

78  
2ej.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**

**SALMONELLA: ANALISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO EN  
LADOS PRIMARIOS PROVENIENTES DE UNA PLANTA DE  
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**B I O L O G O**  
**PRESENTA: ALDO GUZMAN AVALOS**

**MEXICO, D.F. 1994**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México





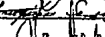

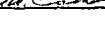

## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO**

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
M. en I.	Gabriela Eleonora	Noeller Chávez	
Director de Tesis			
M. en C.	Mario	Segura Almaraz	
Dra.	Concepción	Sánchez Gómez	
Biol.	María Guadalupe	Barajas Guzmán	
Suplente			
M. en C.	María Eather	Sánchez Coronado	
Suplente			

**LUGAR DONDE SE REALIZO LA TESIS**

LABORATORIO DE INGENIERIA AMBIENTAL,  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO,  
FACULTAD DE INGENIERIA, UNAM.

**DIRECTOR DE TESIS:** M. en I. GABRIELA MOELLER CHAVEZ  
PROFA. TITULAR DE MICROBIOLOGIA  
AMBIENTAL.

**SUSTENTANTE:** ALDO GUZMAN AVALOS.

**A la memoria de mi Madre  
como recuerdo indeleble de  
mi amor.**

**A mi Padre, quien con su  
ejemplo me brindó el aliento  
para seguir siempre adelante.**

**A Diana por su tenaz e  
incondicional ayuda en el campo  
de la investigación.**

**A mis familiares y amigos:  
Gracias.**

**Mi más sincero agradecimiento a todos mis maestros por darme la oportunidad de realizar mis metas profesionales.**

**Mi reconocimiento meritorio a quien fungirá como sínode en mi examen profesional, por su valioso tiempo dedicado a formar valores profesionales.**

**Mi agradecimiento a la Maestra Gabriela Moeller Chávez, por la oportunidad de trabajar a su lado durante el desarrollo de la presente tesis de investigación.**

**RESUMEN****INTRODUCCION****I OBJETIVOS****II GENERALIDADES**

<b>A. Aguas residuales y plantas de tratamiento</b> .....	<b>1</b>
<b>B. ¿Cómo se generan los lodos?</b> .....	<b>7</b>
<b>C. Métodos de estabilización de lodos</b> .....	<b>11</b>
<b>a. Estabilización biológica.</b> .....	<b>13</b>
<b>b. Microbiología y bioquímica de la digestión anaerobia</b> .....	<b>24</b>
<b>D. Principales microorganismos presentes en lodos primarios y aguas residuales.</b> .....	<b>32</b>
<b>E. <i>Salmonella</i> en lodos.</b> .....	<b>35</b>
<b>F. Normas de regulación para lodos residuales según la EPA.</b> .....	<b>38</b>
 <b>III DESARROLLO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL</b> .....	 <b>45</b>
 <b>IV RESULTADOS</b> .....	 <b>57</b>
 <b>V DISCUSION DE RESULTADOS</b> .....	 <b>65</b>
 <b>VI CONCLUSIONES</b> .....	 <b>75</b>
 <b>VII RECOMENDACIONES</b> .....	 <b>77</b>
 <b>VIII BIBLIOGRAFIA</b> .....	 <b>78</b>
 <b>IX ANEXOS</b>	

**RESUMEN**

Con el fin de evaluar el riesgo que representan los lodos crudos (sin tratamiento) provenientes de las plantas de tratamiento de aguas residuales de tipo doméstico, en el renglón de salud pública, fueron estudiados lodos primarios de la planta de Chapultepec. Al mismo tiempo se analizaron los efluentes de cuatro digestores anaerobios convencionales, construidos y diseñados en el laboratorio, enfocando el estudio al aislamiento del género bacteriano *Salmonella*. Las muestras de lodo fueron recolectadas en la planta antes mencionada y se procesaron en el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ingeniería (DEPFI), UNAM.

El estudio de las muestras comprendió: enriquecimiento de la población estudiada con caldo selenito; selección de colonias sospechosas en medios de cultivo selectivos; identificación bioquímica de las colonias seleccionadas; confirmación serológica de las cepas aisladas que bioquímicamente pertenecen a *Salmonella*.

Como complemento al trabajo descrito se realizó una determinación cuantitativa de *Salmonella* en el lodo primario (influyente) así como también en el efluente de los cuatro digestores anaerobios con tiempos de retención de 7, 14, 21 y 28 días respectivamente; con el objeto de verificar su persistencia en estos digestores anaerobios convencionales que en apariencia son adversos a este tipo de patógenos.

## **INTRODUCCION**

En un mundo industrializado donde los procesos químicos forman parte fundamental en la economía del mundo; con una población creciente que requiere de servicios diversos como el abastecimiento de alimentos, luz, agua, transporte y energía, las ciudades se convierten cada vez más en generadores de desechos de todo tipo y de productos contaminados. El agua residual, junto con los lodos de las industrias y de las plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas requieren de tratamientos químicos y/o biológicos para poder ser empleados nuevamente; o cuando menos para devolverlos al medio ambiente sin generar riesgos de enfermedades o envenenamientos, a través quizá de su posterior filtración al subsuelo, con la consabida contaminación de mantos freáticos, o de su estancamiento al aire libre, convirtiéndose en foco de proliferación de bacterias y organismos patógenos.

Los lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales domésticas contienen un sinnúmero de microorganismos patógenos, dentro de los cuales las bacterias del género *Salmonella* sp. son importantes desde un punto de vista de salud pública, ya que las especies de *Salmonella* están formadas por microorganismos patógenos para el hombre y los animales.



**I. OBJETIVOS**

- I. **Determinar cuali y cuantitativamente la presencia de *Salmonella* sp. en lodos primarios provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales.**
  
- II. **Caracterizar biológicamente a una población representativa de muestras de lodos primarios en cuanto a la presencia de diferentes especies del género *Salmonella*.**
  
- III. **Conocer la constante de decaimiento del género *Salmonella* en lodos provenientes de cuatro digestores anaerobios, construídos a escala piloto.**
  
- IV. **Enfatizar el riesgo que representan los lodos crudos como contaminantes al medio ambiente desde un punto de vista higiénico-sanitario.**

## GENERALIDADES

Actualmente, uno de los muchos problemas a los que se enfrenta la sociedad moderna es la desmedida contaminación que sufren los cuerpos receptores de agua (ríos, lagunas, mares, etc.). Estos se incrementan con el acelerado crecimiento de la población siendo tal su impacto que se piensa que para el año dos mil, cada persona que habite en la ciudad necesitará aproximadamente 500 litros de agua potable por día (23).

Nuestro país anualmente genera un volumen aproximado promedio de 100 m<sup>3</sup> por segundo de aguas residuales, estos a su vez generan 12'614,000 toneladas de lodos residuales, es decir, 406 g por habitante por día, mientras que en países de la Comunidad Europea es de solo 60 g por habitante por día (23).

Los lodos residuales (L.R.) producidos por las plantas de tratamiento en su estado inicial, son putrescibles, con un olor fuerte y desagradable. Estos lodos residuales requieren un tratamiento especial con el fin de reducir la gran cantidad de contaminantes y organismos patógenos que presentan, antes de ser canalizados a una disposición final.

La estabilización de los lodos tiene como objetivo reducir su carga orgánica, esto se logra a través de diferentes procesos de tratamiento y disposición final. Para el caso de la digestión anaerobia, además de la eliminación del olor desagradable, hay una destrucción parcial de los sólidos, una mejoría en las características del flujo, un aumento en la concentración del nitrógeno soluble, así como una eliminación parcial de organismos patógenos (22).

Los lodos residuales contienen organismos patógenos, dentro de los cuales encontramos a las bacterias del género *Salmonella*. Estos organismos y otros patógenos

pueden causar infección o enfermedad si los humanos o animales son expuestos a niveles suficientes de estos patógenos.

Una ruta directa de exposición estos patógenos es por contacto con lodos residuales, generalmente cuando son utilizados para fines agrícolas y sitios recreativos, entre otros; sin haber recibido algún tipo de tratamiento biológico y/o químico. Indirectamente, por consumir agua o alimentos contaminados\*. Los insectos, aves, roedores y los trabajadores agrícolas pueden contribuir a rutas de exposición para el transporte de estos patógenos. Por tanto el descargar lodos crudos al desagüe o al ser arrojados a cualquier medio ambiente sin ningún tratamiento biológico y/o químico, puede ocasionar problemas de salud pública (18).

La Agencia de Protección al Medio Ambiente en Estados Unidos (EPA) lleva a cabo investigaciones para el aislamiento y cuantificación de *Salmonella*, en aguas potables, aguas de reuso, efluentes de plantas de tratamiento y lodos residuales. Los resultados establecen presencia o ausencia de *Salmonella*. Las personas afectadas generalmente son niños con disminución de las defensas (18).

Cuando hay presencia de infecciones bacterianas, gran cantidad de microorganismos son eliminados en la materia fecal, creando focos de infección en la población. La diarrea es el principal síntoma de infección intestinal, aunque *Salmonella typhi* puede también invadir otros tejidos causando una infección generalizada (26).

En la mayoría de las infecciones por bacterias entéricas existe el estado de portador sano, por lo que en comunidades donde estas infecciones son comunes, una proporción de individuos sanos serán foco de excreción de bacterias patógenas (26)

\*) La gravedad de la infección está relacionada a la cantidad de gérmenes ingeridos.

**A. AGUAS RESIDUALES Y PLANTAS DE TRATAMIENTO**

Las aguas residuales provienen de desechos domésticos o industriales que se colectan a través de sistemas de alcantarillado, representan una mezcla extremadamente compleja de materia orgánica, minerales y organismos patógenos, su color es muy variado (50).

El proceso al que se someten las aguas residuales tiene como objetivo remover sustancias o materiales que restringen, limitan o afectan los usos benéficos de la misma, y que pueden provocar efectos adversos al medio ambiente (30).

Los procesos de tratamiento de aguas residuales se clasifican en dos formas:

1. Con respecto al nivel, grado o eficiencia en la remoción de contaminantes:
  - a. Pretratamiento.
  - b. Tratamiento primario.
  - c. Tratamiento secundario.
  - d. Tratamiento terciario.
  
2. Con respecto a las características del proceso empleado:
  - a. Físico.
  - b. Biológico.
  - c. Fisicoquímico.

**PRETRATAMIENTO.**

Tiene como objetivo la remoción de aquellos desechos formados por materiales voluminosos. Para este tratamiento pueden usarse uno o varios de los siguientes dispositivos:

1. Rejas de barras o rejas finas.
2. Desarenadores.
3. Desmenuzadores.
4. Tanques de pre-aereación.
5. Trampas de grasa.

**TRATAMIENTO PRIMARIO.**

En este tratamiento se separa o elimina la mayor parte de la materia sedimentable, aproximadamente del 40 - 60% se separa por medios físicos y mecánicos. El proceso de sedimentación puede acelerarse con la ayuda de productos químicos como algunas sales de hierro y floculantes sintéticos. Los dispositivos usados en este tratamiento tienen como propósito disminuir suficientemente la velocidad de las aguas para que puedan sedimentar los sólidos. Estos dispositivos son llamados tanques de sedimentación que, por su diversidad de diseños, pueden dividirse en cuatro grupos (30):

1. Tanques sépticos.
2. Tanques de doble acción.
3. Tanques de sedimentación simple ascendente con eliminación mecánica de lodos.
4. Clarificadores de flujo ascendente con eliminación de lodos.

**TRATAMIENTO SECUNDARIO.**

Los procesos de tratamiento secundario (conocidos como procesos biológicos) forman parte de una serie de tecnologías y bases científicas que se han empleado para la remoción o estabilización de materia orgánica, principalmente en aguas residuales y subterráneas, lixiviados de rellenos sanitarios y suelos contaminados (20).

Se caracterizan por la intervención de microorganismos de tipo procarionte y eucarionte, mismos que en su proceso metabólico convierten la materia orgánica biodegradable a sólidos biológicos de fácil sedimentación (material celular), productos inorgánicos o material inerte.

Los procesos biológicos se consideran como ecosistemas extremadamente complejos, con muchas interacciones microbianas que llegan a determinar la concentración de ciertos residuos tóxicos biodegradables en los efluentes (49).

El objetivo principal de los procesos biológicos consiste en controlar ciertos factores requeridos para un desarrollo óptimo de los microorganismos y lograr a su vez la estabilización de materia orgánica, es decir reducción en su contenido orgánico por la incorporación de sólidos coloidales no sedimentables dentro de la biomasa (29). Entre los factores que se toman en cuenta en estos procesos se encuentran: la temperatura, pH, salinidad, niveles de concentración de oxígeno, estructura molecular y concentración de los compuestos orgánicos, presencia de nutrientes o sustratos secundarios y sustancias tóxicas o inhibitoras principalmente (40).

## A. AGUAS RESIDUALES Y PLANTAS DE TRATAMIENTO

Los procesos biológicos pueden dividirse en función del tipo de metabolismo empleado por los microorganismos que en él intervienen, considerando además el nivel de oxígeno disuelto presente en el líquido bajo tratamiento (29). Los tipos de procesos que normalmente se mencionan son:

1. Procesos biológicos anaerobios. En éstos se desarrollan microorganismos que no requieren oxígeno molecular libre en solución, ya que los requerimientos para su subsistencia los cubren con compuestos inorgánicos aceptores de electrones como son los nitritos y nitratos. Como ejemplo tenemos la digestión en filtros y lagunas anaerobias.
2. Procesos biológicos aerobios. Los microorganismos requieren para su desarrollo suficiente oxígeno molecular libre en solución (cuando menos 2 mg/l), con el fin de oxidar la materia orgánica soluble. Procesos biológicos con estas características son los lodos activados convencionales, filtros rociadores, aereación extendida, lagunas de aereación y digestión aerobia, entre otros.
3. Procesos biológicos mixtos o facultativos. Consisten en una combinación de los dos procesos anteriores, intervienen microorganismos aerobios, microaerofílicos, anaerobios y de tipo facultativo. Un ejemplo de esto son las lagunas facultativas.

Los procesos biológicos mencionados anteriormente, pueden dividirse según las formas de crecimiento microbiano (29):

1. De crecimiento adherido. Este tipo de crecimiento se realiza mediante la adhesión de los microorganismos a algún medio inerte que sirve de soporte; como son rocas, materiales plásticos o cerámicas, según sea el tipo de tratamiento biológico empleado.

## **A. AGUAS RESIDUALES Y PLANTAS DE TRATAMIENTO**

En la lama formada o película biológica activa fija, es donde se realiza la conversión de materia orgánica disuelta, y otros constituyentes presentes en las aguas residuales de desecho, produciendo dióxido de carbono, agua y otros metabolitos disueltos. A partir de esta conversión es posible que los microorganismos presentes obtengan la energía suficiente para mantener su metabolismo basal y, mediante su reproducción, incorporar nuevos individuos al medio de soporte; ejemplos: filtros rociadores y biodiscos.

2. Crecimiento en suspensión. En este caso, los microorganismos crecen suspendidos en el líquido bajo tratamiento, formando aglomerados o flóculos de diversos tamaños y consistencias; bajo esta estructura, logran una mayor superficie de contacto con los nutrientes en los que se encuentran inmersos, eliminando a la vez aquellos compuestos que no son útiles; las lagunas de estabilización, lagunas de aereación y lodos activados son los principales ejemplos.

### **TRATAMIENTO TERCARIO.**

Los procesos terciarios se basan en principios físicos y químicos, éstos son aplicados cuando se desea obtener agua de mejor calidad que la lograda en los tratamientos anteriores o inclusive sin que el agua de interés haya sido sometida a un tratamiento preliminar. Lo anterior va a depender del grado de contaminación inicial del agua por tratar. A partir de los procesos terciarios es posible la remoción de material orgánico no biodegradable o de difícil degradación y de compuestos con amonio. También pueden eliminarse microorganismos suspendidos y diversos iones (29).



Entre los tratamientos terciarios se encuentran:

1. Floculación.
2. Adsorción con carbón activado.
3. Intercambio iónico.
4. Electrodiálisis.
5. Coagulación.
6. Desinfección.
7. Destilación.
8. Flotación.

**B. ¿COMO SE GENERAN LOS LODOS?**

En las plantas de tratamiento de agua potable o de aguas residuales, los procesos de remoción de sólidos (floculación, sedimentación, biológicos, etc.) originan lodos, los cuales constituyen un desecho bastante importante, debido a sus grandes volúmenes, características biológicas, fisico-químicas y problemas de disposición final. La figura 1 presenta un diagrama de generación y disposición de lodos residuales (44).

**CLASIFICACION Y COMPOSICION**

Los lodos residuales de acuerdo a su origen, pueden clasificarse en:

- Lodos primarios, cuando provienen de los procesos de separación sólido-líquido (sedimentación, flotación, etc.)
- Lodos secundarios, cuando son a partir de procesos biológicos.
- Lodos químicos, cuando se derivan a partir de procesos físicos y químicos.

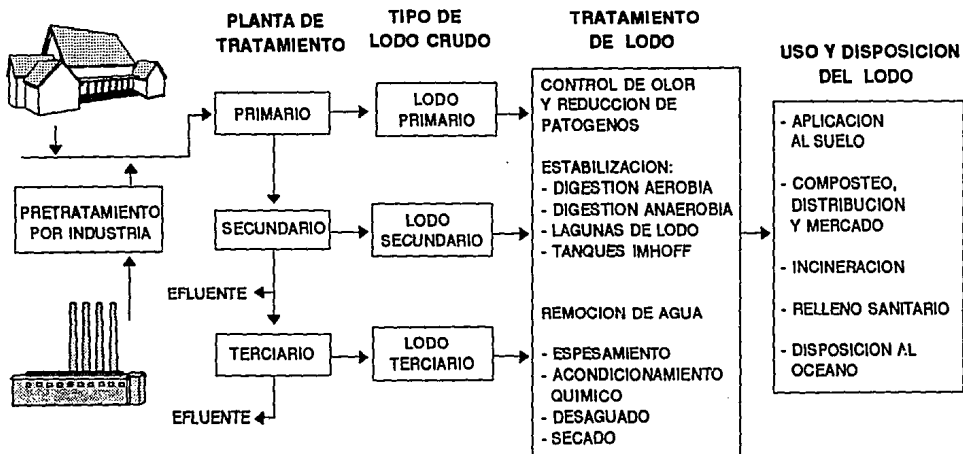
Según sean sus características fisico-químicas, los lodos residuales pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- Orgánico hidrófilo
- Aceitosos
- Mineral hidrófobo.
- Fibroso.

La composición de los lodos residuales varía según sea su origen, dependiendo del tipo de efluente industrial o urbano tratado.

**Fig. 1 Diagrama de generación, procesos de tratamiento y disposición de lodos residuales**

**GENERACION DE AGUAS RESIDUALES**



**ORIGEN Y CANTIDADES DE LODOS GENERADOS**

El lodo generado en una planta de tratamiento varía de acuerdo al tipo de agua residual a tratar (doméstica o industrial) y a los métodos que se emplean para su estabilización. De acuerdo al diseño y funcionamiento de la planta de tratamiento existen diferentes fuentes que generan los lodos residuales. Dependiendo de las características naturales, estructura y composición del lodo problema se emplea un determinado proceso de tratamiento (44).

**CARACTERISTICAS DE LOS LODOS**

Los parámetros que se emplean para definir las características físicas y químicas de los lodos son los siguientes:

**Físicos**

- Sólidos Totales (ST).
- Sólidos Suspendidos Totales (SST)
- Sólidos Totales Volátiles (STV)
- Sólidos Totales Volátiles (STV)
- Temperatura.

**Químicos**

- Materia orgánica
- Nutrientes
- Elementos traza
- Cationes y aniones

El tipo de agua contenida en los lodos está formada por agua libre (fácilmente eliminable) y agua de enlace. La cantidad de agua en los lodos es determinante en su capacidad de deshidratación. Los procesos empleados para la deshidratación dependen de la concentración del lodo, grado de agregación, características estructurales de las partículas, viscosidad, fuerza iónica y pH del agua.

**TRATAMIENTO DE LOS LODOS**

Debido a sus características y composición, los L.R. no pueden ser depositados directamente al medio ambiente, ya que ocasionaría problemas de contaminación del lugar debido a las altas concentraciones de los contaminantes químicos y de la materia orgánica separada por los procesos biológicos, que no se encuentra totalmente degradada en compuestos estables, produciendo su descomposición olores desagradables (33). Además, la consistencia de los lodos hace que sean problemáticos para su manejo, transporte y disposición final. Por tales motivos es necesario aplicar tratamientos a los L.R., que están enfocados a la reducción de su contenido de agua, estabilización de su materia orgánica, reducción de patógenos y toxicidad para poder transportarlos y depositarlos en lugares autorizados y en condiciones adecuadas (24). En general, los procesos empleados en el tratamiento de lodos son los siguientes:

- **Espesamiento (concentración)**
- **Elutriación.**
- **Digestión (estabilización) anaerobia.**
- **Digestión (estabilización) aerobia.**
- **Incineración y oxidación húmeda.**
- **Deshidratación.**
- **Secado.**
- **Acondicionamiento.**
- **Disposición final.**

La digestión, incineración y la oxidación húmeda son procesos utilizados principalmente para el tratamiento de la materia orgánica en los L.R. Los procesos de concentración, deshidratación y secado son usados principalmente para remover el agua de los lodos.

### **C. METODOS DE ESTABILIZACION DE LODOS**

El concepto "estabilización" de lodos se refiere a los procesos empleados para el tratamiento y la disposición final de estos (47).

La estabilización de lodos ha sido practicada por más de 100 años y representa un alto costo para las plantas de tratamiento de aguas residuales (47).

Los objetivos primarios para la estabilización de lodos son:

- Reducir la carga de microorganismos patógenos.
- Eliminar los olores desagradables.
- Inhibir, reducir o eliminar su putrefacción.

Los métodos desarrollados para la estabilización de lodos se dividen en dos tipos:

- Tratamientos Biológicos. Estos efectúan algún grado de estabilización permanente.
- Tratamientos Químicos. Estos pueden tener un efecto temporal o permanente.

La tabla 1, muestra todos los métodos de estabilización de lodos. Algunos son ampliamente usados, otros están restringidos a ciudades o regiones el resto está limitado o continua en estado de investigación y desarrollo, ya que cada país tiene sus propias normas o legislaciones. (22)

TABLA 1.  
METODOS DE ESTABILIZACION DE LODOS

TIPO DE ESTABILIZACION	PROCESO	METODO	POSICION
BIOLOGICO	Digestión anaerobia.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin calor (laguna o tanque).</li> <li>• Con calor:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mesofílica.</li> <li>- Termofílica.</li> </ul> </li> </ul>	B A C D
	Digestión aerobia.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin calor.</li> <li>• Autotérmica.</li> </ul>	C B
	Proceso de digestión doble.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Digestión Autotérmica</li> <li>• Digestión Oxidativa, seguida de una digestión anaerobia.</li> </ul>	C D
	Composteo con o sin material de soporte.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Confinamiento de lodos.</li> <li>• Hileras.</li> <li>• Pilas estáticas aereadas.</li> <li>• Tambores rotatorios.</li> <li>• Recipientes almacenadores.</li> </ul>	B B C B B
	Adición de cal hasta alcanzar un pH > 12.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adición de cal hidratada al lodo.</li> <li>• Adición de cal "viva" al lodo semideshidratado.</li> </ul>	C B
QUIMICO	Adición de otros agentes químicos que sirven como Bactericidas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agentes clorados.</li> <li>• Peróxidos.</li> <li>• Agentes oxidantes fuertes como: <math>KMnO_4</math>, <math>NaNO_2</math>, <math>O_3</math>, etc.</li> </ul>	C C C/D

A = Bien establecido y ampliamente usado en todos los países.

B = Bien establecido, pero de uso más común en algunos países que en otros.

C = Establecidos, pero de uso limitado.

D = Experimental o en desarrollo.

Fuente : Hing Lue Cecil (22).

**a. ESTABILIZACION BIOLOGICA.**

**DIGESTION ANAEROBIA.**

La digestión anaerobia de los lodos es un proceso que tiene como finalidad la estabilización de la materia orgánica que contengan.

En términos generales, el tratamiento consiste en depositar los lodos en digestores cerrados que impidan el paso de aire para tener condiciones anaerobias, con la finalidad de descomponer la materia orgánica por medio de microorganismos anaerobios. La velocidad de descomposición depende de una inoculación adecuada, el pH, tipo de sólidos, temperatura y un mezclado adecuado de los sólidos crudos con el inóculo. Los lodos digeridos, posteriormente pueden ser secados e incinerados o usados como fertilizante (43).

**TIPOS DE DIGESTORES ANAEROBIOS.**

Los digestores anaerobios son generalmente de dos tipos: digestores de una etapa (procesos de velocidad estándar) y digestores de dos etapas (procesos de alta velocidad). Diferentes tipos de digestores anaerobios se muestran en la figura 2.

**Digestores de una etapa.**

Estos sistemas constan de un solo digestor, en donde se lleva a cabo la digestión del lodo crudo y la concentración de los lodos ya digeridos.



El proceso de digestión se mantiene a temperaturas entre 30 y 47°C por medio de calentadores externos, el gas metano puede ser utilizado como combustible para mantener la temperatura en el digestor. Los tiempos de retención en este tipo de digestores son relativamente altos entre 30 y 60 días (39).

### **Digestores de dos etapas.**

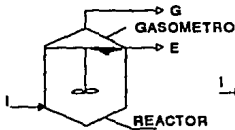
Este tipo de sistema tiene como finalidad el proveer un mayor volumen útil, para disminuir los tiempos de retención. Está formado por dos etapas, en la primera se lleva a cabo la digestión con mezclado mecánico o por recirculación de gas y a temperaturas controladas por calentamiento, con un tiempo de retención entre 10-15 días; en la segunda etapa solo se lleva a cabo la separación de los sólidos, el acabado del proceso de digestión y la remoción del gas.

Actualmente la digestión anaerobia de desechos orgánicos domésticos, industriales y agrícolas, es muy practicada, al menos para tratar volúmenes de desechos bajos e intermedios, buscando reducir el contenido de materia orgánica (39).

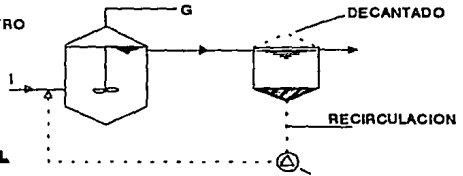
Las funciones cumplidas por la digestión anaerobia son tres, todas ellas de igual importancia:

1. El gas producido es combustible y puede sustituir a los combustibles tradicionales como fuente de energía.
2. El desecho orgánico tratado anaerobiamente posee las mismas propiedades alimentarias y fertilizantes que el desecho original, sólo que en mayor grado.
3. Los desechos orgánicos representan, en su disposición y uso, un problema de contaminación de aire, agua y suelo, la cual se reduce por la digestión.

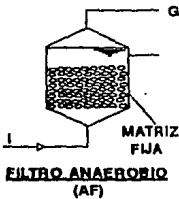
TIPOS DE REACTORES EN PROCESOS CONTINUOS DE TRATAMIENTO ANAEROBIO



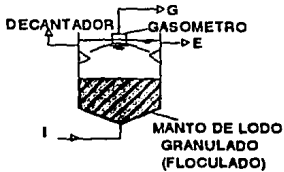
**DIGESTOR CONVENCIONAL**



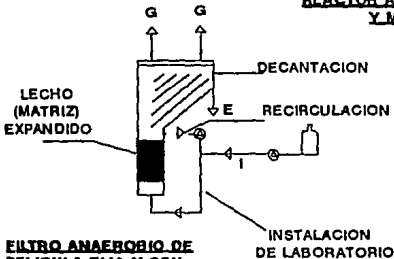
**PROCESO ANAEROBIO DE CONTACTO**



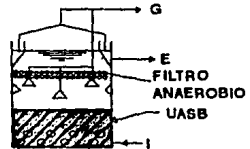
**FILTRO ANAEROBIO (AF)**



**REACTOR ANAEROBIO DE FLUJO ASCENDENTE Y MANTO DE LODOS (UASB)**



**FILTRO ANAEROBIO DE PELÍCULA FIJA Y CON LECHO EXPANDIDO**



**PROCESO COMBINADO (UASB y AF)**

I) INFLUENTE

E) EFLUENTE

G) GAS GENERADO

FUENTE (32)

La digestión anaerobia presenta diferencias según el intervalo de temperaturas en que se realice y el pasar de una temperatura a otra con la misma población bacteriana sin la debida aclimatación, no es correcto (35).

Ciertos desechos son digeridos mejor en el intervalo mesofílico que en el termofílico. En general se pueden establecer las siguientes diferencias entre los intervalos mesofílicos y termofílicos.

#### **DIGESTION ANAEROBIA MESOFILICA.**

El proceso es llevado a cabo en un tanque cerrado, a una temperatura de 30 a 37°C, existe una menor producción de gas, mayor tiempo de residencia, menor cantidad de calor necesario, población bacteriana más estable.

#### **DIGESTION ANAEROBIA TERMOFILICA.**

Los digestores anaerobios del tipo de operación termofílico, oscilan de 45 a 55°C, presentan crecimiento bacteriano mayor, la población bacteriana es sensible a choques térmicos, el efluente es de menor calidad, requiere gran cantidad de calor, existe mayor reducción de patógenos y virus, el fermento es hábil para producir vitamina B12 y muestra actividad antibiótica.

#### **DIGESTION SIN CALOR**

Se lleva a cabo en lagunas de estabilización. Costos de operación bajos, pero se requieren grandes superficies, además existe el inconveniente de alta emisión de olores desagradables (22).

Las tendencias actuales de la digestión anaerobia son:

1. Concentrar los lodos de tal manera que el contenido de los sólidos alcance una concentración del 8 al 9 % esto trae como consecuencia lo siguiente:
  - a. Reducción del volumen del lodo a digerir.
  - b. Reducción de los requerimientos de energía.
  - c. Evitar el posterior espesamiento de los lodos.
  - d. Reducción en los costos de transporte.
2. Diseño de digestores que permitan una mezcla completa de los componentes de lodo, es decir un incremento en la altura y el diámetro más de lo convencional.
3. El uso cada vez más extendido de digestores de acero, especialmente en plantas pequeñas.
4. La introducción de sistemas de cómputo que permitan la automatización y el mejor manejo de los tratamientos.
5. Aplicación de las variantes que optimizan el proceso.

### **DIGESTION AEROBIA.**

La digestión aerobia de los lodos (primarios y lodos activados) es un proceso en el cual la estabilización de la materia orgánica se lleva a cabo por aereación durante un extenso período de tiempo, dando como resultado una destrucción celular con una disminución de los sólidos suspendidos volátiles (SSV) (22).

El principal objetivo de este tratamiento es la reducción del volumen de los lodos para su disposición final. Esta reducción resulta de la conversión por oxidación de parte de las sustancias del lodo en productos volátiles ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2$ ).

Los tiempos de retención requeridos por los procesos aerobios son más cortos que los requeridos por los anaerobios. Esto repercute en una economía en los volúmenes de los digestores, sin embargo, los costos originados por la energía necesaria para la aireación pueden ser un factor importante en la elección del sistema de tratamiento en plantas con grandes flujos de lodos.

Los lodos estabilizados aeróbicamente no desprenden olores, son homogéneos, de color oscuro y pueden drenarse sin dificultad. Sin embargo, no es recomendable almacenarlos por mucho tiempo en forma líquida.

Generalmente, la estabilización aeróbica se aplica a los lodos residuales de procesos aerobios de aguas residuales.

### **DIGESTION AEROBIA AUTOTERMICA**

Este proceso utiliza el calor metabólico producido durante la oxidación biológica del lodo, incrementando la temperatura de éste por encima de la temperatura ambiental. Dependiendo de las condiciones, su temperatura puede alcanzar 35 a 70°C.

Los periodos de retención oscilan entre 3 y 8 días, dando una estabilización rápida y una reducción del olor de lodos. El volumen del digestor es mucho menor que los digestores aerobios sin calor y que los digestores anaerobios.

***DIGESTION AEROBIA AUTOTERMICA.***

***Con uso de Oxígeno.***

Este método requiere de uno o varios suministros de oxígeno comercial o de la planta, como consecuencia de la baja relatividad del gas requerido y de la pérdida del calor por evaporación. Opera a una temperatura de 70°C o más (47).

**DIGESTION AEROBIA AUTOTERMICA.**

***Con uso de Aire.***

Este método utiliza un dispositivo de aereación, el cual es muy eficiente y proporciona oxígeno durante el proceso. La temperatura de operación oscila en 60°C.

**DIGESTION AEROBIA OXIDATIVA.**

***Sin Calor.***

La digestión aerobia sin tratamiento fue desarrollada en los años 60 s. El proceso convencional de la digestión aerobia (sin calor) opera a temperatura ambiente, por un periodo de 10 a 15 días. El producto final es una buena estabilización del lodo. Este proceso se lleva a cabo en un tanque abierto, con una adecuada aereación y con un sistema de mezclado (remoción) (49).

Una disminución en la temperatura condicionaría la subida a olores desagradables del lodo. El costo del capital es relativamente bajo, mientras que el costo de operación es alto, ya que la energía necesaria para la aereación y la mezcla es cerca de 50 a 100 KWh/m<sup>3</sup> de lodo tratado comparada con el tratamiento anaerobio donde se requiere cerca de 5 KWh/m<sup>3</sup>.

### **PROCESO DE DOBLE DIGESTION.**

Comprende dos etapas de digestión: la primera es una digestión autotérmica, en la cual se requiere oxígeno altamente puro para oxidar parcialmente los sólidos y producir un intervalo de temperatura de 50 a 60°C. En la segunda etapa se realiza una digestión anaerobia a 35°C.

### **COMPOSTEO.**

El composteo es la oxidación biológica, aerobia y exotérmica sin control en pilas de lodo crudo. Eventualmente este proceso provee un lodo seco muy estable y con menor olor que el lodo original. Una desventaja son las altas temperaturas que se desarrollan dentro de la pila, durante los primeros días, logrando a una emisión altamente desagradable de olores nauseabundos. Existen varias técnicas para el composteo, las cuales se pueden dividir en las siguientes categorías.

#### **A. COMPOSTEO SIN CONFINAMIENTO.**

El lodo en forma compacta, generalmente con material de soporte (paja, madera, plástico), se coloca en grandes pilas a cielo abierto, es muy común el uso de techos o tejados para proteger las pilas de la lluvia.

- a) **Hileras.** Esta técnica se logra al mantener las pilas a una temperatura constante. Gran emisión de olores.
- b) **Pilas estáticas aereadas.** Se requiere una ventilación artificial uniforme y controlada. El aire contenido en las pilas, se extrae por debajo de éstas a través de un ventilador. El aire se deodoriza con sistemas de limpieza. La temperatura es controlada por el flujo de aire.

**B. COMPOSTEO CON CONFINAMIENTO.**

El lodo, con o sin material de soporte, es retenido por un periodo de tiempo determinado y almacenado en un recipiente (biorreactor), proporcionándole condiciones uniformes de aereación y protección del medio ambiente.

- a) **Recipientes almacenadores.** El lodo es introducido verticalmente (por medio de un sistema de flujo pistón) a través de un silo con un sistema de ventilación controlada y con sensores de temperatura para mantener las condiciones óptimas del proceso.
- b) **Tambor rotatorio.** El lodo es pasado a través de un cilindro que rueda lentamente, esto permite que la aereación y el mezclado sean simultáneos. Generalmente, la composta producida por los sistemas con confinamiento no es totalmente madura y requiere un periodo de maduración posterior.

**ESTABILIZACION QUIMICA.**

El tratamiento de lodos con sustancias químicas para el control de las emisiones del olor, puede tener algunas ventajas sobre los métodos de tratamiento biológico en términos de costo de capital de la planta, simplificación de operación y efectos inmediatos. Las desventajas podrían ser el alto costo de operación (costo de sustancias químicas), las necesidades de un control más específico y con algunos tratamientos adecuados. Sin embargo, el hecho es que el efecto de estabilización es únicamente temporal.



- a) Estabilización de lodo líquido con cal. Se adiciona cal al lodo hasta alcanzar un pH de 12 manteniendo el nivel por algunos días, o hasta ser incorporado al suelo. El propósito de elevar el pH es para reducir la emisión de sulfatos volátiles y ácidos grasos, sin embargo, se incrementan la emisión de aminas y amoníaco. La dosis empleada oscila de 150 a 200 g de  $\text{Ca(OH)}_2$  por cada Kg de lodo sólido seco.
- b) Estabilización de lodo sólido con cal. Se agrega cal viva al lodo. El calor generado eleva la temperatura de  $60^\circ\text{C}$  a  $70^\circ\text{C}$  dando efecto de pasteurización. Este proceso requiere una agitación para mantener la temperatura y el pH (12) constante. El costo de energía es elevado.
- c) Estabilización con otros agentes químicos. Entre los agentes oxidantes más empleados para la estabilización y control de emisiones de olor se encuentran: peróxido de hidrógeno, nitrato de sodio, clorato de sodio, permanganato de potasio y ozono. Los hidrocarburos clorados formados durante el tratamiento del lodo, pueden ser aplicables a tierras agrícolas, así como también las sales ferrosas que son usadas para la precipitación de sulfuros y reducción de emisiones de sulfuro de hidrógeno procedente del lodo. Otros inhibidores basados en compuestos formaldehído pueden ser útiles, resolviendo temporalmente el problema del olor. El costo de operación es elevado y a menudo estos tratamientos de estabilización son rechazados. (22)

## **MICROBIOLOGIA Y BIOQUIMICA DE LA DIGESTION ANAEROBIA**

En la naturaleza, por la acción microbiana, cualquier desecho, agua residual o tipo de materia orgánica sufre una transformación o degradación biológica espontánea, ya sea en condiciones aerobias o anaerobias. La población microbiana que se denominará biomasa utiliza lo arriba antes mencionado, como sustrato para producir la energía que requieren. El hecho de utilizar a los microorganismos como herramienta, haciendo uso de sus capacidades metabólicas ha creado una ciencia denominada biotecnología (34).

Cuando la degradación biológica se realiza en condiciones anaerobias, esta biotecnología se denomina biometanación. La figura 3 describe posibles aplicaciones de los procesos anaerobios formadores de metano. Metanogénesis es el proceso microbiológico anaerobio en el cual la materia orgánica es degradada progresivamente por medio de una comunidad bien organizada de varias poblaciones microbianas denominadas "biomasa activa", obteniéndose como productos finales metano y dióxido de carbono (34).

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) o Demanda Química de Oxígeno (DQO), del sustrato inicial (biomasa del sustrato) disminuye, así como también en el caso de aguas residuales o de la parte soluble de los lodos. El lodo remanente, después del proceso se dice que se estabiliza (ya no sufre degradación espontánea, facilitando su disposición o mejor uso). Se produce además un biogas cuyo contenido de metano es aproximadamente el 60% de la energía libre de la biomasa del sustrato degradado, por lo que se puede utilizar como fuente de energía (37).

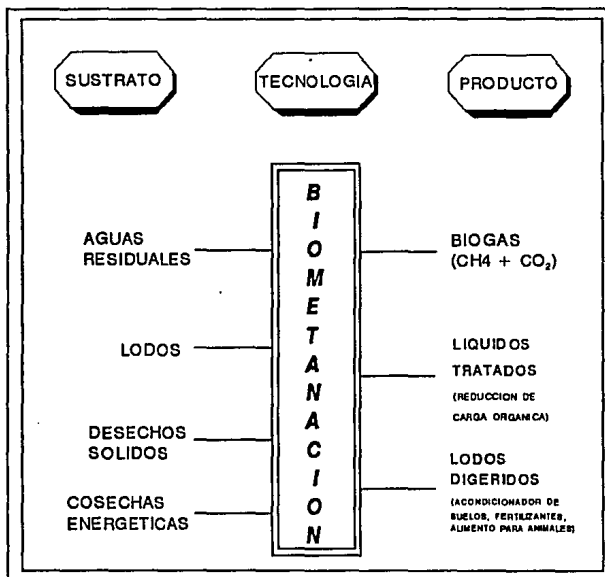


FIG. 3 APLICACIONES POSIBLES DE LAS TECNOLOGIAS PARA **BIOMETANACION** (34)

La metanogénesis es el proceso microbiológico global por medio del cual la materia orgánica se convierte a metano. A la fecha, el modelo biológico establece seis diferentes procesos de conversión, desde la conversión del material orgánico en forma particulada hasta el producto final que es el gas metano.

La hidrólisis del material particulado es seguida por la degradación e hidrólisis de productos intermedios por cinco grupos independientes de microorganismos.

Las figuras 4 y 5 presentan el proceso global de la digestión anaerobia y la tabla No. 2 presenta algunas bacterias metanogénicas encontradas en los lodos.

En un digestor anaerobio se identifican los siguientes procesos:

1. Hidrólisis de biopolímeros
  - 1a hidrólisis de proteínas
  - 1b hidrólisis de carbohidratos
  - 1c hidrólisis de lípidos
2. Fermentación de aminoácidos y azúcares
3. Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes
4. Oxidación anaerobia de productos intermedios tales como ácidos volátiles (con excepción del acetato)
5. Conversión del acetato en metano
6. Conversión del hidrógeno a metano

Si un digestor anaerobio maduro se define como un reactor de flujo continuo en estado estacionario la composición de su población microbiana depende del tipo de material de alimentación, de las condiciones de operación (pH, temperatura, tiempo de retención) y de la estequiometría de las reacciones que se realizan.

De acuerdo con la figura 4, intervienen cinco diferentes grupos microbianos que se establecen en el digestor anaerobio con una determinada densidad de población microbiana. Debido a las tasas de crecimiento tan bajas de algunos de los microorganismos, se requieren periodos relativamente grandes (esto depende del tipo de digestor anaerobio) para alcanzar la madurez del digestor.

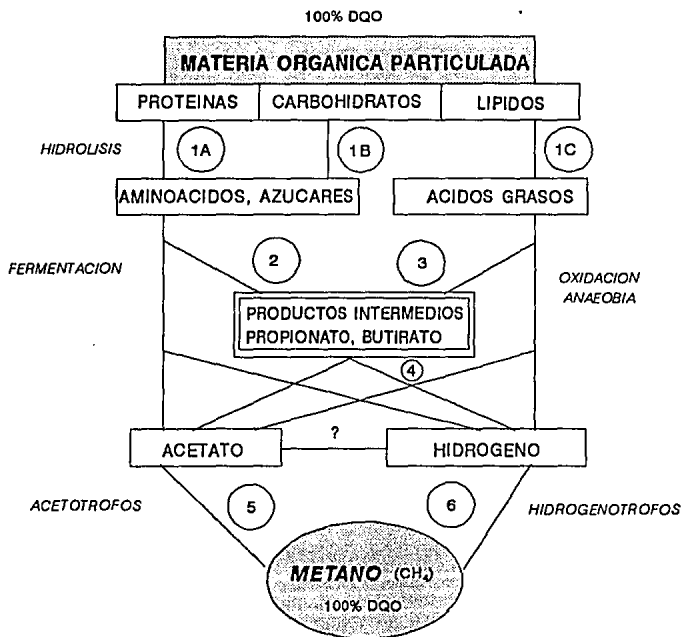


Figura 4. Esquema de reacciones propuestas para la digestión anaerobia de lodos de aguas residuales domésticas, números en círculos identifican los diferentes procesos (34)

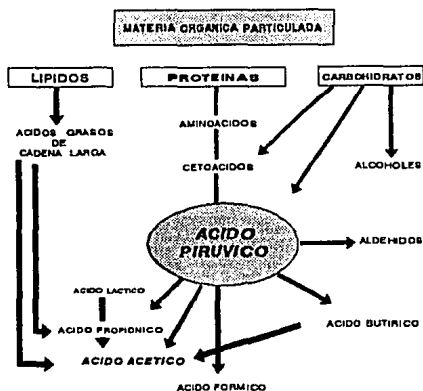


FIG. 5  
REACCIONES PRODUCIDAS  
POR LAS BACTERIAS ACIDOGÉNICAS (34)

TABLA 2.  
BACTERIAS METANOGENICAS ENCONTRADAS EN LODOS DE AGUAS  
RESIDUALES (34).

ORGANISMO	No. de Organismos/ml
<i>Methanobacterium formicicum</i>	> 10 <sup>7</sup>
<i>Methanobacterium ruminantium</i>	> 10 <sup>7</sup>
<i>Methanosarcina barkeri</i>	> 10 <sup>6</sup>
<i>Methanospirillum</i> sp.	> 10 <sup>6</sup>
<i>Methanococcus</i> sp.	> 10 <sup>6</sup>
<i>Methanobacterium</i> sp.	> 10 <sup>7</sup>

Las especies microbianas de la comunidad fermentativa son capaces de atacar moléculas poliméricas aún en forma de material sólido ya que poseen exoenzimas hidrolíticas que hidrolizan el material polimérico a material de bajo peso molecular inclusive monómeros: protefnas a aminoácidos (1A), polisacáridos a oligo o monosacáridos (1B) y lípidos a ácidos grasos (1C); estas pequeñas moléculas ya solubles son utilizadas por la misma comunidad para sus actividades metabólicas.

Las especies bacterianas que utilizan sustratos de tipo protefco, son diferentes a aquellas que utilizan sustratos de tipo polisacáridos en competencia con estas bacterias fermentativas (Figuras 4 y 5). Existen otras bacterias fermentativas que son incapaces de hidrolizar material polimérico pero que utilizan pequeñas moléculas solubles para sus actividades metabólicas (2), como resultado de las actividades metabólicas hasta aquí descritas aparecen en el medio (licor mezclado) un número de productos finales reducidos: ácidos grasos volátiles de 2 a 5 o más átomos de carbono, etanol (y otros alcoholes y cetonas) y/o ácidos orgánicos, tales como el ácido láctico. Debido a que durante este paso se producen una cantidad de ácidos orgánicos, se denomina "acidogénesis". Los ácidos orgánicos aparecen en el licor mezclado en forma de aniones y se originan de moléculas neutras de sustrato (36)

Las bacterias metanogénicas son denominadas Archae-bacterias, no son bacterias verdaderas y difieren de las eubacterias, además son los organismos vivientes más antiguos de la tierra. Los únicos sustratos utilizados por estas Archae-bacterias son el  $H_2$ , el  $CO_2$  y el acetato, hay solamente algunas excepciones pero con compuestos orgánicos muy relacionados (metanol, formato, monóxido de carbono y metilaminas). Las especies microbianas denominadas hidrogenotróficas (6), son Archae-bacterias quimolitotróficas que reducen el  $CO_2$  con  $H_2$  para obtener su energía, son Archae-bacterias autotróficas que asimilan el  $CO_2$  como fuente de carbono. (35)

Otras especies microbianas, denominadas acetoclasticas (5), son Archae-bacterias quimiorganotróficas que descomponen el acetato en metano y dióxido de carbono, obtienen su energía a partir del acetato, sin embargo, no necesariamente a través de descomponer el acetato ya que son Heterotróficas porque asimilan el acetato como fuente de carbono. El acetato es un anión, al descomponerse en  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$  debe estar presente un catión acaparador ( $\text{NH}_4^+$  ó  $\text{H}_3\text{O}^+$ ) pudiéndose entonces formar  $\text{NH}_4$ ,  $\text{CO}_3$  ó  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , cuyos efectos son alcalinizar el medio. Varios grupos bacterianos sirven como unión entre la etapa fermentativa y la metanogénica; algunas de ellas, inclusive compiten con las bacterias fermentativas por los sustratos monoméricos, otras compiten con las Archae-bacterias por el acetato,  $\text{H}_2$  y  $\text{CO}_2$ .

Los ácidos grasos volátiles son metabolizados a acetato,  $\text{H}_2$  y  $\text{CO}_2$  por especies microbianas pertenecientes al grupo de las bacterias acetogénicas obligadas productoras de  $\text{H}_2$ , denominadas bacterias obligadas reductoras de protones 3,4. Estas bacterias por razones termodinámicas pueden vivir solamente en sintrofia, no en simbiosis con bacterias hidrogenotróficas. Como resultado, la presión parcial de hidrógeno permanece muy baja.

El etanol y el lactato son también metabolizados a acetato,  $\text{H}_2$ , y  $\text{CO}_2$  por otros grupos de bacterias acetogénicas productoras obligadas de Hidrógeno (4), algunas especies microbianas pueden competir con estas. Cuando el anión sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) está presente en el medio, las bacterias sulfato-reductoras son importantes, algunas de ellas pueden competir por los ácidos grasos volátiles.

El grupo bacteriano capaz de utilizar el etanol y el lactato consta principalmente de bacterias sulfato reductoras y cuando el  $\text{SO}_4^{2-}$  está presente, el  $\text{H}_2$  producido a partir de los sustratos orgánicos se usa para reducir el  $\text{SO}_4^{2-}$  y formar sulfuro  $\text{HS}^-$ . Cuando las bacterias hidrogenotróficas están presentes el  $\text{H}_2$  es utilizado por estas.



Existe además otro grupo de bacterias hidrogenotróficas que juegan un papel muy importante en la comunidad microbiana global del proceso metanogénico, estas bacterias llamadas homoacetogénicas son quimolitotróficas y obtienen su energía de la reducción del dióxido de carbono con  $H_2$  para producir solamente acetato, de ahí su nombre. Algunas de estas bacterias son autotróficas, capaces de asimilar el  $CO_2$ . Otras bacterias homoacetogénicas también compiten con las bacterias fermentativas ya que son capaces de producir solamente acetato a partir de la glucosa; en este caso son quimiorganotróficas y mixotróficas, esto es auto y heterotróficas al mismo tiempo.

Los ácidos grasos no pueden ser metabolizados a productos finales reducidos por razones termodinámicas. Son metabolizados a acetatos,  $H_2$  y  $CO_2$  por otro grupo de bacterias acetogénicas productoras obligadas de  $H_2$  que tienen que vivir en simbiosis obligada con bacterias hidrogenotróficas para poder mantener durante todo el tiempo reducida la presión parcial del  $H_2$ ,  $CO_2$  en el digestor.

Dada la complejidad microbiana del proceso de la metanogénesis hasta aquí descrito, se considera que existe un paso en el proceso denominado de la tasa limitante, que puede causar que el proceso falle bajo condiciones denominadas de "stress cinético". Este "stress cinético" puede provocarse en el sistema reduciendo continuamente el tiempo de retención hasta un valor límite que supere a la tasa de crecimiento causando la eliminación de éstos en el sistema. Fallas de este tipo en la digestión anaerobia se ponen de manifiesto por la disminución o interrupción de la producción de metano y disminución de la remoción de la DQO del sistema. Se ha reportado que la falla cinética se caracteriza por un aumento en la concentración de ácidos grasos de cadena larga, los precursores predominantes del metano. Se acepta a la fecha que la fermentación de los ácidos grasos de cadena larga en la producción de metano y dióxido de carbono es la etapa de la tasa limitante en el tratamiento microbiano (36).

## **D. PRINCIPALES MICROORGANISMOS PRESENTES EN LODOS PRIMARIOS Y AGUAS RESIDUALES.**

Microorganismos tales como bacterias, hongos, helmintos, protozoarios y virus están presentes tanto en aguas residuales como en lodos, estos sobreviven a una variedad de ambientes hostiles; como cambios de temperatura, pH, intercambio iónico, limitación de nutrientes, etc. Las concentraciones de microorganismos en lodos es mucho más grande que en el agua residual original, esto se debe a que el volumen del lodo es mucho más pequeño que el volumen del agua residual, de la cual éste fue originado. Por lo tanto, el lodo crudo contiene los mismos agentes infecciosos presentes en las aguas residuales, pero en concentraciones significativamente más altas (27).

La tabla 3 muestra una lista de algunos organismos patógenos que se encuentran en lodos y aguas residuales, así como los síntomas o enfermedades entéricas con los que están asociados.

No existen muchos datos confiables de los niveles de densidad de organismos indicadores en lodos primarios y secundarios. Perderson en 1981 (22), hizo una revisión de la densidad de organismos patógenos en lodos primarios de aguas residuales municipales y domésticas de 1940 a 1980. La Tabla 4 muestra los niveles de densidad de virus y bacterias como organismos indicadores.

**TABLA 3**  
**PRINCIPALES ORGANISMOS PATOGENOS PRESENTES EN LODOS Y AGUAS RESIDUALES**

<b>ORGANISMOS</b>	<b>ENFERMEDAD PRODUCIDA</b>
<b>BACTERIAS</b>	
<i>Salmonella</i> sp <i>Shigella</i> sp <i>Yersinia</i> sp	Salmonellosis (alimento contaminado), fiebre tifoidea. Disenteria bacilar. Gastroenteritis aguda (incluyendo diarrea, dolor abdominal).
<i>Vibrio cholerae</i> <i>Escherichia jejuni</i>	Cólera Gastroenteritis
<b>VIRUS</b>	
Poliovirus Coxsacovirus Virus hepatitis A Rotavirus Virus Norwalk Retrovirus	Poliomielitis. Meningitis, Neumonía, Hepatitis, fiebre, etc. Infección de hepatitis. Gastroenteritis aguda con severas diarreas. Gastroenteritis epidémica con severa diarrea. Infecciones respiratorias, gastroenteritis.
<b>PROTOZOARIOS</b>	
<i>Cryptosporidium</i> . <i>Entamoeba histolytica</i> . <i>Giardia lamblia</i> .	Gastroenteritis. Enteritis aguda. Giardiasis (incluyendo diarrea, calambres abdominales, pérdida de peso).
<i>Balantidium coli</i> . <i>Toxoplasma gondii</i>	Diarrea y disentería. Toxoplasmosis.
<b>HELMINTOS</b>	
<i>Ascaris lumbricoides</i> . <i>Ascaris suum</i> . <i>Trichuris trichiura</i> . <i>Toxocara canis</i> . <i>Taenia saginata</i> . <i>Taenia solium</i> . <i>Necator americanus</i> . <i>Hymenolepis nana</i> .	Problemas digestivos y nutricionales, dolor abdominal, vómito, insomnio. Produce síntomas como tos, dolor de pecho y fiebre. Dolor abdominal, diarrea, anemia, pérdida de peso. Fiebre, dolor abdominal, dolor muscular, síntomas neurológicos. Nerviosismo, insomnio, anorexia, dolor abdominal, trastornos digestivos. Nerviosismo, insomnio, anorexia, dolor abdominal, trastorno digestivos. Teniasis. Anquilostomiasis. Himenolipiasis.

Fuente: EPA/625/10-89/006 (22)

**TABLA 4**  
**NIVELES DE ORGANISMOS PATÓGENOS: BACTERIAS Y VIRUS EN LODOS**  
**PRIMARIOS, SECUNDARIOS Y MEZCLA DE LODOS.**

<i>Tipo de Lodos</i>	<i>Coliformes Totales</i>	<i>Coliformes Fecales</i>	<i>Streptococcus Fecal</i>	<i>Bacteriófagos</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Virus Entericos</i>
Primario	$1.2 \times 10^8$	$2 \times 10^7$	$8.9 \times 10^2$	$1.3 \times 10^5$ UFP	$4.1 \times 10^2$	$2.8 \times 10^3$	$3.9 \times 10^2$ UFP
Primario							$1 - 10^1$ TCID 50/ml
Primario							$1.2 - 576$ UFP
Primario							$0.002 - 0.004$ NMP
Primario	$10^4 - 10^7$	$10^4 - 10^7$					$2 - 1660$ UFP/7ml
Secundario	$8 \times 10^4$	$8 \times 10^4$					$5.7$ IU
Secundario	$7 \times 10^4$	$8.3 \times 10^4$	$1.7 \times 10^4$		$8.8 \times 10^2$	$1.1 \times 10^3$	$6.9 - 1400$ UFP
Secundario							$3.2 \times 10^2$ UFP
Secundario							$3.4 - 49$ UFP
Mezclados	$1.1 \times 10^9$	$1.1 \times 10^3$	$3.7 \times 10^4$		$2.9 \times 10^2$	$3.3 \times 10^3$	$0.015 - 0.026$ NMP
Mezclados	$3.8 \times 10^7$	$1.9 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$		$7.0$	$4.4 \times 10^3$	$3.6 \times 10^2$ TCID 50 ml

UFP = Unidades Formadoras de Placas

NMP = Número Más Probable

Fuente: Lue-Hing-Cecil (22)

En la tabla 4, observamos que el ámbito de densidad de coliformes totales es de  $1 \times 10^6$  a  $1.2 \times 10^8$  organismos por gramo peso seco (GPS). Los bacteriófagos con una densidad de  $1.3 \times 10^5$  unidades formadoras de placa (UFP) por GPS. Los organismos bacteriófagos (al igual que los virus entéricos) pueden emplearse como indicadores de contaminación fecal en aguas y L.R. debido a su fácil cuantificación. La bacteria *Salmonella* sp y *Pseudomona aeruginosa* se registraron en bajas densidades, su promedio osciló entre  $4.1$  y  $10^2$  y  $2.8 \times 10^3$  organismos por GPS respectivamente.

**E. SALMONELLA EN LODOS.**

La materia fecal contiene una gran cantidad de bacterias, algunas son utilizadas como indicadores de contaminación fecal, especialmente *Escherichia coli*, sin embargo, pueden ocasionar enfermedades entéricas. La ruta más común de infección es por ingestión. Cuando hay presencia de infecciones bacterianas, gran cantidad de microorganismos son eliminados en la materia fecal, creando focos de infección en la población. La diarrea es el principal síntoma de infección intestinal, aunque algunas bacterias como *Salmonella typhi* pueden también invadir los tejidos causando una infección generalizada (2).

En la mayoría de las infecciones por bacterias entéricas patógenas existe el estado de portador sano, por lo que en las comunidades donde estas infecciones son comunes, una proporción de individuos sanos serán foco de expresión de bacterias patógenas; este estado de portador puede variar de unas semanas hasta toda la vida del individuo.

Las bacterias del género *Salmonella* están ampliamente distribuidas en la naturaleza, son responsables de un elevado número anual de infecciones gastrointestinales, cuya evidencia es cada vez mayor en el mundo, constituyendo un importante problema de salud pública (42).

Debido a la importancia que esto representa y a la prevalencia de *Salmonella* en el agua, el monitoreo de este microorganismo ha demostrado ser un excelente indicador epidemiológico para la determinación de una gran cantidad de infecciones existentes en las comunidades (2).

### CARACTERISTICAS DE SALMONELLA.

Debido a que más de 900 especies de *Salmonella* son potencialmente patógenas para el hombre, se consideran, como la causa de enfermedades gastrointestinales transmisibles más comunes de animales a humanos (2). En 1990 en el Continente Americano se presentaron aproximadamente 89,600 casos de fiebre tifoidea, que representan una incidencia de 20.8 casos/100,000 habitantes. En México, la tasa es de 13.6 casos/100,000 habitantes. El grupo de edad más afectado por la enfermedad es de los 15 a 44 años, donde se presentan el 58.62% de los casos, que significa una pérdida anual de más de 500,000 días laborables (45).

En la actualidad el número de especies de *Salmonella* presentes en aguas y L.R. es grande, se tiene la necesidad de desarrollar métodos rápidos y confiables para su detección en aguas y otros sustratos (2).

La capacidad de sobrevivencia de *Salmonella* en aguas salinas y dulces por periodos de días o semanas es un aspecto que actualmente se esta investigando. Su sobrevivencia prolongada en aguas de estuarios le permite acumularse en los mariscos, dependiendo del tipo de agua y épocas del año.

Es importante el uso de *Salmonella* como indicador de la calidad del agua ya que puede ser utilizada para fines recreativos, para consumo humano, como una medida preventiva del brote de pequeños o grandes focos epidémicos.

**VENTAJAS DEL USO DE SALMONELLA COMO INDICADOR DE CALIDAD DEL AGUA.**

- La confirmación de su presencia, nos da una información más completa acerca del tipo y grado de contaminación del agua.
- Su tiempo de sobrevivencia con respecto a otras enterobacterias ya sea en aguas para consumo humano, residuales, tierras irrigadas con aguas residuales y en vegetales así producidos, depende de los factores ecológicos de la zona.
- Tiene una relación directa con las fuentes de contaminación de áreas específicas.
- Su detección puede llegar a evitar epidemias que, en años recientes han sido atribuidas principalmente a *Salmonella*.
- La dependencia a ciertos factores ecológicos, como la temperatura, no permite que su densidad tenga una relación directa con las bacterias del grupo coliforme como indicadores fecales.
- Actualmente la técnica del NMP para la cuantificación de *Salmonella* en aguas residuales es empleada en algunos laboratorios (2)

## F. NORMAS DE REGULACION PARA L.R. SEGUN LA EPA.

En los Estados Unidos, el uso y disposición de lodos residuales está regulado bajo la 40 Comisión Federal Reguladora (CFR), parte 503. Esta regulación, promulgada el 19 de Febrero de 1993 fue publicada por la autoridad del Acta de Aguas Limpias. Esta Acta data de 1976 bajo el nombre Acta de Conservación y Recuperación de Recursos y fue corregida por primera vez en 1987. Para la mayor parte de los lodos residuales, esta nueva regulación reemplaza a la 40ª CFR parte 257 que estuvo vigente desde 1976 y se ajusta a los usos y disposiciones de L.R. No obstante, en nuestro país no existe una norma de regulación para L.R. (18).

¿Cuál es la importancia de este documento?

Este documento describe los requerimientos federales concernientes a los patógenos en los lodos residuales para la aplicación a tierras o sitios de disposición y propone los siguientes puntos:

- Realizar operaciones apropiadas de tratamiento para lodos y aguas domésticas.
- Desarrollo o mercado de los procesos de tratamiento para lodos residuales.
- Grupos que distribuyan y comercialicen los productos finales de lodos residuales.
- La aplicación de lodos residuales a tierras o sitios de disposición debe ser un compromiso individual.
- Los estados regionales y los departamentos gubernamentales locales son responsables de la implementación y fortalecimiento de la norma de regulación parte 503, subparte D.
- Asesoramiento de éstos grupos.



PROTECCION A LA SALUD PUBLICA Y AL MEDIO AMBIENTE

De acuerdo al fallo de la Administración de la EPA, parte 503, subparte D, para la regulación y protección de la Salud Pública y del medio ambiente a través de los requerimientos designados a reducir el potencial de contacto con microorganismos patógenos presentes en lodos residuales, responsables de varias enfermedades, así como la aplicación de éstos a tierras o sitios de depósito. Estos requerimientos están divididos en:

- Requerimientos designados al control y reducción de patógenos en lodos residuales.
- Requerimientos designados para reducir la capacidad de lodos residuales y de vectores (insectos, aves, roedores y otros organismos que puedan transportar patógenos de los lodos residuales a tierras y sitios de depósito).

En la subparte D se incluyen los requerimientos tecnológicos y de fabricación, designados a proporcionar un aprovechamiento más flexible de la parte 257, la cual requiere que los lodos residuales deben ser tratados por requerimientos específicos o por tratamientos tecnológicos aprobados. La parte 503, menciona que: los trabajos de tratamiento para lodos residuales deben continuar usando el mismo proceso empleado en la parte 257, pero, actualmente también existe libertad de modificar las condiciones (lodos) y de combinar los procesos con otro, siempre y cuando el tratamiento de lodos reúna los requerimientos aplicables.

Muchos lodos residuales también contienen metales pesados, los cuales poseen un riesgo para la salud pública y el medio ambiente. La regulación federal bajo la parte 503 de la CFR señala los requerimientos designados a los límites o cantidades permisibles de metales pesados en los lodos residuales con el fin de ser aplicados a tierras o sitios de disposición final (18).

**REQUERIMIENTOS DE REGULACION DE LA CLASE A SOBRE ORGANISMOS  
PATOGENOS PRESENTES EN Lodos RESIDUALES**

Los requerimientos de regulación de organismos patógenos presentes en lodos residuales se encuentran en la subparte D de la 40<sup>a</sup> CFR parte 503 de regulaciones. Los lodos residuales enviados en bolsas, tanques o contenedores para su aplicación a tierras, césped y jardines deberán cumplir con los debidos requerimientos. En la clase A existen seis requerimientos alternativos para demostrar la reducción de patógenos en L.R. Dos de estas alternativas proporcionan una continuidad con la 40<sup>a</sup>CFR parte 257 que permiten el uso de una Tendencia Significativa de los Procesos para la Reducción de Patógenos (PFRS) y de las tecnologías (18).

Cualquiera de estas seis alternativas deberán cumplir los requerimientos de la clase A para L.R. respecto a los patógenos. Su objetivo principal es reducir la densidad de patógenos por debajo de los límites detectables, los cuales son los siguientes:

<i>Salmonella</i> sp.	Menor de 3 organismos por 4 gramos de sólidos totales en LR.
Virus entéricos	Menor de 1 organismo por 4 gramos de sólidos totales en LR.
Huevos viables de helmintos L.R.	Menor de 1 organismo por 4 gramos de sólidos totales en LR.

En este capítulo se discuten los requerimientos de los patógenos en la clase A que incluyen:

- Un requerimiento de relación entre la reducción de patógenos y de vectores (insectos, aves y roedores).
- En todas las alternativas de la clase A para la reducción de patógenos se incluye un requerimiento para el monitoreo y crecimiento de patógenos.

### Alternativa 1:

Esta alternativa debe usarse con un régimen de temperaturas específicas de organismos patógenos. Bajo éstas circunstancias, el tiempo de consumo y los exámenes costosos de laboratorio para detectar y especificar que clases de patógenos están presentes en los L.R. generalmente pueden ser rechazados. Basta sólo con demostrar que:

La densidad de coliformes debe estar por debajo de 1'000 NMP por gramo de sólidos totales (base de peso seco), y de *Salmonella* sp. donde su límite de detección debe ser menor a 3 NMP por gramo de sólidos totales (peso seco). Cada vez que los L.R. sean usados, depositados y preparados para su venta o enviados en bolsas o contenedores para la aplicación a tierras deben cumplir los requerimientos señalados en la parte 503.10 (b), 503.10 (c), 503.10(e) y 503.10(f).

Cuatro diferentes temperaturas son utilizadas en la alternativa 1. Cada régimen de temperatura está basado en el porcentaje de sólidos de L.R. y en los parámetros de operación de los procesos de tratamiento. Estas exigencias, demuestran que los cuatro regímenes de temperatura reducen los organismos patógenos a niveles muy bajos detectables.

### Alternativa 2:

Esta alternativa describe las condiciones de un proceso particular de elevación de temperatura y pH. Este proceso ha resultado efectivo en la reducción de patógenos sobre niveles bajos detectables.

Las condiciones requeridas de éste proceso son:

- Elevar el pH de los lodos hasta 12, por más de 72 horas.
- Mantener la temperatura arriba de 52°C por lo menos 12 horas durante el periodo en el cual el pH alcance dicho valor.

- En el periodo de elevación del pH y durante un periodo de 72 horas, inyectar aire seco, siempre y cuando los sólidos sean superiores al 50% en los L.R.

Las condiciones hostiles de elevación de temperatura y pH por periodos de tiempo prolongados permite una diferencia de un estricto control de temperatura comparada con los requerimientos termales bajo la alternativa 1.

### Alternativa 3:

Esta alternativa es aplicada a los L.R. producidos por los procesos que no reúnen las condiciones requeridas en la alternativa 1 y 2. Estos requerimientos auxilian el monitoreo de bacterias, virus entéricos y huevos viables de helmintos, y demuestra una adecuada reducción de patógenos.

La densidad de virus entéricos en los L.R. después del tratamiento para patógenos debe ser menor a 1 UFP por 4 gramos de sólidos totales (base de peso seco).

La densidad de huevos viables de helmintos en los L.R. después del tratamiento para patógenos debe ser menor a 1 por 4 gramos de sólidos totales (base de peso seco).

Los exámenes de los virus entéricos y de los huevos viables de helmintos puede ser complicado por el hecho de que algunas veces no están presentes antes del tratamiento de L.R. En este caso, una ausencia de los organismos por debajo de los límites detectables.

Estos exámenes toman varios tiempos: cuatro semanas para determinar si los huevos de helmintos son viables y dos o mas semanas para los virus entéricos.

Alternativa 4:

Este requerimiento es similar a la alternativa 3, excepto que no hay opción para sustituir el monitoreo de los parámetros de operación microbiológico. Los L.R. deben reunir los siguientes límites para uso, disposición y preparación para venta o envíos en bolsas o contenedores para su aplicación a tierras, asimismo el material derivado de los L.R. debe reunir los requerimientos de la parte 503.10(b), 503.10(c), 503.10(e) y 503.10(f).

- La densidad de coliformes fecales en L.R. debe ser menor de 1,000 NMP por gramo de sólidos totales (base de peso seco) y la densidad de *Salmonella* sp. en los L.R. debe ser menor de 3 NMP por 4 gramos de sólidos totales (base de peso seco).
- La densidad de virus entéricos en L.R. debe ser menor a 1 UFP por 4 gramos de sólidos totales (base de peso seco).
- La densidad de huevos viables de helmintos en L.R. debe ser menor a 1 gramo de sólidos totales (base de peso seco).

Estos requerimientos son aplicados en las siguientes situaciones:

- En procesos de tratamientos desconocidos para L.R.
- El L.R. producido en los procesos de operación y en condiciones menos severas que las condiciones de operación, las cuales no pueden ser calificadas como clase A y tampoco bajo otras alternativas.

Los requerimientos de los virus entéricos y huevos viables de helmintos pueden ser modificados por la autoridad competente (EPA). Un ejemplo de esta situación podría ser las fosas sépticas o pilas para L.R. almacenados por muchos años. Las densidades de coliformes y salmonelas son suficientemente bajas, la sobrevivencia de virus entéricos es desconocida. En tal caso, la autoridad competente podría reducir los requerimientos para pruebas de virus entéricos, pero deberían probablemente insistir en las densidades para huevos de helmintos viables.

#### Alternativa 5:

La alternativa 5 proporciona una continuidad con la 40<sup>o</sup>CFR parte 257 de regulaciones. Esta alternativa para L.R. es considerada por estar presente en la clase A siempre y cuando el tratamiento haya sido uno de los Procesos de Tendencia para Reducir los Patógenos (tema C, tabla 1).

#### Alternativa 6:

La parte de regulación 40 CFR permite algún proceso de tratamiento equivalente a un PFRP en L.R. Bajo esta alternativa, los L.R. deben cumplir con los requerimientos considerados en la clase A:

- Deben ser tratados por algún proceso equivalente a PFRP y,
- La densidad de coliformes fecales en los L.R. ser menor a 1,000 NMP por gramo de sólidos totales (base de peso seco), y la densidad de salmonela en los L.R. debe ser menor de 3 NMP por 4 gramos de sólidos totales (base de peso seco), siempre que los L.R. sean usados para disposición, preparación para venta o envíos en bolsas o contenedores para su aplicación a tierras, también los L.R. o material derivado de éstos, debe ser tratado y reunir los requerimientos en la parte 503.10(b), 503.10(c), 503.10(e) y 503.10(f) (18).

**DESARROLLO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL**

Se muestrearon lodos primarios de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chapultepec. Para el aislamiento e identificación de *Salmonella* en lodos, se utilizó una marcha bacteriológica (16,17) que puede resumirse en los siguientes pasos:

Enriquecimiento de la muestra; diferenciación y selección de colonias sospechosas en placas con medios de cultivo específicos para tal fin; identificación por pruebas bioquímicas; confirmación serológica.

Los materiales, equipos, medios de cultivo, reactivos y soluciones utilizados en este estudio, así como los detalles del trabajo experimental se mencionan en este capítulo.

**MATERIAL, EQUIPO, MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y SOLUCIONES**

**MATERIAL**

- Asas bacteriológicas
- Cajas Petri de 10 cm. de diámetro
- Equipo de protección
- Lámpara
- Matraces Erlenmeyer de 250, 500 y 1000 ml.
- Matraz volumétrico de 100 ml.
- Mechero Bunsen
- Pinzas de disección
- Pipetas serológicas de 1,2,5 y 10 ml.
- Portaobjetos
- Sistema de filtración Millipore
- Tripies y telas de asbesto
- Tubos de ensaye de 12 x 75, 13 x 100 y 16 x 150
- Vasos de precipitados de 250 y 500 ml.

**EQUIPO**

- Autoclave
- Contador de colonias
- Estufa
- Microscopio fotónico, equipado con el sistema óptico de campo claro, contraste de fases y cámara fotográfica incorporada (Fomi I).



**MEDIOS DE CULTIVO**

- Agar Citrato de Simmons
- Agar de Hierro y Lisina (LIA)
- Agar de Hierro y Tripe Azúcar (TSI)
- Agar Sulfito Bismuto
- Base Agar Urea
- Caldo Malonato modificado de Edwing
- Caldo Selenito con cisteína
- Medio movilidad - indol - ornitina
- Medio sulfhídrico - indol - movilidad (SIM)

**SOLUCIONES**

- Alcohol - acetona
- Alcohol etílico al 96%
- Lugol
- Safranina
- Solución salina isotónica (SSI)

**REACTIVOS BIOLOGICOS**

- Suero polivalente contra *Salmonella* del grupo A al I + Vi
- Suero polivalente contra *Salmonella* del grupo A al E + Vi
- Suero monovalente contra *Salmonella* grupo D.
- Reactivo de Ehrlich
- Acriflavina 1:500

**METODOLOGIA EMPLEADA EN EL AISLAMIENTO DE SALMONELLA EN Lodos PRIMARIOS**

**MUESTREO**

La planta para el tratamiento de aguas residuales ubicada en Chapultepec fue la primera construída en la Ciudad de México para el tratamiento de las aguas residuales, con el fin de ahorrar agua potable. Su efluente es utilizado para el riego de áreas verdes del bosque de Chapultepec y para el llenado de sus lagos recreativos (31)

Consta de dos unidades de 80 l/s cada una (figura 6). La primera unidad inició sus operaciones en el año de 1965 (3). Las aguas residuales tratadas en dicha planta son recibidas por medio de tres colectores: el colector de "cien casitas", el colector de "palmas" y el colector de "vosgos" (31).

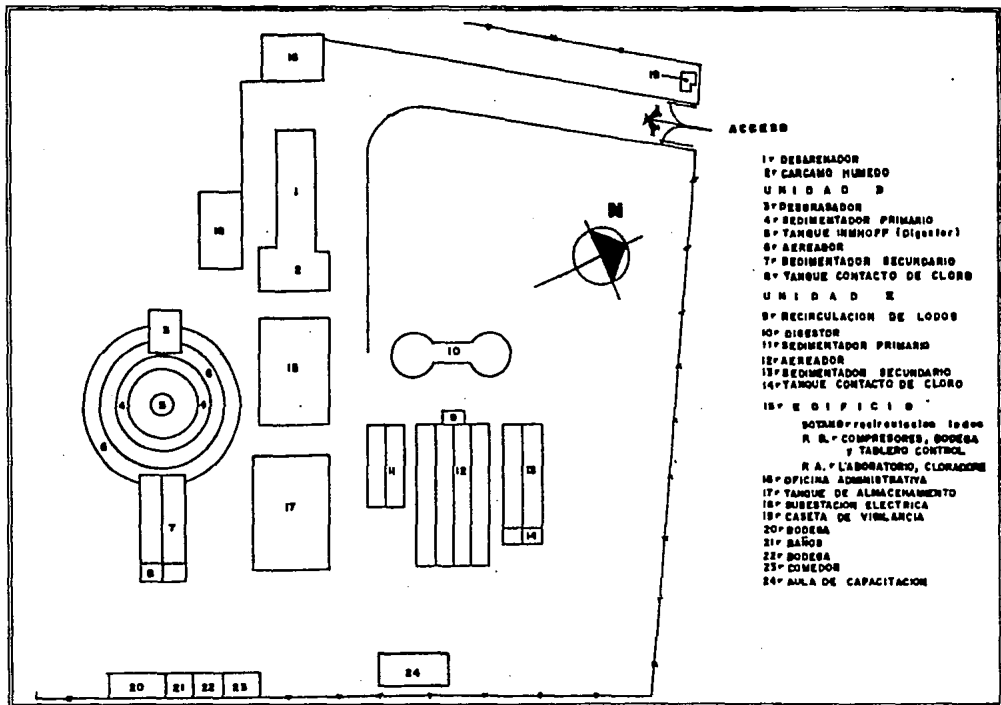
El experimento consistió en estabilizar lodos primarios, los cuales son los residuos sólidos provenientes del tratamiento primario de las aguas residuales de la planta de Chapultepec.

Los lodos se muestrearon a partir de la tubería de purga de los tanques de sedimentación primaria de la unidad 1 (figura 6). Con el fin de disminuir la probabilidad de fracaso en el aislamiento de *Salmonella* por una toma de muestra en forma inadecuada se realizaron dos muestreos simultáneos de lodos primarios dos veces por semana, durante un periodo aproximado de seis meses.

Se colectaron 20 litros de lodos en cubetas de plástico limpias y posteriormente se transportaron en garrafones de PVC limpios. El muestreo lo realizó personal del laboratorio de Ingeniería Ambiental de la DEPEFI y transportaron las muestras en forma inmediata a las instalaciones del laboratorio; donde se procesaron al momento de su llegada. El tiempo promedio empleado desde el momento de recolección al procesamiento de las muestras fué de 3 horas. Los muestreos se realizaron los días lunes y miércoles de cada semana, durante un período aproximado de 6 meses.

En el laboratorio de Ingeniería de la DEPEFI se construyeron cuatro digestores anaerobios convencionales con diferentes tiempos de retención, con el fin de estudiar, conocer el tiempo de arranque y operación hasta alcanzar un estado estable, posteriormente se determinaron algunos parámetros fisicoquímicos y biológicos.

Para realizar la alimentación de estos digestores se utilizó un sistema de bombeo manual que permitió introducir el lodo a los tanques.



PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES  
CHAPULTEPEC.

OS

Conforme a lo anterior, se procedió de la siguiente manera:

1. Arrancar el sistema de digestión anaerobia, alimentando cada reactor con una cantidad de 20 litros de lodo primario con el 1% de inóculo.
2. Observar el comportamiento del sistema mediante la producción de gas metano y el análisis de los lodos, lo que permitió conocer si era necesario tomar alguna medida de control: mantener el pH en un valor adecuado (6.8 a 7.2) y observar si el proceso de digestión había comenzado (a través de la producción de gas metano).
3. Una vez que la producción de gas metano fué suficiente, se estableció un sistema de flujo continuo correspondiente a un tiempo de retención de 28 días, esto representa una alimentación para los tanques de 714 ml de lodo/día (cada tanque tiene una capacidad de 20 litros).
4. Se establece un programa de muestreo por semana para analizar lodos; tanto el lodo primario (influyente) y el lodo digerido, obtenido de los reactores anaerobios (efluente).
5. Una vez que el sistema de cuatro reactores haya alcanzado un estado estable, es decir, que los parámetros del efluente no varíen considerablemente, se procedió a cambiar los tiempos de retención de cada reactor de la siguiente manera:

REACTOR	TIEMPO DE RETENCION (días)	FLUJO (lts/día)
I	7	2857.0
II	14	1428.6
III	21	952.4
IV	28	714.0

6. Se realizó el análisis de reactores de la misma forma señalada en el punto cuatro, con el objeto de estabilizar los reactores con un nuevo tiempo de retención otorgando 7 días al primero, 14 al segundo, 21 al tercero y 28 días al cuarto reactor.

**ANALISIS DE LODOS PRIMARIOS**

Los lodos primarios se analizaron de la siguiente forma: se coloca 1 ml. de la muestra correspondiente (lodo) en un tubo de ensaye el cual contiene 9 ml de caldo selenito, su contenido aumentó a 10 ml, es decir, nos dió una dilución de  $10^{-1}$ . A continuación se toma 1 ml de este tubo. Este ml. fue colocado en otro tubo de ensaye, con un contenido igual de 9 ml. de caldo de selenito, obteniendo una dilución de  $10^{-2}$ . Este procedimiento de diluciones se llevó a cabo para un tercer tubo de ensaye, consiguiendo una dilución de  $10^{-3}$  (1). Al igual que el procedimiento anterior (realizado para el influente) este se repitió similarmente para las muestras del digestor 1, 2, 3 y 4 obteniendo las diluciones anteriormente explicadas, preparadas el mismo día. Se incubaron a  $35^{\circ}\text{C}$  de 12 a 18 hrs (16, 17).

Al término de esta incubación, se estrían por agotamiento en placas de agar sulfito-bismuto, una asada de cada dilución en placas por triplicado. Se incubaron las placas de 24 horas a 35°C y se procedió al conteo del NMP tanto del influente como de los cuatro digestores. A partir de las placas son seleccionadas colonias sospechosas con las siguientes características:

En agar sulfito-bismuto buscamos colonias negras, convexas, de bordes enteros. Muchas de las colonias de *Salmonella*, tienen tonalidades diferentes que se disponen en forma concéntrica, que a las 48 hrs. de incubación no se aprecian. Muchas de las colonias presentan halos de precipitación de color negro y algunas presentan un brillo metálico. Existen colonias en las que no se aprecia su producción de H<sub>2</sub>S y muestran una coloración café-grisáceo. La desventaja de incubar estas placas por un tiempo de 48 hrs. es que pueden desarrollarse otras colonias diferentes a *Salmonella* que impiden su diferenciación, sin embargo, muchas colonias de *Salmonella* son fácilmente diferenciables a las 24 hrs. debido a los contrastes de color que presentan (17).

Una vez seleccionadas las colonias, es necesario realizar una tinción de Gram con el propósito de verificar sus características microscópicas y confirmar la pureza de la colonia.

Todas las colonias sospechosas que estén compuestas por bacilos cortos Gram-negativos y no tengan contaminación por otro tipo de microorganismos, se inoculan en una serie de pruebas bioquímicas, a fin de verificar el género de la colonia aislada, buscando preferentemente *Salmonella*.

Las pruebas bioquímicas utilizadas en este estudio fueron:

- Fermentación de carbohidratos: glucosa, lactosa y sacarosa.
- Catabolismo de citrato y malonato.
- Descarboxilación de aminoácidos: lisina y ornitina
- Hidrólisis de urea
- Producción de H<sub>2</sub>S e indol
- Movilidad
- Producción de gas a partir de glucosa (TSI)

El perfil bioquímico que caracteriza a las especies de *Salmonella* con respecto a los demás géneros de las Enterobacterias se presenta en el anexo II. Una vez identificadas bioquímicamente las colonias aisladas como *Salmonella* se realizó la confirmación serológica. Para llevarla a cabo, se hicieron ensayos de aglutinación en placa de vidrio. Los sueros empleados en este estudio están dirigidos en contra del antígeno "O" de superficie, por lo cual es necesario saber si la cepa aislada se encuentra en fase lisa o rugosa. Para conocer que tipo de cepa es la estudiada, se realizó un ensayo de aglutinación con acriflavina 1:500, en donde las cepas rugosas autoaglutinan, a diferencia de las cepas lisas (14). Este estudio fué llevado a cabo de la siguiente manera: en un portaobjetos se suspende una gota de solución salina isotónica (SSI), se toma una asada de la cepa a estudiar, de tal forma que quede una suspensión homogénea y turbia. A continuación se añade una gota de solución acriflavina, se mezclan perfectamente utilizando un aplicador de madera. Se agita el portaobjetos con movimientos suaves gíricos por un minuto y se observa a contraluz (5). Si las bacterias aglutinan, la cepa en estudio es de tipo rugosa y no podemos tipificar con los sueros utilizados; si la cepa no aglutina en acriflavina corresponde a una cepa de tipo liso, por lo que se procede a realizar los ensayos serológicos.



Las cepas lisas son estudiadas con dos sueros polivalentes y uno monovalente. El primer suero polivalente abarca del grupo A al I y nos indica que la cepa aislada es *Salmonella*. El segundo polivalente abarca del grupo A al grupo E y nos indica que la cepa aislada pertenece a los grupos de mayor incidencia a nivel mundial. El suero monovalente del grupo D, nos indica si la cepa aislada es *S. typhi*\*, agente etiológico de la fiebre tifoidea.

El procedimiento para la tipificación serológica es similar al descrito anteriormente para la autoaglutinación: en un portaobjetos se suspende una gota de SSI, una asada de la cepa, de tal manera que se obtenga una suspensión turbia y homogénea. Se le añade una gota del primer suero, se homogeneiza con un aplicador de madera, se agita el portaobjetos con movimientos suaves durante un minuto y se lee a contraluz. Un resultado positivo estará dado por una aglutinación uniforme de la mezcla de reacción, el mismo procedimiento se realizó con los sueros restantes e incluso podemos realizar todos en un mismo portaobjetos. La figura 7 resume la metodología antes descrita.

Con respecto al control de calidad de la marcha antes descrita, en todos los muestreos se realizaron testigos de esterilidad para cada uno de los medios. Como testigos positivos se utilizaron tres cepas pertenecientes a la colección del cepario del Hospital Infantil de México, Federico Gómez: *S typhi*, *S. paratyphi A* y *S. enteritidis*.

\* Deben coincidir las características bioquímicas y serológicas.

Fig. 7 AISLAMIENTO Y TIPIFICACION DE SALMONELLAS EN LODOS

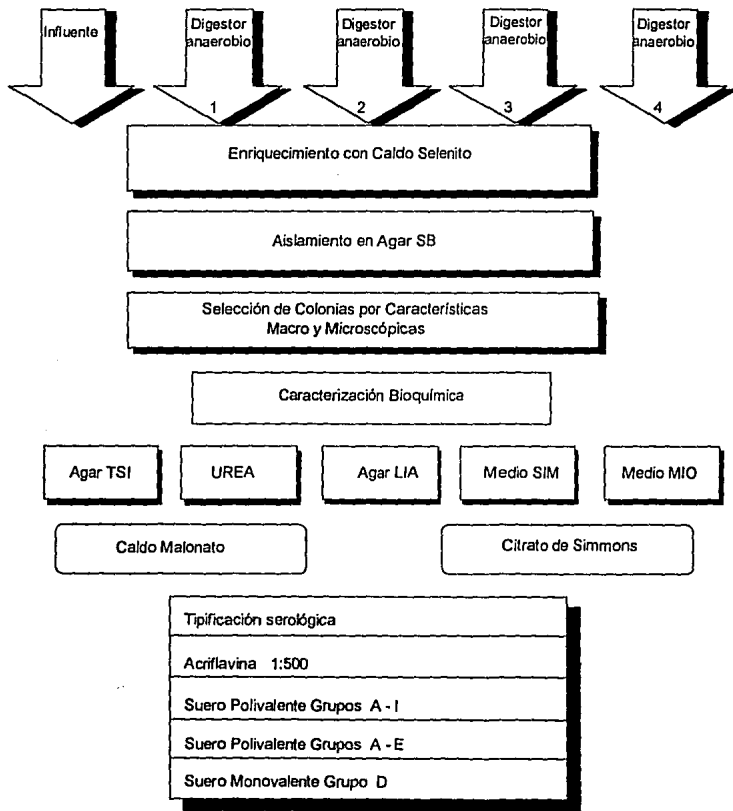


TABLA 6. *SALMONELLA* PRESENTE EN INFLUENTE PROVENIENTE DE LODOS PRIMARIOS.

Muestra	Fecha	Especie de <i>Salmonella</i>	Cepas		Grupos		
			L	R	A-I	A-E	D
1	24-03-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
2	26-03-92	<i>S. enteritidis</i>	3	-	3	2	-
3	31-03-92	<i>S. enteritidis</i>	1	1	1	1	-
4	02-04-92	-	-	-	-	-	-
5	07-04-92	-	3	-	3	3	-
6	09-04-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
7	14-04-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	1	-
8	23-04-92	<i>S. enteritidis</i>	5	-	5	5	-
9	28-04-92	<i>S. enteritidis</i>	2	1	2	2	-
10	05-05-92	<i>S. enteritidis</i>	1	1	1	1	-
11	07-05-92	<i>S. enteritidis</i>	4	-	4	4	-
		<i>S. typhi</i>	1	-	1	1	1
12	12-05-92	-	-	-	-	-	
13	16-05-92	-	-	-	-	-	
		<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	1
14	19-05-92	<i>S. typhi</i>	2	1	2	2	-
15	21-05-92	-	-	-	-	-	
16	26-05-92	<i>S. enteritidis</i>	3	1	3	2	-
		<i>S. typhi</i>	1	-	1	1	1
17	28-05-92	<i>S. enteritidis</i>	3	2	3	3	-
18	02-06-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
19	04-06-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
20	09-06-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
		<i>S. typhi</i>	1	-	1	1	1
21	11-06-92	-	-	-	-	-	
22	16-06-92	-	-	-	-	-	
23	18-06-92	<i>S. enteritidis</i>	-	1	4	3	-
24	23-06-92	<i>S. enteritidis</i>	4	2	1	1	-
25	25-06-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
26	30-06-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	2	2	-
27	02-06-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	1	1	-
28	07-06-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
29	09-07-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
30	14-07-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
TOTAL			54	10	54	50	4

*Salmonella* sp. identificada por pruebas bioquímicas.  
 Cepas L y R: Cepas de superficie lisa y rugosa.  
 Grupo A a I: *Salmonella* del grupo A a I  
 Grupo A a E: *Salmonella* del grupo A a E  
 Grupo D: *Salmonella* del grupo D y posible *S. typhi*.

TABLA 7. *SALMONELLA* PRESENTE EN EL DIGESTOR 1 PROVENIENTE DE LODOS PRIMARIOS CON TIEMPO DE RETENCION DE 7 DIAS.

Muestra	Fecha	Especie de <i>Salmonella</i>	Cepas		Grupos		
			L	R	A-I	A-E	D
1	24-03-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
2	26-03-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
3	31-03-92	-	-	-	-	-	-
4	02-04-92	<i>S. enteritidis</i>	1	1	1	1	-
5	07-04-92	<i>S. enteritidis</i>	3	1	3	3	-
6	09-04-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	1	2	-
7	14-04-92	-	-	-	-	-	-
8	23-04-92	-	-	-	-	-	-
9	28-04-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
		<i>S. typhi</i>	2	-	2	2	2
10	05-05-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
11	07-05-92	-	-	-	-	-	
12	12-05-92	-	-	-	-	-	
13	16-05-92	-	-	-	-	-	
14	19-05-92	-	-	-	-	-	
15	21-05-92	-	-	-	-	-	
16	26-05-92	-	-	-	-	-	
17	28-05-92	<i>S. enteritidis</i>	2	1	2	2	-
18	02-06-92	-	-	-	-	-	
19	04-06-92	-	-	-	-	-	
20	09-06-92	-	-	-	-	-	
21	11-06-92	-	-	-	-	-	
22	16-06-92	-	-	-	-	-	
23	18-06-92	-	-	-	-	-	
24	23-06-92	-	-	-	-	-	
25	25-06-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
26	30-06-92	-	-	-	-	-	
27	02-07-92	-	-	-	-	-	
28	07-07-92	-	-	-	-	-	
29	09-07-92	<i>S. enteritidis</i>	2	1	2	2	-
30	14-07-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
TOTAL			21	4	21	20	2

*Salmonella* sp. identificada por pruebas bioquímicas.

Cepas L y R:

Cepas de superficie lisa y rugosa.

Grupo A a I:

*Salmonella* del grupo A a I

Grupo A a E:

*Salmonella* del grupo A a E

Grupo D:

*Salmonella* del grupo D y posible *S. typhi*.

TABLA 8. *SALMONELLA* PRESENTE EN EL DIGESTOR 2 PROVENIENTE DE LODOS PRIMARIOS CON TIEMPO DE RETENCION DE 14 DÍAS.

Muestra	Fecha	Especie de <i>Salmonella</i>	Cepas		Grupos		
			L	R	A-I	A-E	D
1	24-03-92	-	-	-	-	-	-
2	26-03-92	-	-	-	-	-	-
3	31-03-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
4	02-04-92	-	-	-	-	-	-
5	07-04-92	-	-	-	-	-	-
6	09-04-92	-	-	-	-	-	-
7	14-04-92	-	-	-	-	-	-
8	23-04-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
9	28-04-92	-	-	-	-	-	-
10	05-05-92	-	-	-	-	-	-
11	07-05-92	-	-	-	-	-	-
12	12-05-92	-	-	-	-	-	-
13	16-05-92	<i>S. enteritidis</i>	3	1	3	2	-
14	19-05-92	-	-	-	-	-	-
15	21-05-92	-	-	-	-	-	-
16	26-05-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
17	28-05-92	-	-	-	-	-	-
18	02-06-92	-	-	-	-	-	-
19	04-06-92	-	-	-	-	-	-
20	09-06-92	-	-	-	-	-	-
21	11-06-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
22	16-06-92	-	-	-	-	-	-
23	18-06-92	-	-	-	-	-	-
24	23-06-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
25	25-06-92	-	-	-	-	-	-
26	30-06-92	-	-	-	-	-	-
27	02-07-92	-	-	-	-	-	-
28	07-07-92	-	-	-	-	-	-
29	09-07-92	-	-	-	-	-	-
30	14-07-92	-	-	-	-	-	-
TOTAL			12	1	12	11	-

*Salmonella* sp. identificada por pruebas bioquímicas.  
 Cepas L y R: Cepas de superficie lisa y rugosa.  
 Grupo A a I: *Salmonella* del grupo A a I  
 Grupo A a E: *Salmonella* del grupo A a E  
 Grupo D: *Salmonella* del grupo D y posible *S. typhi*.

**TABLA 9. SALMONELLA PRESENTE EN EL DIGESTOR 3 PROVENIENTE DE LODOS PRIMARIOS CON TIEMPO DE RETENCION DE 21 DIAS.**

Muestra	Fecha	Especie de Salmonella	Cepas		Grupos		
			L	R	A-I	A-E	D
1	24-03-92	-	-	-	-	-	-
2	26-03-92	-	-	-	-	-	-
3	31-03-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
4	02-04-92	-	-	-	-	-	-
5	07-04-92	-	-	-	-	-	-
6	09-04-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
7	14-04-92	-	-	-	-	-	-
8	23-04-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
9	28-04-92	-	-	-	-	-	-
10	05-05-92	-	-	-	-	-	-
11	07-05-92	-	-	-	-	-	-
12	12-05-92	-	-	-	-	-	-
13	16-05-92	-	-	-	-	-	-
14	19-05-92	-	-	-	-	-	-
15	21-05-92	-	-	-	-	-	-
16	26-05-92	-	-	-	-	-	-
17	28-05-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
18	02-06-92	-	-	-	-	-	-
19	04-06-92	-	-	-	-	-	-
20	09-06-92	-	-	-	-	-	-
21	11-06-92	-	-	-	1	1	-
22	16-06-92	-	-	-	-	-	-
23	18-06-92	-	-	-	-	-	-
24	23-06-92	-	-	-	-	-	-
25	25-06-92	-	-	-	-	-	-
26	30-06-92	-	-	-	-	-	-
27	02-07-92	-	-	-	-	-	-
28	07-07-92	-	-	-	-	-	-
29	09-07-92	-	-	-	-	-	-
30	14-07-92	-	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>			<b>5</b>	<b>-</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>-</b>

*Salmonella* sp. Identificada por pruebas bioquímicas.  
 Cepas L y R: Cepas de superficie lisa y rugosa.  
 Grupo A a I: *Salmonella* del grupo A a I  
 Grupo A a E: *Salmonella* del grupo A a E  
 Grupo D: *Salmonella* del grupo D y posible *S. typhi*.

**TABLA 10. SALMONELLA PRESENTE EN EL DIGESTOR 4 PROVENIENTE DE LODOS PRIMARIOS CON TIEMPO DE RETENCION DE 28 DIAS.**

Muestra	Fecha	Especie de <i>Salmonella</i>	Cepas		Grupos		
			L	R	A-I	A-E	D
1	24-03-92	-	-	-	-	-	-
2	26-03-92	-	-	-	-	-	-
3	31-03-92	-	-	-	-	-	-
4	02-04-92	-	-	-	-	-	-
5	07-04-92	-	-	-	-	-	-
6	09-04-92	-	-	-	-	-	-
7	14-04-92	-	-	-	-	-	-
8	23-04-92	-	-	-	-	-	-
9	28-04-92	-	-	-	-	-	-
10	05-05-92	-	-	-	-	-	-
11	07-05-92	-	-	-	-	-	-
12	12-05-92	-	-	-	-	-	-
13	16-05-92	-	-	-	-	-	-
14	19-05-92	-	-	-	-	-	-
15	21-05-92	-	-	-	-	-	-
16	26-05-92	-	-	-	-	-	-
17	28-05-92	-	-	-	-	-	-
18	02-06-92	-	-	-	-	-	-
19	04-06-92	-	-	-	-	-	-
20	09-06-92	<i>S. enteritidis</i>	1	-	1	1	-
21	11-06-92	-	-	-	-	-	-
22	16-06-92	-	-	-	-	-	-
23	18-06-92	-	-	-	-	-	-
24	23-06-92	-	-	-	-	-	-
25	25-06-92	-	-	-	-	-	-
26	30-06-92	-	-	-	-	-	-
27	02-07-92	<i>S. enteritidis</i>	2	-	2	2	-
28	07-07-92	-	-	-	-	-	-
29	09-07-92	-	-	-	-	-	-
30	14-07-92	-	-	-	-	-	-
<b>T O T A L</b>			<b>3</b>	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>-</b>

*Salmonella* sp. identificada por pruebas bioquímicas.  
 Cepas L y R: Cepas de superficie lisa y rugosa.  
 Grupo A a I: *Salmonella* del grupo A a I  
 Grupo A a E: *Salmonella* del grupo A a E  
 Grupo D: *Salmonella* del grupo D y posible *S. typhi*.

Tabla 11. Resultados del NMP de *Salmonella* en las muestras analizadas

Número de muestra	Fecha	Influyente (10 <sup>2</sup> )	R1 (10 <sup>2</sup> )	R2 (10 <sup>2</sup> )	R3 (10 <sup>2</sup> )	R4 (10 <sup>2</sup> )
1	24/03/92	240	210	210	93	64
2	26/03/92	460	93	28	21	21
3	31/03/92	20	11	4	3	3
4	02/04/92	93	28	4	7	7
5	07/04/92	1100	93	43	11	3
6	09/04/92	150	39	21	11	9
7	14/04/92	64	43	21	21	21
8	23/04/92	240	93	28	28	21
9	28/04/92	210	150	93	21	14
10	05/05/92	21	20	4	4	3
11	07/05/92	11	9	4	3	3
12	12/05/92	11	7	4	3	3
13	14/05/92	93	39	21	9	4
14	19/05/92	64	43	28	11	11
15	21/05/92	9	7	3	3	4
16	26/05/92	23	21	4	3	3
17	28/05/92	11	9	7	3	4
18	02/06/92	2400	460	240	210	93
19	04/06/92	14	11	7	4	4
20	09/06/92	2400	1100	460	150	150
21	11/06/92	1100	240	64	28	11
22	16/06/92	20	11	14	11	7
23	18/06/92	28	20	11	9	7
24	23/06/92	2400	210	150	93	93
25	25/06/92	210	64	64	43	39
26	30/06/92	28	21	11	7	7
27	02/07/92	28	7	7	4	4
28	07/07/92	11	9	9	9	7
29	09/07/92	20	11	11	7	14
30	14/07/92	460	240	150	93	64



**MORFOLOGIA DEL GENERO SALMONELLA**  
**COMPARACION MICROSCOPICA.**

Fotografías obtenidas con el microscopio fotónico equipado con el Sistema Optico de Contraste de Fases, según F. von Zernicke, 1600X.

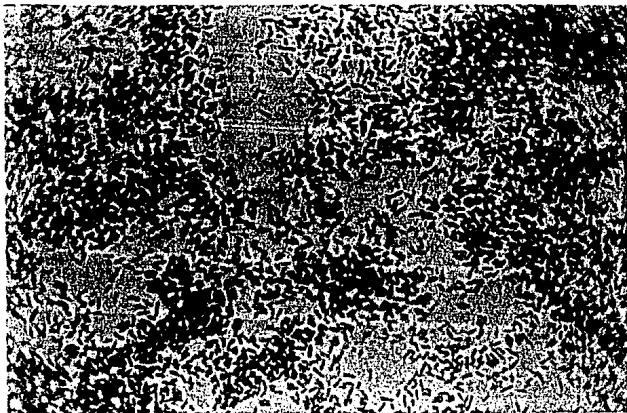


Imagen de bacilos de *Salmonella enteritidis* teñidos con azul de metileno, aquí se puede observar la abundancia de bacterias y la claridad de su morfología.

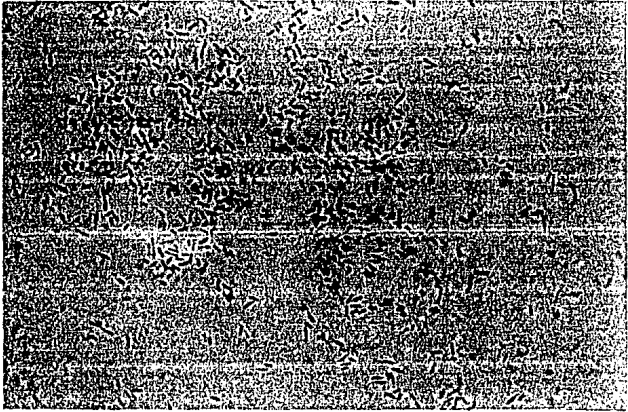


Imagen de bacilos de *Salmonella typhi* causantes de la fiebre tifoidea, teñidos con azul de metileno, en contraste con la imagen anterior, se puede observar la escasez de bacilos, pero presentan una morfología semejante.

El periodo de muestreo se llevó a cabo del 24 de marzo al 17 de julio de 1992, lo cual correspondió a un total de 30 muestreos. Durante este periodo se analizaron muestras de lodos crudos (influyente), así como también de 4 digestores anaerobios construidos en el laboratorio (DEPFI) con tiempos de retención de 7, 14, 21 y 28 días.

Para el estudio cualitativo de *Salmonella* se enriquecieron 450 muestras con caldo selenito y se aislaron en placas de agar sulfito-bismuto por triplicado lo que correspondió a un total de 1350 placas. De estas placas, se obtuvieron 860 colonias sospechosas, de las cuales 110 correspondieron a cepas de *Salmonella enteritidis* y *S. typhi*. De estas especies *S. enteritidis* estuvo presente en mayor cantidad que *S. typhi* a lo largo de todo el proceso de tratamiento de digestión anaerobio, esto resulta lógico si consideramos que esta especie encierra casi 2,000 serotipos diferentes (anteriormente considerados como especie) y que las gastroenteritis causadas por esta especie son más frecuentes que las fiebres entéricas en nuestro país (26). (Tablas 6, 7, 8, 9 y 10).

*S. typhi* fue escasa probablemente porque la población humana que genera las aguas residuales de dicha planta presenta una frecuencia baja de enfermos de fiebre tifoidea y/o portadores sanos de dicha especie.

Con respecto al análisis cuantitativo de este estudio, se utilizó la técnica del NMP (mencionada en la metodología), la cual se emplea para cuantificar *Salmonella* en aguas residuales y no para lodos (1). Esta técnica fue recomendada por Peniche (41) en estudios de aislamiento de *Salmonella* sp. que obtuvo en muestras de desechos sólidos. La tabla 11 exhibe los resultados de NMP de *Salmonella* presente tanto en el influyente como en los cuatro digestores anaerobios. Aquí observamos que existió un mayor número de *Salmonella* en el primer día de cada muestreo (influyente) en comparación con los

digestores anaerobios. Esto se debió a que el influente, traído de la planta no recibió ningún tratamiento biológico o químico (22, 47), y los digestores anaerobios tuvieron diferentes tiempos de retención.

Hess y Breer, encontraron que en un 90% de lodos examinados, las especies de *Salmonella* pueden sobrevivir por más de 72 semanas. Sin embargo, mencionan que los procesos de digestión anaerobia reducen significativamente la población de *Salmonella* en lodos.

McKinney y colaboradores reportaron que la sobrevivencia de *Salmonella* presente en lodos de digestores a escala depende de la densidad inicial de población, disponibilidad de nutrientes y tiempos de retención.

Comparando mis datos con los reportados por Hussong, donde ambos empleamos la técnica del NMP para una cuantificación de *Salmonella* en lodos residuales, observo que el método de Hussong fue realizar una modificación al medio agar verde brillante, agregó 47 g. de xilosa y lisina por litro de agar, estos compuestos favorecen la coloración (rosa) de las colonias que combinadas con el agar verde brillante se logra una mayor selectividad de *Salmonella*. Como resultado, detecté fácilmente colonias de *Salmonella*. El análisis del NMP lo llevé a cabo directamente de las placas; encontré: *S. typhimurium* y *S. newport* de  $10^7/g$ . Las técnicas utilizadas en ambos estudios así como los agares empleados fueron totalmente diferentes ya que en mi estudio utilicé agar sulfito bismuto, sin agregar xilosa ni lisina, debido a que este agar es específico para *S. typhi* (14).

Monticelli cuantificó el aislamiento de *Salmonella* en aguas recreacionales del Río de la Plata localizado en Brasil, empleó la técnica del NMP con caldo tetrionato al cual le adicionó 40 mg/ml de novobiocina. Como medio de aislamiento utilizó agar verde brillante y agar *Salmonella-Shigella* e incubó de 1 a 4 días porque la recuperación de *Salmonella* varía con el tiempo de incubación en el medio de enriquecimiento. Esta técnica difiere de mi metodología, en primer lugar porque fue empleada para aguas recreacionales y no para lodos, además utilizó novobiocina que comercialmente tiene un costo elevado, lo cual estuvo fuera de nuestro alcance de ser adquirido, al parecer este reactivo ejerce un efecto de enriquecimiento para *Salmonella*. Asimismo los agares que empleó fueron muy diferentes a los que utilicé. Para determinar el número de frascos sembrados con tetrionato el autor se basó en la técnica del NMP y utilizó placas para sembrar *Salmonella* con agares de diferente volumen, lo que difiere con la técnica empleada en nuestro laboratorio.

En nuestro estudio pudieron haberse encontrado diferentes serotipos de *Salmonella*, pero económicamente no se contó con recursos necesarios para tal fin, ya que de haberse efectuado, el número de serotipos podría reafirmar más la importancia que tienen los lodos como vectores del género *Salmonella*.

La gráfica 1 muestra el promedio de los datos del NMP de *Salmonella* presente en los cuatro digestores, así como en el influente; estos datos se presentan en la tabla 12.

La ley de Chick (Metcalf), expresa el grado de destrucción de los microorganismos a través de la siguiente expresión matemática:

$$\frac{dN}{dt} = -kN \dots \dots \dots (1)$$

A través de esta ecuación obtuvimos la constante de decaimiento de *Salmonella* en los diferentes digestores (7, 14, 21 y 28 días), así como su eficiencia de remoción en los mismos; en la ecuación (1):

- $N_0$  = Número más probable de *Salmonella* al tiempo cero (influyente) -en NMP/100 ml-
- $N$  = Número más probable de *Salmonella* al tiempo "t" (efluente) -en NMP/100 ml-
- $k$  = Constante de decaimiento -en días<sup>-1</sup>-
- $t$  = Tiempo de residencia en los reactores -días-

Se despejó  $k$  en la ecuación (1) para obtener la constante de decaimiento de *Salmonella* en los cuatros digestores ;

$$\frac{N}{N_0} = e^{-kt} \dots \dots \dots (2)$$

con esta ecuación se despejó la constante de decaimiento:

$$\frac{\ln \frac{N_0}{N}}{t} = k \dots \dots \dots (3)$$

Los valores obtenidos de la constante de decaimiento se presentan en la tabla 12. Al mismo tiempo se obtuvo la eficiencia de remoción:

$$E = \left( \frac{N_0 - N}{N_0} \right) \times 100 \dots \dots \dots (4)$$

despejando;

$$E - 1 = - \frac{N}{N_0} \dots \dots \dots (5)$$

sustituyendo en la ecuación 2, se obtuvo:

$$E - 1 = -e^{-kt} \dots \dots \dots (6)$$

despejando, se obtuvo la eficiencia de remoción (E):

$$E = 1 - e^{-kt} \dots \dots \dots (7)$$

En la tabla 12 se presentan los datos de la eficiencia de remoción que se obtuvieron al sustituir los valores de la constante de decaimiento de *Salmonella* en la ecuación (7). Es importante resaltar el nivel alto de remoción de *Salmonella* (94.10%) que se obtuvo a los 28 días de retención de lodos en el digestor 4 (Gráfica 2).

Despejando k de la ecuación (7), se obtuvo:

$$\ln(1-E) = -kt \quad \dots \dots \dots (8)$$

la cual representa una línea recta de la siguiente forma  $y = mx$ , donde:

$$y = \ln(1-E)$$

$$m = -k$$

$$x = t$$

El siguiente paso fue obtener la pendiente (-k), con la fórmula:

$$m = \frac{n\sum xy - \sum x \cdot \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2} \quad \dots \dots \dots (9)$$

El valor de la pendiente fue de 0.075 (los datos procesados se presentan en la tabla 13), sustituyendo el valor de k en la expresión matemática de la ley de Chick, se tiene:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-0.075t} \quad \dots \dots \dots (10)$$

Por otra parte, se analizaron los datos para determinar el coeficiente de correlación lineal con la fórmula:

$$r = \frac{n\sum xy - \sum x \cdot \sum y}{\sqrt{[n\sum x^2 - (\sum x)^2][n\sum y^2 - (\sum y)^2]}} \quad \dots \dots \dots (11)$$

sustituyendo valores (ver tabla 13),  $r = 0.988$ ; este valor nos indica un buen ajuste de las observaciones obtenidas en los diferentes digestores. La gráfica 3 muestra el comportamiento lineal de *Salmonella* presente en los digestores, a diferentes tiempos de retención.



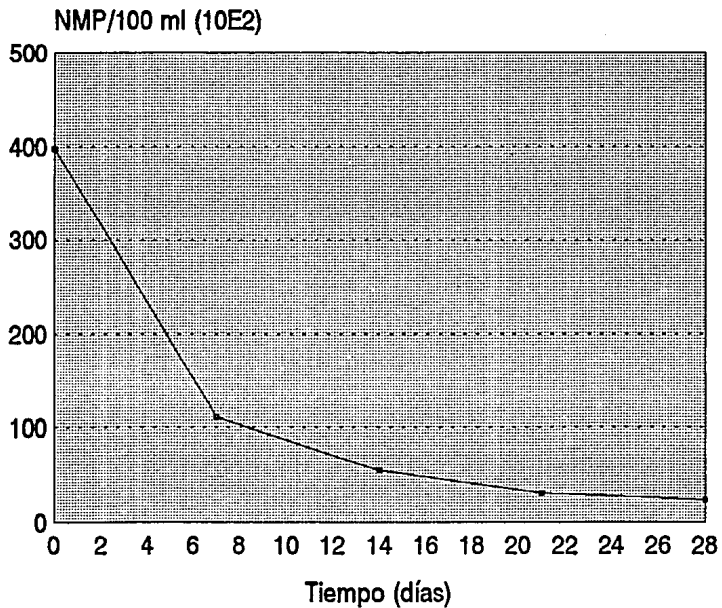
Tabla 12. Constante de decaimiento y eficiencia de remoción correspondientes al análisis cuantitativo de *Salmonella*

Digestores	tiempo (d <sup>-1</sup> )	Promedio de <i>Salmonella</i> (NMP/100 ml) [10 <sup>7</sup> ]	Desviación estándar	Constante de decaimiento (k)	Eficiencia de remoción (%)
Influente	0	397.967	721.770	—	—
Digestor 1	7	110.633	209.796	0.183	72.22
Digestor 2	14	57.5	97.017	0.138	85.51
Digestor 3	21	30.766	48.258	0.122	92.28
Digestor 4	28	23.266	34.490	0.101	94.10

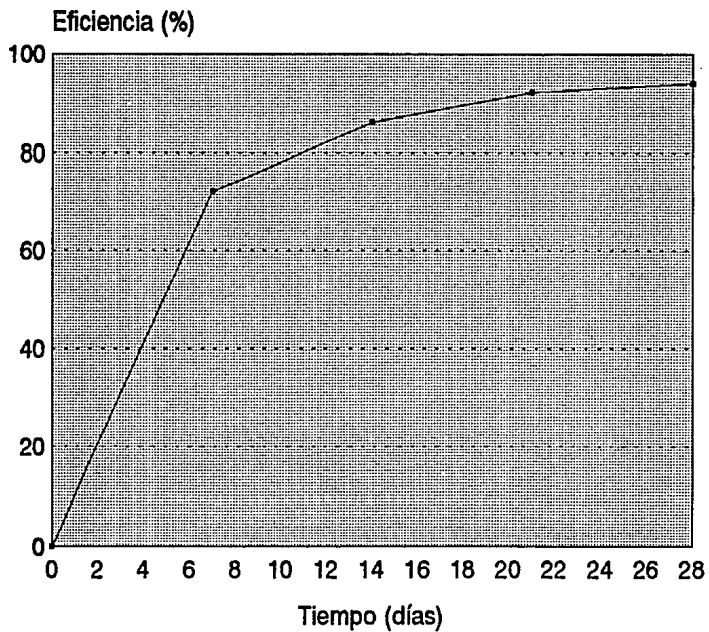
Tabla 13. Datos procesados del NMP de *Salmonella* para obtener el coeficiente de correlación lineal.

Digestores	tiempo (x) (d <sup>-1</sup> )	y [ln(1-E)]	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>	x(y)
Influente	0	—	—	—	—
Digestor 1	7	1.281	49	1.641	8.967
Digestor 2	14	1.932	196	3.733	27.048
Digestor 3	21	2.561	441	6.559	53.781
Digestor 4	28	2.830	784	8.001	79.240
Σ		8.604	1470	19.933	169.036

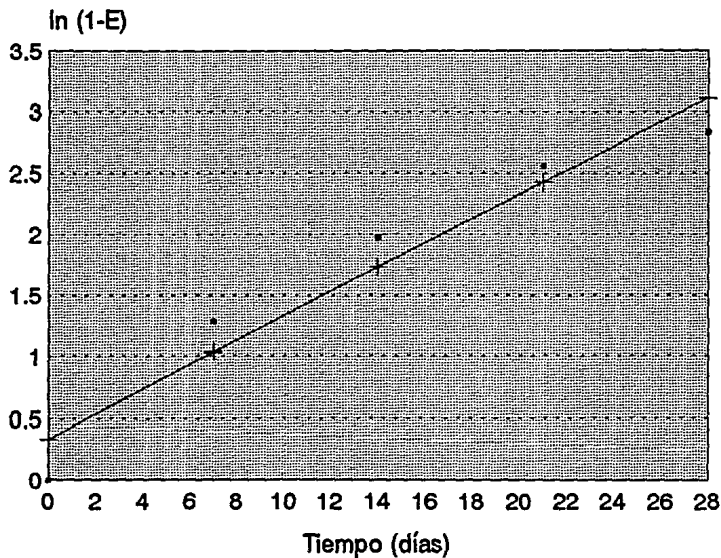
GRAFICA 1. COMPORTAMIENTO EXPERIMENTAL DE *SALMONELLA* PRESENTE EN LODOS DE DIGESTORES ANAEROBIOS A DIFERENTES TIEMPOS DE RESIDENCIA



GRAFICA 2. EFICIENCIA DE REMOCION DE *SALMONELLA* PRESENTE EN LODOS ANAEROBIOS



GRAFICA 3. ANALISIS DE REGRESION LINEAL DE **SALMONELLA** PRESENTE EN LODOS ANAEROBIOS A DIFERENTES TIEMPOS DE RETENCION



## VI CONCLUSIONES

El desarrollo acelerado del país ha propiciado un aumento en la extracción y consumo del agua, lo cual ha acarreado una mayor generación de aguas residuales, que a su vez generan grandes volúmenes de lodos durante sus diferentes procesos de tratamiento. No obstante, nuestro país no considera el tratamiento, regulación uso y disposición de L.R., lo cual es esencial ya que estos lodos son arrojados al medio ambiente, creando un foco de infección potencial para el humano por la gran cantidad de organismos patógenos presentes en L.R. entre los que se encuentra el género *Salmonella*.

En nuestro país, la fiebre tífico-paratífica es bastante frecuente, el nivel de incidencia ha permanecido casi constante en los últimos años, siendo la población económicamente activa la más afectada.

Aunque el tratamiento de lodos residuales representa un costo adicional en las plantas de tratamiento de aguas residuales, actualmente existen diversos tratamientos de L.R. sencillos y económicos capaces de reducir la cantidad de organismos patógenos y lograr a su vez una estabilización de los L.R. Entre estos tratamientos podemos citar a la digestión anaerobia que se considera como un proceso de desplazamiento de contaminantes, ya que en los lodos sedimentados abundan microorganismos saprófitos y depredadores que afectan el libre desarrollo o sobrevivencia de especies patógenas.

En este estudio se observó que el número de *Salmonella* presente en el influente disminuyó enormemente en el primer digestor (alcanzó una eficiencia de 72.22%), que pudo deberse al "stress" del medio ambiente en el que se encontraban o a la competencia por nutrientes con otras bacterias.

Cabe destacar que el tiempo de retención de los digestores anaerobios influyó significativamente en la remoción de *Salmonella*, aunque esto quizá haya dependido de la densidad inicial de la población patógena, disposición de nutrientes y tiempo de sobrevivencia, ya que se ha reportado (Hess) que existen especies de *Salmonella* que pueden sobrevivir por más de 72 semanas en lodos.

**RECOMENDACIONES**

- Para una adecuada protección de la salud pública en lo que se refiere a agentes patógenos presentes en L.R. se recomienda:
- La reducción del número de patógenos presentes en L.R., puede llevarse a cabo por tratamientos tecnológicamente adecuados, primeramente para uso o disposición de éstos y, directamente disminuir la contaminación del medio ambiente.
- Crear sitios de restricción para los L.R., así limitaremos el contacto humano y animal, ésto permite reducir los niveles de patógenos a niveles más bajos.
- Es necesario implementar programas de monitoreo, reglamentos y legislaciones sobre la utilización y disposición de L.R.

**BIBLIOGRAFIA**

1. APHA. 1985. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Edit. American Public Health Association. Washington, U.S.A. 1134 p.
2. Apuntes del Taller de Microbiología del Agua II. 1990. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Cuernavaca, Mor. 125 p.
3. Barth, E.F. y cols. 1967. Summary report on the effects of heavy metals on the biological treatment process. *Journal of Water Pollution Control and Control Federation*. 38: 37-86.
4. Becerril, F.A. 1991. *Parásitos: Evaluación de la contaminación biológica de lodos primarios y secundarios de la planta tratada de aguas residuales "Chapultepec" mediante la identificación de parásitos*. Tesis de Licenciatura en Q.F.B., Facultad de Química, UNAM. 80 p.
5. Blair J.E., E.H. Lennette. 1970. *Manual of Clinical Microbiology*. Ed. Fontaine. U.S.A. 140 p.
6. *Boletín Mensual de Epidemiología*. 1990. Sistema Nacional de Salud. 5 (1): 1-15.
7. *Boletín Mensual de Epidemiología*. 1991. Sistema Nacional de Salud. 6 (7): 98-119.
8. *Boletín Mensual de Epidemiología*. 1992. Sistema Nacional de Salud. 7 (5): 86-111.



9. *Boletín Mensual de Epidemiología*. 1991. Sistema Nacional de Salud. 6 (8): 121-140.
10. *Boletín Mensual de Epidemiología*. 1992. Sistema Nacional de Salud. 7 (6): 115-132.
11. Bradshaw A.D. y cols. 1992. *The treatment and handling of wastes*. Ed. Chapman and Hall. Great Britain. 302 p.
12. Bruce A.M. 1984. *Sewage sludge, stabilization and disinfection*. Edit Water Research Center. Great Britain. 141 p.
13. Bruce A.M., F. Colín y P.J. Newman. 1989. *Treatment of sewage sludge: thermophilic aerobic digestion and processing requirements for landfilling*. Ed. Elsevier Applied Science. Great Britain. 103 p.
14. Cowan S.T. 1982. *Manual para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Ed. Cecsá, México. 215 p.
15. *Curso Intensivo de Lagunas de Estabilización de Aguas Residuales*. 1992. Facultad de Ingeniería, UNAM. Comisión Nacional del Agua. Oficina Sanitaria Panamericana. 18 p.
16. Edwards P.R. y W.H. Edwing. 1972. *Identification of Enterobacteriaceae*. Ed. Burgess Publishing. U.S.A. 180 p.

17. Elmer W.K. y cols. 1991. *Diagnóstico Microbiológico*. Ed. Limusa. México. 300 p.
18. Environmental Regulations and Technology. 1992. *Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge*. Washington, U.S.A. EPA/625/R-92/013. 1-64 p.
19. Ferat T.C., Ch. G. Moeller y A.F. Soler. 1992. *Densidad de microorganismos indicadores y patógenos en lodos residuales primarios y secundarios*. En: Memorias de VIII Congreso Nacional de Ingeniería Ambiental. División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería, UNAM. 250-263 p.
20. Hammer M.J. 1975. *Water and wastewater technology*. Ed. John Wiley. Great Britain. 480 p.
21. Hess E. y C. Breer. 1975. *Epidemiology of Salmonella and fertilizing of grassland with sewage sludge*. Zentralbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten, Hygiene, Abteilung 1, Originalreihe B. **161**: 54-60.
22. Hing L.C. y cols. 1992. *Municipal sewage sludge management, processing, utilization and disposal*. Ed. Technomic Publishing. 663 p.
23. Ho W. y A. Furst. 1973. Nickel Excretion by rats following a single treatment. *Proc. West Pharmacol Soc.* **16**: 245

24. Horan N.J. 1990. *Biological wastewater treatment systems*. Ed. John Wiley. Great Britain. 310 p.
25. Hussong D., K. Nancy y D. Wylie. 1984. Modified Agar Medium for Detecting Environmental Salmonellae by the Most-Probable-Number Method. *Applied and Environmental Microbiology*. 48(5): 1026-1030.
26. Kumate I.G. G.O. Muños y J. Santos. 1990. *Manual de Infecciónología*. Ed. Francisco Méndez. México. 690 p.
27. Leslie C.P. 1990. Biodegradation of toxic organics: status and potential. *Journal of Environmental Engineering*. 116: 805-828.
28. Lucero R.B. 1986. *Estudio preliminar de los lodos primarios y activados de exceso en la planta de tratamiento de aguas residuales de Chapultepec*. Tesis de Maestría en Ingeniería. Facultad de Ingeniería, UNAM. 116 p.
29. Luna P.V.A., L.M. Aladro y B.C. Durán. 1990. *Microorganismos indicadores del tratamiento biológico de aguas residuales. Efecto de la temperatura sobre la diversidad y abundancia de protozoarios ciliados*. Facultad de Ciencias, UNAM. 60-67 p.
30. Martínez G.F. 1990. *Sistema de tratamiento de aguas residuales para poblaciones menores de 40,000 habitantes*. Tesis de Maestría en Ingeniería. Facultad de Ingeniería, UNAM. 112 p.

31. Martínez L.R. 1992. *Digestión anaerobia de lodos residuales, operación, control y cinética*. Tesis de Licenciatura en I.Q. Facultad de Química, UNAM. 150 p.
32. McKinney R.E., H.E. Langley y H.D. Tomlinson. 1958. Survival of *Salmonella typhosa* during anaerobic digestion. I. Experimental methods and high-rate digester studies. *Sewage Industrial Wastes* 30: 1467-1477.
33. Metcalf y Eddy. 1979. *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse*. Ed. McGraw-Hill, U.S.A. 825 p.
34. Moeller Ch.G. 1988. *Utilización de un modelo cinético de crecimiento biológico para la predicción del comportamiento de la biomasa anaerobia para la estabilización de los lodos de desecho*. En: Memorias Congreso SMISA. División de Estudios de Posgrado. Facultad de Ingeniería, UNAM. 15-23 p.
35. Moeller Ch.G. y T.C. Ferat. 1990. *Desinfección de lodos por pretratamiento*. En: VII Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Facultad de Ingeniería, UNAM. 223-225 p.
36. Moeller Ch.G. y T.C. Ferat. 1990. *Remoción de microorganismos por medio del tratamiento de las aguas residuales*. En: Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Facultad de Ingeniería, UNAM. 650-655 p.
37. Moeller Ch.G., T.C. Ferat. y F. Soler. 1992. *Comportamiento microbiológico y reducción de patógenos en un sistema convencional anaerobio de tratamiento en lodos*. En: XXIII Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Facultad de Ingeniería, UNAM. 375-380 p.

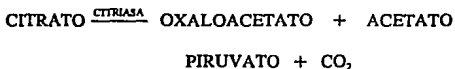
38. Moeller Ch.G. y T.C. Ferat. 1992. *Análisis comparativo de la potabilidad del agua de tomas domiciliarias del personal académico de la DEPTI y su comparación con respecto a las disposiciones del Reglamento respectivo derivado de la Ley General de Salud*. División de Estudios de Posgrado. Facultad de Ingeniería, UNAM. 250-257 p.
39. Muñoz G.F. 1981. *Revisión bibliográfica del proceso de la digestión anaerobia de desechos orgánicos*. Tesis de Maestría en Ingeniería. Facultad de Ingeniería, UNAM. 156 p.
40. Nemerow L.D. 1991. *Industrial and hazardous waste treatment*. Ed. Van Nostran Reinhold. U.S.A. 173 p.
41. Peniche A.J. 1990. *Estudio comparativo de tres técnicas de aislamiento de Salmonella sp. realizadas en muestras de desechos sólidos*. En: VII Congreso Nacional de Ingeniería Ambiental. México. 10-13 p.
42. Pérez M.A. y C.R. Cabrera. 1974. Medidas preventivas empleadas en la infección tifóidica. *Revista de Salud Pública* 15: 185-194.
43. Ramalho R.S. 1991. *Tratamiento de aguas residuales*. Ed. Reverté. Barcelona. 705 p.
44. Ramírez C.C. 1992. *Tratamiento de aguas residuales industriales*. UAM Azcapotzalco. 160 p.

45. Secretaría de Salud. *Anuario Estadístico 1987*. Dirección General de Información y Estadística, Subsecretaría de Planeación, SSA. México.
46. Sylver R. y cols. 1977. *Gasification at biomass*. Ed. Gulf Science of Technology. U.S.A. 250 p.
47. Vesilind P.A. y cols. 1986. *Sludge management and disposal*. Ed. Lewis Publishers, U.S.A. 341 p.
48. Wentz Ch.A. 1989. *Hazardous waste management*. Ed. Mc Graw-Hill. U.S.A. 341 p.
49. Winkler M.A. 1986. *Tratamiento biológico de aguas de desecho*. Ed. Limusa. México. 186 p.
50. Zamano P.A.H. 1991. *Tratamiento biológico de aguas residuales de la industria alcoholera a partir de melazas de caña azucarera*. Tesis de Licenciatura en Q.F.B. Facultad de Química, UNAM. 80 p.

**MEDIOS DE CULTIVO****Agar Citrato de Simmons.**

Es utilizado para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono.

El citrato es catabolizado en el ciclo de Krebs o por fermentación de citrato. En las bacterias la hidrólisis está dada por la enzima citrasa (citrato oxaloacetato lisa) o citrato desmolasa. Esta actividad requiere de un catión bivalente ( $Mg^{2+}$  o  $Mn^{2+}$ ):

H<sup>+</sup>OH<sup>-</sup>

ACETATO + LACTATO +  
ACETOINA + CO<sub>2</sub>

ACETATO + FORMATO

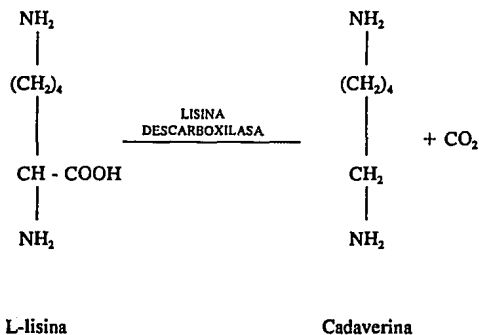
Cuando un organismo es capaz de utilizar al citrato como única fuente de carbono, generalmente utiliza las sales de amonio como única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio que se encuentran en este medio son desdobladas y hay liberación de amoníaco, cambiando el pH del medio a alcalino, lo cual se ve reflejado en el cambio de coloración (de color verde a azul) por la presencia del indicador azul de bromotimol. El crecimiento de microorganismos, así como el cambio en la coloración del medio indican una prueba positiva.

El medio se prepara en acuerdo a las instrucciones del fabricante y se coloca en tubos de 13 X 100 con el agar inclinado. Es importante señalar que este debe ser el primer medio inoculado para evitar falsos negativos por el arrastre de alguna otra fuente de carbono de otro medio previamente inoculado. Se mantiene en incubación 24 horas a 35°C.

### Agar de Hierro y Lisina (LIA).

Es utilizado para observar la capacidad que tiene un microorganismo para descarboxilar a la lisina.

La descarboxilación de la lisina se lleva a cabo por la enzima lisina descarboxilasa, produciendo una diamina (cadaverina) y dióxido de carbono:



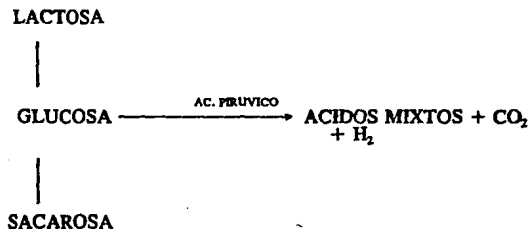


Las descarboxilasas se producen sólo cuando existe en el medio su sustrato específico (inducibles) y se presenta una condición ácida en el medio. La descarboxilación se realiza en condiciones anaerobias, es irreversible y se requiere del fosfato de piridoxal como coenzima. Al descarboxilar a la lisina, el pH del medio vira a alcalino, debido a la producción de aminas, tomando el medio a una coloración púrpura por la presencia del indicador púrpura de bromocresol. En este medio podemos verificar la producción de ácido sulfhídrico.

El agar LIA se coloca en tubos de 13 x 100 de tal manera que solidifique en forma inclinada. Se inocula por estría en la superficie de la zona inclinada y picadura. Se incuba de 18 a 24 hrs. a 35°C.

#### Agar de Hierro y tres azúcares (TSD).

Es un medio diferencial muy utilizado para la identificación de enterobacterias. Se usa para determinar si un microorganismo es capaz de fermentar glucosa, lactosa y/o sacarosa con la producción de ácido y/o gas. Además podemos detectar organismos productores de ácido sulfhídrico (con menor sensibilidad que el medio SIM).



La concentración de glucosa es de 0.1% a diferencia de los otros dos azúcares que se encuentran a una concentración del 1%.

Cuando un microorganismo es capaz de utilizar glucosa y alguno de los azúcares restantes, o incluso los tres, el organismo fermenta en primer término a la glucosa y posteriormente utiliza uno o ambos disacáridos, confiriendo al medio un pH ácido, lo cual se manifiesta por un cambio en la coloración del medio (a amarillo) debido al indicador rojo de fenol.

Si el microorganismo sólo es capaz de fermentar la glucosa, ésta se agota rápidamente en la parte inclinada del tubo, por lo que a las 24 Hrs. de incubación, esta zona tiene un pH alcalino, ya que las bacterias ocupan las peptonas que contiene el medio como fuente de carbono. El fondo del tubo, en este caso, permanece ácido, debido a que la glucosa aún no se ha agotado después del período de incubación o al menos la condición ácida aún perdura.

Existe la posibilidad de que algún microorganismo no pueda fermentar ninguno de los tres azúcares, lo cual se verá reflejado en una condición alcalina en todo el tubo, debido a la utilización de las peptonas como fuente de carbono (coloración roja en todo el tubo o no existe cambio de color).

Este agar es colocado en tubos de 13 x 100 de manera que el agar solidifique en forma inclinada, se inocula por estría en la superficie inclinada por picadura. Se incuba de 18 a 24 Hrs. a 35°C. Es importante leer exactamente en este lapso de tiempo para evitar resultados falsos.

### Agar Sulfito Bismuto (SB).

Es un medio altamente selectivo diseñado para el aislamiento de *S. typhi* y otras salmonellas a partir de diferentes muestras.

#### Efecto selectivo:

El efecto selectivo del agar SB se basa en su contenido de verde brillante, que inhibe la flora gram-positiva, coliformes, *Shigella* y *Proteus*. La inhibición de las bacterias coliformes se ve favorecida por el contenido de bismuto presente en el medio.

#### Propiedades diferenciales:

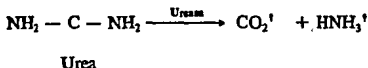
En el agar SB podemos observar bacterias productoras de ácido sulfhídrico ya que contiene sulfito bismuto y sulfuro ferroso (ver medio SIM), por lo que las colonias productoras de este ácido se tornan a un color negro por el depósito del precipitado sulfuro ferroso. En presencia de  $H_2S$ , las salmonellas reducen a los cationes de bismuto en bismuto metálico en los alrededores de la colonia, lo cual da lugar a la aparición de un halo de brillo metálico alrededor de las mismas.

El agar SB se debe preparar de acuerdo a las instrucciones del fabricante el mismo día en que se va a utilizar con el fin de que no se oxide el medio, ya que debe tener condiciones reductoras para que la inhibición y diferenciación sean efectivas. Debido a que este medio es altamente selectivo podemos inocularlo directamente y/o utilizando medio de enriquecimiento. Se incula por agotamiento y se incuba de 24 a 48 hrs. a 37°C.

**Agar Urea.**

Es utilizado para determinar si un microorganismo es capaz de sintetizar la enzima ureasa e hidrolizar a la urea presente en el medio.

La urea contenida en este medio es hidrolizada a dióxido de carbono y amoníaco por la enzima ureasa.



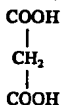
El amoníaco producido en esta reacción confiere un pH alcalino al medio, lo cual se verifica con el cambio de color al rojo púrpura por la presencia del indicador rojo de fenol. Las bacterias ureasa negativos no cambian la coloración del medio.

El agar urea es preparado en dos fases: primero se prepara el agar base (9 partes), esterilizándolo en autoclave a 121°C, 15 minutos, dejamos enfriar aproximadamente de 45 a 50°C; la base de urea se prepara de acuerdo a las instrucciones del fabricante y se esteriliza por filtración en membrana de 0.22µ. Se añaden 9 partes de agar por 1 parte de la base de urea, se deja solidificar en forma inclinada. Se inocula por estría en la superficie y se incuba de 18 a 24 hrs. a 35°C.

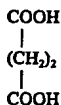
**Caldo malonato.**

Es utilizado para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono.

El malonato es un inhibidor competitivo de la succinato deshidrogenasa, la cual tiene como función producir ácido fumárico a partir del en el ciclo de Krebs. Esta inhibición se debe a que el ácido málico y succínico son estructuralmente similares:



Malonato



Succinato

Esta competencia por el sitio activo de la enzima ocasiona una inhibición en el crecimiento bacteriano, la cual se verá intensificada en función directa a la concentración del malonato, es decir, a mayor concentración de este ácido, mayor será la inhibición. Al haber un bloqueo en el ciclo de Krebs, se acumula el succinato, pero carece de los metabolitos subsiguientes del ciclo, por lo que se auxilia del ciclo del ácido glioxílico para la producción de dichos metabolitos. Sin embargo, la acumulación de succinato inhibe el ciclo del ácido glioxílico para la producción de dichos metabolitos. Sin embargo, la acumulación de succinato inhibe el ciclo del ácido glioxílico al actuar sobre la enzima isocitrasa.

Por lo tanto, sólo podrán desarrollarse los microorganismos que sean capaces de utilizar o fermentar el malonato. La bacteria al utilizar el malonato como fuente de carbono, también utiliza al sulfato de amonio como fuente de nitrógeno, esto libera iones amonio que alcalinizan el medio, tornándolo a una coloración azul por la presencia del indicador azul de bromotimol.

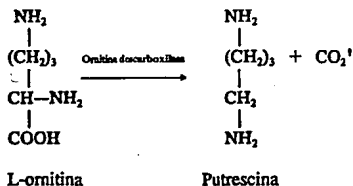
El caldo malonato se distribuye en tubos de 13 x 100, se incuban de 18 a 24 hrs a 35°C de temperatura.

**Medio movilidad indol ornitina (MIO).**

Se utiliza para verificar la movilidad de un microorganismo, así como también observar su capacidad para producir indol y descarboxilar a la ornitina.

Con respecto a la movilidad y la producción de indol se explica más adelante en el medio SIM.

La ornitina es descarboxilada por la enzima ornitina descarboxilasa, produciendo una diamina (putrescina) y dióxido de carbono:



Una prueba positiva está dada por el cambio de pH en el medio a alcalino, con el consiguiente cambio de coloración del medio al púrpura por la presencia de púrpura bromocresol.

Este medio se coloca en tubos de 13 x 100 ó 12 x 75; su consistencia es semisólida. Se incuba de 18 a 24 hrs. a 35°C. Se deben leer movilidad y la descarboxilación de la ornitina antes de agregar el reactivo de Ehrlich.

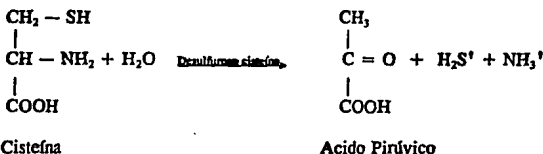
**Medio Sulfhídrico-Indol-Movilidad (SIM).**

Este medio es utilizado para verificar si un microorganismo es capaz de producir ácido sulfhídrico e indol, además para observar si el organismo en estudio es móvil.

**Producción de Acido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S):** Los mecanismos azufrados libres pueden ser utilizados por algunas especies bacterianas heterotróficas como fuente de azufre con la liberación del ácido sulfhídrico (gas); además estos microorganismos pueden utilizar otras fuentes de azufre, de las cuales pueden producir dicho ácido. Un ejemplo de estas fuentes son las peptonas y algunos compuestos inorgánicos del azufre: sulfatos, tiosulfatos o sulfitos.

Los mecanismos utilizados por estos microorganismos para la producción del ácido sulfhídrico son:

- Reducción del azufre presente en los aminoácidos metionina, cistina y cisteína en condiciones anaerobias, ejemplo:

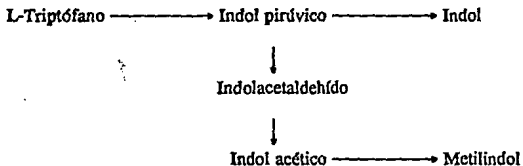


- Respiración anaerobia utilizando un compuesto de azufre como último aceptor de electrones, ejemplo:



Debido a que el ácido sulfhídrico es incoloro, se revela su presencia reaccionando el sulfuro con la sal de un metal pesado como el fierro, el plomo o el bismuto, formando un precipitado de color negro. Este mecanismo está presente en los medios SIM, agar TSI y LIA, agar Salmonella-Shigella y el agar Sulfito Bismuto, entre otros. El medio SIM es más sensible que el agar TSI en cuanto a la producción de este ácido, debido a que la presencia de sacarosa en el TSI, puede inhibir la producción de sulfhídrico.

**Producción de Indol:** El indol es un metabolito derivado del catabolismo del triptófano (aminoácido aromático); el triptófano puede ser oxidado por algunas bacterias para formar tres metabolitos indólicos principales: Indol, escatol (metilindol) e indolacético, mediante el complejo enzimático triptofanasa:



El indol producido puede ser detectado al reaccionar con el p-dimetilaminobenzaldehído (reactivo de Ehrlich), ya que producen un compuesto quinoidico de color rojo violáceo en medio ácido. Movilidad: Debido a la consistencia semisólida de este medio, podemos observar si una bacteria es móvil o inmóvil, al observar el movimiento de los microorganismos a partir de la línea de siembra. En el caso de que las bacterias sean móviles, el medio adquiere turbidez, a diferencia de las capas inmóviles que solo desarrollan en la línea de inoculación.

El medio SIM se coloca en tubos de 12 x 75 en forma vertical. Se incuba a 35°C de 18 a 24 hrs, leyendo producción de sulfhídrico y movilidad antes de añadir el reactivo de Ehrlich.



Tabla 13. Características Bioquímicas para la diferenciación de algunas Enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*.

ESPECIE	Glu	Lac	Sac	Cit	Malo	LD	OD	S	I	M	Gas	Urea
<i>Salmonella typhi</i>	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
<i>S. cholerae-suis</i>	+	-	-	(+)	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>S. enteritidis</i>	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>S. paratyphi A</i>	+	-	-	(+)	-	-	+	+	-	+	+	-
<i>Arizona kinshawi</i>	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	(+) +	d	+	d	-	d	d	-	+	+	d
<i>Edwardsiella tarda</i>	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>E. aerogenes</i>	+	+	+	(+)	+	+	+	-	-	+	+	-
<i>E. hafnia</i> *	+	-	d	(+)	+	+	+	-	-	+	+	-
		(+)		+	-							
<i>E. liquefaciens</i> *	+	d	+	+	-	+	+	-	-	+	+	d
<i>Escherichia coli</i>	+	+	d	-	-	d	d	-	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	d	+	-	-	+	+	-	+	+	+
				(+)								
<i>P. Morganii</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	d	+
<i>P. reuteri</i>	+	-	d	+	-	-	-	-	+	+	-	+
<i>P. vulgaris</i>	+	-	+	d	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Providencia spp</i>	+	-	d	+	-	-	-	-	+	+	d	-
<i>Serratia marsescens</i>	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	d
<i>Shigella spp</i>	+	d	d	-	-	-	d	-	-	+	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+

+ 90% de las cepas o más positivas en 1 o 2 días

- 90% o más negativas en 1 o 2 días

+/- Diferentes tipos bioquímicos

(+) Positivas después de 9 días de incubación

\* 30 a 37°C.

Fuente: Edwing E. *Identificación de Enterobacteriaceae*.

Tabla 14. Diferenciación Bioquímica de las especies de *Salmonella*

ESPECIE	Treh	Arab	Cit	Gas	OD
<i>S. cholera-suis</i>	-	-	(+)	+	+
<i>S. enteritidis</i>	+	+	+	+	+
<i>S. typhi</i>	+	-	-	-	-

Fuente: Edwing, E. *Identification of Enterobacteriaceae*.

Abreviaturas utilizadas:

- Glu: Fermentación de Glucosa
- Lac: Fermentación de Lactosa
- Sac: Fermentación de Sacarosa
- Cit: Utilización de Citrato
- Malo: Utilización de Malonato
- LD: Descarboxilación de Lisina
- OD: Descarboxilación de Ornitina
- S: Producción de Ácido Sulfhídrico
- I: Producción de Indol
- M: Movilidad
- Gas: Producción de Gas en TSI
- Urea: Desdoblamiento de Urea
- Treh: Fermentación de Trehalosa
- Arab: Fermentación de Arabinosa.

## PREPARACION DE SOLUCIONES

ALCOHOL-ACETONA	Etanol al 96%	700 ml.
	Acetona	300 ml.
LUGOL	Yodo	5.0 g.
	Yoduro de potasio	10.0 g.
	Agua cbp	100 ml.
SAFRANINA	Safranina	0.25 g.
	Etanol al 96%	10 ml.
	Agua cbp	100 ml.
	Disolver la safranina en el alcohol; aforar	
SOLUCION SALINA ISOTONICA	Cloruro de Sodio	8.5 g.
	Agua cbp	1000 ml.

Tabla 14. Número más probable (NMP) de *Salmonella*/100 ml en lodos primarios y efluentes con tiempos de retención de 7, 14, 21 y 28 días.

FECHA	INFLUENTE				DIGESTOR 1				DIGESTOR 2				DIGESTOR 3				DIGESTOR 4			
	Factor de dilución			NMP (10 <sup>6</sup> )	Factor de dilución			NMP (10 <sup>6</sup> )	Factor de dilución			NMP (10 <sup>6</sup> )	Factor de dilución			NMP (10 <sup>6</sup> )	Factor de dilución			NMP (10 <sup>6</sup> )
	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
24/03/92	3	3	0	240	3	2	3	210	3	2	3	210	3	2	0	93	3	0	3	64
26/03/92	3	3	1	460	3	2	0	93	2	3	1	28	2	2	0	21	2	2	0	21
31/03/92	2	1	2	20	1	3	1	11	1	0	0	4	0	1	0	3	0	1	0	3
02/04/92	3	2	0	93	2	3	1	28	1	0	0	4	1	1	0	7	1	0	1	7
07/04/92	3	3	2	1100	3	2	0	93	3	1	0	43	1	3	1	11	0	2	0	3
09/04/92	3	2	1	150	3	0	1	39	2	2	0	21	1	3	1	11	2	0	0	9
14/04/92	3	0	3	64	3	1	0	43	2	2	0	21	2	2	0	21	2	2	1	21
23/04/92	3	3	0	240	3	2	0	93	0	2	0	28	2	3	1	28	2	2	0	21
28/04/92	3	2	3	210	3	2	1	150	3	2	0	93	2	2	0	21	2	0	1	14
03/05/92	2	2	0	21	2	1	2	20	1	0	0	4	1	0	0	4	0	2	0	3
07/05/92	1	3	1	11	2	0	0	9	1	0	0	4	0	2	0	3	0	1	0	3
12/05/92	1	3	3	11	1	0	1	7	1	0	0	4	0	1	0	3	0	1	0	3
14/05/92	3	2	0	93	3	0	1	39	2	2	0	21	2	0	0	9	1	0	0	4
19/05/92	3	0	3	64	3	1	0	43	2	3	1	28	1	3	1	11	1	3	2	11
21/05/92	2	0	0	9	1	1	0	7	0	2	0	3	0	1	0	3	1	0	0	4

Tabla 14. Número más probable (NMP) de *Salmonella*/100 ml en lodos primarios y efluentes con tiempos de retención de 7, 14, 21 y 28 días. (cont.)

FECHA	INFLUENTE				DIGESTOR 1				DIGESTOR 2				DIGESTOR 3				DIGESTOR 4			
	Factor de dilución			NMP (10 <sup>3</sup> )	Factor de dilución			NMP (10 <sup>3</sup> )	Factor de dilución			NMP (10 <sup>3</sup> )	Factor de dilución			NMP (10 <sup>3</sup> )	Factor de dilución			NMP (10 <sup>3</sup> )
	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
26/05/92	3	0	0	23	2	2	0	21	1	0	0	4	0	1	0	3	0	1	0	3
28/05/92	1	3	1	11	2	0	0	9	1	1	0	7	0	2	0	3	1	0	0	4
02/06/92	3	3	3	2400	3	3	1	460	3	3	0	240	3	2	3	210	3	2	0	93
04/06/92	2	0	1	14	1	3	1	11	1	1	0	7	1	0	0	4	1	0	0	4
09/06/92	3	3	3	2400	3	3	2	1100	3	3	1	460	3	2	1	150	3	2	1	150
11/06/92	3	3	2	1100	3	3	0	240	3	0	3	64	2	3	1	28	1	2	1	11
16/06/92	2	1	1	20	1	3	1	11	1	3	1	11	1	3	3	11	1	1	0	7
18/06/92	2	3	1	28	2	1	1	20	1	3	1	11	2	0	0	9	1	1	0	7
23/06/92	3	3	3	2400	3	2	3	210	3	2	1	150	3	2	0	93	3	2	0	93
25/06/92	3	2	3	210	3	0	3	64	3	0	3	64	3	1	0	43	3	0	1	39
30/06/92	2	3	1	28	2	2	0	21	1	3	1	11	1	1	0	7	1	1	0	7
02/07/92	2	3	1	28	1	1	0	7	1	1	0	7	1	0	0	4	1	0	0	4
07/07/92	1	3	0	11	2	0	0	9	2	0	0	9	2	0	0	9	1	0	3	7
14/07/92	2	1	1	20	1	3	0	11	1	2	0	11	1	1	0	7	2	0	1	14
16/07/92	3	3	1	460	3	3	0	240	3	2	1	150	3	2	0	93	3	0	3	64