

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS Y ANAEROBIOS EN AGUAS
RESIDUALES OBTENIDAS A PARTIR DE UN TRATAMIENTO DE
FILTRACIÓN EN UNA GRANJA PORCINA A PEQUEÑA ESCALA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

ALDO MEJÍA RAMOS

Asesores:

MCV. GERARDO RAMIREZ HERNANDEZ
MCV. ROSARIO ESPERANZA GALVÁN PEREZ

MÉXICO, D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

D.E.D.I.C.A.T.O.R.I.A.S

Con gran admiración a mis padres Acacio Mejía Hernández

y

Gisela Ramos Espinosa.

Como testimonio de sus esfuerzos por hacerme un hombre de provecho.

A mis hermanos Vicente, Nain, Nori y Astrid, que hemos vivido toda una vida juntos, recordándoles que todo se puede en esta vida con un poco de esfuerzo.

A Yosi mi mascota una perra Doberman.

Por que ella me hizo recordar y tomar la decisión de estudiar esta carrera tan noble como ella misma.

"Nuestras dudas son traicioneras, y nos hacen perder lo bueno que podíamos ganar, por miedo a hacer el intento."

Shakespeare

AGRADECIMIENTOS

A mis padres. Por darme la vida, enseñarme a superar los obstáculos que se presentan en ella y por dejarme ser libre en mis decisiones y apoyarme en ellas.

A mi Mamá, por acompañarme toda mi vida y estar allí siempre que la he necesitado, por su gran fuerza, carácter e incansable voluntad de trabajar y apoyarnos. La admiración que le tengo me ha hecho salir adelante.

A mi papá por creer siempre en mí, brindarme su apoyo incondicional y cambiar muchas cosas para mantener unida a nuestra familia.

A mis hermanos por que de ellos he aprendido muchas cosas., A Vicente su dedicación, a Naín su nobleza y gran voluntad para casi todas las cosas, a Noé por mostrar que podemos pensar diferente y que a pesar de ser serio mostrar su sensibilidad, y a mi hermanita Astrid, su gran alegría y su apoyo en alguno de los momentos más difíciles de mi vida. Por esto y otras tantas virtudes que ustedes tienen se que nunca me van a defraudar y que siempre vamos ha estar juntos para compartir triunfos como el que yo acabo de realizar, sabiendo que no solo es mío si no también de ustedes.

A mi asesor MCV Gerardo Ramírez Hernández por su paciencia, consejos y todo su apoyo para elaborar esta tesis, mostrando siempre su sencillez y brindando su amistad.

A mi asesora MCV Rosario Esperanza Galván Pérez por su gran apoyo y paciencia en el Laboratorio, ya que sin esto no hubiera sido posible este trabajo.

Al M.P.A. M. Antonio Herradura Lozano por las facilidades otorgadas para la recolección de las muestras que se utilizaron para realizar este trabajo y al MCV. Dr. Gustavo Martínez Gamboa por algunos consejos y su desinteresada ayuda para aclarar cualquier duda de mi parte.

A los miembros del jurado: MIV. Gustavo Adolfo García Delgado, MIV. Mario Haro Truado, MIV. Edgar Alfenseca Silva Y MIV. Carmen Mercado García, por su tiempo y su buena voluntad al revisar esta tesis.

A todas las personas que conocí y que conforman el D.P.A. Cerdos, profesores, alumnos etc. que de una u otra forma me ayudaron a consolidar este trabajo o que simplemente me brindaron su amistad. A los MIV. Ernesto Hurtado, Abigail Bravo, Mariana García, Raymundo Oropesa. A los P.MIV. Angelica Pineda, Esti Topía, Marco Arenas. A Victor Méndez por su gran apoyo en el laboratorio y Especialmente a mi amiga MIV. Ana Cordero L. por brindarme su amistad y por su invaluable apoyo en la elaboración de este trabajo.

A proyecto P.A.P.P.T. IAN223903 Sistema alternativo para el tratamiento y aprovechamiento de aguas residuales de granjas porcinas, propuesta para disminuir la contaminación ambiental.

A todos los amigos que conocí a lo largo de esta carrera, por su amistad y apoyo en alguna parte de ella.

A Mi Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por darme esta gran formación como Profesionista.

CONTENIDO

ÍNDICE	PÁGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
HIPÓTESIS	23
OBJETIVOS	24
MATERIAL Y MÉTODOS	25
RESULTADOS	34
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIONES	40
LITERATURA CITADA	41

LISTA DE CUADROS

PÁGINA

1. Porcentaje de remoción de bacterias en diferentes procesos de tratamiento. 16
2. Características operacionales de los filtros granulares comúnmente utilizados 17
3. Temperatura y pH de las muestras de cada fase del sistema. 34
4. Promedio de UFC/ml para la fosa de sedimentación, filtro 1, filtro 2 y filtro 3. 35
5. Número de aislamientos positivos a *Salmonella* spp. de acuerdo a las etapas del sistema de tratamiento de agua residual. 35

LISTA DE FIGURAS	PÁGINA
1. Vista panorámica del sistema de tratamiento de agua.	26
2. Muestreo realizado en el primer filtro.	27
3. Tiras reactivas de medición de pH	27
4. Conservación de las muestras en refrigeración.	28
5. Placas con agar para la realización del conteo de enterobacterias	29
6. Frascos con caldo selenito de sodio inoculado con agua residual	30
7. Sobres de Gaspak para el aislamiento de <i>C. perfringens</i> .	32

RESUMEN

MEJÍA RAMOS ALDO. Identificación de enterobacterias y anaerobios en aguas residuales, obtenidas a partir de un tratamiento de filtración en una granja porcina a pequeña escala. Bajo la asesoría de MCV. Gerardo Ramírez Hernández y MC. Rosario Esperanza Galván Pérez.

Los objetivos del trabajo fueron cuantificar enterobacterias (Ent) e identificar la presencia de *Salmonella spp.* (Ss), y *Clostridium perfringens* (Cp) en agua residual obtenida de un tratamiento de filtración que consiste en la separación de sólidos, fosa de sedimentación y tres filtros, utilizando tezontle como medio filtrante. Las muestras se obtuvieron de: fosa de sedimentación (FS), después del primer filtro (DF1), segundo filtro (DF2) y tercer filtro (DF3). Dos muestras para cada punto de muestreo. Para establecer la homogeneidad del muestreo se repitió durante cinco semanas, obteniendo finalmente un total de 40 muestras. A cada muestra se le realizó el conteo de Ent (UFC/ml), el aislamiento y la tipificación de Ss y el aislamiento de Cp. Los resultados fueron los siguientes: Para el conteo de Ent (UFC/ml) fue: FS=1.48 x 10⁷, DF1=2.31 x 10⁶, DF2=6.9 x 10⁵ y DF3=8.8 x 10⁵; no mostrando diferencia estadística significativa (p>0.05) a través de la prueba de Tukey. Se aisló *Salmonella enterica* en 6 de 40 muestras (15%), en todos los puntos de muestreo. El aislamiento de Cp fue negativo. Por lo que se concluye que este sistema de filtración para el tratamiento de agua residual no elimina estos microorganismos patógenos.

INTRODUCCIÓN

En nuestros días las explotaciones pecuarias se han intensificado, transformándose en sistemas de confinamiento con alta densidad de población, por lo que las excretas llegan a ser un problema real de contaminación ambiental ⁽¹⁾. En México las granjas porcícolas se encuentran ampliamente distribuidas en el territorio nacional. Por esto las actuales granjas que están en operación son ya, inevitablemente, fuentes de contaminación que afectan a la sociedad en su conjunto ⁽²⁾.

La gravedad de la contaminación por producción de excretas, se puede establecer si se considera que un cerdo elimina diariamente entre 0.6 a 1.0% de su peso vivo en materia seca fecal ⁽²⁾, si se toma en cuenta que la producción de cerdos en México a partir de 1996 se ha venido incrementando de forma más activa, pasando de 12.45 a 13.86 millones de cabezas en el 2002. ⁽³⁾

Por lo tanto el impacto ambiental de las granjas porcinas está dado por los siguientes factores ⁽⁴⁾:

- Concentración de miles de animales en un espacio reducido (sistema intensivo).
- Desarrollo de unidades de producción porcícolas especializadas, sin un planteamiento de estrategias de manejo de los desechos producidos en éstas.
- Sistemas de alimentación con un gran contenido de proteína que el sistema digestivo del cerdo no es capaz de asimilar.
- Limitaciones para la utilización de tecnología en el manejo de sus desechos y el ineficiente uso de las aguas residuales en las granjas.

La mezcla de residuos sólidos y líquidos que son acarreados por el agua de lavado se conoce como **agua residual**; sus principales ingredientes son las excretas (heces y orina), agua, alimento desperdiciado, suelo y otras partículas.

Las tasas de excreción de heces y orina (H y O) dependen de múltiples factores: la edad del animal, su madurez fisiológica, la cantidad y calidad del alimento ingerido, el volumen del agua consumida, el clima y otros factores menos importantes ^(2, 5, 6).

Los desechos producidos en las granjas porcícolas están constituidos por estiércol, compuesto por 2/3 orina (95% humedad) y un 1/3 por heces (75.8% de humedad), produciendo así aguas residuales que equivalen al 4% del peso vivo y gases como el amoníaco y el sulfuro de hidrógeno ⁽⁵⁾.

En México sólo hay dos estudios que han abordado el impacto de las aguas residuales de las granjas porcinas ⁽⁴⁾. El primero fue una encuesta realizada en 221 granjas de las 500 afiliadas al Consejo Mexicano de Porcicultura en 10 estados del país en el año de 1994 y el segundo es un trabajo académico circunscrito al estado de Yucatán, cuyo objetivo fue estudiar los aspectos económico-ambientales de los desechos porcinos. Entre los resultados que arrojaron estos estudios podemos destacar los siguientes:

- Debido a la gratuidad del agua para las actividades agropecuarias, los porcicultores ignoran la cantidad de agua que utilizan en la granja, hacen un uso ineficiente de la misma y esto complica la instalación de sistemas de tratamiento.

- El 30% de las granjas encuestadas usaban el agua residual para riego agrícola y el 38% descargaba a un cuerpo receptor propiedad de la nación, particularmente a drenes.
- La mayoría de las granjas (76%) contaban con algún tipo de tratamiento, por lo general un cárcamo y lagunas de estabilización; las dimensiones de estas instalaciones no eran las adecuadas para el tamaño de granja. El 10% de las granjas descargaba agua residual sin tratar a cuerpos receptores de agua.
- El 23% de las granjas encuestadas utilizaban las excretas en la alimentación de rumiantes y sólo el 3% la reciclaba en la granja.
- Sólo una granja contaba con un sistema de tratamiento completo: fosa, separador, digestores, separación química y clarificador.

Los principales contaminantes presentes en las excretas porcinas son: la materia orgánica biodegradable que constituye hasta el 55% de su composición, patógenos, nitrógeno y minerales como fósforo, cobre, zinc y arsénico ^(5, 7, 8).

Por lo tanto el uso de excretas sin tratamiento y sin evaluación de las condiciones microbiológicas de éstas, pueden resultar en el riesgo de transmisión de enfermedades, especialmente de tipo entérico ⁽⁹⁾, ya que tanto los efluentes líquidos como la fracción sólida de las excretas, pueden contener gran cantidad de organismos patógenos, los cuales pueden sobrevivir por largos periodos de almacenamiento ^(10, 11).

Esta preocupación ha propiciado cambios en las instalaciones para cerdos y en los sistemas de manejo de residuales ⁽⁴⁾, y en la elaboración de normas que

regulen esta contaminación, como la NOM-001-ECOL-1996 ⁽¹²⁾. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales; además protege la contaminación de 5 cuerpos receptores, que según esta ley son: ríos, embalses naturales y artificiales, aguas costeras, suelo y humedales naturales. Esta ley regula también el uso del agua proveniente de estos cuerpos receptores como son, riego agrícola, uso público urbano, protección de vida acuática, explotación pesquera, navegación y otros usos, recreación, estuarios. Se deben considerar algunas características como la concentración de contaminantes básicos como: arsénico, cadmio, cianuro, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, zinc, parámetros como temperatura (°T), grasas y aceites, materia flotante, sólidos sedimentables (ss), sólidos suspendidos totales (SST), demanda bioquímica de oxígeno (DBO), nitrógeno total (NT), fósforo total (FT) y contaminación por patógenos y parásitos, tomando como indicador a los coliformes fecales y huevos de helmintos el límite máximo permisible para las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales, así como las descargas vertidas a suelo (uso en riego agrícola) es de 1,000 y 2,000 como número más probable de coliformes fecales/100ml para promedio mensual y diario, respectivamente. Por otra parte, en lo que respecta a parásitos, el límite máximo permisible para las descargas vertidas a suelo (uso en riego agrícola), es de un huevo de helminto por litro para riego no restringido, y de 5 huevos por litro para riego restringido.

Por lo expuesto anteriormente, se han desarrollado sistemas de tratamiento, los cuales son el conjunto de operaciones (tratamiento físico) y procesos unitarios (tratamiento químico y biológico), que permiten el reciclaje de la parte

sólida y líquida de las excretas. Uno o varios de estos son convenientes para su utilización como ingrediente alimenticio, mejorando sus propiedades nutricionales y de manejo.

Dependiendo de la función principal de eliminación o por el tipo de operación o proceso que se lleve a cabo en él, se clasifican en los siguientes grupos ⁽¹³⁾:

- a) **Tratamiento preliminar.** Remoción del material grueso mediante su cribado o desmenuzado, así como de arenas, grasas o ambas.
- b) **Tratamiento primario.** Permite remover, mediante sedimentación, sólidos orgánicos e inorgánicos; comprende también la remoción de natas o grasas flotantes y a la espumación cuando es necesario.
- c) **Tratamiento secundario.** Se refiere al tratamiento biológico, en el cual la materia orgánica, al servir de alimento a una masa biológica, se convierte en materia removible por sedimentación secundaria.
- d) **Tratamiento terciario o avanzado.** Corresponde al conjunto de procesos físicos y químicos para remover contaminantes remanentes en un agua tratada a nivel secundario, o bien, aumentar la eficiencia en la remoción de uno o varios parámetros en los niveles primario y secundario.

TRATAMIENTOS FÍSICOS

SEPARACIÓN DE SÓLIDOS Y LÍQUIDOS: Para llevar a cabo este proceso los equipos más utilizados, son las pantallas estacionarias o cribas y los separadores de tornillo de prensa. La primera puede remover sólo parte del agua libre por gravedad y nada de la depositada por capilaridad en las mezclas

de sólidos y líquidos. Estos aparatos sólo son eficaces con aguas residuales extremadamente diluidas (menos del 1% de sólidos, 99% humedad). Si los desechos tienen que diluirse para facilitar su separación, entonces el volumen de dilución del agua empleada es tan grande que incrementa significativamente el volumen de aguas residuales que se deben tratar. En el segundo caso, se exprime toda el agua libre, más algo de la depositada por capilaridad, produciendo sólidos secos que se pueden transportar fácilmente y usarse en alimentos balanceados. Los sólidos separados tienen un contenido óptimo de humedad para que continúe el proceso de deshidratación y almacenarlos por largo plazo, adquiriendo una estructura de partículas en forma de panal. Esta estructura de los sólidos separados permite el movimiento libre del aire para el composteo y/o el secado a un bajo contenido de humedad tanto para la deshidratación o la formulación en raciones alimenticias ⁽¹⁴⁾. Con este método se recupera tanto el alimento digerido como el no digerido y se disminuye la cantidad de humedad. Las ventajas que se tienen son: reducción del volumen de desechos a tratar, mayor aceptación por parte de los animales, pueden usarse como ingredientes de la ración o como fertilizante del suelo, su almacenamiento y transporte es más sencillo, y minimiza olores desagradables.

Dentro de sus desventajas están: elevada pérdida de nutrientes cuando los líquidos no son utilizados, la presencia de microorganismos patógenos, se tiene una elevada inversión inicial así como un alto costo por mantenimiento del mecanismo de separación de sólidos y líquidos, y no siempre logra justificar el ahorro en el tratamiento de agua, además este equipo es recomendado para granjas con grandes instalaciones ^(15, 16, 17).

DESIDRATACION AL SOL: Se emplea para lograr un producto seco que pueda ser almacenado de manera más adecuada ⁽¹⁾.

Ventajas: El material seco es fácil de incorporar en una dieta completa, tanto la contaminación del aire como los costos de energía se disminuyen, el manejo que se requiere es mínimo ^(1, 15).

Desventajas: Se pierde gran cantidad de nutrientes, el material puede contener patógenos, tiene que ser pulverizado antes de usarse si tiene terrones grandes. El éxito de este procedimiento depende de que sea realizado en zonas áridas o semiáridas, ya que el secado lento limita el porcentaje de utilización. Otra desventaja es que sólo la porción sólida es utilizada ⁽¹⁶⁾.

SECADO ARTIFICIAL: De la misma manera que el secado natural, este método es utilizado para lograr un producto seco que pueda ser almacenado. La aceptación por el animal es buena, las altas temperaturas a las que son sometidas eliminan patógenos y las heces secas son desodorizadas, la desventaja de este proceso es el requerimiento de equipo y costos por energía, así como la necesidad de transportar las excretas a los deshidratadores que lo hacen incosteable ^(1, 16).

TRATAMIENTOS QUÍMICOS

Dentro de este tratamiento se emplean bacterias biodegradables, solventes o el uso de alternativas de origen enzimático.

El tratamiento químico sólo se ha utilizado como alternativa de terminado o de pulido de aguas residuales, después de los tratamientos aerobios y anaerobios. Actualmente se ha propuesto un tipo de tratamiento químico de las excretas que consta de una separación mecánica de sólidos, seguida de una flotación auxiliada con coagulantes inorgánicos. En esta fase se presenta la alternativa de uso de agua en algún tipo de riego agrícola, o el posterior tratamiento secundario con una fase de nitrificación-desnitrificación, para llevar las aguas a cuerpos receptores. La aceptación por el animal es buena, el producto se puede utilizar inmediatamente en la dieta reduciendo pérdidas de nutrientes y evita la necesidad de almacenaje, se controlan muy bien los olores, hay un bajo costo de energía y mano de obra, así como la parte sólida y líquida de las excretas. Las desventajas de este proceso es que es necesario un manejo y proceso diario, la poca durabilidad no permite un almacenaje durante largos periodos, se requiere de un equipo de mezclado y los productos químicos empleados son muy costosos ^(1, 16).

TRATAMIENTO BIOLÓGICO

LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN: Estas lagunas se consideran parte de los tratamientos biológicos secundarios. Esta alternativa de aprovechamiento utiliza la actividad bacteriana para degradar la materia orgánica presente en los desechos ⁽¹⁷⁾.

Las lagunas se clasifican respecto a los procesos que intervienen en ellas, en:

ANAEROBIAS: En estas lagunas el proceso biológico se lleva a cabo sin la presencia de oxígeno. Las bacterias involucradas en el proceso pueden ser de dos categorías, ya sean las que forman ácido láctico o la que forman metano. Estas lagunas requieren menor superficie, pues su volumen se cubre en gran parte con la profundidad que se le proporcione, de esta manera, es una alternativa más económica en comparación a las lagunas aeróbicas. Producen subproductos que pueden ser aprovechados como agua de bebida o riego, medio de crecimiento de peces y algas, o los sedimentos pueden ser utilizados como fertilizantes o alimento para animales ⁽¹⁷⁾. La desventaja de este proceso es que produce malos olores debido a la producción excesiva de compuestos sulfurados. Es necesaria una temperatura adecuada para que se lleve a cabo la digestión, ya que temperaturas bajas inhiben la acción de las bacterias. Durante el proceso se forman lodos que se deben ser removidos periódicamente ⁽¹⁸⁾.

AEROBIAS: En este proceso biológico se realiza a través de bacterias aerobias que degradan la celulosa y lignina muy lentamente ^(17,18). Los sistemas aeróbicos pueden ser aireados natural o mecánicamente. Los sistemas naturales son oxigenados por turbulencia o por crecimiento de algas, las que utilizan los desechos y la energía solar para producir oxígeno por medio de fotosíntesis. Las lagunas integradas por sistemas mecánicos, obtienen el oxígeno por medio de aireadores superficiales flotantes que operan con difusores de aire capaces de proporcionar oxígeno a lagunas de más de 6 metros de profundidad ^(17, 19). Las ventajas que tienen es que son libres de malos olores, los residuos no contienen bacterias patógenas y las aguas

tratadas pueden ser fuente de nutrimentos para el crecimiento de algas y peces. Su principal desventaja es el alto costo por consumo de energía ⁽¹⁹⁾.

FACULTATIVAS: Se caracterizan por que dentro de la misma unidad se lleva a cabo tanto procesos aeróbicos como anaeróbicos, en la superficie de la laguna se lleva a cabo el primero y en el fondo el segundo, las bacterias facultativas se encuentran entre estas dos zonas. Estas lagunas suelen ser aireadas en forma natural, a pesar de que parte del oxígeno requerido para mantener condiciones aerobias en las capas superficiales viene de la reaeración a través de la difusión del oxígeno del aire, la mayor parte la dan las algas que proliferan en estas lagunas, a través de su actividad fotosintética. Al emplear las bacterias este oxígeno de las algas, ellas producen a su vez CO₂ que es empleado por las algas durante la fotosíntesis dado que su demanda supera la difusión del aire atmosférico. Existe entonces una simbiosis benéfica entre los dos bio-ecosistemas que permite la oxidación de la materia orgánica contaminante. Sin embargo, dado que hay periodos de oscuridad, se tienen oxipausas donde la concentración de oxígeno baja considerablemente, así como el pH ya que durante el día por el alto consumo de CO₂, los iones de bicarbonato presentes en la disolución se disocian para generar más oxígeno y liberan iones hidroxilo que aumentan el pH por arriba de 9, aumentando la tasa de mortalidad de las bacterias fecales. Durante la noche ocurre el fenómeno inverso y por lo tanto baja el pH ^(13, 19, 20).

LAGUNAS DE MADURACIÓN: Las lagunas de maduración se usan como una segunda etapa de las facultativas. Su tamaño y número depende de la calidad bacteriológica del efluente final. Su principal función es la

destrucción de los microorganismos patógenos; en estas lagunas no hay una zona anaerobia, solo existe una zona aerobia, la cual tiene la función de remover los microorganismos patógenos, lo que ocurre con la sedimentación de algunas bacterias o por su muerte ocasionada por los rayos ultravioleta del sol. Esta función es extremadamente eficiente, con diseños adecuados se logra hasta el 99.99 % de eliminación de coliformes fecales ^(13, 20).

En general algunas bacterias fecales son removidas en las lagunas anaerobias y facultativas principalmente por sedimentación de bacterias asociadas a los sólidos, pero especialmente en lagunas de maduración cuyo tamaño y número determina la cantidad de coliformes fecales en el efluente final. Los principales mecanismos de remoción de bacterias fecales en las lagunas facultativas y de maduración se deben a:

- a) Tiempo y temperatura
- b) pH alto (>9)
- c) Alta intensidad de luz solar

DIGESTORES ANAERÓBICOS: Por medio de la digestión anaerobia del estiércol, es posible obtener energía. Las excretas al ser digeridas de manera anaerobia forman biogás, el que puede ser recuperado, filtrado, comprimido e introducido a dispositivos de gas, y ser utilizado como combustible para calentamiento, generadores de vapor que a su vez pueden generar energía cinética. La principal desventaja es el costo de esta tecnología ^(18, 21).

ENSILAJE: Es un proceso que tiene como principal objetivo el preservar los nutrientes del material ensilado ⁽¹⁾. El ensilado tiene buena aceptación por el animal; presenta baja pérdida de nutrientes; la mezcla antes de ensilar no requiere demasiados ajustes, el material puede ser fácilmente almacenado, los patógenos pueden ser controlados aproximadamente a los 11 días de ensilaje. Por lo tanto, es un tratamiento de las excretas que elimina los microorganismos patógenos y las deja aptas para la alimentación animal, los olores ofensivos son controlados; si las excretas son frescas se aprovecha la parte sólida y líquida. La desventaja de este sistema es que existe la posibilidad de incorporar materiales indeseables al ensilado, se requiere equipo mecanizado o mano de obra para el transporte, ensilaje y movilización al almacén y otras operaciones, se requieren silos herméticos para el proceso y éxito del ensilaje ⁽¹⁵⁾.

TRATAMIENTO ESPECÍFICO PARA LA FRACCIÓN LÍQUIDA DE LAS EXCRETAS.

El agua residual sin tratamiento previo no puede ser utilizada prácticamente para ningún uso, por presentar riesgos e inconvenientes serios. Según el empleo o destino final a que se destine el agua tratada, debe llevarse a cabo la transformación de ésta, por medio de distintas operaciones y procesos de tratamiento o combinación de varios de ellos, algunos de estos ya mencionados.

Los procesos y operaciones unitarias más comunes en el tratamiento avanzado o terciario de las aguas residuales; según los contaminantes que se tengan que

eliminar después del tratamiento secundario, y el uso que se pretenda dar al agua tratada.

- 1.- Desinfección
- 2.- Filtración
- 3.- Eliminación de compuestos tóxicos –absorción
- 4.- Eliminación de sustancias inorgánicas disueltas
- 5.- Nitrificación
- 6.- Desnitrificación
- 7.- Eliminación de fósforo

En este caso sólo se abunda en los puntos 1 (desinfección) y 2 (filtración) por cuestiones que involucran al presente trabajo.

DESINFECCIÓN

La desinfección es la destrucción selectiva de los microorganismos patógenos, esta es la diferencia con la esterilización, en esta última se destruyen todos los organismos presentes en el agua.

TIPOS DE DESINFECCIÓN

La desinfección se puede dividir en natural y artificial.

La natural se refiere a la eliminación y muerte progresiva de las bacterias producida por agentes naturales tales como la luz solar, la sedimentación, la filtración en las capas arenosas del suelo o la estabilización de la materia orgánica que disminuye la reserva de alimento para los microorganismos.

La artificial puede realizarse mediante agentes químicos, físicos y medios mecánicos, así como por radiación.

AGENTES QUÍMICOS

Los agentes químicos que se han usado como desinfectantes incluyen: fenol y compuestos fenólicos, alcoholes, iodo, cloro y sus compuestos, bromo, ozono, metales pesados y sus compuestos, jabones y detergentes sintéticos, compuestos de cuaternarios de amonio, peróxido de hidrógeno y varios álcalis y ácidos.

El cloro es el desinfectante universal más utilizado. El ozono es un desinfectante sumamente efectivo, su uso se ha incrementado en el tratamiento de aguas y no deja concentración residual. La acidez y la alcalinidad extrema se usan para destruir microorganismos patógenos, debido a que los valores de pH mayores de 11 y menores de 3 son relativamente letales para la mayoría de las bacterias ⁽¹³⁾.

AGENTES FÍSICOS

Los desinfectantes físicos que se han usado son calor y luz. Calentando el agua hasta el punto de ebullición se pueden destruir por ejemplo las bacterias patógenas no esporuladas. El calor se emplea comúnmente en la industria de bebidas y derivados de la leche, pero no es posible aplicar a grandes cantidades de agua por su alto costo.

La luz solar es un buen desinfectante. En particular se emplea la radiación ultravioleta. Existen lámparas de luz UV para desinfectar pequeñas y grandes cantidades de agua. La eficiencia del proceso depende de la presencia de partículas y la penetración de la luz en el agua, por lo tanto es difícil emplear la

radiación UV en la desinfección de aguas residuales cuando se tienen partículas suspendidas ⁽¹³⁾.

MEDIOS MECÁNICOS

Un gran número de bacterias se eliminan por medios mecánicos físicos durante el tratamiento de aguas residuales. Las eficiencias típicas de remoción para varios procesos de tratamiento se presentan en él (cuadro 1) ⁽¹³⁾:

Cuadro 1. Porcentaje de remoción de bacterias en diferentes procesos de tratamiento ⁽¹³⁾.

Procesos	% de remoción
Filtros gruesos	0-5
Filtros finos	10-20
Sedimentación simple	25-75
Precipitación química	40-80
Filtros percoladores	90-95

FILTRACIÓN

Se emplea para conseguir una mayor eliminación de sólidos en suspensión de los efluentes de los procesos de tratamientos biológicos y químicos. También puede considerarse como una operación de pretratamiento para procesos posteriores, por ejemplo antes de que el agua residual tratada sea introducida a: 1.- filtros de carbón activado, 2.- radiación ultravioleta y 3.- antes de otros procesos.

La filtración es una operación unitaria en la que se elimina la materia particulada y se lleva a cabo haciendo circular el agua a través de un lecho granular, con o sin la adición de reactivos químicos. Dentro del estrato granular, la eliminación de los sólidos en suspensión contenidos en el agua residual se realiza mediante un complejo proceso en el que intervienen uno o más mecanismos de separación como el tamizado, interceptación, impacto, sedimentación y adsorción.

El objetivo es producir un efluente con la menor cantidad posible de partículas en suspensión ^(13, 22, 23).

CLASIFICACIÓN DE LOS SISTEMAS DE FILTRACIÓN.

Los principales filtros de medio granular se clasifican atendiendo a: Tipo de funcionamiento, tipo de medio filtrante empleado, sentido de flujo durante la fase de filtración, procedimiento de lavado a contracorriente, y método de control de flujo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características operacionales de los filtros granulares comúnmente utilizados ⁽²²⁾.

Tipo de filtro	Funcionamiento durante la fase de filtración	Funcionamiento durante la fase de lavado
Convencional Semicontinuo , mono, bi y multimedia, flujo descendente	El líquido a filtrar circula a través del lecho filtrante en sentido descendente. En función del método de control del caudal circulante , este puede ser constante o variable	Cuando la turbiedad del efluente empieza a aumentar, o cuando se alcanza la máxima pérdida de carga admisible, se lava el filtro invirtiendo el sentido de circulación del mismo. En la operación de lavado se emplea agua y aire

Generalmente se emplea el término tratamiento terciario o avanzado para incluir una o todas las técnicas mencionadas y por dicho término parecería que los procesos incluidos ocurren después del tratamiento secundario convencional, pero este no siempre es el caso. Algunas operaciones o procesos unitarios de tratamiento secundario o incluso primario pueden reemplazarse por sistemas de tratamiento avanzado ⁽²³⁾.

La mayoría de estos tratamientos se llevan a cabo a gran escala, lo cual requiere de equipo, espacio, alta inversión y tecnificación, además se debe considerar que por lo general los pequeños productores no tienen acceso a esta tecnología (100 hembras reproductoras o menos) en estas granjas, los desechos no son sometidos a ningún tipo de tratamiento o en el caso de existir es únicamente primario. El más utilizado en México es la dilución en agua para posteriormente sedimentar los sólidos y a continuación realizar una separación mecánica, por lo tanto no se pueden dejar de considerar los peligros latentes que existen en el proceso de reciclar excretas animales ⁽¹⁴⁾. Dentro de estos peligros se encuentran algunas bacterias que pueden ser patógenas tanto para el humano como para el cerdo, mismos que pueden eliminarse o sobrevivir en las excretas porcinas por tiempos variables, entre estas se encuentran: *E. coli* enterotoxigénica, *Salmonella spp*, *Clostridium spp*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* y *Brachyspira hyodysenteriae* ⁽²⁴⁾. A continuación se describen algunas características de las bacterias involucradas en este trabajo:

ENTEROBACTERIAS

Están muy difundidas en la naturaleza. Su hábitat se halla principalmente en el intestino del hombre y los animales. Las excretas

contaminan el medio. Estos microorganismos se encuentran en el agua, tierra, los vegetales, los alimentos e incluso en el aire. Muchos géneros tienen importancia médica ⁽²⁵⁾, entre estos se encuentran los géneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Proteus* forman parte de la familia *Enterobacteriaceae*. Comparten características morfológicas y fisiológicas. Las enterobacterias son bacilos o cocobacilos que no presentan una agrupación definida y son Gram negativas. Son microorganismos facultativos, y a excepción del género *Klebsiella* son generalmente móviles. Los géneros *Escherichia*, *Klebsiella* y *Citrobacter* fermentan la lactosa y son conocidos bajo el nombre genérico de enterobacterias “coliformes”. *Salmonella* y *Proteus* no fermentan la lactosa y se conocen como enterobacterias “no coliformes” ⁽²⁶⁾. Las llamadas coliformes se usan como indicadores de contaminación en el agua ya que como se había mencionado se encuentran en un gran número en el tracto intestinal de los humanos y animales. En general se asume que la presencia de coliformes en una muestra de agua indica contaminación fecal ⁽²⁷⁾.

Especies importantes

E. coli, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica* (con seis subespecies): *Salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *hountae*, *indica*, *enterica* (esta última con más de 2000 serotipos): *S. cholerasuis*, *S. enteritidis*, *S.thypimurium*, *S. newport*, *S. dublín*, *S. abortusequi*, *S. abortusovis*, *S. pullorum*, *S. gallinarum* ⁽²⁸⁾.

E. coli puede actuar como patógeno oportunista de procesos misceláneos tales como mastitis, onfaloflebitis, infección de las vías urinarias y de las vías respiratorias. Además, existen serotipos enteropatógenos que se asocian al producción de diarreas en cerdos, bovinos, ovinos, caprinos y equinos; y serotipos asociados a septicemias en bovinos y aves.

S. choleraesuis causa enteritis, septicemia y neumonía en cerdos. Puede actuar como un patógeno primario o como germen de asociación con otros agentes patógenos.

S. enteritidis causa diarreas, septicemia y abortos en distintas especies animales.

C. freundii es un patógeno oportunista que se asocia a infecciones misceláneas como las descritas para *E. coli*.

K. pneumoniae actúa como oportunista de las vías respiratorias y del tracto genital principalmente. Es causa común de mastitis aguda en bovinos, de metritis, cervicitis, y abortos en yeguas.

Las enterobacterias generalmente no son exigentes en sus requerimientos nutricionales. Para su aislamiento generalmente se utilizan medios selectivos y diferenciales como: agar MacConkey, agar verde brillante, agar salmonella –shigella, agar eosina azul de metileno, caldo selenito y caldo tetrionato ^(25, 26).

Salmonella spp

Es un miembro de la familia Enterobacteriaceae, bacilo Gram negativo, móvil y anerobio facultativo. Esta bacteria se puede multiplicar entre los 7 y 45 °C y sobrevive al frío y la desecación, persistiendo por semanas, meses o años en sustratos orgánicos con pH menores a 5. La habilidad para sobrevivir en el ambiente, así como su prolongado estado de portador en innumerables hospedadores asegura su distribución mundial ⁽²⁹⁾.

Se reconocen actualmente 2,213 serovariedades. Los cerdos pueden ser afectados por algunas de ellas como son *S. choleraesuis*, y *S typhisuis* que son las más adaptadas a esta especie; y *S. thyphimurium*, *S. choleraesuis* y *S. derby* son las más frecuentes ⁽³⁰⁾.

***Clostridium perfringens* (C. welchii)**

Clostridium comprende a los bacilos anaerobios, Gram positivos y productores de endoesporas. *Clostridium perfringens* es una de las especies más difundidas de este género, ya que normalmente se encuentra en gran número en la flora intestinal de la mayoría de los animales y el suelo. Posee además múltiples factores de virulencia y de ahí que participe en diversos procesos patológicos, como la gangrena gaseosa y las infecciones de las heridas en el hombre y los animales, las enterotoxemias de varias especies y las intoxicaciones alimentarias.

C. perfringens es un bacilo esporulado Gram positivo e inmóvil. Posee cápsula. Aunque es una bacteria anaerobia, no exige necesariamente condiciones de anaerobiosis. En agar sangre forma colonias de 1 a 3 mm de diámetro, brillantes, redondeadas mucoides junto a ellas aparece una

hemólisis completa, seguida de una zona hemolítica incompleta y ancha (hemólisis doble) ⁽²⁵⁾.

Existen 5 tipos de *C. perfringens* (A, B, C, D, E), basados en la producción de toxinas. Cada uno de los tipos produce una combinación distinta de toxinas designada con las letras griegas Alfa, Beta, Épsilon e Iota ^(31, 32).

En el caso de *C. perfringens* tipo A, se encuentra en el tracto intestinal de las personas y de los animales y el suelo. Los tipos B, C, D y E se encuentran principalmente en el intestino de los animales, y su supervivencia en el suelo es variable, pero el *C. perfringens* de origen intestinal que va en el excremento aparentemente sobrevive unos cuantos meses ⁽⁹⁾.

HIPÓTESIS

El tratamiento de agua residual proveniente de una granja porcina, basado en un sistema de filtración modifica la concentración de enterobacterias y anaerobios.

OBJETIVOS

- a) Realizar el conteo de enterobacterias y determinar la presencia de *Salmonella spp.*, en la fracción líquida de los desechos porcinos de una granja a pequeña escala a partir del líquido obtenido de un tratamiento de filtración.
- b) Identificar la presencia de *C. perfringens* en la porción líquida de los desechos porcinos de una granja a pequeña escala a partir del líquido obtenido de un tratamiento de filtración.
- c) Comparar los resultados del conteo de enterobacterias de las diferentes etapas antes y después del tratamiento (filtración).

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo de campo del presente experimento se llevó a cabo en una granja porcina ubicada en el municipio de Otumba en el Estado de México, el cual esta a una altitud media de 2,250 msnm, tiene un clima templado sub-húmedo con lluvias en verano, con una temperatura media anual de 14.8 °C y una precipitación pluvial promedio anual de 573.3 mm ⁽³³⁾. El propósito de esta granja es la producción de lechones y está diseñada para una población de 100 hembras reproductoras.

La empresa tiene un sistema de tratamiento primario que consiste en la recolección de las excretas de todas las áreas productivas hacia un cárcamo de colección (CC), con las siguientes medidas 2.34 m. de ancho, 3.06 m. de largo y 5 m. de profundidad al centro, posteriormente pasan por un separador mecánico de sólidos, el cual consiste en una prensa de tornillo que exprime los desechos, obteniendo así la fracción sólida y líquida (**Figura 1**). Esta última se transporta a través de un tubo separador a la fosa de sedimentación anaeróbica que mide 1.66 m. de ancho, 1.95 m. de largo y 2.43 m. de profundidad. Cabe señalar que el agua permanece aquí durante 48 horas. Después de este periodo con la ayuda de una bomba hidráulica de $\frac{3}{4}$ de caballo de presión, el agua pasa a través de tres filtros, los cuales tienen las siguientes medidas: 3 m de ancho, 1.50 m de largo y 2 m de profundidad. La proporción de tezontle (de diferente diámetro) en cada uno de los filtros es de tres capas de 0.40 cm dando un total de 1.20 m de medio filtrante. Finalmente el agua filtrada se deposita en una cisterna, para su posterior uso para riego agrícola. El proceso de tratamiento, desde la entrada del material a CC hasta la salida de los tres filtros, tiene una duración de siete días.



Figura 1. Vista panorámica del sistema de tratamiento de agua.

Muestreo: Se realizó una vez a la semana. Para establecer la homogeneidad, el muestreo se repitió durante cinco semanas. Antes de obtener las muestras, el líquido de cada fosa se homogenizaba durante 5 minutos con una bomba hidráulica. Posteriormente se obtuvieron muestras iniciales de 200 mililitros (ml) de agua cada minuto utilizando para ello un dispositivo hidráulico hasta completar una muestra final de un litro, en los siguientes puntos de muestreo: fosa de sedimentación (FS), después de que paso por el primer filtro (DF1) (**Figura 2**), después de que paso por el segundo filtro (DF2) y por último, después del tercer filtro (DF3).



Figura 2. Muestreo realizado en el primer filtro.

En frascos previamente rotulados se depositó el líquido y se le tomó el pH (**Figura 3**) y la temperatura, posteriormente se colocaron en una caja de poliuretano con refrigerantes (**Figura 4**). Este procedimiento se repitió en cada muestreo y así se obtuvieron dos muestras por cada semana para cada punto de muestreo.



Figura 3. Tiras reactivas para la medición del pH.



Figura 4. Conservación de las muestras en refrigeración.

El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de bacteriología del Departamento de Producción Animal: Cerdos, de la FMVZ de la UNAM. (Certificado ISO 9001:2000 RSGC 24b)

PROCESAMIENTO DE LABORATORIO.

Conteo de Enterobacterias.

Se realizó la técnica de conteo en placa, para lo cual se llevaron a cabo diluciones décuples seriadas a partir de 10^{-1} a 10^{-10} , colocando un ml de muestra en nueve mililitros de agua peptonada estéril, la cual tenía un pH de 7.0, se homogenizó en un agitador y se transfirió un ml a otro tubo para hacer la dilución siguiente, y así sucesivamente hasta llegar al tubo número diez. A partir de cada dilución se tomó 1 ml y se sembró en agar MacConkey¹ (**Figura 5**), incubándose a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente se registró el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) ^(34, 35).

¹ Bioxon. Hecho en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 210900 (REF 4300109).



Figura 5. Placas con agar para la realización del conteo de enterobacterias.

Aislamiento e identificación de *Salmonella spp.*

De cada muestra se tomaron 5 ml de líquido y se inocularon en 45 ml de agua peptonada, posteriormente se transfirieron 10 ml de ésta solución a 90 ml de caldo selenito de sodio² (**Figura 6**) se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Se resembró en cajas de agar Salmonella-Shigella³ (SS) y Verde brillante⁴ (VB), a las 24, 48 y 72 horas se hizo resiembra en agar SS y VB.

² Bioxon. Hecho en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 220300 (REF 4300203).

³ Bioxon. Hecho en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 214400 (REF 4300144)

⁴ Bioxon. Hecho en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 211708 (REF 4300124)



Figura 6. Frascos con caldo selenito de sodio inoculado con agua residual.

Al tercer pase se dio por concluida la presencia o no del agente ⁽³⁶⁾. Las cajas se examinaron diariamente y se seleccionaron las colonias sospechosas de *Salmonella spp.* Esto es que fueran lactosa negativa con o sin ácido sulfhídrico en el centro (punto negro) en el caso de SS y de color rosa en VB. A las colonias sospechosas se purificaron y se les realizó un frotis, aquellas bacterias Gram negativas, se resembraron en una placa de agar SS. Posteriormente, a las 24 horas se examinaron las cajas de agar y una vez purificadas las colonias se realizó su identificación a través de pruebas bioquímicas sembrándolas en agar hierro tres azúcares (TSI), medio de SIM, agar citrato de Simmons, en urea, malonato y en azúcares como ramnosa, arabinosa y trealosa; incubándose durante 24 horas a 37 °C ⁽³⁷⁾. Se registraron los datos en un formato de identificación bacteriana.

Además para corroborar el serogrupo se realizó la técnica desarrollada por Difco Laboratories⁵ de la siguiente manera:

⁵ Difco Laboratories. Detroit, Michigan. USA.

Se colocaron 50 µl de antisuero polivalente de *Salmonella* grupo somático O (*Salmonella* O Antiserum Poly A-I & Vi⁶) en una placa de vidrio. Posteriormente con un asa bacteriológica se tomaron colonias de SS o VB. Se homogenizó con la misma asa bacteriológica y durante los tres primeros minutos, en el caso de positividad, se observó aglutinación.

Por otra parte, una vez identificada la *Salmonella spp.*, se colocaron 50 µl de los siguientes antisueros, uno del grupo C de *Salmonella* grupo somático O (*Salmonella* O Grupo C1, factores 6, 7⁷) y otro que contenía el grupo D1⁸, factores 1, 9, 12, en una placa de vidrio. Posteriormente con un asa bacteriológica se tomaron colonias de agar SS o VB previamente sembrado con *Salmonella spp.* Se homogenizó con la misma asa bacteriológica y durante los tres primeros minutos, en el caso de positividad, se observó aglutinación.

Identificación y cuantificación de *C. perfringens*.

Para cada muestra se realizaron inicialmente diluciones décuples seriadas de (10^{-1} a 10^{-10}) colocando un ml de muestra en 9 ml de solución salina fisiológica estéril con pH de 7, se homogenizó y transfirió un ml a otro tubo para hacer la dilución siguiente y así sucesivamente ⁽³⁶⁾. Al hacer el cultivo de las diluciones en condiciones de anaerobiosis, se observó que no existía ningún tipo de crecimiento, por lo que se decidió trabajar exclusivamente con la muestra directa de material sin diluir. Por lo tanto a partir de cada muestra directa se tomaron 50 µl. y se sembraron en agar sangre (previamente reducido 48 h) por duplicado: una se incubó a 37 °C por 48 horas en una jarra de anaerobiosis (Gaspack) **(Figura 7)**, para proporcionar las condiciones de

⁶ Difco. Distribuido en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 222641

⁷ Difco. Distribuido en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 229491

⁸ Difco. Distribuido en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 2951470

anaerobiosis ^(36, 37, 38, 39), y la otra se incubó en condiciones aerobias para observar si las colonias identificadas eran anaerobias estrictas.



Figura 7. Sobres de Gaspack para el aislamiento de *C. perfringens*.

Aquellas colonias circulares, grisáceas, de uno a tres mm de diámetro y lisas o de bordes irregulares y con presencia de doble hemólisis, se consideraron como sugestivas de ser *C. perfringens*; se purificaron y cuando se obtuvo un cultivo puro, se les hizo frotis con tinción de Gram para comprobar si eran bacilos Gram positivas, a las colonias que sí lo fueron se les realizó tinción de maneval la cual es para la identificación de cápsula, finalmente a las colonias se realizaron pruebas bioquímicas para su identificación (Catalasa, indol, leche tornasolada, reducción de nitratos y carbohidratos como: arabinosa, galactosa, glucosa, inositol, lactosa, maltosa, manitol, rafinosa, ramnosa, sacarosa, salicin, sorbitol, trealosa, xilosa) ^(38, 39, 40, 41).

Análisis estadístico.

Los resultados de las unidades formadoras de colonia por ml (UFC/ml) para el conteo de enterobacterias de las muestras tomadas de la FS, DF1, DF2, DF3, se transformaron obteniendo el logaritmo base 10; con los datos así transformados se llevo a cabo el análisis de varianza a través de la prueba de Tukey, por medio del paquete estadístico SAS (Statistic Analisis System, 1998) utilizando el siguiente modelo:

$$\gamma_{ijk\lambda} = \mu + A_i + e_{ijk\lambda} \text{ donde:}$$

$\gamma_{ijk\lambda}$ = variable de respuesta.

μ = media general.

A_i = Efecto del tipo de muestra (1 = fosa de sedimentación, 2 = líquido después del primer filtro, 3 = líquido después del segundo filtro, 4 = líquido después del tercer filtro), $i = 1, 2, 3, 4$

$e_{ijk\lambda}$ = error experimental.

Los resultados del aislamiento de *Salmonella spp.* se representaron en porcentaje.

RESULTADOS

La temperatura y el pH de las muestras en cada muestreo no presentaron variación (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Temperatura y pH de las muestras de cada fase del sistema.

Fase del sistema	MUESTREO									
	1		2		3		4		5	
	Temp (°C)	pH	Temp (°C)	pH	Temp (°C)	pH	Temp (°C)	pH	Temp (°C)	pH
*FS	15	7	14	8	16	7.5	14	8	15	8
DF 1	15	7	14	8	16	7.5	14	7.5	15	8
DF 2	15	7.5	14	8	16	7.5	14	7.5	15	7.5
DF 3	15	7	14	8	16	7.5	14	7.5	15	7.5

* FS= Fosa de sedimentación

El conteo de enterobacterias (UFC/ml) por cada etapa de tratamiento de agua residual fue: para la fosa de sedimentación 1.48×10^7 , para el filtro 1 de 2.31×10^6 , filtro 2 de 6.9×10^5 y finalmente para el filtro 3 de 8.8×10^5 ; en estos no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Promedio de UFC/ml para la fosa de sedimentación, filtro 1, filtro 2 y filtro 3.

Fase del sistema	\bar{X} UFC/ml	E. E.
FS	1.48×10^{7a}	2.28×10^0
DF1	2.31×10^{6a}	2.28×10^0
DF 2	6.9×10^{5a}	2.28×10^0
DF 3	8.8×10^{5a}	2.28×10^0

\bar{X} UFC/ml = Promedio de unidades formadoras de colonias por mililitro de agua.

E. E. = Error estándar.

Literales diferentes por columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$)

En lo que respecta al aislamiento de *Salmonella spp.* de 40 muestras, se logró el aislamiento en 6 de éstas (15 %). Mientras que de cada fase del sistema fue de la siguiente manera: FS en un 10%, para DF 1 de 20%, DF 2 de 10% y finalmente para DF 3 de 20% (**Cuadro 5**).

Cuadro 5. Número de aislamientos positivos a *Salmonella spp.* de acuerdo a la fase del sistema de tratamiento de agua residual.

Fase del sistema	N	Número de positivas	%
FS	10	1	10
DF 1	10	2	20
DF 2	10	1	10
DF 3	10	2	20

Al realizar la tipificación de *Salmonella spp.* se comprobó que el 100% pertenecieron al grupo *Salmonella enterica*.

No se logró el aislamiento de *C. perfringens*.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se obtuvo un rango de temperatura de 14 a 16 °C y un pH de 7.5 a 8, lo que coincide con García *et al.* (2005) quienes al tomar diez muestras del cárcamo de colección y fosa de sedimentación obtuvieron una temperatura de 17 a 18 °C y un pH de 7.5 a 8.5 ⁽⁴²⁾. Es importante tomar en cuenta estos aspectos ya que la supervivencia de las bacterias está dada por la temperatura y el contenido de sólidos. Durante el almacenamiento de los

desechos porcinos el pH de 7.5 baja hasta 6.5 durante el primer mes por la producción de ácidos grasos con efecto tóxico y posteriormente llega a ser de 7.0 ⁽¹⁰⁾.

En el presente estudio, el conteo de enterobacterias (UFC/ml) en forma general para cada etapa del sistema de tratamiento de agua residual, fue para la fosa de sedimentación de 1.48×10^7 , para el filtro uno de 2.31×10^6 , filtro dos de 6.9×10^5 y finalmente para el filtro tres de 8.8×10^5 . Los datos obtenidos de la fosa de sedimentación son ligeramente mayores al compararlos con lo reportado por Ramírez *et al.* (2002), quienes al tomar muestras de 10 granjas de la región central de México que utilizaban un sistema de tratamiento, un separador de sólidos y mandaban la fracción líquida a una fosa de sedimentación encontraron 3.9×10^5 en la FS ⁽³⁷⁾; así mismo con lo encontrado por García *et al.* (2005) que obtuvo 9.0×10^6 (UFC/ml) al tomar muestras de la FS, de un sistema similar al evaluado en este estudio ⁽⁴²⁾. Sin embargo, los resultados de la FS son inferiores a lo obtenido por Mateu *et al.* (1992) quienes al realizar muestreos de la fosa de sedimentación con 10, 14 y 18 días de retención del material, encontraron valores de 2.11×10^9 UFC/ml en el primer muestreo a los 10 días de retención del material de desecho y reportando un valor de 2.87×10^7 UFC/ml en el último muestreo realizado (18 días) ⁽⁴³⁾.

En lo que respecta al aislamiento de *Salmonella spp* en la FS, los resultados difieren a lo reportado por García *et al.* (2005) ya que lograron aislar el agente en un 30% de las muestras analizadas y en el presente trabajo fue de 15% ⁽⁴²⁾. Por lo anterior cabe señalar que existe una serie de factores que afectan la presencia de enterobacterias, como es la fermentación o degradación, ya sea anaeróbica o aeróbica ⁽²⁾. Concentraciones de ácidos

grasos volátiles que tienen una actividad inhibitoria o bactericida, la disminución del pH ⁽⁴³⁾ y por último, la realización o no de la remoción constante del material que se encuentra en la fosa de sedimentación. Además del punto de muestreo, ya que en el caso de Ramírez *et al.* (2002) y García *et al.* (2005) tomaron las muestras a un metro de la superficie, a diferencia de lo realizado en este trabajo en el cual se homogenizaba todo el líquido, por lo cual se incrementó la carga de enterobacterias ^(37,42).

No se logró el aislamiento de *C. perfringens* en el presente trabajo en ninguno de los muestreos, resultados que no coinciden con lo obtenido por Cordero *et al.* (2005) que al tomar 10 muestras de agua de la fosa de sedimentación en un sistema en donde existía la retención de líquido por una semana logró el aislamiento *C. perfringens* en uno de los muestreos ⁽⁴⁴⁾. Al igual que Cordero otros autores como Íñigo *et al* (1991) y Jones *et al* (1985) han logrado aislar el agente en la porción líquida de las excretas porcinas ^(2, 45). El no haber logrado el aislamiento de *C. perfringens* en alguna de las 40 muestras no quiere decir que la bacteria no se encuentre ya que por sus características de ser anaerobia facultativa, esporulada y con cápsula, puede resistir cambios adversos del medio en que se encuentra ^(9, 27, 31, 32), pero estas mismas características hacen más difícil lograr su aislamiento, particularmente en las condiciones del material de desecho de las granjas, y en especial si se toma en cuenta que en ocasiones los agentes patógenos sólo pueden ser aislados en el estiércol si su número es muy alto y se emplean métodos específicos de cultivo, a diferencia de las enterobacterias, que pueden ser aisladas con cierta facilidad mediante métodos convencionales de cultivo aún en pequeñas concentraciones ⁽¹⁰⁾. También se deben tomar en cuenta que las condiciones de exposición de las

excretas en el corral, en los drenajes, el contacto con desinfectantes, la exposición a condiciones de resequedad y el tiempo de retención en cada una de las fases del tratamiento puede alterar su tiempo de sobrevivencia ⁽³⁷⁾.

En lo que respecta a la evaluación global del tratamiento de filtración que consiste en la recolección de las excretas de todas las áreas productivas hacia un cárcamo de colección, un separador mecánico de sólidos, la fosa de sedimentación anaeróbica y la utilización de tres filtros, no se encontró diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) en el conteo de enterobacterias desde que el agua ingreso a la fosa de sedimentación hasta que salió por el tercer filtro. Lo que concuerda con Westerman (2005) que al evaluar un sistema, consistente en el manejo de desechos que incorpora la separación de los sólidos, después de esto el agua residual se bombea a un tanque de igualación y se manda a biofiltros aireados, finalmente se midió el efecto de este sistema sobre algunos microorganismos como enterobacterias y *Salmonella spp* ⁽⁴⁶⁾. Los resultados del análisis microbiológico de la granja mostraron que hubo reducciones similares en el efluente líquido alcanzado por la tecnología del tratamiento cuando se comparó con la tecnología convencional en granjas de cerdos como el utilizado en el presente estudio.

En lo que respecta a la repercusión del uso de tres filtros de tezontle para la disminución de enterobacterias, no se encontró diferencia estadística significativa comparándolo con el líquido de la fosa de sedimentación. Lo que concuerda con un estudio realizado por Vanotti *et al.* (2005) en el que se evaluó la reducción de enterobacterias en la fracción líquida de los desechos porcinos antes y después de pasar por un sistema de tratamiento gradual donde primero los sólidos y el líquido se separaron por medio de la adición de

un polímero floculante y el uso de dos filtros de arena (fase 1), posteriormente el retiro biológico del nitrógeno usando la nitrificación y desnitrificación (fase 2) y finalmente la extracción de fósforo a través de la precipitación con cal (fase 3). Antes del tratamiento, los coliformes totales fueron de 6.17×10^6 UFC/ml, logrando a través de cada paso en el sistema de tratamiento una tendencia constante en la reducción de los patógenos de un 0.5 a 1 \log^{10} , esto en la fase 1 del sistema influenciado por las características del filtro y la utilización de un reactivo químico como floculante ⁽⁴⁷⁾. Sin embargo, en el presente trabajo al utilizar dos filtros gruesos se logró una mayor reducción de las enterobacterias de un 0.81 a 1.34 \log^{10} .

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se concluye que el sistema de filtración no disminuyó la cantidad de enterobacterias, ni la presencia de *Salmonella spp.*. No se logró el aislamiento de *Clostridium perfringens*, en las diversas fases del tratamiento.

LITERATURA CITADA

1. Salazar GG. Algunas consideraciones sobre el manejo y valor de las excretas en la alimentación animal. Memorias del XIV Congreso Panamericano en Ciencias Veterinarias; 1994 octubre 9-15: Acapulco Guerrero, México. PANVET, 1994: 595-596.
2. Íñigo D.C, Innata AS, Soto AC, Alcaino H.C. Caracterización bacteriológica y parasitológica del desecho fecal porcino en Chile. Avances en Ciencias Veterinarias 1991; 1: 23-28.
3. Análisis y perspectivas del mercado internacional de ganado porcino. Ficha técnica no.7.,SAGARPA; Noviembre 2002. Disponible en:

<http://www.infoserca.gob.mx/fichas/ficha07-Porcino.pdf>
4. Pérez ER. Porcicultura intensiva y medio ambiente en México, situación actual y perspectivas. Disponible en:
<http://www.cipav.org.co/cipav/confr/iespejo.htm.Mexico,1999>.
5. Pérez ER. La ganadería porcina y el medio ambiente. Desarrollo porcícola, 1992; 7:4-6.
6. Alvarado RA. Comportamiento productivo de cerdos en finalización al adicionar ensilado de excretas porcinas en su dieta (tesis de licenciatura). México, D.F; FMVZ, UNAM, 1999.
7. Pérez RE. Porcicultura y medio ambiente. Memorias del segundo Seminario sobre manejo y reciclaje de residuales porcinos; 1997 octubre 22-25; Querétaro México (D.F): Consejo Mexicano de Porcicultura. A.C. E Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM, 1997: 10-12.

8. Taiganides EP. Manejo de desechos en ganadería, métodos prácticos en la perspectiva mundial y latinoamericana. Memorias del XIV Congreso Panamericano en Ciencias Veterinarias; 1994 octubre 9-15: Acapulco Guerrero, México. PANVET, 1994: 597-598.
9. Gyles, L.C. and Thoen O.C. (1993). Pathogenesis of bacterial Infections in Animals. Iowa State University Press. Ames, Iowa. USA.
10. Strauch D, Ballarini G. Hygienic aspects of the production and agricultural use of animal wastes. Journal Veterinary Medicine 1994; 41: 174-228.
11. Hernández CB. Determinación de bacterias patógenas en ensilados de excretas porcinas con caña de azúcar (tesis de licenciatura). México, D.F.: FMVZ, UNAM, 1997.
12. Norma Oficial Mexicana. NOM-001-ECOL-1996. Disponible en: <http://www.comercori.com/nom.html>.
13. López RR. Aguas residuales municipales y biosólidos. Primera edición. México D.F. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería, 2002.
14. Taiganides PE, Pérez ER, Girón SE. Manual para el manejo y control de aguas residuales y excretas porcinas en México. México: Consejo Mexicano de porcicultura, A.C., 1996. 77-80.
15. Day DL. Aprovechamiento de excretas animales, como ingrediente para raciones alimenticias. Porcira 1988; 11 (134):41-55.
16. Moser MA. Tratamiento de residuales porcinos para su uso en riego agrícola. Memorias sobre el segundo seminario sobre manejo y reciclaje de residuos porcinos; 1997 octubre 22-25; Querétaro

- México (D.F): Consejo Mexicano de Porcicultura. A.C. E Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM, 1997.
17. Franco G. Colección y manejo de aguas residual. Memorias sobre el segundo seminario sobre manejo y reciclaje de residuos porcinos; 1997 octubre 22-25; Querétaro México (D.F): Consejo Mexicano de Porcicultura. A.C. E Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM, 1997:32-40.
 18. English PR, Fowler VR, Baxter S, Smith B. The growing and finishing pig. Improving Efficiency. Britain: Farming Press, 1988.
 19. Kato, M L. La producción porcícola en México: Contribución al desarrollo de una visión integral. UAM. México 1995.
 20. Durán D. B. Tratamiento biológico de aguas residuales de la industria química y de proceso. Quinta edición. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, 1994
 21. Moser MA. Tratamiento para otros usos: recuperación de metano. Memorias sobre el segundo seminario sobre manejo y reciclaje de residuos porcinos; 1997 octubre 22-25; Querétaro México (D.F): Consejo Mexicano de Porcicultura. A.C. e Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM, 1997b:18-24.
 22. Metcalf & Eddy. Ingeniería de aguas residuales. México: Mac Graw Hill, 1996.
 23. César VE, Vázquez GA. Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales. Primera edición. México D.F.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería, 2001.

24. Henry. D.P. Frost.A:J, O'Boyle D.A.and Cameron R.D.(1995). The Isolation of salmonellas from piggery waste water after orthodox pondage treatment. Australian Veterinary Journal 72 (12):478-479.
25. Nicolet. J. Compendio de bacteriología médica veterinaria. Zaragoza, España. Acribia. 1985.
26. Pérez, M.J.; et al. Procedimientos de laboratorio para bacteriología y micología veterinarias. FMVZ-UNAM. México. D.F., 1989.
27. Madigan M., Martinko J., Parker J. Brock. Biología de los microorganismos. Madrid España: Pentice Hall, 2000.
28. Figueroa OM, García DGA, Rodríguez MO, Suárez GF. Manual de prácticas de laboratorio de bacteriología y micología veterinarias, Departamento de Microbiología y micología e Inmunología. FMVZ,UNAM. México D.F. 2002.
29. Straw B, D'Allaire, Mengeling S, Taylor D. Diseases of swine. 8th ed. Ames Iowa U.S.A.: Iowa State University Press, 2002.
30. Darwich L. Torre E, Martin, Mateu. Multiresistant Salmonella strains isolated from pigs in catalunya, 198-200 Proceedings 16th International Pig Veterinary Society Congress, 2000:222.
31. Biberstein EL, Chung ZY. Tratado de microbiología veterinaria. Zaragoza, España. Acribia, 1994.
32. Scalan CM. Introducción a la bacteriología veterinaria. Zaragoza, España: Acribia. 1991.

33. Secretaria de gobernación y Gobierno del estado de México. Los Municipios del estado de México. Colección: Enciclopedia de los municipios de México. México, D.F., 1988.
34. Martínez GR, Pradal RP, Castrejón PF, Herradora LM, Galván E, Mercado C. Persistent of *Escherichia coli*, *Salmonella cholerasuis*, Aujeszky's Disease virus and Blue Eye Disease Virus in ensilages base on the solid fraction of pig faeces. Journal of Applied Microbiology 2001; 91: 750-758.
35. Moeller CHG. Ferat TC. Manual de prácticas. Microbiología sanitaria. DEFFI, Facultad de ingeniería, División de estudios de posgrado, UNAM, 1993.
36. Carter GR. Procedimientos de diagnóstico en bacteriología y micología veterinarias. Zaragoza, España: Acribia. 1969.
37. Ramírez HG. Evaluación microbiológica de excretas porcinas sólidas y frescas de 10 granjas ubicadas en la región central de México (tesis de maestría). México, D.F.: FMVZ, UNAM, 2002.
38. Quinn PJ, Carter G.R. Clinical Veterinary Microbiology. London, Great Britain: Wolf, 1994.
39. Krieg NR, Holt JG, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 2. Baltimore, USA: Williams & Wilkins, 1984.
40. Cowan ST. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd. ed. Cambridge, Great Britain: Cambridge University Press, 1974.
41. MacFaddin J.F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. México, D.F.: Panamericana, 1991.

42. García DM. Caracterización de enterobacterias a partir de un sistema de tratamiento de aguas residuales de una granja porcina a pequeña escala (Tesis de licenciatura). México, D.F.: FMVZ, UNAM, 2005.
43. Mateu A, Mata-Alvarez J, Parés, R. Enterobacterial and viral decay experimental models for anaerobic digestion of piggery waste. *App Mic Bio* 1992; 38: 291-296.
44. Cordero LA. Identificación de *Clostridium perfringens* y *Erysipelothrix rhusiopathiae* a partir de un sistema de tratamiento primario de aguas residuales en una granja porcina a pequeña escala (Tesis de licenciatura). México, D.F.: FMVZ, UNAM, 2005.
45. Jones F., Watkins J. Microbial aspects of water management. *Journal of Applied Bacteriology*, symposium Supplement, 1985, 59: 27-36.
46. Westerman, P. (2005). Animal Waste Management Symposium, October 5-7, 2005. Sheraton Imperial Hotel, Research Triangle Park, NC. The Development of Alternative Technologies for the Processing and Use of Animal Waste.
47. Vanotti BM, Millner DP, Hunt GP, Ellison QA. Removal of pathogen and indicator microorganisms from liquid swine manure in multi-step biological and chemical treatment. *Bioresource technology* 2005; 96: 209-214.