitos). Los virus producen lesiones celulares, las bacterias liberan toxinas, los parásitos ocasionan lisis celular, lesión enzimática, obstrucción mecánica, trauma tisular, etc. (Romero, 2007).

1.2.1.- Enterobacterias.

Son los organismos que se relacionan con las vías intestinales del hombre y de animales, se comportan de forma similar a los patógenos e indican que se ha recibido contaminación de origen fecal, encontrándose también en el agua y en el medio ambiente. Son bacilos gram(-) que llegan a medir de 1.0 a 6.0 μm . Son aerobios o anaerobios facultativos. Presentan cápsulas, flagelos, fimbrias y pilis. No forman esporas y tienen la capacidad de reducir los nitratos o nitritos, fermentar la glucosa con producción de ácidos y gas y dan positivo a la reacción de la catalasa. Se identifican por medios diferenciales, selectivos y/o pruebas bioquímicas. También se identifican los antígenos en pruebas serológicas, encontrando así el género y la especie en estudio. Sin embargo, en la actualidad, con la aparición de nuevos géneros y especies de estas bacterias, su clasificación taxonómica se basa en estudios moleculares realizados principalmente Centro para el Control de enfermedades o **CDN** (por sus siglas en inglés) (Romero, 2007).

Las enterobacterias de importancia médica son:

- 1) *Klebsiella pneumoniae* y *K oxytoca* que ocasionan infección en vías urinarias, diarrea en neonatos y abscesos pulmonares. Las subespecies de *K. pneumoniae* son: *K. ozaenae* y *K. rhinoscleromatis*, que producen oca y rinoescleroma.
- 2) *Enterobacter aerogenes* y *E. cloacae*, que causan infecciones urinarias, neumonías, meningitis neonatal, sepsis y participan en infecciones oportunistas.
- 3) *Serratia* produce neumonía endocarditis y sepsis.

- 4) *Proteus* con 5 especies, produce infecciones de vías urinarias y de heridas, neumonías y otitis.
- 5) *Morganella morganii* con 3 subespecies, produce infecciones de las vías urinarias y diarrea.
- 6) *Providencia alcalifascience*, *P. stuartii*, *P. rettgeri* y *P. rustingianii*, originan infecciones de las vías urinarias.
- 7) *Citrobacter freundii*, *C. diversus (koseri)* y *C. amalonaticus*, causan infecciones en pacientes inmuno comprometidos, en vías urinarias y respiratorias.
- 8) *Edwardsiella tarda* produce enteritis, infecciones de vías urinarias y sepsis.
- 9) *Cedecea davisea* ocasiona infecciones respiratorias.
- 10) *Kluyvera asorbata* se presenta en infecciones como agente oportunista.
- 11) *Rahnella aquatilis* aislada en pacientes transplantados, origina bacteriemias a partir de infecciones de catéteres (Romero, 2007).

En los siguientes apartados vamos a describir las características de tres microorganismos de importancia en el estudio de la calidad de lodos y biosólidos; por encontrarse de manera recurrente y en mayor cantidad en los desechos residuales, que las enterobacterias descritas por el CDN.

1.2.1.1.- *Escherichia*. Patología, diagnóstico y tratamiento.

Es un bacilo gram(-), móvil, aerobio y anerobio facultativo, con flagelos peritricos, mayormente con fimbrias y pilis muchas con producción de micro cápsulas y pocas con macro cápsulas, no fabrican esporas. Existen 2 especies importantes de éste género, la *Escherichia coli* y la *E. hermanii*. La primera es la bacteria que se encuentra más frecuentemente en la materia fecal del hombre y de animales. Sus nichos son los intestinos, siendo parte de la flora nativa (Romero, 2007).

Patología. Con los siguientes mecanismos de infección: enteropatogénicos, enterotoxigénicos, enteroinvasivos, enterocitotóxico, enteroagregativo y difusante adherente.

- ❖ La *E. coli* enteropatógena (**EPEC**), produce brotes de diarrea en guarderías y hospitales infantiles en el verano. Se adhiere a la membrana de las células epiteliales provocando cambios en el citoesqueleto; induce señales de transducción que aumentan el calcio intracelular inhibiendo la absorción de sodio y cloro intestinal, acumulando la actina polimerizada debajo del sitio de adhesión con disolución del glicocálix y aplanamiento de las microvellosidades.
- ❖ La *E. coli* enterotoxigénica (**ETEC**), causa la diarrea de leve a moderada o severa en lactantes, como un cólera en adultos, produciendo la diarrea del viajero o cuneros, por la adhesión y producción de enterotoxinas termolabiles, que estimulan la adenilciclase que a su vez activa la proteína quinasa induciendo a que salgan los líquidos y electrolitos, y la enterotoxina termoestable, que actúa en la guanilciclase, modificando la absorción de cloro y sodio.
- ❖ La *E. coli* enteroinvasiva (**EIEC**), coloniza el epitelio de la mucosa ocasionando necrosis focal con desprendimiento de la mucosa y hemorragias, siendo la más virulenta para escolares, adultos y adolescentes a nivel mundial, por preferir la mucosa del colon; en estado grave ocurre una severa inflamación de la lamina propia alterando la arquitectura epitelial, muerte celular y formación de úlceras microscópicas.
- ❖ La *E. coli* entero citotóxica o entero hemorrágica (**ECEC o EHEC**), ocasiona colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico, es el más visto entre los patógenos que ocasionan diarrea con sangre, se contagia por carne vacuna, agua y personas; es virulenta por su toxina cito tóxica con efecto cito hepático en las células HeLa y Vero, inhibe la síntesis de proteínas a nivel ribosomal induciendo la muerte de las células (Romero, 2007).

Diagnóstico. La *E. coli* enteropatógena, se detecta mediante el cultivo de heces y serotipificación; la *E. coli* enterotoxigénica se detecta por RIA y ELISA, o PCR e hibridación de DNA; la *E. coli* enteroinvasiva se analiza el moco fecal mostrando gran cantidad de leucocitos, el cultivo en heces establece su diagnóstico, realizando también pruebas de invasividad de difusión de célula a célula. La *E. coli* enterocitotóxica o enterohemorrágica se analiza por medio del cultivo de brotes, serotipificación y detección de la verotoxina. La *E. coli* enteroadherente se diagnostica aislando al organismo e identificado el serotipo O44:H18, en las heces fecales (Romero, 2007).

Tratamiento. En la *E. coli* enteropatógena, debe corregirse la deshidratación severa y aplicar antimicrobianos, como aminoglucósidos, gentamicina, colimicina, neomicina, trimetoprim, sulfametoxazol y subsalicilato de bismuto. Para la *E. coli* enterotoxigénica se aplica un tratamiento de trimetoprim-sulfametoxazol o ciprofloxacina, ofloxacina y subsalicilato de bismuto. Para la *E. coli* enterocitotóxica o enterohemorrágica, se reduce la duración y severidad con TMP-SMX y fosfomicina. La *E. coli* enteroagregativa es muy resistente a los antibióticos, por lo que su tratamiento aun no se ha determinado (Romero, 2007).

1.2.1.2.- Salmonellas. Patología, diagnóstico y tratamiento.

La *Salmonella spp.*, está formada por bacterias que colonizan el intestino del hombre y de muchas especies de animales causando patología intestinal; se dirigen fácilmente hacia la circulación sanguínea produciendo estados septicémicos graves o moviéndose a otros órganos o tejidos. Son bacilos gram(-), aerobios y anaerobios facultativos. Forma colonias de 2 a 4 mm., rugosas o lisas, son móviles, no encapsulados y no producen esporas.

Las principales especies que infectan al hombre son la *Salmonella tify*, *S. enteritidis*, y *S. cholerae-suis*.

Las infecciones producidas por las diferentes especies de *Salmonella* en el hombre, se manifiestan con: 1) infecciones asintomáticas agudas, 2) fiebres entéricas (fiebre tifoidea y paratifoideas), 3) gastroenteritis aguda, 4) bacterimia con o sin supuración local y 5) estado de portador crónico.

Patología. La *Salmonella spp.* está entra al humano por vía oral, llega al intestino, se adhiere a la mucosa y crea una diarrea aguda.

- La *Salmonella* no tifoídica causa gastroenteritis aguda sin invasión; otros tipos de *Salmonella* invaden la mucosa con sus enterotoxinas, éstas pasan a las células epiteliales provocando edema de la mucosa e inflamación, y generalmente no persisten en el intestino.
- Por el patrón invasivo encontramos a *S. tify* mayormente, sin embargo también *S. paratyphi*, *S. choleraesuis*, *S. Dublín* y *S. oranienburg*, producen fiebres entericas, tifoideas y paratifoideas, mas sin embargo en ocasiones la *Salmonella* puede eliminarse por completo, por medio de las heces.
- La *Salmonella enteritidis* presenta la capacidad de colonizar la pared intestinal y producir desprendimiento de la mucosa, pequeñas úlceras y/o sangrado, color oscuro de heces líquidas o semilíquidas, fétidas y espumosas; se incuba de 6 a 48 hrs. provocando, nauseas, vomito, cólico abdominal, diarrea moderada con o sin sangre, en ocasiones evacuaciones profusas, acuosas y/o sanguinolentas, fiebre y malestar en general.
- La fiebre tifoidea y paratifoidea producida por *S. typhi* se da en portadores que manejan alimentos sin cocción, en pequeñas concentraciones no producen la enfermedad, pero dan mayor resistencia a las personas por la producción de anticuerpos. Cuando se adquiere en grandes concentraciones sus síntomas son más severos (incubación de 6 a 21 días aprox.), durante la primera semana hay malestar en general., mialgias, cefalea, anorexia y dolor abdominal, y fiebre persistente entre los 40 - 40.5 ° C, dolor abdominal al contacto, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatía generalizada y bradicardia con fiebre. La

mitad de los pacientes pueden presentar roséola tifoidea (manchas rosas en la pared abdominal y anterior del tórax). Al cabo de 2 a 3 semanas la fiebre persiste con las siguientes complicaciones: hemorragias intestinales, colecistitis, hepatitis, artritis, osteomielitis, miocarditis, neumonía, parotiditis, pielonefritis, orquitis, amigdalitis, linfadenitis supurativa y pancreatitis.

- *S. choleraesuis* se puede encontrar en cualquier sitio anatómico del paciente y producir osteomielitis, encefalitis, meningitis, y neumonía.
- En el estado portador crónico asintomático, el paciente sigue excretando los patógenos en las heces u orina por mas de un año. Las septicemias, son cuadros de alta gravedad de todos los agentes etiológicos, las *Salmonellas* mayormente producen estos cuadros donde es invadido el torrente circulatorio, coloniza el tejido hemático, produce fiebre alta, escalofríos, anorexia, grave ataque en general, hipotensión, estado semi comatoso y coagulación intravascular diseminada (Romero, 2007).

Diagnostico. Las infecciones asintomáticas, se pueden detectar en coprocultivos; mientras que las sintomáticas se detectan en coprocultivos, hemocultivo, urocultivo, mielocultivo, cultivo de roséola y pruebas serológicas, según sea el sitio de infección: corazón, pericardio, aorta distal, riñones, pulmones, pleura, peritoneo, tejidos blandos, espacios articulares, oído medio y tracto genital (Romero, 2007).

Tratamiento. Para la fiebre de tifoidea y paratifoidea, el cloranfenicol, la ampicilina y furazolidona, todavía son útiles, pero actualmente se recomienda el uso de cefalosporinas de tercera generación y quinolonas como ciprofloxacina y ofloxacina. En las septicemias, se deben dar dosis máximas de cloranfenicol, ampicilina y sulfametoxazol-trimetoprima, y por vía venosa (Romero, 2007).

1.2.2.- Helmintos. Patología, diagnóstico y tratamiento.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en el mundo existen 3,5 billones de personas infectadas por helmintos, de las cuales 450 millones desarrollarían alguna enfermedad. Los parásitos que más frecuentemente tienen repercusión sobre el crecimiento y desarrollo físico y cognitivo en los niños son *Ascaris lumbricoides*, *Necator americano*, *Ancylostoma duodenalis*, *Trichuris trichura* y *Esquistosoma sp.* Estas infecciones ocasionan efectos sobre el crecimiento y desarrollo que pueden provocar secuelas importantes (Chiarpenello, 2004).

Las enfermedades parasitarias son muy importantes por los daños a la salud que ocasionan. Si no es causa de defunción, puede dejar lesiones irreversibles, provocando en los individuos deterioros, no sólo en cuanto a su crecimiento y desarrollo sino en su productividad y economía, repercutiendo en un daño social, por eso el grado de parasitosis de un país es el grado de su desarrollo (Romero, 2007).

Los helmintos son parásitos que se hospedan en el humano, se dividen en 2 grupos: plathelminetos y nemathelminetos. Los primeros son gusanos planos, metazoarios (formados por muchas células), poco evolucionados carecen de aparato digestivo con membrana de intercambio de productos con el medio ambiente, con órganos internos dentro de un parénquima y son hermafroditas, se dividen en 2 grupos: los céstodos y los trematodos; los primeros son gusanos segmentados y los segundos no segmentados pero con aparato digestivo rudimentario y casi todos hermafroditas con excepción del género *Shistosoma*; el segundo grupo son gusanos cilíndricos o redondos, de mayor importancia por su gran número de individuos, poseen aparato digestivo completo, con cutícula, cavidad pseudo celoma para la mayoría en función de sus características de recubrimiento del tipo de capa exotérmica, mesodérmica o endodérmica que los cubre, poseen una cutícula protectora del medio ambiente, todos son dioicos (sexos separados), se dividen en afasmidios y

fastidios, los segundos tienen órganos sensoriales y los primeros carecen de ellos (Romero, 2007).

1.2.2.1.- *Teniasis* y *Cisticercosis*. Patología, diagnóstico y tratamiento.

Patología. La *Teniasis* o solitaria se encuentra en México en todo el país. El género *Taenia*, tiene dos especies importantes: *Taenia sanguinata* y *T. solium*. Las dos tienen al intestino delgado como destino, donde liberan sus últimos segmentos para dejar descendencia, sus huevos poseen una gran resistencia y al salir contaminan la ingestión de diferentes mamíferos incluido el hombre. El ciclo de vida de la *Taenia sanguinata*, se encuentra ligado con el del ganado vacuno y el de *Taenia solium* con el ganado porcino. La forma embrionaria del huevo se libera en el intestino, penetrando en la pared intestinal hasta llegar a circular en la sangre como cisticerco, invadiendo varios tejidos, pero principalmente el muscular. La larva evoluciona en el intestino delgado y forma más huevos, ocasionando así dos enfermedades al huésped la teniasis, por la forma adulta, y la cisticercosis, por el ciclo de las larvas en los tejidos (Romero, 2007).

Teniasis: la *Taenia* se adhiere en un solo punto de la pared intestinal donde fija el excólex y las ventosas, sin ocasionar daños severos. Produce muy poca irritación en la pared intestinal, y de es como aprovecha los nutrientes del huésped, al tomarlos de la luz del intestino antes de ser digeridos. Produce meteorismo, plenitud y digestión incomoda, en sus complicaciones si un proglotide se introduce en la luz del apéndice, ocasionando apendicitis de lombriz o apendicitis verminosa (Romero, 2007).

Cisticercosis: es la parasitosis producida por la larva o meta cestodo, de la *Taenia solium*. El daño depende del número y el tipo de tejido en donde se encuentre. El cisticerco posee una envoltura en forma de saco, blanco nacarado u opalescente; en su interior contiene un líquido o escólex, que es liberado cuando muere el cisticerco, produciendo una inflamación intensa que

depende del numero de cisticercos, y puede llegar a otros sitios como: la medula espinal, miocardio, aorta, pulmón, páncreas, tiroides, peritoneo, epiplón, retro peritoneo, mesenterio, pared intestinal, y en el sistema nervioso central. Un solo cisticerco en el parénquima de un lugar clave, da una alteración neurológica que ocasionará al afectado: paresia, parálisis, movimientos involuntarios, etc., y es peor cuando un cisticerco obstruye el conducto cefalorraquídeo, al tapar los agujeros de Lusaka o Magendi, ocasionando un daño fatal e irremediable, como cefalea, edema de papila, vómitos, alteraciones de la visión, irritación meníngea y datos de pares craneales. En el tejido muscular produce mialgias, en los ojos, puede producir, obstrucción de la visión e inflamaciones (Romero, 2007).

Diagnóstico. La única forma de diagnosticarla la teniasis es mediante un estudio coproparasitológico; para la cisticercosis, por antecedentes de teniasis y de nodulaciones subcutáneas, datos clínicos, y estudios imagenológicos, rayos X (calcificaciones, tomografía lineal, tomografía axial computada y resonancia magnética), estudios de laboratorio (biometría hemática-eosinofilia, estudio de liquido cefalorraquídeo, hipoglucorraquia, aumento de células y eosinofilia), estudios parasitológicos (extracción de nódulos subcutáneos), estudios serológicos (hemaglutinación, inmuno fluorescencia, inmuno ensayo enzimático, inmuno transferencia y ELISA) (Romero, 2007).

Tratamiento. La teniasis se puede tratar con niclosamida o clorosalicilamina, albendazol y praziquantel. Se deben de tamizar las heces y aislar el escólex, para evitar encontrar la Taenia completa en un par de meses. Cuando se necesita extraer el cisticerco, su tratamiento es quirúrgico; sin embargo el praziquantel, funciona en algunos casos, dependiendo del lugar donde se encuentre el cisticerco. También son usados el albendazol y el praziquantel, en cambio son ineficaces en traspasar la barrera hemato encefálica el metrifonato y el flurobendazol (Romero, 2007).

1.2.2.2.- *Áscaris lumbricoides*. Patología, diagnóstico y tratamiento.

La Áscaridiasis es de las parasitosis más comunes del hombre y se calcula que la cuarta parte de la población mundial la padece. Se encuentra íntimamente relacionada con la desnutrición y la distribución geográfica, por ello es que abunda más en países tropicales (Chiarpenello, 2004)

Patología. Por su migración larval hacia el pulmón produce una fuerte respuesta de tipo celular, mayormente de eosinófilos. El daño intestinal es leve, pero se complica cuando los parásitos son masivos, sobre todo en los niños por medio de suboclusión y oclusión intestinal, perforación, vólvulos y torsión del intestino delgado. En ocasiones migran para salir por la boca y nariz, obstruyéndola. El Áscaridiasis intestinal puede migrar a los pulmones en su estado de larva, presentándose síntomas respiratorios transitorios, infiltrados pulmonares, fiebre y eosinofilia, los cuales desaparecen dentro de las dos semanas de su aparición. La infección crónica puede ocasionar distensión abdominal, anorexia, diarrea; y trastornos en la absorción de las proteínas, ocasionando desnutrición. Demasiados gusanos pueden causar una obstrucción aguda intestinal de resorte quirúrgico. Como consecuencia de las localizaciones erráticas se encuentran raramente parásitos en vías biliares, fosas nasales, oídos, trompas de Falopio o vejiga (Romero, 2007; Chiarpenello, 2004).

Diagnóstico. Se integra por demostración de las formas parasitarias o por la observación microscópica de huevos por observación coproparasitológica con el método de Kato o Stoll. Se visualizan de igual manera en el examen directo fecal, a las hembras adultas y machos. En una radiografía de abdomen se pueden visualizar los parásitos en el intestino (Romero, 2007; Chiarpenello, 2004).

Tratamiento. Todos los nematocidas acaban con el *Áscaris*, la piperazina, el pamoato de pirantel, mebendazol, el ácido kaínico, el albendazol, la nitazoxanida y la ivermectina (Romero, 2007).

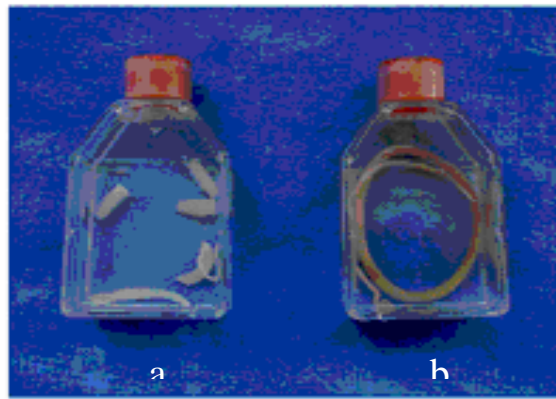


Figura 1.3.- Representación de dos ejemplares de parásitos del hombre: a) *Taenia solium* ; b) *Ascaris lumbricoides* (Flisser *et al.*, 2005).

1.2.2.3.- Uncinariasis. Patología, diagnóstico y tratamiento.

Las dos uncinarias que parasitan al hombre son: *Ancylostoma duodenalis* y *Necator americano*. Ambas con las mismas manifestaciones clínicas, diagnósticas y terapéuticas; la única diferencia es la mayor prevalencia de una u otra en determinados países que afectan aproximadamente a un cuarto de la población mundial, sólo superada por ascaridiasis, se encuentra mayormente en las zonas tropicales y subtropicales (Romero, 2007; Chiarpenello, 2004).

Patología. La larva ingresa al organismo humano del suelo a través de la piel, llega a los alvéolos pulmonares por vía sanguínea y luego pasa por los bronquios, tráquea, y faringe donde es deglutida y termina por asentarse en el intestino delgado, donde desarrolla el parásito adulto. Aquí puede expresarse dolor abdominal, diarrea, mala absorción intestinal, esteatorrea, atrofia de las vellosidades intestinales y pérdida de peso. Luego el organismo elimina los huevos por materia fecal y se reinicia el ciclo. Las larvas dañan los tejidos desde las capas de la piel por el sitio de entrada, hasta el parénquima pulmonar ocasionando una inflamación, seguida de daño en la pared del intestino duodenal y yeyunal. En estos puntos ocasionan pequeñas úlceras, inflamación y edema de la pared, y a nivel pulmonar zonas hemorrágicas con inflamación y eosinofilia. (Chiarpenello, 2004; Romero, 2007).

Diagnóstico. Para el diagnóstico resulta adecuado el examen directo de extendidos de materia fecal; identificando de esta manera a los huevos característicos de la uncinariasis (Chiarpenello, 2004). Por medio de estudios

coproparasitoscópicos por concentración de contenido duodenal o el coprocultivo de Harada- Mori (Romero, 2007).

Tratamiento. Según el caso se deberá corregir el estado anémico y las lesiones cutáneas. Los más usados son: mebendazol, albendazol, pamoato de pirantel, tiabendazol, ácido Kaínico, nitazoxanida e ivermectina (Romero, 2007).

1.2.2.4.- *Trichuris trichura*. Patología, diagnóstico y tratamiento.

Es el nematodo tricéfalo que se encuentra dentro de las helmintiasis de mayor prevalencia a nivel mundial (aproximadamente 800 millones de casos). Esta infección ocasiona anualmente 65.000 muertes. Se encuentra más en zonas cálidas y húmedas y daña principalmente a niños en edad escolar, aunque también se observa en adultos (Chiarpenello, 2004).

La contaminación se da por las larvas que habitan en el suelo, las cuales al ser ingeridas continúan su ciclo infeccioso hasta la forma adulta en el ciego y rectosigmoides, para penetrar en la pared intestinal (Romero, 2007).

Patología. El parásito adulto produce úlceras sangrantes en las capas intestinales, provocando inflamación. Dependiendo de la cantidad de trisécalos, se presentan complicaciones por irritación del apéndice ileocecal, por la obstrucción del parásito, produciendo un cuadro de apendicitis verminosa; otra es el prolapso rectal por la disminución de tono muscular rectal, a causa de parásitos masivos en la pared rectal. Se presenta dolor abdominal, diarrea, diarrea con sangre, disentería, tenesmo rectal, palidez, anemia, complicaciones, apendicitis verminosa y prolapso rectal (Romero, 2007).

Diagnostico. Son necesarios estudios coproparasitoscópicos cuantitativos y cualitativos, rectosigmoidoscopia e identificación de huevos (Romero, 2007).

Tratamiento. Puede haber curación parcial (solo hasta un 65%) si se trata con tiabendazol, ácido kaínico, mebendazol, nitazoxanida, Ivermectina y hexilresorcinol (Romero, 2007).

1.3.- Antecedentes.

Hay estudios donde los biosólidos son de gran ayuda a la agricultura, el estudio del “Uso de biosólidos para incrementar la productividad en Alfalfa, en el campo experimental Delicias-INIFAP en Chihuahua”, el cual tuvo resultados satisfactorios en su aplicación en las demandas de nutrientes N, P y K, mejorando su mineralización del N en menos dosis, y al mismo tiempo la Alfalfa lo reutilizaba evitando así la contaminación por N en cuerpos de agua. Además de que esta sirve de forraje y protege al suelo de la erosión fijando el N, no obtuvo niveles altos de metales pesados y de los patógenos sabiendo que estos en el suelo mueren gradualmente sin ningún efecto detrimental final. (Uribe, et al, 2001; y citado por Chang, et al 1997); y también en el estudio del “Aprovechamiento de biosólidos como abonos orgánicos en pastizales áridos y semiáridos”, fue una buena alternativa para contrarrestar la avanzada erosión y poca fertilidad en dosis moderadas se obtuvieron mejores resultados reflejados en mayor humedad, nutrientes incrementando así su productividad y calidad en el forraje y en el ganado bovino, pero en cantidades mayores de aplicación no son recomendables. (Jurado Guerra, et al, 2004).

Pero no siempre se pueden reutilizar estos lodos o biosólidos, en el estudio de la “Calidad de los lodos de todo el país de México”, se muestrearon diferentes características, desde lodos crudos hasta lodos estabilizados por varios procesos; así como lodos municipales y combinados (municipales e industriales). Con la importancia de las plantas a escala nacional en cuanto a sus procesos aplicados, gastos de operación, índice de enfermedades intestinales y los niveles de contaminación en las regiones, se obtuvo que de 18 muestras, 14 muestras no pueden disponerse, ni aprovecharse benéficamente por exceder los límites máximos permisibles de patógenos y parásitos, y tampoco las muestras 11 y 12 por exceder los límites de metales pesados y solo en la muestra 11 por ser reactiva. Solamente las muestras con el proceso de estabilización alcalina, fueron aptas para reutilizarse aunque no es posible para la agricultura, siendo una opción para reducir significativamente el contenido microbiológico de los lodos en México. (Castrejón, 2002).

1.4.- Justificación.

Quintana Roo produce mensualmente alrededor de 250m³ de lodos residuales en las principales plantas de tratamiento de las Ciudades de Chetumal, Playa del Carmen y Cozumel; son de operadas por la Comisión de Agua Potable y Alcantarillado (CAPA), desde 1999 la planta de Tratamiento del Centenario de Chetumal funciona, sirviendo como relleno de áreas verdes de la CAPA su disposición actual, o como donación a servicios públicos municipales. (CAPA, 2005). Sin embargo para la reutilización de estos, es necesario de un minucioso estudio de calidad de patógenos, se sabe que en la Cd. de Chetumal carece de industrias que pudieran contaminar el drenaje con productos químicos o metales pesados, es por ello que suponemos que los lodos contengan mucha más materia orgánica y mucha más cantidad de patógenos. Se sabe también que en los lodos contienen nutrientes necesarios para el suelo como el nitrógeno y fósforo, y reforzadores de las plantas, por lo que este recurso pudiera ser factible en su aprovechamiento sustentable en el uso agrícolas de la región, creando abonos orgánicos ricos en nutrientes y evitando así las consecuencias ambientales de los fertilizantes químicos. Pero para lograr nuestro cometido en la reutilización de los lodos residuales estos-deben pasar por un tratamiento o compostaje para disminuir la cantidad de microorganismos patógenos y mejorar las condiciones de los nutrientes para su uso, convirtiéndose en lodos estables o biosólidos, en estos biosólidos es necesario que lleven un control de calidad patógenos, según la NOM-004-SEMARNAT-2002, como son: los coliformes fecales, Salmonella spp.; y parásitos como: los Huevos de Helmintos, que nos indican si son aptos estos lodos y biosólidos en su reutilización. (Guzmán y Campos, 2004). Por ello se deben de tener un cuidado de su aprovechamiento, disposición y control microbiológico de los lodos y biosólidos.

El objetivo de este estudio de calidad microbiológica tiene como finalidad de encontrar en los lodos y biosólidos las condiciones optimas de calidad para su adecuado aprovechamiento y ver si sirven como mejoradores de suelos y uso en la agricultura.

1.5.- Objetivos e Hipótesis.

Objetivo General.

Analizar los parámetros de calidad microbiológica de lodos estables y biosólidos para usarlos como mejoradores de suelos y zonas agrícolas.

Objetivos Específicos.

- ❖ Objetivo1.- Analizar muestras de lodos y biosólidos de la planta de tratamiento el Centenario, con forme a los limites permisibles de Coliformes Fecales, para usarlos como mejoradores de suelos y zonas agrícolas.
- ❖ Objetivo 2.- Analizar muestras de lodos y biosólidos de la planta de tratamiento el Centenario, con forme a los limites permisibles de Salmonella spp., para usarlos como mejoradores de suelos y zonas agrícolas.
- ❖ Objetivo 3.- Analizar muestras de lodos y biosólidos de la planta de tratamiento el Centenario, con forme a los limites permisibles de Huevos de Helmintos, para usarlos como mejoradores de suelos y zonas agrícolas.

Hipótesis.

Hi: Si los Biosólidos generados de las compostas cumplen con la NOM 004-SEMARNAT-2002, son aprovechables para usos urbanos con o sin contacto directo durante su aplicación, o para usos forestales mejoramientos de suelos y usos agrícolas.

CAPITULO II

MATERIAL Y MÉTODOS.

Nuestro método de estudio se baso en la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. "Protección Ambiental. Lodos y Biosólidos. Especificaciones de interés y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final". En esta norma se establecen como parámetros microbiológicos de contaminación a los coliformes fecales, *Salmonella spp.* y los Huevos de Helminos (ver tabla 5 y 6), con sus respectivos procedimientos y análisis.

2.1.- Métodos de muestreo de lodos y biosólidos.

2.1.1.- Muestreo, preparación, y almacenamiento de las muestras.

Obtuvimos muestras homogéneas y representativas de los lodos y biosólidos utilizando el método del cuarteo. Se seleccionaron al azar diferentes sitios, llenando cada bolsa de muestra por sitio, y en una área plana de 4m x 4m, se homogenizo la muestra, se dividieron en 4 partes iguales, eliminando las partes opuestas, y así sucesivamente hasta que obtuvimos 10Kg. de lodos y biosólidos. Las muestras se conservaron hasta su uso como indica la Tabla 2.1, de acuerdo con sus parámetros microbiológicos. El peso volumétrico del lodo homogenizado se calculó y se obtuvo el peso neto del lodo, mediante la siguiente fórmula:

$$Pv = P/V$$

Donde: Pv = Peso volumétrico del lodo, en Kg. /m³.
 P = Peso del lodo (peso bruto menos tara), en Kg.
 V = Volumen del recipiente, en m³.

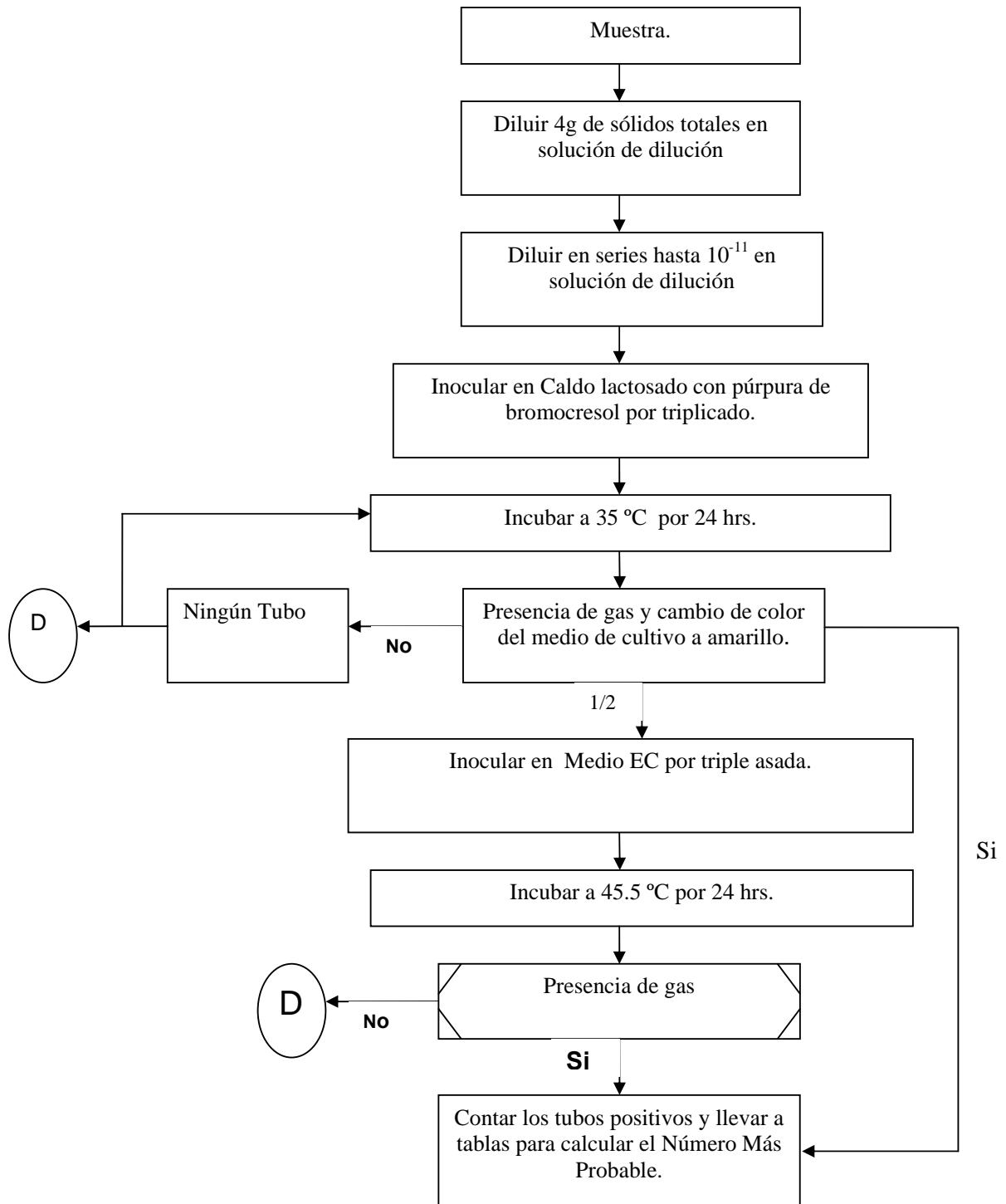
Tabla 2.1.- Tiempo máximo de preservación de muestras en el análisis de los parámetros microbiológicos.

Parámetros	Preservación*	Tiempo máximo de análisis
Coliformes fecales y <i>Salmonella spp.</i>	4 ° C.	48 hrs.
Huevos de helmintos	4 ° C.	30 días.
Sólidos totales	4 ° C.	24 horas.
Sólidos volátiles	4 ° C.	24 horas.
Tasa específica de absorción de oxígeno (TEAO). **	No requiere	Inmediato.

* A partir de su toma y hasta antes de iniciar el análisis, la muestra debe mantenerse en refrigeración.** Si la muestra es tomada en el laboratorio, debe mantenerse la temperatura constante o ambiente durante el transporte y analizarla de inmediato. (NOM-004-SEMARNAT-2002.).

2.2.- Método para la cuantificación de Coliformes fecales.

El siguiente esquema de trabajo, ilustra los pasos que se siguieron para la cuantificación de los Coliformes fecales en lodos y biosólidos. La explicación se detalla más adelante.



2.2.1.- Preparación de medios de cultivo.

1. A la muestra, antes de ser procesada, se le determinó el contenido de sólidos totales (ST) en por ciento en peso con ayuda de una balanza de humedad, para trabajar con alrededor de 4gr. de muestra fresca.
2. Se prepararon los medios: Caldo lactosado con púrpura de bromocresol (C.L.), Caldo EC, solución tampón A, solución tampón B, agua de disolución, solución de hidróxido de sodio al 0.1 N. **Anexo 1.**

2.2.2.- Preparación de diluciones.

1. Se pesó el equivalente a 4 gr. de peso seco de cada muestra, de acuerdo al porcentaje de humedad detectado con la balanza. Se diluyó la muestra en 36mL de solución tampón de fosfatos (agua de disolución) con la ayuda de un agitador magnético, obteniendo así la primera dilución 10^{-1} . Por el origen de las muestras se requirieron inóculos menores a 1mL por lo que se utilizaron diluciones seriadas de submúltiplos de 10, de la siguiente forma:

a) Se prepararon diluciones decimales seriadas a partir del homogeneizado (10^{-1}) lo antes posible, reduciendo al mínimo la sedimentación. Se utilizó 1mL en 9mL de agua de dilución (10^{-2}) y así sucesivamente hasta obtener la dilución (10^{-11}). Cada dilución se homogeneizó perfectamente agitando con la ayuda de un vortex. Se utilizó una pipeta estéril diferente para hacer la serie de diluciones y otra para pasar de cada dilución a los tubos con medio de cultivo por triplicado.

2.2.3.- Prueba presuntiva.

a) Se transfirió 1mL en las diluciones seleccionadas a cada una de las series de tubos conteniendo el Caldo lactosado con púrpura de bromocresol y se incubó a 35° C.

b) Se examinó cada uno de los tubos a las 24 horas. Si el medio se acidificó y produjo gas a partir de la fermentación de la lactosa, la prueba presuntiva se tomó como positiva por la presencia de bacterias del grupo coliformes. De lo contrario se incubaron durante 24 horas más.

c) Si el medio se acidificó (con o sin formación de gas) dentro de las 48 horas, la prueba presuntiva resultó positiva. Cuando no existió acidificación del medio, la prueba se determinó negativa.

2.2.4.- Prueba confirmativa.

a) Los tubos positivos de la prueba presuntiva se resembraron por triple asada (esterilizada al mechero y enfriada) en tubos de fermentación presuntiva con caldo E.C. y se incubaron a 44.5° C., en baño de agua.

b) Se examinó cada tubo a las 24 horas.

c) Fueron positivos los tubos que presentaron producción de gas por la fermentación de la lactosa del medio EC, lo cual se manifestó por la producción de burbujas dentro de la campana de Durham.

2.2.5.- Cálculos y expresión de resultados.

El Número Más Probable (NMP) de coliformes fecales, se obtuvo a partir del código compuesto por los tubos con resultados positivos en el medio EC, con ayuda de la siguiente fórmula:

$$\text{NMP} = (\text{Número de tubos positivos} \times 100) / \sqrt{[(\text{ml muestra tubos neg.}) \times (\text{ml muestra total})]}$$

La densidad de los coliformes fecales se expresó como NMP/gramo de materia seca.

Se encontró la presencia de otras bacterias que producen ácido a partir de lactosa, pero que se eliminaron en la prueba confirmativa a temperatura de 44.5° C. Fue importante que los tubos Durham colocados en los tubos de fermentación, no presentaran aire en su interior, para evitar resultados falsos positivos.

Se elaboro el informe de prueba con lo siguiente:

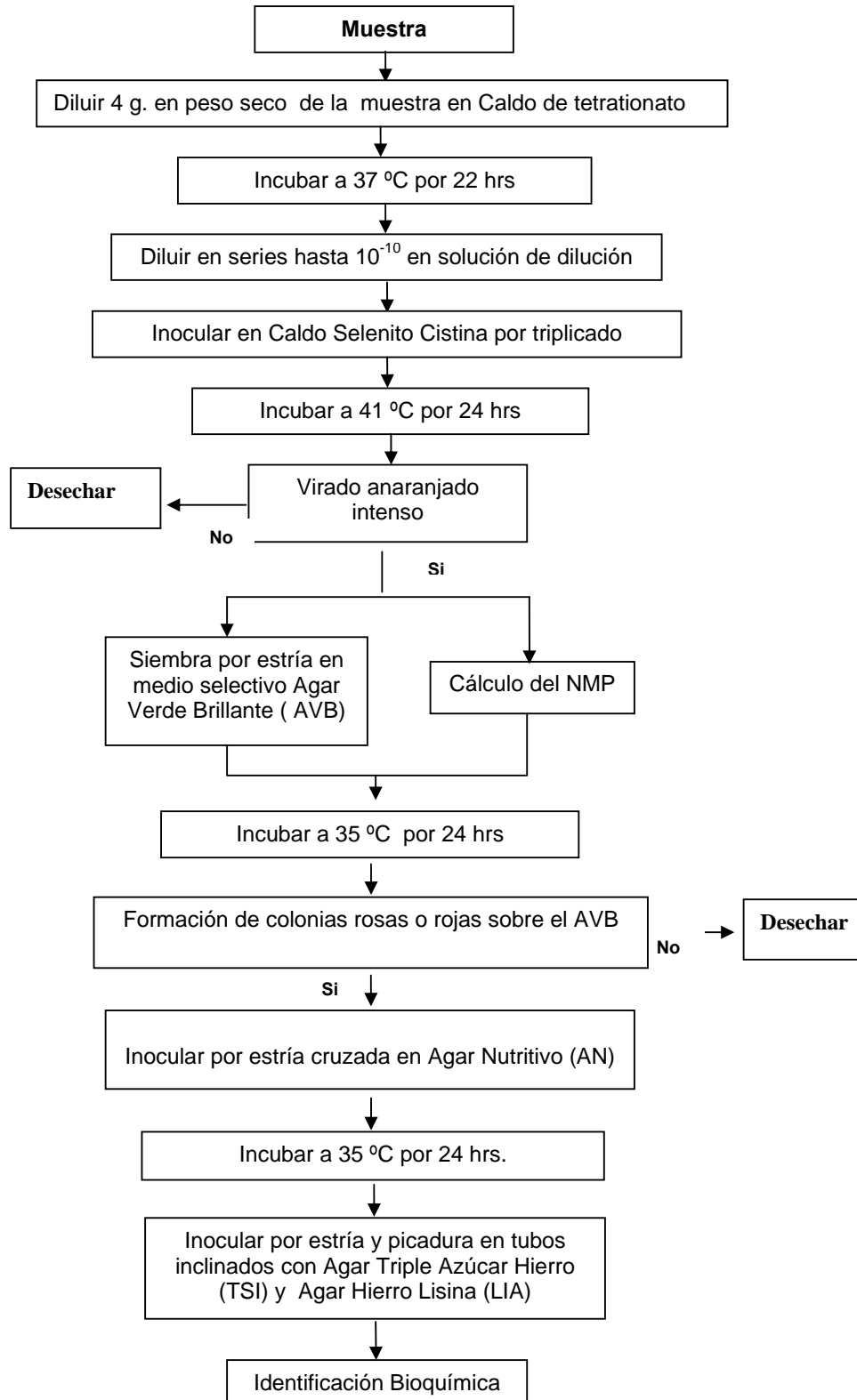
a) Datos necesarios para la identificación completa de la muestra.

b) Resultados, de acuerdo con lo establecido anteriormente.

c) Cualquier suceso observado durante el análisis, así como cualquier operación no especificada en el método, o considerada opcional, que pueda haber influido en los resultados.

2.3.- Método para la cuantificación de *Salmonella spp.*

El siguiente esquema de trabajo, ilustra los pasos que se siguieron para la cuantificación de *Salmonella spp* en lodos y biosólidos. La explicación se detalla más adelante.



1. Las soluciones de dilución y los medios de cultivo se prepararon según indicaciones de los Anexos 1 y 2.
2. La muestra se procesó con las medidas de seguridad adecuadas para su correcto análisis. Se pesó el equivalente a 4 gr. de peso seco, de acuerdo al porcentaje de humedad, determinado en la balanza OHAUS, se diluyeron en 36mL de Caldo Tetrionato y se incubaron a 37 ° C, durante 24 horas.
3. Se hicieron una serie de diluciones con 1mL de este cultivo en solución de dilución, hasta 10^{-11} .
4. Se transfirió 1mL en tubos por triplicado, conteniendo Caldo Selenito Cistina y se incubaron a 41 ° C, durante 24 horas.
5. Si el medio cambio de color a anaranjado intenso, la prueba se tomó como positiva, por la presencia de bacterias del grupo *Salmonella spp.*
6. Cuando no se presentó cambio de color, solamente turbidez, los tubos se incubaron 24 horas más. Sin virado de color a anaranjado intenso, la prueba se tomó como negativa, sin posible presencia de *Salmonella spp.*

2.3.1.- Preparación de medios de cultivo.

Al igual que en la prueba de los coliformes la muestra, se le determinó el contenido de sólidos totales (ST), para trabajar con alrededor de 4gr. ST de muestra fresca.

3. Se prepararon los medios: Caldo Tetrionato, Caldo Selénito Cistina, solución tampón A, solución tampón B, agua de disolución, solución de hidróxido de sodio al 0.1 N. **Anexo 2.**

2.3.2.- Preparación de diluciones.

1. Se pesó el equivalente a 4 gr. de peso seco de cada muestra, de acuerdo al porcentaje de humedad detectado con la balanza. Se diluyó la muestra en 36mL de Caldo tetrionato con la ayuda de un agitador magnético, obteniendo así la primera dilución 10^{-1} . Por el origen de las muestras se requirieron inóculos menores a 1mL por lo que se utilizaron diluciones seriadas de submúltiplos de 10, como en el método de los coliformes fecales. (Ver apartado 2.2.2.)

b) Se prepararon diluciones decimales seriadas a partir del homogeneizado (10^{-1}) lo antes posible, reduciendo al mínimo la sedimentación. Se utilizó 1mL en 9mL de agua de dilución (10^{-2}) y así sucesivamente hasta obtener la dilución (10^{-11}). Cada dilución se homogeneizó perfectamente agitando con la ayuda de un vortex. Se utilizó una pipeta estéril diferente para hacer la serie de diluciones y otra para pasar de cada dilución a los tubos con medio de cultivo por triplicado.

2.3.3.- Aislamiento e identificación bioquímica de *Salmonella spp.*

1. De los tubos positivos con las diluciones más altas se tomaron muestras con ayuda de un asa estéril, para sembrar en cajas Petri con Agar Verde Brillante, que es un medio de cultivo selectivo para este grupo bacteriano.
2. Luego de 24hrs de incubación, se identificó la presencia de *Salmonella spp.*, en las cajas que presentaban colonias rosas o rojas.
3. Estas colonias se aislaron en Agar Nutritivo, dejándose incubar a 35°C por 24h y sirvieron para proceder al estudio de pruebas bioquímicas.
4. Se tomaron algunas de estas colonias perfectamente aisladas y se inocularon por duplicado en tubos de ensaye conteniendo Agar Triple Azúcar Hierro y Agar Hierro Lisina, solidificados de manera inclinada, por estría en la superficie inclinada y por picadura en el fondo.
5. Se dejaron incubar a 35°C por 24 horas, luego de este tiempo, se anotaron los cambios en el color y en la presencia de gas. El Anexo 4 muestra la identificación bioquímica de Enterobacterias, en estos medios de cultivo selectivos.

2.3.4.- Cálculos y expresión de resultados.

1. El NMP de *Salmonella spp.* se obtuvo a partir de los tubos positivos en el Caldo Selenito Cistina, tal como se hizo para los coliformes fecales.

2.4.- Método para la cuantificación de huevos de helmintos.

Se detectó y determinó la viabilidad, de huevos de helmintos en muestras de lodos y biosólidos, con el siguiente método:

2.4.1.- Preparación de soluciones.

La preparación de soluciones se realizó de acuerdo a las indicaciones del **Anexo 3.**

2.4.2.- Concentración y separación de los huevos de helminto.

Se recuperaron los huevos de helmintos realizando los siguientes pasos:

- 1) Se homogenizaron 2gr. de sólidos totales en un vaso de precipitados estéril, con una solución de Tween 80 al 0.1%.
- 2) Se dejó sedimentar la muestra al menos durante 3 horas.
- 3) Se aspiró el sobrenadante por vacío y se filtró el sedimento a través de un tamiz de poro seleccionado (150 a 170 μ m).
- 4) El sedimento se recuperó en tubos Falcon de 50mL y se centrifugó a 660 rpm. durante 5 minutos.
- 5) La pastilla se resuspendió en 150mL de solución de sulfato de zinc, homogeneizándose con ayuda de un vórtex.
- 6) Se volvió a centrifugar a 660 rpm. durante 5 minutos.
- 7) Se efectuó un segundo filtrado, para remover el detritus de menor tamaño. Se vació el sedimento en un recipiente grande y se agregó 1L de agua destilada.
- 8) Se dejó sedimentar por al menos 3 hr.
- 9) Una vez transcurrido el tiempo de la sedimentación se aspiró el sobrenadante por vacío y se recuperó el sedimento en un tubo Falcon de 50mL, centrifugándose a 660 rpm. durante 5 minutos.
- 10) Se aspiró el sobrenadante por vacío y se resuspendió el sedimento con agua destilada. Se volvió a centrifugar a 660 rpm durante 5 minutos.
- 11) Se aspiró el sobrenadante y se resuspendió la pastilla en 15 mL de solución de alcohol-ácido. Después de esto se agregaron 10 mL acetato de etilo. Se agitó suavemente y, de vez en cuando, se destapó para

dejar escapar el gas desprendido. Por seguridad, se realizo todo este proceso dentro de una campana de extracción.

- 12) Se centrifugo a 660 rpm durante 5 minutos.
- 13) Se aspiró el sobrenadante, hasta por arriba de la parte cónica del tubo de 50 mL.
- 14) Se efectuó un primer enjuague agregando H₂SO₄ al 0.1 N
- 15) Se centrifugo a 660 rpm durante 5 minutos.
- 16) Se aspiró el sobrenadante y se realizo un segundo enjuague agregando H₂SO₄ al 0.1 N. Se volvió a centrifugar a 660 rpm durante 5 minutos.
- 17) Se aspiró el sobrenadante dejando 5 mL del mismo.

2.4.3. Determinación de viabilidad y observación al microscopio.

Para determinar la viabilidad de los huevos de helminto, se incubó el tubo con la muestra durante 4 semanas a 26° C, dejando la tapa del tubo floja para permitir la entrada de aire, y verificando que el nivel del líquido no disminuyera.

Para cuantificar los huevos de helminto, se tomaron alícuotas de la mezcla final y se observaron al microscopio óptico con aumentos de 10X a 40X con ayuda de una cámara de New Bawer.

2.4.4.- Expresión de resultados.

Los resultados se expresaron en número de huevos por 2gr. de sólidos totales

$$H / 2gr. ST$$

Donde:

H = número de huevos leídos en la muestra.

gr. ST = gramos de sólidos totales de la muestra analizados.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1.- Cuantificación de Organismos indicadores de contaminación biológica.

3.1.1.- En compostas experimentales.

Las 8 compostas experimentales como las que se aprecian en la Figura 3.1, se adecuaron en tinajas de 60L de capacidad. Las mismas fueron preparadas como se describe en la Tabla 3.1. Las cuatro primeras recibieron aireación constante por medio de un soplador, adaptado del sistema de la Planta de tratamiento. Las otras cuatro, recibieron aireación artificial.

Los parámetros de humedad y temperatura se monitorearon y controlaron de manera constante, a lo largo de la etapa de composteo que duró aproximadamente 4 semanas. Se observó el aumento en la temperatura hasta por 20°C por arriba de la temperatura inicial. Al final de la etapa de composteo se tomaron muestras representativas de cada una de las mezclas, siguiendo los parámetros descritos en la NOM-004-SEMARNAT-2002, para realizar el conteo de los organismos indicadores de contaminación biológica según lo descrito en el Capítulo 2 de materiales y método. Las determinaciones de Coliformes fecales, *Salmonella spp* y huevos de helmintos se realizaron al final de la etapa de composteo y posteriormente al final de la etapa de curado y de intemperización que duró aproximadamente un mes más.



Fig. 3.1 Compostas experimentales puestas en tinajas de plástico.

Tabla 3.1.- Mezclas realizadas para las compostas a nivel experimental.

Concepto	Mezclas de sustratos de las compostas (tipo de tratamiento).							
	Poda residual	+lodo	Bagazo residual	+ lodo	Poda + Bagazo + lodo residual			
Número de composta	1	4	2	5	3	6	7	8
Proporción	1:1	1:2	1:1	1:2	1:1:1	1:1:2	1:2:1	2:1:1
Volumen (No. de cubetas de 19 L)	2+2	1.5+2.5	2+2	1.5+2.5	1.5+1.5+1.5	1+1+2	1+2+1	2+1+1
Observaciones	Con aireación y volteo manual diario.	Con aireación y volteo manual diario.	Con aireación y volteo manual diario.	Sin aireación pero con volteo manual diario.	Con aireación y volteo manual diario.	Sin aireación pero con volteo manual diario.	Sin aireación pero con volteo manual diario.	Sin aireación pero con volteo manual diario.

3.1.1.1.- Coliformes fecales.

El parámetro de humedad se determinó para saber el peso de los sólidos totales presentes en cada mezcla. El equivalente a 4gr. de ST se calculó de la siguiente forma:

$$\% \text{ de Sólidos Totales} = 100\% - \% \text{ de Humedad.}$$

$$\text{Peso equivalente a 4gr. de ST} = 4 \times \text{Peso inicial} / \text{Peso final.}$$

La Tabla 3.2 muestra el porcentaje de humedad inicial de cada mezcla y el peso en gramos equivalente a la cantidad de sólidos totales necesarios para este estudio.

Tabla 3.2.- Parámetros iniciales de las muestras experimentales, tomados el 10/12/2007.

Compostas	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Humedad (%).	Peso equivalente a 4gr. de sólidos totales (g)
Lodo	0.715	0.143	80	20
C. 1	0.627	0.189	69.86	13.27
C. 2	0.543	0.150	72.38	14.48
C. 3	0.648	0.196	69.80	13.224
C. 4	0.677	0.148	70.80	13.66767
C. 5	0.618	0.155	74.42	15.9483
C. 6	0.545	0.147	73.08	14.8299
C. 7	0.713	0.203	71.53	14.0492
C. 8	0.736	0.192	73.918	15.333

3.1.1.1.1.- Detección luego del proceso de compostaje.

La Tabla 3.3 muestra los tubos positivos de cada dilución, crecidos en Caldo lactosado con púrpura de bromocresol CLPB. Las anotaciones hechas de cada observación se detallan a continuación:

Composta 1: Crecimiento positivo uniforme hasta la dilución 10^{-5} , encontrándose el viraje de color púrpura a color amarillo, con turbiedad y presencia de gas.

Composta 2: Crecimiento positivo uniforme de hasta la dilución 10^{-4} , y con un solo tubo positivo en la dilución 10^{-5} , con virado amarillo, y gas.

Composta 3: Crecimiento positivo uniforme hasta la dilución 10^{-4} , y con dos tubos positivos en la dilución 10^{-5} , con virado amarillo y gas.

Composta 4: Crecimiento positivo uniforme hasta la dilución 10^{-5} , y con un solo tubo positivo en la dilución 10^{-6} , con virado y producción de gas.

Composta 5: Crecimiento positivo uniforme hasta la dilución 10^{-5} , pero con un solo tubo medio positivo a la 10^{-7} , se deja hasta la dilución 10^{-5} .

Composta 6: Crecimiento positivo uniforme hasta la dilución 10^{-7} , y con 2 tubos positivos en la dilución 10^{-8} .

Composta 7: Crecimiento uniforme positivo hasta la dilución 10^{-5} , un solo tubo positivo en la dilución 10^{-6} y uno solo en la dilución 10^{-7} .

Composta 8: Crecimiento positivo uniforme hasta la dilución 10^{-4} , pero con solo un tubo positivo en la dilución 10^{-5} .

Tabla 3.3.- Resultados de Coliformes fecales de las compostas experimentales, 10 diciembre del 2007.

Compostas	Diluciones positivas									
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	10^{-11}
C 1	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
C 2	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0
C 3	3	3	3	2	0	0	0	0	0	0
C 4	3	3	3	3	1	0	0	0	0	0
C 5	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
C 6	3	3	3	3	3	3	2	0	0	0
C 7	3	3	3	3	1	0	0	0	0	0
C 8	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0

Los resultados se expresaron en NMP de acuerdo con la formula:

$$NMP = (\text{Número de tubos positivos} \times 100) / \sqrt{[(\text{ml muestra tubos neg}) \times (\text{ml muestra total})]}$$

Dando como resultados:

$$C1 = 3.20 \times 10^5 \text{ NMP/ gr. ST.}$$

NMP/ 4 gr. ST	1.28E+06	1.28E+06
NMP/ gr. ST	3.20E+05	

$$C2 = 1.05 \times 10^5 \text{ NMP/ gr. ST.}$$

NMP/ 4 gr. ST	4.20E+05	4.20E+05
NMP/ gr. ST	1.05E+05	

$$C3 = 1.49 \times 10^5 \text{ NMP/ gr. ST.}$$

NMP/ 4 gr. ST	5.98E+05	5.98E+05
NMP/ gr. ST	1.49E+05	

$$C4 = 4.08 \times 10^5 \text{ NMP/ gr. ST.}$$

NMP/ 4 gr. ST	1.63E+06	1.63E+06
NMP/ gr. ST	4.08E+05	

$$C5 = 3.20 \times 10^5 \text{ NMP/ gr. ST.}$$

NMP/ 4 gr. ST	1.28E+06	1.28E+06
NMP/ gr. ST	3.20E+05	

$$C6 = 7.76 \times 10^6 \text{ NMP/ gr. ST.}$$

NMP/ 4 gr. ST	3.11E+07	3.11E+07
NMP/ gr. ST	7.76E+06	

$$C7 = 4.08 \times 10^5 \text{ NMP/ gr. ST.}$$

NMP/ 4 gr. ST	1.63E+06	1.63E+06
NMP/ gr. ST	4.08E+05	

$$C8 = 1.05 \times 10^5 \text{ NMP/ gr. ST.}$$

NMP/ 4 gr. ST	4.20E+05	4.20E+05
NMP/ gr. ST	1.05E+05	

Siendo la primera prueba después del periodo de composteo, y aplicándose a la NOM-004-SEMARNAT-2002, las mezclas 1, 2, 3, 4, 5, 7 y 8 quedaron solamente dentro de la clase "C", con una concentración menor a 2.0×10^6 NMP/ gr. ST, pero la mezcla 7 rebasó lo permisible de coliformes fecales

excluyéndola de poderse aplicar en usos forestales, como mejoradores de suelos y usos agrícolas, ver los otros parámetros.

3.1.1.1.2.- Detección luego del proceso de intemperización.

Las muestras de aproximadamente 2kg. fueron puestas en cajas de cartón y sobre papel para simular una intemperización natural. Al cabo de cuatro semanas se tomaron los parámetros microbiológicos de control. La Tabla 3.4 muestra las características de las muestras antes del estudio.

Tabla 3.4.- Compostas experimentales secadas al sol. Enero del 2008.

Compostas	Peso inicial (gr)	Peso final (gr. ST)	Humedad (%)	Peso equivalente a 4gr. ST
C. 1	0.764	0.684	10.47	4.467
C. 2	0.558	0.527	5.56	4.23
C. 3	0.704	0.655	6.96	4.299
C. 4	0.671	0.628	6.41	4.273
C. 5	1.084	1.023	5.63	4.238
C. 6	0.686	0.628	8.32	4.369
C. 7	0.603	0.559	7.14	4.314
C. 8	0.534	0.495	7.13	4.315

La cantidad de Coliformes fecales encontrados en las diferentes diluciones se señalan en la Tabla 3.5, y los resultados expresados en NMP/gr. se indican a continuación de ésta.

Tabla 3.5.- Coliformes fecales presentes en las compostas experimentales. 31 Enero del 2008.

Compostas	Diluciones positivas									
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹
C 1	3	3	2	1	1	0	0	0	0	1
C 2	3	3	1	0	0	0	0	0	1	0
C 3	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0
C 4	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0
C 5	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0
C 6	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0
C 7	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0
C 8	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Dando como resultados:

C1 = 4.93×10^4 NMP/ gr. ST.

C1 =	NMP/ 4 gr. ST	1.97E+05	1.97E+05
	NMP/ gr. ST	4.93E+04	

C2 = 2.81×10^4 NMP/ gr. ST.

C2 =	NMP/ 4 gr. ST	1.12E+05	1.12E+05
	NMP/ gr. ST	2.81E+04	

C3 = C4 = 2.55×10^4 NMP/ gr. ST.

C3 = C4	NMP/ 4 gr. ST	1.02E+05	1.02E+05
	NMP/ gr. ST	2.55E+04	

C5 = 1.16×10^4 NMP/ gr. ST.

C5 =	NMP/ 4 gr. ST	4.63E+04	4.63E+04
	NMP/ gr. ST	1.16E+04	

C6 = C7 = 8.10×10^4 NMP/ gr. ST.

C6 = C7	NMP/ 4 gr. ST	3.24E+05	3.24E+05
	NMP/ gr. ST	8.10E+04	

C8 = 4.73×10^3 NMP/ gr. ST.

C8 =	NMP/ 4 gr. ST	1.89E+04	1.89E+04
	NMP/ gr. ST	4.73E+03	

Siendo la primera prueba después del periodo de intemperización, de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002, todas las mezclas quedaron solamente dentro de la clase "C", por ser menores a 2.0×10^6 NMP/ gr. ST, lo permisible de coliformes fecales, para aplicarse en usos forestales, como mejoradores de suelos y usos agrícolas.

3.1.1.2. Salmonella.

3.1.1.2.1. Detección luego del proceso de compostaje.

La Tabla 3.6 muestra los tubos positivos de cada dilución, crecidos en Caldo selenito cistina. Las anotaciones hechas de cada observación se detallan a continuación:

Composta 1: Crecimiento positivo hasta la dilución 10^{-6} , y un sólo tubo positivo a 10^{-8} .

Composta 2: Crecimiento positivo hasta la dilución 10^{-7} , y un sólo tubo positivo en la dilución 10^{-8} .

Composta 3: Crecimiento positivo hasta la dilución 10^{-11} .

Composta 4: Crecimiento positivo hasta la dilución 10^{-9} , con excepción de un tubo positivo en la dilución 10^{-8} .

Composta 5: Crecimiento positivo hasta la dilución 10^{-11} , pero con 2 tubos negativos en la 10^{-10} .

Composta 6: Crecimiento positivo hasta la dilución 10^{-8} .

Composta 7: Crecimiento positivo hasta la dilución 10^{-11} , pero con un sólo un tubo negativo en la dilución 10^{-10} .

Composta 8: Crecimiento positivo hasta la dilución 10^{-9} , pero con 2 tubos positivos en la dilución 10^{-10} , y uno en la dilución 10^{-11} .

Tabla 3.6.- Resultados de *Salmonella spp.* de las compostas experimentales en Caldo Selénito Cistina. Diciembre del 2007.

Compostas	Diluciones positivas										
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	10^{-11}
C 1	3	3	3	3	3	3	0	1	0	0	0
C 2	3	3	3	3	3	3	3	1	0	0	0
C 3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C 4	3	3	3	3	3	3	3	2	3	0	0
C 5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
C 6	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0	0
C 7	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
C 8	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1

Dando como resultados:

C1 = 1.30×10^6 NMP/ gr. ST.

C1 =	NMP/ 4 gr. ST	5.21E+06	5.21E+06
	NMP/ gr. ST	1.30E+06	

C2 = 5.61×10^6 NMP/ gr. ST.

C2 =	NMP/ 4 gr. ST	2.25E+07	2.25E+07
	NMP/ gr. ST	5.61E+06	

C3 = > **3.94** x10⁸ NMP/ gr. ST.

Todos positivos **C3 =>**

NMP/ 4 gr. ST	1.58E+09	1.58E+09
NMP/ gr. ST	3.94E+08	

C4 = 9.97 x10⁶ NMP/ gr. ST.

C4 =

NMP/ 4 gr. ST	3.99E+07	3.99E+07
NMP/ gr. ST	9.97E+06	

C5 = 8.54 x10⁷ NMP/ gr. ST.

C5 =

NMP/ 4 gr. ST	3.42E+08	3.42E+08
NMP/ gr. ST	8.54E+07	

C6 = 1.62 x10⁷ NMP/ gr. ST.

C6 =

NMP/ 4 gr. ST	6.48E+07	6.48E+07
NMP/ gr. ST	1.62E+07	

C7 = 1.25 x10⁸ NMP/ gr. ST.

C7 =

NMP/ 4 gr. ST	4.99E+08	4.99E+08
NMP/ gr. ST	1.25E+08	

C8 = 1.07 x10⁸ NMP/ gr. ST.

C8 =

NMP/ 4 gr. ST	4.27E+08	4.27E+08
NMP/ gr. ST	1.07E+08	

Podemos ver que en ninguna composta o mezcla resulta optima para ninguna clase de aplicación pues se encuentra encima de los limites permisibles de la NOM-004_SEMARNAT-2002, por encima de los establecidos en la clase "C" <300 NMP/gr. ST de *Salmonella spp.*

3.1.1.2.2.- Detección luego del proceso de intemperización.

Tal y como se hizo anteriormente con los coniformes fecales, se secaron las mezclas de las compostas en la intemperie y al sol.

Tabla 3.7 Resultados de *Salmonella spp.* de las compostas experimentales. Febrero del 2008, temperatura alcanzada entre 40 y 50 ° C.

Compostas	Diluciones positivas										
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹
C 1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C 2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C 3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C 4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C 5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C 6	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2
C 7	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C 8	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

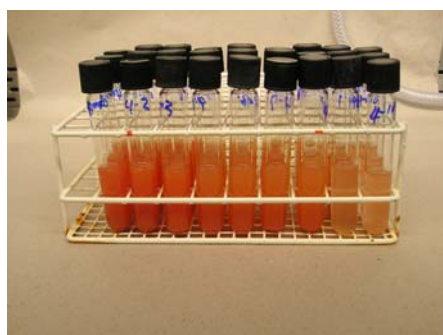


Fig. 3.2.- Tubos completamente positivos de *Salmonella spp.*

$$C1 = C2 = C3 = C4 = C5 = C7 = C8 > 3.94 \times 10^8 \text{ NMP/ gr. ST}$$

$$C1 = C2 = C3 = C4 = C5 = C7 = C8 => \text{Todos positivos}$$

NMP/ 4 gr. ST	1.58E+09	1.58E+09
NMP/ gr. ST	3.94E+08	

$$C6 = 3.94 \times 10^8 \text{ NMP/ gr. ST}$$

C6 =	NMP/ 4 gr. ST	1.58E+09	1.58E+09
	NMP/ gr. ST	3.94E+08	

Podemos ver que en ninguna composta o mezcla resulta optima para ninguna clase de aplicación pues se encuentra muy por encima de los limites permisibles de la NOM-004_SEMARNAT-2002, y de los establecidos en la clase "C" <300 NMP/gr. ST de *Salmonella spp.*, por lo que la *Salmonella spp.* se desarrolló muy prósperamente en estos lodos, dichas compostas al muestrearse en las tinajas, se pregunto la temperatura que llegaron a tener y aproximadamente estuvieron entre los 40 y 50° C, sin llegar a los deseados 60°

C para el decremento de los patógenos existentes en los biosólidos, por lo que la temperatura ideal para la *Salmonella spp.*, se encuentra dentro de ese rango, pero no así para los Coliformes fecales, los cuales bajaron sus niveles de NMP, Estos biosólidos son muy dañinos para la salud pública, por sus altos niveles de *Salmonella* podrían ocasionar problemas epidémicos en los consumidores de dichos cultivos y a los agricultores también sin contar las pérdidas económicas, no son recomendables para las cosechas, ni para ningún tipo de aplicación.

3.1.1.3. Huevos de helmintos viables.

Las observaciones al microscopio mostraron una gran variedad de formas de huevos comparables con parásitos de animales de cría (vacas, cerdos, gallinas) y otros tantos comparables a huevos de helmintos parásitos del hombre. Debido a ello, se decidió proceder a la incubación de las muestras, tal como lo especifica la NOM, para reportar solo los viables. La Tabla 3.7, resume las observaciones reportadas luego de 6 semanas de incubación.

Tabla 3.8.- Huevos de helmintos viables en las compostas experimentales.

Muestra	Observaciones	Larva de H. H	Otros: Oligoquetos	Núm. aprox.
1	Lodo, madera	Negativo (-)	Negativo (-)	—
2	Lodo, madera, paja	Negativo (-)	Negativo (-)	—
3	Moho, gas	Negativo (-)	Negativo (-)	—
4	Moho, gas	Negativo (-)	Negativo (-)	—
5	Lodo, madera, paja	Negativo (-)	Positivo (+)	Mas de 20
6	Lodo, madera, paja	Negativo (-)	Negativo (-)	—
7	Lodo, madera, paja	Negativo (-)	Negativo (-)	—
8	Lodo, madera, paja	Negativo (-)	Negativo (-)	—

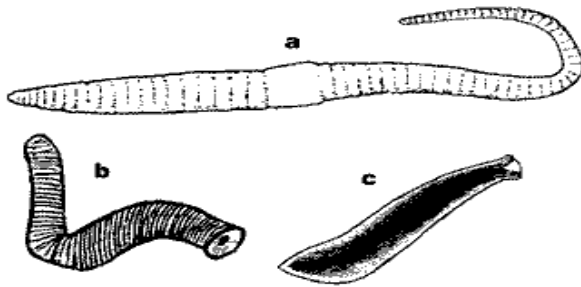


Fig. 3.3 Se observaron oligoquetos: Oligoqueto, la lombriz común (a); y un Aqueto, una sanguijuela (b)— y un Platelminto, una planaria (c)

3.1.2.- En compostas piloto.

Se adecuaron 8 compostas de tipo pila estática, de aproximadamente 1m^3 , como se puede apreciar en la Figura 3.2. Las ocho fueron preparadas como se describe en la Tabla 3.8. Todas recibieron aireación manual. Los parámetros de humedad y temperatura se controlaron y supervisaron de manera constante, a lo largo de la etapa de composteo que duró aproximadamente 4 semanas. Al cabo de este tiempo se tomaron muestras representativas de cada una de las mezclas, siguiendo los parámetros descritos en la NOM-004-SEMARNAT-2002, para realizar el conteo de los organismos indicadores de contaminación biológica según lo descrito en el Capítulo 2 de materiales y método.



Fig. 3.4.- Compostas piloto en la planta de tratamiento de aguas residuales “Centenario”.

Tabla 3.9.- Mezclas de las compostas piloto.

Concepto.	Mezclas de sustratos de las compostas (tipo de tratamiento).							
	Lodo residual + Poda.		Lodo residual + Bagazo.		Lodo residual + Aserrín.		Lodo residual + Bagazo + Poda.	
Num. de composta.	1	4	2	5	3	6	7	8
Proporción.	1:1	2:1	1:1	2:1	1:1	2:1	1:1:1	1:2:1
Volumen final de la pila (m ³).	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
Observaciones:	Con volteado manual cada 5 ^o día.	Con volteado manual cada 5 ^o día.	Con volteado manual cada 5 ^o día.	Con volteado manual cada 5 ^o día.	Con volteado manual cada 5 ^o día.	Con volteado manual cada 5 ^o día.	Con volteado manual cada 5 ^o día.	Con volteado manual cada 5 ^o día.

3.1.2.1.- Coliformes fecales.

El parámetro de humedad se determinó conforme a lo establecido en el apartado 3.1.1.1.

3.1.2.1.1.- Detección luego del proceso de compostaje.

La tabla 3.9 muestra los tubos positivos de cada dilución, crecidos en Caldo lactosado con púrpura de bromocresol (CLPB).

Tabla 3.10.- Resultados de Coliformes fecales de las compostas piloto, Febrero del 2008.

Compostas	Diluciones positivas										
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹
C 1	3	3	3	3	3	1	1	0	0	0	0
C 2	3	3	3	3	3	1	0	0	0	0	0
C 3	3	3	3	3	1	2	0	0	0	0	0
C 4	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
C 5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1
C 6	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0
C 7	3	3	3	3	2	2	2	2	3	2	1
C 8	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2	1

Dando como resultados:

C1 =

NMP/ 4 gr. ST	1.77E+06	1.77E+06
NMP/ gr. ST	4.43E+05	

C2 =

NMP/ 4 gr. ST	1.63E+06	1.63E+06
NMP/ gr. ST	4.08E+05	

C3 =

NMP/ 4 gr. ST	5.06E+05	5.06E+05
NMP/ gr. ST	1.27E+05	

C4 =

NMP/ 4 gr. ST	7.68E+04	7.68E+04
NMP/ gr. ST	1.92E+04	

C5 =

NMP/ 4 gr. ST	4.27E+08	4.27E+08
NMP/ gr. ST	1.07E+08	

C6 =

NMP/ 4 gr. ST	8.54E+08	8.54E+08
NMP/ gr. ST	2.13E+08	

C7 =

NMP/ 4 gr. ST	1.22E+06	1.22E+06
NMP/ gr. ST	3.04E+05	

C8 =

NMP/ 4 gr. ST	1.43E+07	1.43E+07
NMP/ gr. ST	3.57E+06	

Siendo la primera prueba piloto después del periodo de composteo, de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002, las compostas 1, 2, 3, 4 y 7 quedaron solamente dentro de la clase "C", por ser menores a 2.0×10^6 NMP/ gr. ST, pero no para las compostas 5 y 6, exentos de para aplicarse en usos forestales, como mejoradores de suelos y usos agrícolas.

3.1.2.1.2.- Detección luego del proceso de intemperización.

Se mantuvieron las 8 compostas y lodo como en el anterior en el medio ambiente, en el sol hasta secarse por completo.

Tabla 3.11.- Resultados de Coliformes fecales de las compostas piloto, Marzo del 2008.

Compostas	Diluciones positivas										
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹
C 1	3	3	3	3	2	0	1	0	0	0	0
C 2	3	3	3	2	0	1	0	0	0	0	0
C 3	3	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0
C 4	3	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0
C 5	3	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0
C 6	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
C 7	3	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0
C 8	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
LODO	3	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0

Dando como resultados:

C1 =	NMP/ 4 gr. ST	6.43E+05	6.43E+05
	NMP/ gr. ST	1.61E+05	

C2 =	NMP/ 4 gr. ST	1.63E+05	1.63E+05
	NMP/ gr. ST	4.07E+04	

C3 = C4 = C5	NMP/ 4 gr. ST	4.20E+05	4.20E+05
	NMP/ gr. ST	1.05E+05	

C6 = C8	NMP/ 4 gr. ST	7.68E+04	7.68E+04
	NMP/ gr. ST	1.92E+04	

C7 =	NMP/ 4 gr. ST	1.49E+05	1.49E+05
	NMP/ gr. ST	3.71E+04	

Lodo =	NMP/ 4 gr. ST	4.20E+05	4.20E+05
	NMP/ gr. ST	1.05E+05	

Siendo la primera prueba piloto después del periodo de intemperización, de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002, todas las compostas y el lodo quedaron solamente dentro de la clase "C", por ser menores a 2.0×10^6 NMP/

gr. ST de coliformes fecales, siendo el método de cosposteo y la intemperización apropiada para la disminución notable de los coliformes fecales y estos puedan aplicarse en usos forestales, como mejoradores de suelos y usos agrícolas.

3.1.2.2.- Salmonella spp. (COMPOSTAS PILOTO).

3.1.2.2.1.- Luego del proceso de compostaje.

En esta prueba la Salmonella no creció tanto hasta las últimas diluciones, suponemos porque las temperaturas de las compostas en su mayoría si llegaron a tener los 60° C.

Tabla 3.12.-Resultados de *Salmonella* spp. de las compostas piloto. Febrero del 2008.

Compostas	Diluciones positivas										
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹
C 1	3	3	3	3	3	3	3	1	2	2	3
C 2	3	3	3	3	1	0	2	1	2	0	0
C 3	3	3	3	2	0	0	1	0	1	0	0
C 4	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3	1
C 5	3	3	3	3	3	3	2	2	2	1	1
C 6	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C 7	3	3	3	3	3	3	3	3	2	0	0
C 8	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1

Dando como resultados:

C1 =

NMP/ 4 gr. ST	3.11E+07	3.11E+07
NMP/ gr. ST	7.78E+06	

C2 =

NMP/ 4 gr. ST	5.84E+05	5.84E+05
NMP/ gr. ST	1.46E+05	

C3 =

NMP/ 4 gr. ST	1.76E+05	1.76E+05
NMP/ gr. ST	4.39E+04	

C4 =	NMP/ 4 gr. ST	1.31E+06	1.31E+06
	NMP/ gr. ST	3.28E+05	

C5 =	NMP/ 4 gr. ST	1.22E+07	1.22E+07
	NMP/ gr. ST	3.04E+06	

Todos positivos	C6 =>	NMP/ 4 gr. ST	1.58E+09	1.58E+09
		NMP/ gr. ST	3.94E+08	

C7 =	NMP/ 4 gr. ST	1.11E+08	1.11E+08
	NMP/ gr. ST	2.78E+07	

C8 =	NMP/ 4 gr. ST	3.05E+08	3.05E+08
	NMP/ gr. ST	7.62E+07	



Fig. 3.5.- Tubos positivos de *Salmonella spp.*, prueba piloto.

Siendo todos excluidos, malos para el uso de suelos agrícolas, por ser todas las compostas > 300 NMP/ 4gr. base seca o ST, según NOM-004-SEMARNAT-2002, dichos biosólidos que aunque estaban dentro de la clase “C”, de los límites permisibles de coliformes al igual que en las mezclas experimentales no son óptimas, ni recomendables para el uso de suelos forestales y agrícola. Y si estos fueran usados causarían perjuicios a la salud pública y del medio ambiente, contaminando las aguas superficiales y mantos acuíferos que a la postre, además de los ya mencionados, producirían epidemias de enfermedades gastrointestinales.

3.1.2.2.- Luego del proceso de intemperización.

En esta prueba se comprobó que la *Salmonella spp.* es eliminada con la intemperización, los rayos del sol, y que las compostas ya en grande pudieron minimizar los agentes patógenos.

Tabla 3.13.- Resultados de *Salmonella spp.* de las compostas piloto, Marzo del 2008.

Compostas	Diluciones positivas									
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
C 1	3	3	3	3	3	3	0	0	0	0
C 2	3	3	3	3	3	3	3	0	0	0
C 3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
C 4	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
C 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C 7	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0
C 8	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
LODO	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2

Dando como resultados:

C1 =

NMP/ 4 gr. ST	4.86E+06	4.86E+06
NMP/ gr. ST	1.22E+06	

C2 =

NMP/ 4 gr. ST	1.79E+07	1.79E+07
NMP/ gr. ST	4.48E+06	

C3 =

NMP/ 4 gr. ST	1.62E+04	1.62E+04
NMP/ gr. ST	4.05E+03	

C4 = C8

NMP/ 4 gr. ST	3.24E+05	3.24E+05
NMP/ gr. ST	8.10E+04	

Todos negativos desde -2 **C5 = C6 =<**

NMP/ 4 gr. ST	3.49E+02	3.49E+02
NMP/ gr. ST	8.71E+01	

C7 =

NMP/ 4 gr. ST	7.68E+04	7.68E+04
NMP/ gr. ST	1.92E+04	

C8 = C4	NMP/ 4 gr. ST	3.24E+05	3.24E+05
	NMP/ gr. ST	8.10E+04	

Lodo =	NMP/ 4 gr. ST	4.52E+08	4.52E+08
	NMP/ gr. ST	1.13E+08	

Estos resultados fueron favorables para las compostas 5 y 6 que si cumplieron con los niveles menores a 300 NMP/ 4gr. base seca o ST, según NOM-004-SEMARNAT-2002, dichos biosólidos también cumplieron en la clase “C”, siendo buenos para usarlos como mejoradores de suelos y zonas agrícolas y forestales, de dicha norma.

3.1.2.3.- Huevos de Helmintos. (Compostas piloto).

En compostas en pila estática.

Solo en las compostas 3, 5 y 6 se encontraron los Oligoquetos, y sobresalió por ello la 5, mas sin embargo se encontró que los Oligoquetos son endémicos de las compostas 5 con mas de 232 individuos correspondiente al 1:2, Bagazo + lodo residual, siguiéndolo la composta 6, con proporción 2:1, Lodo residual + Aserrín; y la composta 3, con proporción 1:1, Lodo residual + Aserrín.

Tabla 3.14.- Presencia / ausencia de Huevos de Helmintos.

Muestra	Observaciones	Larva de H. Helminto.	Otros: Oligoquetos	Num. de aprox.
1	Nada	Negativo (-)	Negativo (-)	—
2	Nada	Negativo (-)	Negativo (-)	—
3	Muchos Oligoquetos.	Negativo (-)	Positivo (+)	Mas de 20
4	Nada	Negativo (-)	Negativo (-)	—
5	Muchos Oligoquetos, estaban desde muy grandes a pequeñitos y unos reproduciéndose.	Negativo (-)	Positivo (+)	Mas de 232
6	Muchos Oligoquetos estaban desde muy grandes a pequeñitos y unos reproduciéndose.	Negativo (-)	Positivo (+)	Mas de 76.
7	Nada mas unos micro gusanitos que se movían muy rápido	Negativo (-)	Negativo (-)	—
8	Nada mas unos micro gusanitos que se movían muy rápido	Negativo (-)	Negativo (-)	—

3.2.- Comparación de resultados con los límites permisibles de la NOM-004-SEMARNAT-2002, y sus observaciones.

Se compararon los 3 parámetros, **ver anexo 7** para cada una de las compostas experimentales, siendo el parámetro de los Huevos de Helmintos aprobados para todos en general, se observaron que durante el proceso de composteo únicamente la composta 7 rebasaba los límites permisibles de la clase "C", menor de 2000 000 NMP/g. ST de coliformes fecales con 7.76×10^6 NMP/g. ST, pero todas las compostas rebasaron los límites permisibles de *Salmonella spp.* en dicha clase, siendo esos lodos no aptos para la aplicación de suelos y zonas agrícolas y forestales. Durante el proceso de intemperización los coliformes fecales disminuyeron notablemente aunque aun se encontraban solamente dentro de la clase "C", pero igualmente fueron no aptas las compostas por haber rebasado los límites permitidos de la *Salmonella spp.*, un dato importante fue que las muestras de las compostas últimas experimentales aumentaron demasiado en *Salmonella* cuando habían disminuido en coliformes fecales, los cuales se supo que no llegaron a tener una temperatura óptima del composteo 60° C, y suponemos que las *Salmonellas* se multiplicaron debido que su rango de temperatura óptima esta ente los 37 y 42° C, por lo que es importante su constante monitoreo de las temperaturas.

Se observó que los resultados son muy variables, en las compostas piloto (proceso de compostaje), aplicaron en clase "C" las compostas 1, 2, 3, 4 y 7 en los coliformes fecales siendo el 4 el mas bajo en concentración con 1.92×10^4 NMP/g. ST. Así mismo, se observó que en la composta 4 se obtuvo el mas bajo contenido de *Salmonella spp.*, pero sin aplicar a la los límites de la NOM-004-SEMARNAT-2002. Pero después del proceso de intemperización a pesar de que todos las compostas incluyendo el lodo, aplicaron solamente dentro de la clase "C" en coliformes fecales (menores a 2000,000 NMP/g. ST), solamente las compostas 5 y 6 aplicaron dentro de los 3 parámetros para clase "C", porque los niveles de *Salmonella spp.* aunque fueron disminuyeron excepto en la composta 2, no aplicaron en los niveles deseados de la norma, por lo que no existe una relación estrecha entre los parámetros microbiológicos: Coliformes fecales, *Salmonella spp.* y Huevos de Helmintos. Sin embargo, por lo que en

los lodos todos pueden tener distintos niveles y fluctuaciones entre sus mismos parámetros, por lo que si asumiéramos que solamente con los coliformes fecales pudiéramos conocer la calidad de estos lodos comportados, sería de imaginarse una epidemia en la ciudad de Chetumal por Salmonelosis, un parámetro no es suficiente para conocer la calidad de estos lodos, por lo que si un parámetro es independiente de otro es muy posible que estos lodos necesiten de un mejor estudio microbiológico y parasitológico, con otros parámetros que especifiquen si estos lodos o biosólidos están libres de microorganismos patógenos que dañen la salud y al entorno del medio ambiente en general.

Se observaron que en los tubos de la *Salmonella spp.* las placas de Agar Verde Brillante (AVB) séles inoculo 2 de las diluciones ultimas las cuales estas presentaron bastante crecimiento en el medio (ver **Anexo 5**), que forzosamente se tuvieron que aislar en Agar Nutritivo (AN) para inocular las cepas en las pruebas Bioquímicas del crecimiento bacteriano en los medios selectivos el Agar Verde Brillante y en los medios de identificación Bioquímica nos dieron muchos y variados cambios en el medio por lo que suponemos que podrían ser *Salmonellas spp.*, las cepas 4, 8, 9, 13 y 14 correspondientes a las compostas 2, 4, 5, 7 y 8 tuvieron el cambio Alcalino/Ácido o K/A, predominante del grupo *Salmonella spp.*, contrario a las cepas 1, 2 5, 6, 7, 10, 11 y 12, no, siendo las compostas 1, 3, 4, 5, 6, y 7 teniendo Ácido/Ácido lo que nos dan las posibles Bacterias: *S. subgrupo 3b (Arizona)*, *Enterobacter cloacae* exclusivo de TSI, *Enterobacter. amnigenus* brog. 1., *E. intermedium*, entre otras, (ver, **Anexo 4** y **Anexo 6**). Dejándonos ver una compleja diversidad de géneros que se están desarrollando en las compostas durante el proceso de cocción de las mezclas, sin embargo para identificarlas bien unas de otras es necesario de los otros medios de identificación bioquímica (ver **Anexo 4**), su serología.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES.

La hipótesis fue aprobada en el caso del cumplimiento de la NOM-004, siendo buenos para usarlos como mejoradotes de suelos y zonas agrícolas. En la prueba piloto después de la intemperización se vio una disminución de los niveles de *Salmonella spp.* en algunas de las mezclas. La presencia de esta bacteria patógena continuó con niveles altos en las compostas 1 y 2 pero disminuyó exitosamente en las compostas 5 y 6, lo cual indica que probablemente la proporción adecuada de lodo y de los respectivos materiales de contacto (bagazo de caña, aserrín), contribuyen de alguna manera para agilizar el metabolismo y disminuir la carga bacteriana. En el caso de huevos de helmintos, no se pudo cuantificar la cantidad exacta, pero se llevaron a cabo los ensayos de viabilidad tal y como lo indica la NOM-004. Aquí observamos que no hubo eclosión hacia la fase larvaria, por lo que no se reportaron huevos viables; sin embargo, se observó la cantidad de hasta de 252 individuos en 2g. ST de otro tipo de gusanos (oligoquetos) identificados gracias a la experiencia del Dr. David González Solís, del Área de Sistemática, Ecología, Parasitología y Conservación del Necton del ECOSUR, nos indican la existencia de buenas cantidades de materia orgánica, lo que los mantuvo viables durante los periodos de incubación. Debido a esto la hipótesis se aceptó en las compostas 5 y 6, por ser buenos en la clasificación "C", según la NOM-004-SEMARNAT-2002, siendo buenos como mejoradotes de suelos y en usos forestales y agrícolas.

Debido a la observación de múltiples morfologías coloniales que posiblemente correspondan a otros géneros que no establece la NOM-004, es preciso que para evitar daños a la salud pública y al medio ambiente, para que se puedan recomendar usarse como mejoradores de suelos y zonas agrícolas.

CAPITULO V

ANEXOS

Anexo 1.- Medios de cultivo para Coliformes fecales.

Caldo lactosado con púrpura de bromocresol (CLPB).

- Se disolvieron 13.0 g. del medio y 0.1 g. de púrpura de bromocresol en 1 L de agua destilada, con la parrilla de agitación.
- Se verifico el pH. de 6.9, ± 0.2 , en caso contrario se ajusto con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.
- Se distribuyeron 10 mL. en tubos de ensayo, tapándose para después esterilizarse en autoclave a 121 ° C, durante 15 minutos. (no vario el volumen final, más de 0.1 mL.).
- El medio se almaceno a temperatura ambiente, en un lugar limpio y libre de polvo, durante no más de una semana.

Medio EC.

- Se disolvieron 37.0 g. del medio en 1 L. de agua destilada, con la parrilla de agitación.
- Se verifico el pH. de 6.9, ± 0.2 , por lo que si requería se ajusto con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.
- Distribuyo en volúmenes de 10 mL. en tubos de ensayo, en su interior tubos de Durham invertidos, tapandose y esterilizandose en autoclave a 121 ° C, durante 15 min. (no vario el volumen final, más de 0.1 mL).
- El medio se almaceno a temperatura ambiente, en un lugar limpio y libre de polvo, durante no más de una semana.

Solución madre de tampón A.

- Se disolvieron 34.00 g. de fosfato monopotásico en 500 mL. de agua destilada.
- Ajustar el pH de 7,2 ± 0.2 , con la solución de hidróxido de sodio 0.1 N, y aforar a 1 L. de agua destilada.

- Esterilizar en autoclave a 121 ° C, durante 15 minutos y almacenar en refrigeración (entre 2 y 4 ° C). La solución es estable durante meses. Desechar cuando se observe turbiedad.

Solución madre de tampón B.

- Se disolvieron 8.10 g. de cloruro de magnesio en 500 ml. de agua destilada, y se aforo a 1 L. de agua destilada.
- Se esterilizo en autoclave a 121 ° C, durante 15 minutos y almaceno en refrigeración (entre 2 y 4 ° C). La solución es estable durante meses. Desechar cuando se observe turbiedad.

Solución tampón de fosfatos (agua de disolución).

- Se adicionó 1.25 ml. de la solución madre de tampón A y 5 ml. de la solución madre de tampón B y se aforo a 1 L. con agua destilada.
- Se distribuyeron volúmenes de 9,2 ml. y 36 ml. en tubos de rosca y frascos con tapa de cierre hermético, respectivamente.
- Se esterilizó en autoclave a 121 ° C, durante 15 minutos y almacenándose en temperatura ambiente.

Solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

- Se disolvieron 4.0 g. de hidróxido de sodio en 1000 ml. de agua recién destilada y libre de CO₂. (para abatir la carbonatación de la solución).
- Se almaceno en frasco con tapón de rosca.

Solución de hidróxido de sodio 1 N.

- Se disolvieron 40g. de hidróxido de sodio en 1000 ml. de agua recién destilada y libre de CO₂ (al igual que en la anterior disolución).
- Se almaceno en frasco con tapón de rosca.

Anexo 2.- Preparación de medios de cultivo para *Salmonella spp.*

Solución Caldo tetrionato.

- Se disolvieron 16 g. de medio que en forma deshidratada, en 1 L. de agua destilada, con la parrilla de agitación y calentó hasta ebullición.
- Se distribuyeron en volúmenes de 100 ml. en recipientes estériles y conservar entre 5 ° C y 8 ° C.
- Pero antes de usarse el medio, se le agregaron 2 ml. de solución de yodo yoduro, por cada 100 ml de caldo.
- Una vez añadida la solución de yodo yoduro al medio, éste se utilizo inmediatamente. Nunca se volvió a calentar ni mucho esterilizó en autoclave.

Caldo selenito cistina.

- Se disolvieron 23 gr., del medio que se encuentra en forma deshidratada, en 1 L. de agua destilada.
- Se calentaron hasta ebullición durante 10 minutos en un baño de agua.
- Posteriormente se distribuyeron en tubos de 10 ml. en tubos esterilizados durante 10 minutos por arrastre de vapor en baño maría.
- Se verifico el pH de 7.0, ± 0.2 , sin embargo de no tenerlo se ajusto con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.
- El medio se utilizo el mismo día de su preparación, sin este volverse a calentar, ni mucho esterilizarse en autoclave.

Agar verde brillante (VB).

- Disolvieron 58 gr. de medio deshidratado en 1 L de agua destilada, se mezclo bien con la parrilla de agitación y calo hasta ebullición.
- Se verifico el pH de 6.9, ± 0.1 , y en caso de no contarle se ajusto con solución de hidróxido de sodio 0.1 N.
- Se esterilizo en autoclave a 121 ° C por 12 minutos, y cualquier sobrecalentamiento del medio disminuye su selectividad.
- Se dejo enfriar el medio a no menos de 50 ° C pero debajo de 60 ° C, para distribuirse en cajas Petric estériles.

Agar Nutritivo.

- Se disolvieron 23 gr. de medio en 1 L. de agua destilada, con la parrilla de agitación y calentar hasta ebullición hasta disolución completa.
- Se verifico el pH de 6.8, ± 0.2 , en caso contrario se ajusto con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.
- Se esterilizo en autoclave a 121 ° C por 15 minutos.
- Se enfrió a no menos de 50 ° C por debajo de 60 ° C y se distribuyo en cajas Petric estériles.

Agar triple azúcar hierro (TSI).

- Se disolvieron 65 gr. de medio, deshidratado en 1 L. de agua destilada, con la parrilla de agitación y se calentó hasta ebullición, agitando ocasionalmente hasta su completa disolución.
- Se verifico el pH de 6.9, ± 0.2 , pero en caso contrario ajustar con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.
- Se dejo enfriar a 60 ° C y distribuir en volúmenes de 4 ml. en tubos de rosca y esterilizar a 121 ° C durante 15 minutos.
- Los tubos se inclinan, de manera que el medio de cultivo en el fondo alcance una altura de 3 cm. y una parte inclinada de 2 a 3 cm.

Agar hierro lisina (LIA).

- Se disolvió 33 gr. del medio deshidratado en 1 L. de agua destilada, con la parrilla de agitación y calentando se hasta ebullición, agitándose hasta su completa disolución.
- No esterilizó en autoclave, porque el sobrecalentamiento afecta su selectividad.
- Se verificó el pH de 6.7 ± 0.2 , en caso contrario se ajustó con solución de hidróxido de sodio 0.1 N.
- Se dejo enfriar a 60 ° C y distribuir en volúmenes de 4 ml en tubos de rosca y esterilizar a 121 ° C durante 12 minutos.
- Posteriormente se dejo enfriar los tubos en posición inclinada, de tal modo que se obtuvieran columnas de 3 cm. y una parte inclinada de 2 cm.

Solución de yodo yoduro.

- Disolver 06.00 gr. del yoduro de potasio en 20.00 ml. de agua destilada.
- Se agregaron lentamente los cristales de yodo que son 06.00 gr. hasta su completa disolución, se almacenó en la oscuridad.

Anexo 3.- Preparación de Soluciones para Huevos de Helminto.

Solución ácido alcohol.

- Se homogeneizo 650 ml. de ácido sulfúrico 0.1 N. con 350 ml. de alcohol etílico.
- Se almaceno la solución en un recipiente hermético.

Solución de formalina al 0.5%.

- Séle añadió 5 ml. de formaldehído al 37% y aforar a 1000 ml. con agua destilada.
- Se homogeneizo y almaceno en recipiente hermético.

Solución patrón de aceto-acético.

- Séle agregaron a 15 gr. de acetato de sodio trihidratado 3.6 ml de ácido acético y se aforo a 1000 ml con agua destilada.
- Homogeneizar y almacenar en recipiente hermético durante 2 a 3 meses.

Solución de sulfato de zinc ($ZnSO_4$) con gravedad específica de 1.3.

- Se disolvieron 800 gr. de sulfato de zinc heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) en 1000 ml de agua destilada.
- Se mezclo en la parrilla magnética hasta su homogeneizado total.
- Se midió la densidad con el densímetro, y según el caso, se ajustó la densidad a 1.3 agregando sulfato de zinc o agua destilada.
- Se almaceno en un recipiente hermético y séle verifico la densidad cada mes.

Tween 80 al 0.1%.

- Se añadió a 1 ml del reactivo en 999 ml. de agua destilada y homogeneizado en parrilla de agitación hasta su completa disolución.
- Se almaceno en recipiente hermético durante 2 a 3 meses.

Anexo 4.- Tabla para la identificación de bacterias por medio de las bioquímicas.

V = Variable. R = Desaminación de la lisina, color rojo en la superficie del medio. D₍₋₎ = Desaminación negativa.

D₍₊₎ = Desaminación positiva.

Bioquímicas Bacterias	Medio Kligler o TSI			LIA	MIO			Observaciones.
	CAMBIO	H ₂ S	Gas		Movi- lidad	Indol	Orni- tina	
<i>Salmonella</i> subgrupo 1 ^a strains.	K/A	+	+	+	+	-	+	Misma sec. Bioquímica para <i>S. pollorum</i> , <i>S.</i> subgrupos 2,4 y 5.
<i>Salmonella typhi</i> .	K/A	+	-	+	+ ₍₋₎	-	-	
<i>Salmonella Choleraesuis</i> .	K/A	±	+	+	+	-	+	
<i>S. Paratyphi A</i> .	K/A	V ₍₋₎	+	-	+	-	+	
<i>S. gallinarum</i> .	K/A	+	-	+	-	-	-	
<i>S.</i> subgrupo 3a (Arizona).	K/A	+	+	+	+	- ₍₊₎	+	
<i>S.</i> subgrupo 3b (Arizona).	A/A	+	+	+	+	- ₍₊₎	+	
<i>Shigella A, B, C</i> .	K/A	-	-	-	-	± _(80%)	-	K/A en TSI.
<i>S. sonnei</i> .	K/A	-	-	-	-	-	+	
<i>Escherichia coli</i> .	K/A	-	+	+	+	+	+	A/A o K/A en TSI, K/A ocasionalmente.
<i>E. Coli</i> inactivo.	K/A	-	-	V	-	+	-	
<i>E. fergusonii</i> .	K/A	-	+	+	+	+	+	
<i>E. hermannii</i> .	K/A, A/A.	-	+	-	+	+	+	
<i>E. vulneris</i> .	K/A	-	+	+	+	-	-	
<i>E. blattae</i> .	K/A	-	+	+	-	-	+	
<i>Enterobacter Aerogenes</i> .	K/A, A/A.	-	+	+	+	-	+	K/A en TSI.
<i>E. cloacae</i> .	A/A	-	+	-	+	-	+	A/A exclusivo de TSI.
<i>E. agglomerans</i>	K/A, A/A.	-	-	-	+	-	-	
<i>E. gergoviae</i> .	K/A, A/A.	-	+	+	+	-	+	
<i>E. Saxazakii</i>	A/A	-	+	-	+	-	+	
<i>E. taylorae</i> .	K/A	-	+	-	+	-	+	
<i>E. amnigenus</i> brog 1.	A/A	-	+	-	+	-	V	
<i>E. amnigenus</i> brog 2.	K/A, A/A.	-	+	-	+	-	+	
<i>E. intermedium</i> .	A/A	-	+	-	+	-	+	
<i>Citrobacter freundii</i> .	K/A, A/A.	+	+	-	+ ₍₋₎	-	V ₍₋₎	A/A o K/A en TSI, A/A ocasionalmente
<i>C. diversos</i> .	K/A	-	+	-	+ ₍₋₎	+ ₍₋₎	+	
<i>C. amalonaticus</i> .	K/A, A/A.	-	+	-	+	+	+	
<i>C. amalonaticus</i> brog 1.	K/A	-	+	-	+	+	+	
<i>Proteus minabilis</i> .	K(A)/A	+	+	D ₍₋₎	+ ₍₋₎	-	+	K/A, A/A ocasional en TSI.
<i>P. vulgaris</i> .	K(A)/A	+	+	D ₍₋₎	+ ₍₋₎	+ ₍₋₎	-	A/A, K/A ocasional en TSI.
<i>P. penneri</i> .	K/A	V ₍₋₎	V ₍₊₎	-	+	-	-	
<i>P. myxofaciens</i> .	K/A	-	+	-	+	-	-	
<i>Klebsiella grupo 47</i> .	A/A	-	+	+	-	+	+	A/A, en TSI, todo negro.
<i>K. pneumoniae</i> .	A/A	-	+	+	-	-	-	
<i>K. oxitoca</i> .	A/A	-	+	+	-	+	-	
<i>K. platicola</i> .	A/A	-	+	+	-	-	-	
<i>K. ozaenae</i> .	K(A)/A	-	V	V	-	-	-	
<i>K. rbinosderomotis</i> .	K/A	-	-	-	-	-	-	
<i>K. terrigena</i> .	A/A	-	+	+	-	-	-	
<i>Providencia rettgeri</i> .	K/A	-	-	D ₍₋₎	+	+	-	
<i>P. stuartii</i> .	K/A	-	-	-	+	+	-	
<i>P. alcalitaciens</i> .	K/A	-	+	-	+	+	-	
<i>P. rustkjarinii</i> .	K/A	+	+	+	+	+	+	
<i>Edwardsiella tarda</i> .	K/A	-	V	+	+	+	+	
<i>E. tarda</i> biogrupo 1.	K/A	-	V	+	+	+	+	
<i>E. hoshinae</i> .	K/A	-	V	+	+	-	+	
<i>E. icaluri</i> .	K/A	-	V	+	-	-	V	
<i>Yersinia enterocolitica</i> .	A/A	-	-	-	- ₍₊₎	V	+	
<i>Morgonella morganii</i> .	K/A	-	V ₍₊₎	D ₍₋₎	V ₍₊₎	+	+	K/A, gas (+), ocasionalmente en TSI.
<i>M morganii</i> subgrupo 1.	K/A	V	+	D ₍₊₎	-	+	+	
<i>Serratia marcescens</i>	A/A o K/A	-	V	+	+	-	+	K/A o A/A, en TSI.
<i>S. marcescens</i> biogrupo 1.	K/A	-	-	V	-	-	V	
<i>S. Liquefacien</i>	K/A	-	V	+	+	-	+	

*Fuente CESA.

Anexo 5.- Resultados de los cultivos en Agar Verde Brillante.

Las siguientes fotos muestran las variaciones debidas al cambio de pH sobre el Agar Verde Brillante (AVB), por las distintas cepas presentes en las compostas 1-8 y en el lodo crudo. Los cambios de color del medio así como la morfología colonial individual en cada caja nos habla de la diversidad de géneros que se están desarrollando en las compostas durante el proceso de cocción de las mezclas.

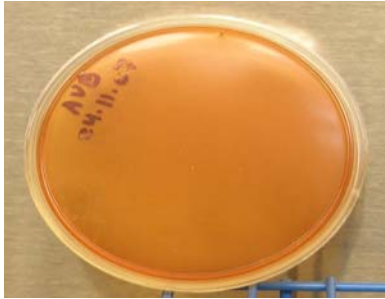


Fig. 5.1.- Caja control, color anaranjado profundo.



Fig. 5.2.- Medio con inóculo de lodo crudo.



Fig. 5.3.- Medio con inóculo de composta 1.



Fig. 5.4.- Medio con inóculo composta 2.



Fig. 5.5.- Medio con inóculo composta 3.



Fig. 5.6.- Medio con inóculo composta 4.

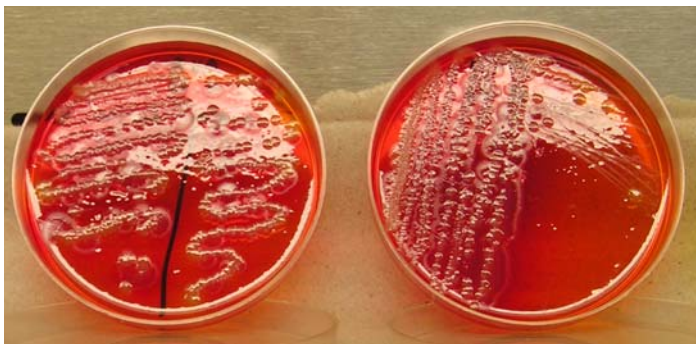


Fig. 5.7.- Medio con inóculo composta 5.



Fig. 5.8.- Medio con inóculo composta 6.

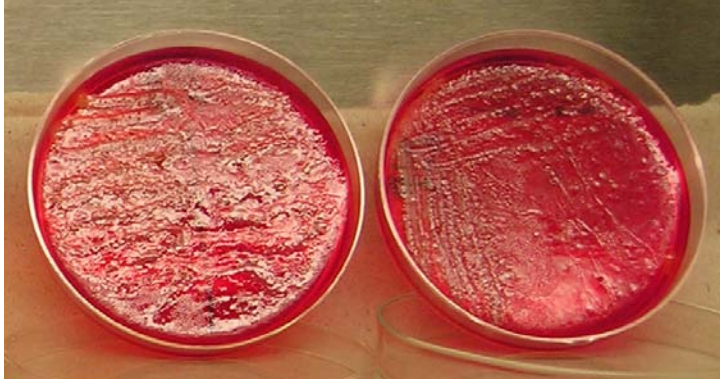


Fig. 5.9.- Medio con inóculo composta 7.



Fig. 5.10.- Medio con inóculo composta 8.

Las placas fueron inoculadas por duplicado tomando dos tubos de las últimas dos diluciones que presentaron crecimiento en el Caldo Selénito Cistina. La conclusión es que debido a la diversidad en el cambio de pH del medio, así como a la morfología colonial, se presenta una gamma de microorganismos diferentes entre cada mezcla de compostas.

Anexo 6.- Resultados de la observación de las pruebas bioquímicas en los medios TSI y LIA.

Tabla 6.1 Resultados de las bioquímicas para la identificación de *Salmonella spp.*, en las muestras de las compostas piloto, 13 diciembre del 2007.

Numero de Cepa	Medio Bioq.	Color en la Superficie	Color en el Fondo	Presencia de Gas	Presencia de H ₂ S	Inter-cambio de O ₂
Cepa 1 de la Comp. 1	LIA	LIA +, Púrpura	Amarillo grisáceo	Sin gas	Sin	A
		LIA +, Púrpura	Púrpura.	Sin gas	Sin	F
	TSI	Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas	Sin	A
		Negro	Negro, verdoso	Sin gas	Con, en todo	F
Cepa 2 de la Comp. 1	LIA	LIA +, Púrpura	Grisáceo transparente.	Sin gas	Sin	A
		LIA +, Púrpura	Púrpura.	Sin gas	Sin	F
	TSI	Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas, + fondo	Sin	A
		Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas, - superficie	Sin	F
Cepa 3 de la Comp. 2	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura transparente.	Púrpura ligeramente transp.	Sin gas	Sin	A
	TSI	Naranja fuerte: K/K	Naranja fuerte: K/K	Sin gas	Sin	A
		Rojo : K/K	Naranja + fuerte: K/K	Sin gas	Sin	F
Cepa 4 de la Comp. 2	LIA	LIA +, Púrpura	Púrpura grisáceo	Sin gas	Sin	A
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
	TSI	Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas	Sin	A
		Rojo: K/A	Amarillo: K/A	Con gas	Sin	F
Cepa 5 de la Comp. 3	LIA	LIA +, Púrpura transp.	Púrp. grisáceo transp.	Sin gas	Sin	A
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura	Sin gas	Sin	F
	TSI	Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas	Sin	A
		Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas	Sin	F
Cepa 6 de la Comp. 3	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	A
	TSI	Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas	Sin	A

		Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con, en poco	Sin	F
Cepa 7 de la Comp. 4	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura fuerte	Grisáceo transp.	Sin gas	Sin	A
	TSI	Amarillo: A/A	Naranja claro: A/A	Sin gas	Sin	F
		Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Sin gas	Sin	A
Cepa 8 de la Comp. 4	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrp. grisáceo transp.	Sin gas	Sin	A
	TSI	Rojo y Naranja: K/A	Amarillo: K/A	Con gas	Sin	F
		Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas	Sin	A
Cepa 9 de la Comp. 5	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrp. fuerte grisáceo.	Sin gas	Sin	A
	TSI	Rojo fuerte : K/A	Amarillo: K/A	Sin gas	Sin	F
		Amarillo fuerte: A/A	Amarillo fuerte: A/A	Sin gas	Sin	A
Cepa 10 de la Comp. 5	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	A
	TSI	Amarillo canario: A/A	Amarillo canario: A/A	Con gas	Sin	A
		Amarillo canario: A/A	Amarillo canario: A/A	Con gas	Sin	F
Cepa 11 de la Comp. 6	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura grisáceo	Púrpura grisáceo	Sin gas	Sin	A
	TSI	Amarillo fuerte canario: A/A	Amarillo fuerte canario: A/A	Sin gas	Sin	F
		Amarillo canario: A/A	Amarillo canario: A/A	Sin gas	Sin	A
Cepa 12 de la Comp. 7	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura grisáceo	Sin gas	Sin	A
	TSI	Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas	Sin	F
		Amarillo: A/A	Amarillo: A/A	Con gas	Sin	A

Cepa 13 de la Comp. 7	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura grisáceo	Sin gas	Sin	A
	TSI	Rojo fuerte: K/A	Amarillo fuerte: K/A	Sin gas	Sin	F
		Amarillo fuerte: A/A	Amarillo fuerte: A/A	Sin gas	Sin	A
Cepa 14 de la Comp. 8	LIA	LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura fuerte	Sin gas	Sin	F
		LIA +, Púrpura fuerte	Púrpura grisáceo	Sin gas	Sin	A
	TSI	Rojo fuerte: K/K	Naranja: K/ K	Sin gas	Sin	F
		Naranja : K/A	Amarillo fuerte: K/A	Sin gas	Sin	A

* A = Apretado, sin intercambio de O₂; y F = Flojo, con intercambio de O₂.

A continuación se muestran las variaciones obtenidas de la tabla 3.1.2, de las bioquímicas:

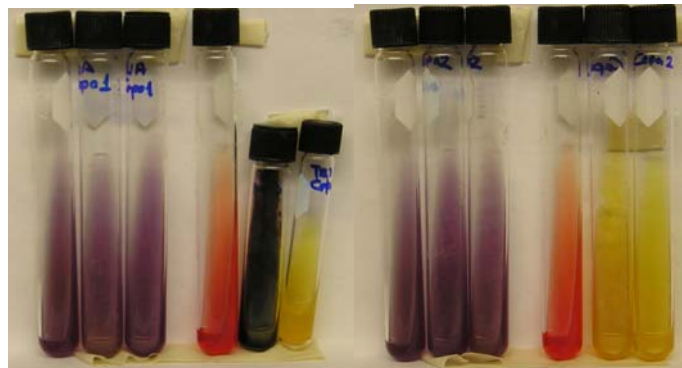


Fig. 6.1 Cepa 1 a la izquierda y cepa 2 a la derecha, obtenidas del AN de la composta 1.

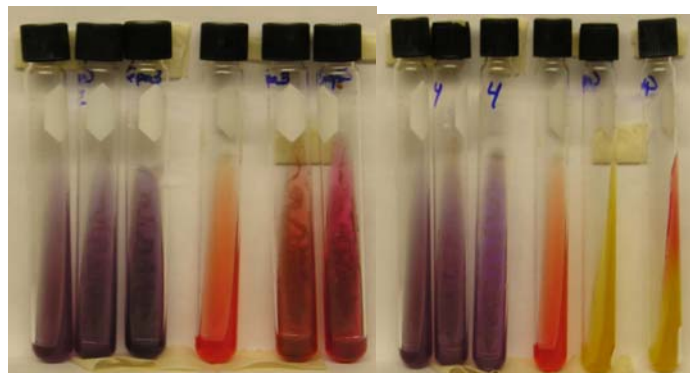


Fig. 6.2 Cepa 3 a la izquierda y cepa 4 a la derecha, obtenidas del AN de la composta 2.

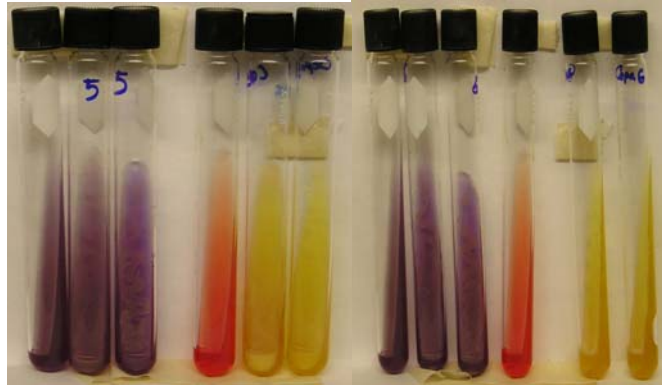


Fig. 6.3 Cepa 5 y 6 donde encontramos el TSI A/A, obtenidas del AN de la composta 3.

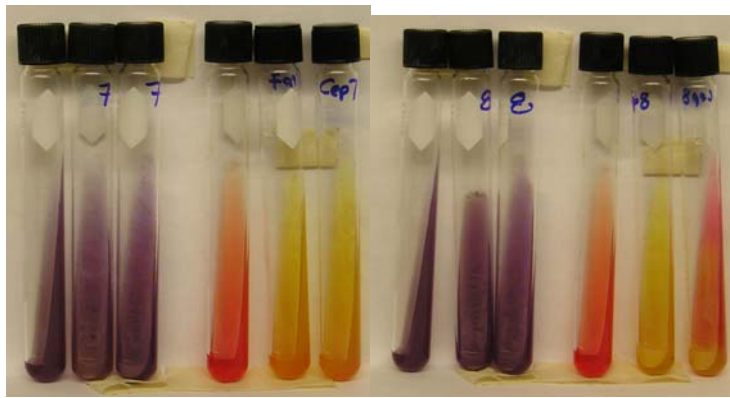


Fig. 6.4 Cepa 7 a la izquierda y cepa 8 a la derecha, obtenidas del AN 2 colonias diferentes, en la composta 4.

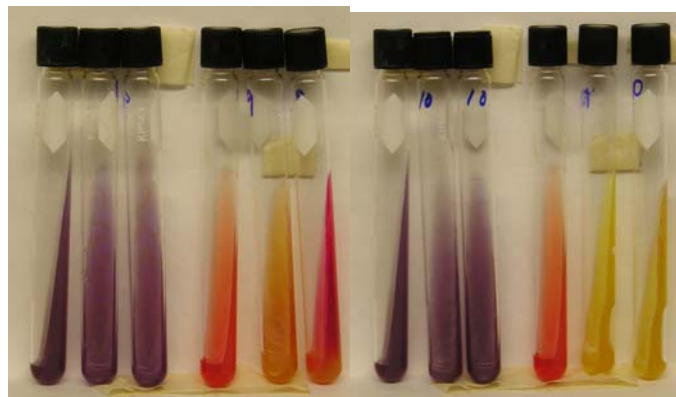


Fig. 6.5 Cepa 9 a la izquierda y cepa 10 a la derecha, obtenidas del AN de 2 colonias distintas en la composta 5.



Fig. 6.6.-Cepa 11 obtenida del AN de la composta 6.

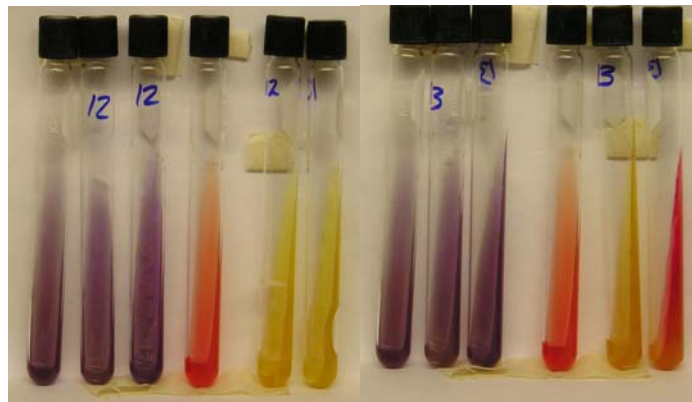


Fig. 6.7.- Cepa 12 a la izquierda y cepa 13 a la derecha, obtenidas del AN de 2 colonias distintas típicas, en la composta 7.

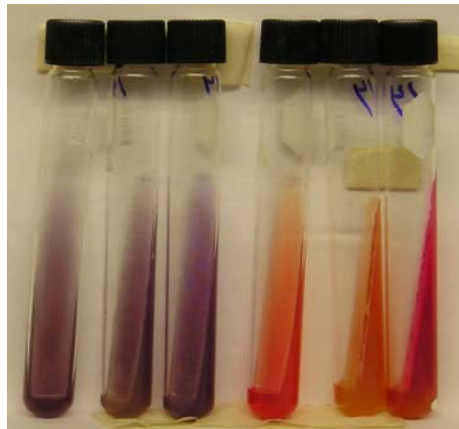


Fig. 6.8.- Cepa 14 obtenida del AN colonia típica de la composta 8.

Anexo 7.- Comparación de resultados con los límites permisibles de la NOM-004-SEMARNAT-2002.

Tabla 7.1.- Análisis de resultados de las muestras experimentales.

Muestras experimentales y Límites permisibles.	Coliformes fecales NMP/ gr. ST	Salmonella spp. NMP/ gr. ST	Huevos de Helmintos viables en 2 gr. ST	Clase de lodo o biosólido, NOM-004-SEMARNAT-2002.
Límites, clase "A"	Menor a 1000	Menor 3	Menor de 1	A: Usos urbanos, con contacto público.
Límites, clase "B"	Menor a 1000	Menor de 3	Menor de 10	B: Usos urbanos, sin contacto público.
Límites, clase "C"	Menor de 2000 000	Menor de 300	Menor de 35	C: Usos forestales, agrícolas y mejoradores de suelos
Luego del proceso de compostaje				
Composta 1	3.20×10^5	1.30×10^6	0	No aplica ninguna.
Composta 2	1.5×10^5	5.61×10^6	0	No aplica ninguna.
Composta 3	1.49×10^5	$>3.94 \times 10^8$	0	No aplica ninguna.
Composta 4	4.8×10^5	9.97×10^6	0	No aplica ninguna.
Composta 5	3.20×10^5	8.54×10^7	0	No aplica ninguna.
Composta 6	7.76×10^6	1.62×10^7	0	No aplica ninguna.
Composta 7	4.8×10^5	1.25×10^8	0	No aplica ninguna.
Composta 8	1.05×10^5	1.07×10^8	0	No aplica ninguna.
Luego del proceso de intemperización.				
Composta 1	4.93×10^4	$>3.94 \times 10^8$	—	No aplica ninguna.
Composta 2	2.81×10^4	$>3.94 \times 10^8$	—	No aplica ninguna.
Composta 3	2.55×10^4	$>3.94 \times 10^8$	—	No aplica ninguna.
Composta 4	2.55×10^4	$>3.94 \times 10^8$	—	No aplica ninguna.
Composta 5	1.16×10^4	$>3.94 \times 10^8$	—	No aplica ninguna.
Composta 6	8.10×10^4	3.94×10^8	—	No aplica ninguna.
Composta 7	8.10×10^4	$>3.94 \times 10^8$	—	No aplica ninguna.
Composta 8	4.73×10^4	$>3.94 \times 10^8$	—	No aplica ninguna.

*Los datos de los resultados pueden variar, pues dependen de parámetros que favorecen a las bacterias, como: la temperatura y composición del lodo. Mayor información: aimo_0808@yahoo.com.mx.

Tabla 7.2.- Análisis de resultados de las muestras piloto.

Muestras piloto y Límites permisibles.	Coliformes fecales NMP/ gr. ST	Salmonella spp. NMP/ gr. ST	Huevos de Helmintos viables en 2 gr. ST	Clase de lodo o biosólido, NOM-004-SEMARNAT-2002.
Limites, clase "A"	Menor a 1000	Menor 3	Menor de 1	A: Usos urbanos, con contacto publico.
Limites, clase "B"	Menor a 1000	Menor de 3	Menor de 10	B: Usos urbanos, sin contacto publico.
Limites, clase "C"	Menor de 2000 000	Menor de 300	Menor de 35	C: Usos forestales, agrícolas y mejoradores de suelos
Luego del proceso de compostaje				
Composta 1	4.43 x10 ⁵	7.78 x10 ⁶	0	No aplica ninguna.
Composta 2	4.08 x10 ⁵	1.46 x10 ⁵	0	No aplica ninguna.
Composta 3	1.27 x10 ⁵	4.39 x10 ⁴	0	No aplica ninguna.
Composta 4	1.92 x10 ⁴	3.28 x10 ⁵	0	No aplica ninguna.
Composta 5	1.07 x10 ⁸	3.04 x10 ⁶	0	No aplica ninguna.
Composta 6	2.13 x10 ⁸	>3.94 x10 ⁸	0	No aplica ninguna.
Composta 7	3.04 x10 ⁵	2.78 x10 ⁷	0	No aplica ninguna.
Composta 8	3.57 x10 ⁶	7.62 x10 ⁷	0	No aplica ninguna.
Luego del proceso de intemperización.				
Composta 1	1.61 x10 ⁵	1.22 x10 ⁶	0	No aplica ninguna.
Composta 2	4.07 x10 ⁴	4.48 x10 ⁶	0	No aplica ninguna.
Composta 3	1.05 x10 ⁵	4.05 x10 ³	0	No aplica ninguna.
Composta 4	1.05 x10 ⁵	8.10 x10 ⁴	0	No aplica ninguna.
Composta 5	1.05 x10 ⁵	8.71 x10 ¹	0	Aplica solo clase C
Composta 6	1.92 x10 ⁴	8.71 x10 ¹	0	Aplica solo clase C
Composta 7	3.71 x10 ⁴	1.92 x10 ⁴	0	No aplica ninguna.
Composta 8	1.92 x10 ⁴	8.10 x10 ⁴	0	No aplica ninguna.
Lodo	1.05 x10 ⁵	1.13 x10 ⁸	0	No aplica ninguna.

*Los datos de los resultados pueden variar, pues dependen de parámetros que favorecen a las bacterias, como: la temperatura y composición del lodo. Mayor información: aimo_0808@yahoo.com.mx.

CAPITULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- Castrejón, J. A. Barrios, B. Jiménez, C. Maya, A. Rodríguez, A. González **Evaluación de la calidad de lodos residuales de México.** CEPIS. (en línea). Abril 2002, en Guanajuato, Guanajuato. Disponible en: <http://www.femisca.org/publicaciones/XIII-CongresoNal.html>
- Alejandro Viñuales **Los macroinvertebrados acuáticos y la pesca con mosca** (en línea). Disponible en: <http://www.conmosca.com/modules.php?name=News&file=article&sid=163>.
- Comisión de agua Potable del Estado de Quintana Roo (CAPA) 2005. **“Estudio para la evaluación de la calidad analítica de los lodos producidos en las plantas de tratamiento de aguas residuales de la comisión de agua potable y alcantarillado”.** Planta del Centenario. Octubre/ 2005.
- Uribe H., Orozco G, Chavez N., Sanchez S., Valdez E. 2001. **Uso de Biosólidos para incrementar la Productividad en Alfalfa.** Campo experimental Delicias- INIFAP. México, Chihuahua.
- **EPA.** Folleto informativo. **Tecnología de biosólidos, aplicación de biosólidos al terreno.** EPA 832-F00-064, Washington D. C. Septiembre/2000.
- Romero Cabello <R. (2007). **Microbiología y Parasitología Humana, bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias.** Editorial Médica Panamericana. México. 3ª ed. Pág. 1725. (pag. 743, 753, 787, 1471, 1477, 1565).
- **EPA.** Guía 503. Capítulo5. **Pathogen and Vector Attraction Reduction Requirements.** 1992 (EPA /625/R-92/013).
- Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. **“Protección Ambiental. Lodos y Biosólidos. Especificaciones de interés y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final”.** (Método de estudio).

- Barrios JA. 2004. **Tratamiento y aplicación de lodos residuales en México**. Grupo tratamiento y rehúso del Instituto de Ingeniería de la UNAM. 6^{to} Congreso de Químicos Farmacéuticos Biólogos. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Gómez JM, Estrada De Luis IB. 2005. **Índices de calidad de suelo y composta desde la perspectiva agro-ecológica**. Biomasa Peninsular. II Congreso sobre Residuos Biodegradables y Compost; el reto de fomentar el consumo de los productos finales. Sevilla.
- XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Curso pre-congreso: **Principales contaminantes de los lodos**. Cancún México. 2004.
- Berbel J. 2004. **Biosólidos y compostaje**. Fundación EMASESA. BIOMASA del GUADALQUIVIR SA.
- Andreadakis AD, Mamais D, Gavalaki E, Kampylafka S. 2001. **Sludge utilization in agriculture**. 7^o Congreso Internacional en Ciencias Ambientales y Tecnología. Ermoupolis, Syros island, Grecia.
- Guzmán C y Campos C. 2004. **“Indicadores de la contaminación fecal en biosólidos aplicados en la agricultura”**. Universitas scientiarum. Revista de la facultad de ciencias Pontificia Universidad de Javeriana. Bogotá Colombia. Vol. 9(1), 59-67.
- Chiarpenello J. 2004. **Infecciones por helmintos**. Medicina Familiar. Centro de Salud. Evidencia en Atención Primaria - Vol. 7 (6).
- Flisser A, Vázquez-Mendoza A, Martínez-Ocaña J, Gómez-Colín E, Sánchez R, Medina-Santillán R. 2005. **Short Report: Evaluation of a self detection tool for tapeworm carriers for use in public health**. Am. J. Trop. Med. Hyg. 72(5):510 – 512).