



01672

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

12

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS VETERINARIAS

EVALUACION MICROBIOLOGICA DE EXCRETAS PORCINAS
SOLIDAS Y FRESCAS DE 10 GRANJAS UBICADAS EN LA
REGION CENTRAL DE MEXICO.

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS
P R E S E N T A :
M.V.Z GERARDO RAMIREZ HERNANDEZ

ASESORES: M.V.Z., MC. FRANCISCO ALEJANDRO CASTREJON PINEDA
M.V.Z., MPA. ROBERTO GUSTAVO MARTINEZ GAMBA
M.V.Z., MPA. MARCO ANTONIO HERRADORA LOZANO



MEXICO, D. F.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

2002



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 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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Gerardo Ramírez

Hernández

FECHA: 28-X-02

FIRMA: [Firma]

AGRADECIMIENTOS:

A las instituciones y personas que hicieron posible este trabajo:

Agradezco a los maestros Francisco Alejandro Castrejón Pineda, Roberto Gustavo Martínez Gamba y Marco Antonio Herradora Lozano, el haberme permitido formar parte de su equipo de trabajo, aprecio su tiempo y dedicación para la realización de esta investigación.

A los Médicos Veterinarios encargados de las granjas, Asesores y Propietarios, por su apoyo y el permitir el acceso a sus instalaciones para tomar las diversas muestras provenientes del sistema de separación de sólidos y líquidos.

A los MVZ Concepción Díaz Rayo, Esperanza Galván Pérez, Alejandra Mercadillo Sierra, Mario Haro Tirado, PMVZ Francisco Quezada Monroy y Enrique Camacho Ramírez por el apoyo dado durante el procesamiento de las muestras en el Laboratorio de Bacteriología.

A los miembros del jurado: Dr. Abel Ciprián Carrasco, Dr. Roberto A. Cervantes Olivares, Dr. Mario Cobos Peralta, Dr. Roberto Gustavo Martínez Gamba y Dr. Francisco Alejandro Castrejón Pineda les agradezco el tiempo que dedicaron a la revisión de este trabajo y sus comentarios para mejorarlo.

RECONOCIMIENTOS INSTITUCIONALES

Este proyecto de investigación se realizó en las siguientes instituciones:

Departamento de Producción Animal: Cerdos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, D. F.

Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, D. F.

Este proyecto contó con el apoyo de:

Proyecto PAPIIT No. IN210997: " Aprovechamiento integral de las excretas animales como alternativa para disminuir los problemas de contaminación ambiental y favorecer la producción de alimento ", siendo el responsable y corresponsable los maestros Francisco Castrejón Pineda y Marco Herradora Lozano, respectivamente.

CONTENIDO

ÍNDICE	PÁGINA
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVO GENERAL	20
MATERIAL Y MÉTODOS	21
RESULTADOS	38
DISCUSIÓN	62
CONCLUSIONES	75
LITERATURA CITADA	76
ANEXOS	83

LISTA DE CUADROS	PÁGINA
1. Número de muestras evaluadas por granja.	27
2. Clasificación de granjas por antecedentes clínicos de problemas entéricos y tipo de separador.	47
3. Análisis de varianza para el conteo de enterobacterias.	48
4. Conteo de UFC/g de enterobacterias entre granjas con y sin antecedentes de problemas entéricos.	49
5. Promedio de UFC/g de enterobacterias entre granjas con y sin antecedentes de problemas entéricos por tipo de muestra.	49
6. Promedio de UFC/g de enterobacterias a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.	50
7. Promedio de UFC/g de enterobacterias por tipo de separador y muestra	50
8. Análisis de varianza para el conteo de <i>E. coli</i> .	51
9. Promedio de UFC/g de <i>E. coli</i> entre granjas con y sin antecedentes de problemas entéricos por tipo de muestra.	52
10. Conteo de UFC/g de <i>E. coli</i> entre granjas con y sin antecedentes de problemas entéricos.	53
11. Promedio de UFC/g de <i>E. coli</i> a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.	53
12. Promedio de UFC/g de <i>E. coli</i> por tipo de separador y muestra.	54
13. Principales géneros de bacterias presentes en las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.	55
14. Presencia de <i>Salmonella spp.</i> a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.	57
15. Presencia de <i>E. coli</i> a partir de las muestras de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.	58
16. Comparación en el conteo de enterobacterias a partir de muestras de sólido expuestas 144 horas al medio ambiente y del sólido obtenido del separador.	59
17. Recuperación de <i>Salmonella spp.</i> a partir de muestras de sólido expuesto al medio ambiente durante 144 horas.	59
18. Características sensoriales de ensilados de excretas sólidas de cerdo.	60

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

1. Separadores de sólidos de tipo cilíndrico y de cascada. 22
2. Momento en que se introduce un tubo de plástico rígido en diversas partes de la fosa de sedimentación para la obtención del material. 23
3. Una vez que se obtenía el material se vertía en frascos de vidrio previamente esterilizados e identificados. 24
4. En algunas granjas que tenían el separador de sólido tipo cilíndrico con un receptáculo de captación, se procedía a tomar de éste la muestra de efluente. 25
5. Del depósito de los sólidos, previo a la toma de muestra se homogenizaba el material y posteriormente se tomaba de cinco lugares diferentes, para obtener las muestras por granja. 26
6. Gradilla que contiene tubos con muestra, a partir de éstas se realizó la dilución décuple seriada. 28
7. Frascos que contienen caldo selenito (1) y caldo tetratonate (2) inoculados con muestras de sólido. 29
8. Caja que contienen agar MacConkey con colonias de *Salmonella spp.* 30
9. A partir del TSI se realizó la bioquímica para identificar *Salmonella spp.* utilizando los azúcares ramanosa, arabinosa y trealosa. 31
10. Caja de Petri con agar MacConkey que contiene colonias de *E. coli.* con 24 horas de sembrada. 32
11. Serotipificación de *E. coli* por la prueba de aglutinación en tarjeta. 33
12. Proceso de elaboración del ensilado a partir de sólido, sorgo molido y melaza. 34
13. Características organolépticas a los 11 días de ensilaje. 35
14. Frotis en que se observan bacterias coco-bacilares que corresponden a *Lactobacillus spp.* 36
15. Interacción granja (con y sin antecedentes) por tipo de separador sobre la cantidad de *E. coli.* 52

RESUMEN

El presente estudio se realizó para conocer las características bacteriológicas de excretas porcinas de 10 granjas de la región central de México y estudiar el efecto del ensilaje sobre las bacterias presentes en los sólidos de excretas. Los criterios de inclusión fueron: granjas con antecedentes clínicos de enfermedades entéricas (granjas número 1, 2, 5, 8, 9) o sin antecedentes (granjas número 3, 4, 6, 7, 10); con separador de sólidos de excretas de tipo cilíndrico (1, 2, 3, 7, 8) o tipo cascada (4, 5, 6, 9, 10). De cada una de las granjas, se obtuvieron dos muestras de material de la fosa de sedimentación, dos de sólido y dos de efluente, en total 60 muestras. A partir de cada muestra se realizó la cuantificación (UFC/g) de enterobacterias y *Escherichia coli*; además el aislamiento y tipificación de *Salmonella spp.* y *E. coli*. Los resultados se evaluaron por el análisis de varianza considerando como fuentes de variación los criterios de inclusión. Simultáneamente con muestras de sólido de cada granja se hizo una mezcla de 80 % de sólidos, 12 % de sorgo y 8 % de melaza, la cual se ensiló en frascos de plástico de 1 kg, por 11 días. El número de enterobacterias fue mayor en las granjas sin antecedentes (1.35×10^7 UFC/g), en comparación a las granjas con antecedentes (1.93×10^6 UFC/g) y en los sólidos hubo mayor cantidad (2.2×10^7 UFC/g), que en los efluentes (1.5×10^5 UFC/g) o en las muestras de la fosa de sedimentación (3.9×10^5 UFC/g). En la cantidad de *E. coli* fue significativa ($P < 0.05$) la interacción tipo de granja por tipo de separador. *E. coli*, se aisló en el 100 % de las muestras, pero no se identificaron cepas F4, F5 y F6. *Salmonella enteritidis* se aisló en 4 de 5 granjas (80%) tanto con antecedentes clínicos como sin ellos, y con ambos tipos de separador de sólidos. En el 45 % de las muestras se aisló *S. enteritidis*; a partir de la fosa de sedimentación en 8 granjas (80%) y en el 70% de las muestras; de los efluentes en el 60 % de las granjas y en 35% de las muestras; en los sólidos de 5 granjas (50%) y en 30% de las muestras. Al finalizar el periodo de ensilaje en los ensilados no se logró aislar ninguna enterobacteria, las bacterias presentes en estos fueron *Lactobacillus spp.* La prevalencia de *Salmonella enteritidis* justifica la importancia de un tratamiento previo de las excretas cuando se van a reciclar en la alimentación animal. El ensilaje permite reciclar las excretas y las deja aptas para la alimentación animal.

Palabras clave: Separador de sólidos, conteo enterobacterias, *Salmonella spp.*, *E. coli*, ensilado.

SUMMARY

This study was carried out to examine the bacteriological characteristics of swine manure in 10 farms of the Central region of Mexico and to determine the effect of the silage on the bacteria, from dry manure solids. The inclusion criteria were: farms with clinical history of enteric diseases (farms number 1, 2, 5, 8, 9) or without them (farms number 3, 4, 6, 7, 10); with cylindrical solid manure separator system (1, 2, 3, 7, 8) or waterfall system (4, 5, 6, 9, 10). For each farm, there were six collected samples: two from the sedimentation tank, two of the solid manure fraction and two more of the liquid fraction, having a total of 60 samples. The quantification (CFU/g) of enterobacteria and *E. coli* was obtained from each sample. *Salmonella spp.* and *E. coli* were isolated and tipificated. Results were evaluated by ANOVA considering the inclusion criteria as variation sources. A mixture of 80% solids, 12 % sorghum and 8% molasses was prepared simultaneously, with the solid samples of each farm. This mixture was silage in 1 kg plastic flask during 11 days. The number of enterobacteria was higher in the farms without clinical history of enteric diseases (1.35×10^7 CFU/g) compared with those with clinical history (1.93×10^6 CFU/g). Considering the source of the sample, the highest count was for the solid manure (2.2×10^7 CFU/g) compared with the liquid material (1.5×10^5 CFU/g) and with the sedimentation tank samples (3.9×10^5 CFU/g). Respect to *E. coli* count, it was a significant difference ($p < 0.05$) between interactions of farm and kind of separation system. *E. coli* was isolated in 100% of the samples, but there was not identification of F4, F5 and F6 strains. *Salmonella enteritidis* was isolated in 4 out of 5 farms (80%) with or without clinical history and with both kind of solid separator systems. *S. enteritidis* was isolated in 45% of the samples; in 8 farms (80%) from the sedimentation tank and in 70% of the samples; from the liquid material in 60% of the farms and in 35% of the samples; from the solid fraction in 5 farms (50%) and in 30% of the samples. There was no isolation of enterobacteria from the silage and *Lactobacillus spp.* was the only isolated bacteria. The prevalence of *Salmonella enteritidis* justify the importance for a previous treatment of the manure, when it will be reused for animal feeding. The silage allows the reuse of manure for animal feeding.

Key words: Solid separator system, enterobacteria count, *Salmonella spp.*, *E. coli*, silage.

INTRODUCCIÓN.

La mayor cantidad de carne que se produce en el mundo es la de porcino con 93.5 millones de toneladas, seguida de la de ave con 68.5 y la de bovino con 59.9; México se ubica en el lugar número 18 del ámbito mundial y, es el segundo productor latinoamericano. Durante el periodo de 1990 a 1997, la producción de carne porcina en el país mostró un crecimiento anual del 3.1 %. Para el año 2000 se estimó una producción de un millón de toneladas de carne, la cual representaba el 26% del total de carne producida, permitiendo calcular la disponibilidad *per. cápita* de carne de cerdo en aproximadamente 12 kg por año. Por tanto, la porcicultura debe considerarse como una actividad relevante en el sector pecuario nacional, ocupando después de la cría de bovinos y aves, el tercer lugar en importancia nacional (**Pérez, 1999**).

En México existe un inventario porcino de 13 millones de cabezas, se sacrifican anualmente alrededor de 11 millones y se producen entre 895 mil y un millón de toneladas de carne. Las granjas porcícolas se encuentran ampliamente distribuidas en el territorio nacional, en tres estratos de producción: el tecnificado, el semitecnificado y el de traspatio. El primero utiliza tecnologías empleadas en las naciones más desarrolladas en porcicultura, por lo que muchas granjas alcanzan un grado de integración vertical y horizontal, disponiendo de plantas de alimentos balanceados, con sistemas automatizados de balanceo de raciones e inclusive de plantas procesadoras de oleaginosas; sus medidas de bioseguridad son estrictas para el control de las principales enfermedades, cuentan con rastros Tipo Inspección Federal (TIF), y se estima que la participación de este estrato en el mercado nacional es aproximadamente del 50% (**Pérez, 1997; Pérez, 1999**).

En el estrato semitecnificado, la producción es generalmente reducida y aunque en muchas ocasiones el pie de cría es similar al del sistema tecnificado, las instalaciones y las medidas zoonosanitarias no son óptimas. Este sistema emplea alimentos balanceados comerciales, con lo que aumentan los costos de producción y la industrialización se realiza en rastros municipales o privados. Este sistema aporta el 20% al mercado doméstico (**Pérez, 1997; Pérez, 1999**).

El tercer estrato de producción, conocido como de traspatio, rural o de autoabastecimiento, se encuentra en todo el territorio nacional, la calidad genética de los animales es pobre aunque su rusticidad y adaptación al medio les permite producir carne con un mínimo de manejo de nutrimentos, los cuales provienen de subproductos y granos. Se estima que este sistema de producción contribuye con el 30% de la producción nacional.

En la actualidad existe una fuerte tendencia para incrementar el tamaño de las operaciones lo que ha ocasionado la producción de grandes cantidades de desechos en áreas relativamente pequeñas. Por otra parte, muchas de estas grandes unidades de producción están localizadas en regiones con bajos recursos acuíferos. Por ejemplo, en los estados de Jalisco, Michoacán y Guanajuato existe una población de 4.3 millones de cabezas, mientras que en los estados de Sonora se mantienen 1.2 millones de cabezas y Yucatán sostiene aproximadamente 1.0 millón de cabezas. Para conocer la gravedad de la contaminación por producción de excretas, un cerdo elimina diariamente entre 0.6 y 1.0% de su peso vivo en materia seca fecal (MSF), lo que significa que una granja semitecnificada puede producir al año cerca de 87,000 toneladas de MSF (Iñigo *et al.*, 1991).

Por lo tanto, se han desarrollado algunos procesos para que estos desechos fecales en forma líquida ó sólida se utilicen como abono en tierras agrícolas. Sin embargo, este método no puede ser aplicado en lugares con alta densidad de población, debido a la disminución de tierras agrícolas disponibles en las cercanías de las granjas (Andreadakis, 1992; Sutton, 1993; Molina, 1997). Además, los desechos fecales líquidos, constituyen un problema serio de contaminación para ríos, lagos y tierras cercanas a las granjas, la cual ha originado la necesidad de desarrollar un manejo adecuado o un tratamiento completo de los desechos, para evitar los problemas de contaminación ambiental (Taiganides, 1994; Molina, 1997).

Para solucionar esta problemática se han ideado algunos tratamientos para reciclar el excremento y utilizarlo como ingrediente alimenticio. Estos tratamientos se clasifican en físicos, químicos y biológicos (Liceaga, 1994).

Tratamientos físicos:

Separación de sólidos-líquidos.

A partir de 1982 en varias granjas porcícolas de México se instaló este sistema para el manejo y aprovechamiento del estiércol porcino (40% de los sólidos totales) en la alimentación del cerdo (**Iñiguez, 1993**). El equipo más utilizado, 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 solo 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 un 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 (**Taiganides et al., 1996**). 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 nutrimentos 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 (**Iñiguez, 1993, Liceaga, 1994**).

Deshidratación al sol.

De esta forma se obtiene un producto seco que puede almacenarse e incorporarse fácilmente en una dieta completa, la contaminación del aire es baja y el manejo que se requiere es mínimo. Las desventajas de este procedimiento son: se debe realizar en zonas áridas o semiáridas, el material puede tener patógenos y se requiere que esté pulverizado antes de ser usado (**Liceaga, 1994**). Hay una pérdida importante de nutrientes en el subproducto resultante.

Secado artificial.

Las altas temperaturas que se alcanzan con el tratamiento, eliminan patógenos y las heces secas son inodoras. Este procedimiento requiere el uso de equipo caro y los costos de energía, recolección y transporte de las excretas hacia los deshidratadores son elevados (**Liceaga, 1994**).

Tratamiento químico:

Se emplean bacterias, solventes, o enzimas. El uso de solventes se basa en que extraen la proteína presente en los residuos procesados. Este tratamiento ha sido utilizado como una alternativa de terminado o pulido de las aguas residuales, después de los tratamientos aerobios y anaerobios (**Liceaga, 1994**).

Tratamientos biológicos:

Uso de lagunas de almacenaje y fermentación.

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

Anaeróbicas.- En este proceso la descomposición de las excretas se lleva a cabo sin la presencia de oxígeno. Las bacterias involucradas son de dos categorías, las que forman ácido o las que sintetizan metano. Las lagunas requieren menor superficie, ya que su volumen se cubre con la profundidad que se les dé; se producen subproductos que pueden ser aprovechados como agua de bebida o riego, medio de crecimiento de peces

y algas, los sedimentos se pueden usar como fertilizantes o alimento para animales (**Liceaga, 1994**).

Algunas desventajas que se llegan a presentar son: mal olor (compuestos sulfurosos) y dificultades para alcanzar una temperatura adecuada (30 y 60 °C) para que se realice la digestión de los desechos, ya que a menor temperatura se inhibe la acción bacteriana. Durante este proceso se forman lodos que deben ser removidos (**Liceaga, 1994, Taiganides et al., 1996**).

Aerobias.- En este proceso intervienen bacterias aerobias que degradan la celulosa y la lignina muy lentamente. Estos sistemas son aireados natural o mecánicamente. En el segundo caso se usan aireadores superficiales flotantes, que operan con difusores de aire que proporcionan oxígeno a lagunas de más de 6 m de profundidad. Este procedimiento no produce malos olores, los residuos no contienen bacterias patógenas y las aguas tratadas pueden ser fuente de nutrimentos para el crecimiento de algas y peces. La principal desventaja es que se pierde el valor fertilizante de los desechos (**Liceaga, 1994, Taiganides et al., 1996**).

Facultativas.- Dentro de una misma unidad se llevan a cabo tanto el proceso anaerobio como aerobio, en el fondo de la laguna se lleva a cabo el primero y en la superficie el segundo.

Otros tratamientos biológicos son el uso de digestores anaeróbicos y el tratamiento de los sólidos por medio del ensilaje.

Digestores anaeróbicos.- Por medio de éste se obtiene 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 empleado como combustible para calentamiento, enfriamiento, o ser utilizado en máquinas para poner en marcha generadores eléctricos (**Liceaga, 1994, Taiganides et al., 1996**). La principal desventaja es el alto costo de éstos últimos.

Ensilaje.- Es el producto resultante de la preservación anaeróbica de residuos sólidos de excretas porcinas, por la fermentación y producción de ácidos, los cuales cambian de manera significativa la concentración de carbohidratos solubles presentes en las mezclas. Este método además, estimula el consumo, ya que la fermentación láctica altera algunas de las características sensoriales, favoreciendo un cambio en el olor y sabor de las excretas, haciéndolas más apetecibles para el ganado. La finalidad es transformar una parte de los carbohidratos solubles (aproximadamente 8%) en ácidos grasos de cadena corta, lo que favorece el consumo y posterior digestión del producto final (**Castrejón, 1993, Martínez, 1999**). El proceso de fermentación se ve inducido principalmente por la concentración y fuente de azúcares fermentables, de un 6 a 8%, como mínimo; de una temperatura de 35 a 37 °C y de una humedad del 60% (**Iñiguez, 1991**). Para regular el contenido de humedad se puede mezclar las heces con granos o forrajes molidos dependiendo de la especie de animales a los cuales se les proporcionará el ensilado. Los ensilados se pueden realizar en silos tipo bunker o de trinchera, de mampostería recubierta con cemento o cualquier otro tipo de material impermeable, o bien dentro de bolsas de plástico en el campo, cuando no se cuenta con las instalaciones adecuadas, lo que se conoce como plastisilo (**Cabrera, 1998**). Para un buen ensilado se requiere compactar bien a los ingredientes, ya sea con palas o aplanadoras, para garantizar la anaerobiosis necesaria para la conservación de los nutrimentos y elementos originales contenidos al inicio del proceso (**Ortega y Carranco 1993; Martínez, 1999**). Su principal objetivo es el preservar los nutrimentos del material ensilado. Ventajas: es aceptado por el animal, tiene una pérdida mínima de nutrimentos, la mezcla antes de ensilar no requiere demasiados ajustes, el material puede ser fácilmente almacenado, los patógenos pueden ser eliminados aproximadamente a las tres semanas, los malos olores son controlados, si las excretas usadas son frescas se aprovecha tanto la parte líquida como sólida. Las desventajas de este sistema son: se debe de adicionar forraje o granos molidos, incrementa la mano de obra por la recolección, el transporte para almacenar, el uso de materiales de ensilaje, el tiempo de ensilaje, el transporte a los lugares de almacenaje y la necesidad de contar con facilidades para almacenar las excretas como depósitos verticales herméticamente sellados (**McCullough, 1978; Iñiguez, 1991; Iñiguez, 1993; Liceaga, 1994**).

Uso de excretas porcinas en México.

En un estudio realizado por el Programa de Medio Ambiente del Consejo Mexicano de Porcicultura, en el que se encuestaron a 231 granjas de la República Mexicana, se obtuvo que 76% de las operaciones manifestaron tener un sistema de tratamiento de aguas residuales, entendiéndose por ello contar como mínimo con una laguna de oxigenación; el 9% tenía un pretratamiento, en una fosa o en un cárcamo, y el 10% descargaban en forma directa, esto es, sin tratamiento, a algún cuerpo receptor (suelo, arroyos, barrancas, etc.). De las 231 granjas encuestadas, el 23% utilizaban las excretas en la alimentación de rumiantes, separando sólidos en forma mecánica (28%) y en forma manual (72%), sin embargo no se reportó el tratamiento de los sólidos antes de su uso (**Pérez, 1997**).

Dentro de los sistemas de tratamiento de excretas, el más utilizado en México es la dilución en agua para posteriormente sedimentar los sólidos y a continuación realizar una separación mecánica, con lo que se obtienen por una parte líquidos que son enviados a lagunas de fermentación aeróbicas o anaeróbicas para su almacenamiento (**Taiganides, 1994**) y por otra sólidos ricos en nutrientes. Estos últimos se han convertido en una alternativa para la alimentación animal.

El empleo de los sólidos de las excretas en la alimentación animal presenta las ventajas de demandar baja infraestructura y tecnología, además de requerir poca energía para su procesamiento y adyudar en la disminución de los costos de producción por concepto de alimentación (**Iñigo et al., 1991; Molina, 1997**). Las excretas porcinas poseen valor como insumo alimenticio por su contenido de minerales, fibra cruda (FC), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), de tal manera que una granja de mil hembras reproductoras puede producir 120 kg de PC al día y 400 toneladas al año (**Pérez, 1997**).

Existen ideas encontradas entre los diferentes autores sobre si el reciclaje de las excretas en las dietas animales disminuye o no los costos de producción por concepto de alimento, ya que para algunos las excretas porcinas pueden ser consideradas como una fuente potencial de alimento disponible todo el año para cerdos y rumiantes, que podría

aumentar la cantidad de minerales esenciales y nitrógeno disponibles, contribuyendo en el ahorro de proteína, y así disminuir los costos de alimentación o aumentar los ingresos de las granjas al vender la cerdaza (**López, 1994**).

Un ejemplo de esto es el trabajo de **Peñalva (1984)** quién evaluó el efecto de cuatro diferentes tratamientos: Dieta control sorgo-soya; inclusión de sólido fresco a 25 y 50 %; y un cuarto grupo con 50% de sólido más 8% de melaza, en la alimentación de cerdas desde la gestación hasta el destete, encontró que los animales de los grupos experimentales 3 y 4 rechazaron el alimento durante los tres primeros días, problema que dejó de existir al cuarto día cuando las cerdas consumieron en forma regular toda la ración que les fue ofrecida. El aumento de peso fue mayor en el tratamiento tres, en comparación con el grupo control.

García (1993) evaluó el efecto de la adición de un ensilado elaborado a partir de cerdaza y sorgo sobre el comportamiento productivo de cerdos durante la etapa de desarrollo. Los resultados obtenidos en consumo de alimento fueron similares entre el grupo control y el experimental, sin embargo, hubo una disminución en la ganancia diaria de peso y mayor valor en la conversión alimenticia en el grupo experimental. El costo por kilogramo de peso fue mayor en el lote experimental, considerando solamente el insumo alimento.

Por otra parte, **Iñiguez (1991)** recolectó estiércol del piso de corrales de cerdos en la etapa de finalización alimentados con una dieta a base de sorgo molido, concentrado y alfalfa molido deshidratada, preparó diferentes mezclas de melaza, estiércol y paja de trigo en las respectivas proporciones, a) 5:40:55; b) 5:50:45; c) 5:65:30 y d) 5:80:15. De cada una de las mezclas tomó tres muestras para el análisis de las características de fermentación. En un segundo experimento, se volvió a fermentar mezclas de melaza, estiércol y paja de trigo, pero con tres diferentes porcentajes de agua, 40.8 ± 0.5 ; 54.4 ± 0.7 y $69.0 \pm 0.6\%$. Los niveles de contenido de estiércol en base seca fueron de 11, 22 y 44 % respectivamente. Las mezclas se dejaron fermentar en frascos de vidrio de un litro. Las tapas de los frascos tenían una manguera de látex con una pequeña incisión para la salida del gas producido por la fermentación. En el primer experimento observó más del

6% de carbohidratos solubles en agua (csa) considerado como mínimo para una adecuada fermentación en el proceso de ensilaje. Después de 42 días de fermentación, las mezclas tuvieron un aroma similar y característico al ensilado común. Solamente la mezcla 5:40:55 mostró crecimiento de hongos en la parte superior de 1 frasco. Observó que el pH fue mayor a medida que se incrementó el contenido de estiércol. En el segundo experimento encontró resultados similares en el porcentaje de csa, pH, aumento en los ácidos grasos volátiles y en el ácido láctico, en todas las mezclas desapareció el olor a estiércol.

Por lo anterior, se puede argumentar que el ensilado de excretas porcinas es una alternativa en la alimentación; sin embargo, tanto los efluentes líquidos como la fracción sólida de las excretas, pueden contener gran cantidad de microorganismos patógenos, los cuales pueden sobrevivir por largos periodos de almacenamiento (**Strauch y Ballarini, 1994; Henry et al., 1995; Hernández, 1997**). Dentro de estos microorganismos se encuentran algunas bacterias que pueden ser patógenas tanto para el humano como para el cerdo, mismas que pueden eliminarse o sobrevivir en las excretas porcinas por tiempos variables, entre éstas se encuentran: *Salmonella spp.*, *E. coli enterotoxigénica*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Brachyspira hyodysenteriae* y *Clostridium spp.* (**Henry et al., 1995**).

El reciclaje de excretas es una forma importante de disminuir los costos de producción por concepto de alimentación en granjas; sin embargo, el uso de las excretas sin tratamiento y sin evaluación de las condiciones microbiológicas de éstas, puede resultar en el riesgo de transmisión de enfermedades, especialmente de tipo entérico, ocasionando severos brotes en las granjas porcinas. Por otra parte, los sólidos que se usan como abono de terrenos agrícolas y los efluentes de las granjas provocan la contaminación de ríos, mantos freáticos y pueden ser causantes de zoonosis.

Las dos bacterias que se eliminan por las heces porcinas y que más impacto medio ambiental y de salud pública tienen son: *E. coli* y *Salmonella spp.* Por ejemplo, algunos estudios han revelado que *E. coli* enteropatógena (ETEC), no produce enterotoxinas y no es enteroinvasiva, pero se fija al epitelio tanto del íleon como del ciego y causa desprendimiento de las microvellosidades, por lo que el cuadro diarreico es más

severo en niños. La *E. coli* verotoxigénica serotipo O157: H7 está involucrada en la colitis hemorrágica y en el síndrome urémico hemolítico (HUS) (Gyles y Thoen, 1993).

El otro microorganismo patógeno para el humano es *Salmonella spp.*. Dentro de este género, *S. enteritidis* ha sido la mayor fuente de infección para humanos, aunque existen otras serovariedades que pueden provocar problemas como *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. schottmuelleri*, *S. hirschfeldii* y *S. sendai*. *S. enteritidis* puede sobrevivir en excretas porcinas y contaminar ríos, lagunas, cultivos y otros alimentos (Gyles y Thoen, 1993).

A continuación se hace una descripción de ambos microorganismos:

Salmonella spp.

Es un miembro de la familia Enterobacteriaceae. Actualmente, está dividida en dos especies, *S. entérica* y *S. bongori*, la primera subdividida en seis subespecies, *entérica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *indica* y *houtenae*. Esta bacteria habita en el tracto intestinal de vertebrados y es fuente de contaminación para el agua, alimento, y medio ambiente. Este microorganismo ha sido recuperado del intestino en un amplio rango de animales que incluye a peces, reptiles, pájaros y mamíferos. Fertilizantes y alimentos que contienen productos de origen animal son a veces una fuente de infección para el ganado; tanto la harina de pescado como la de hueso y de carne se contaminan frecuentemente con *Salmonella spp.*, pero si estos productos son procesados hay una marcada reducción en la frecuencia de detección del microorganismo. La leche contaminada y los productos de leche son otras fuentes de infección, particularmente para terneros (Wray y Sojka, 1977).

La salmonelosis es una importante zoonosis (Strauch y Ballarini, 1994; Henry et al., 1995), aunque la transmisión de humano-humano ocurre, los productos y subproductos animales constituyen la fuente más importante de infección para el hombre (Gyles y Thoen, 1993). Particularmente la carne de ave, se ha asociado como una fuente de infección. En años recientes, huevos contaminados con *S. enteritidis* han sido

la fuente más frecuente de infección para humanos. Algunas mascotas como las tortugas son una fuente importante del organismo, particularmente para niños y jóvenes (**Gyles y Thoen, 1993**).

En el ámbito mundial, el cerdo es la principal fuente de salmonelosis transmitida por alimentos. Por más de un siglo se tiene conocimiento de que *Salmonella spp.* ocasiona enfermedad y, en E. U. A., *S. typhimurium* y *S. enteritidis*, se encuentran entre las causas más frecuentes de intoxicación alimentaria; cada año se informa de casi 80,000 casos de salmonelosis y de 580 fallecimientos por esta causa. Además, debido a que muchos casos leves no se reportan, el número real de casos puede ser 20 veces mayor. Se estima que 95% de los casos se deben a transmisión a través de los alimentos (**Mead et al., 1999**). Varios estudios indican que puede haber *Salmonella spp.* en 0-48% de las canales porcinas (**Morgan, 2002**). **Duffy et al., (2000)**, realizaron un estudio en las tiendas de menudeo en los E. U. A., donde encontraron que 9.6% de las muestras estaban contaminadas. Sin embargo, en el mismo país, la mayoría de los casos de esta enfermedad se relacionan con otros alimentos, por ejemplo carne de ave, productos lácteos y carne de res, más que con carne de cerdo, ya que probablemente el temor a la triquinosis, hace que las personas cocinen de mejor manera la carne de cerdo.

En Dinamarca durante 1993, el cerdo constituyó la fuente más importante de salmonelosis transmitida por medio de alimentos. Así, en un brote de más de 500 casos registrados (20 casos por 10,000 habitantes) *S. infantis* fue la causa (**Baggesen et al., 1996**).

Aunque a menudo el equipo del rastro es la fuente inmediata de contaminación, la fuente inicial es el animal portador y se piensa que esto sucede por contacto porcino-porcino o a partir de exposición a un ambiente contaminado (**Berends et al., 1996**).

Los trabajos en la República Mexicana acerca de la contaminación de alimentos con *Salmonella spp.* son los siguientes: **Castañeda et al. (1991)**, investigaron las fuentes de contaminación de la carne de cerdo por *Salmonella spp.* en dos rastros de Guadalajara. Realizó el muestreo ante mortem, postmortem, superficies y equipo. Aisló el

agente en las muestras de carro (70%); hígado (66%); bazo y botas (62.5%); ganchos de transporte, ductos, piso y ganglios (58.3%).

Salgado et al. (1999), realizaron un muestreo en una empacadora de carnes frías, analizó 166 muestras de chorizo fresco con tripa artificial, 146 de chorizo madurado con tripa artificial y 157 chorizo madurado con tripa natural, aisló *Salmonella spp.* en 2.4%, 2.06% y 5.09% respectivamente. El porcentaje de positividad de los serotipos aislados fueron: *S. heidelberg* 52.63%, *S. derby* 21.05%, *S. typhimurium* 15.78%, *S. stanley* y *S. brandenburg* 5.26%. Al tomar muestras de las manos de operarios aisló *S. derby* en un operario del área de molido. De 109 muestras fecales humanas de operarios que participaron en la elaboración de los tres tipos de chorizo, se aisló *Salmonella typhimurium* en un trabajador (0.91%).

Barreiro (1998), realizó un muestreo en cuatro puestos de venta callejera de "taco al pastor", analizó 32 muestras de carne cruda y asada, respectivamente. Se logró el aislamiento de *Salmonella spp.* en el 28% de los casos. Los serotipos encontrados fueron: *S. give*, *S. tennessee*, *S. anatum*, *S. worthington*, *S. heidelberg*, *S. infantis*, *S. panamá* y *S. oraniegurg*. De las 32 muestras de carne asada se encontró que el 3% de los casos fueron positivos a *Salmonella spp.*. Los serotipos encontrados fueron: *S. derby*. Al tomar muestras de las manos de los trabajadores, aisló *S. derby* en el 3% de los casos.

Esta enfermedad se manifiesta en animales en tres formas: enteritis, septicemia y aborto; sin embargo, en una crisis, o hasta en un único animal, cualquier combinación de las tres puede ser observada (**Wray y Sojka, 1977**). Fiebre, inapetencia y depresión son observadas comúnmente en animales enfermos en forma aguda. En el caso de la forma entérica se presenta diarrea profusa con heces fétidas que pueden contener fibrina, moco y a veces sangre. Cuando la enfermedad entérica es severa, la muerte puede resultar por deshidratación con pérdida de electrolitos y desbalance ácido-base. Los signos clínicos comunes del aspecto septicémico de la enfermedad incluyen fiebre, inapetencia y depresión.

En el ganado lechero se observa una disminución en la producción de leche acompañada de la presentación de neumonías en terneros. Dependiendo del lugar donde se localice la *Salmonella spp.*, puede presentarse una meningitis o poliartritis. La enfermedad septicémica puede ser severa y presenta un curso agudo, que es altamente fatal en animales no tratados, o puede ser moderada y manifestarse con un curso subagudo de resolución lenta.

El aborto ocurre frecuentemente en animales gestantes que desarrollan septicemia, ciertas serovariedades son más propensas para provocar aborto que otras. Específicamente *S. dublin* ha estado asociada con crisis de abortos en ganado (**Wray y Sojka, 1977**).

La salmonelosis en cerdos ocurre generalmente después del destete y se ve comúnmente en individuos de 8-16 semanas de edad. En América del Norte *S. choleraesuis* var. *kunzendorf* está asociada con la forma septicémica y *S. typhimurium* con la forma entérica de la enfermedad. Específicamente *S. choleraesuis* es un organismo altamente invasor y la neumonía intersticial y la necrosis hepática multifocal son las lesiones más frecuentes; lesiones necróticas y ulcerativas se observan en la mucosa del colon (**Gyles y Thoen, 1993**). Los cerdos son frecuentemente portadores sanos.

Aunque *Salmonella spp.* puede sobrevivir por largos períodos en el medio ambiente, es el estado de portador el que provee la mayor fuente de infección para animales y humanos (**Wray y Sojka, 1977**). El estado de portador está caracterizado por la ausencia de evidencia clínica de la enfermedad, en animales que son capaces de transmitir infección a individuos susceptibles. Los animales portadores pueden eliminar gran cantidad de *Salmonella spp.* (hasta 10^5 / g) en heces. Los portadores se desarrollan como resultado de la interacción de varios factores, incluyendo la serovariedad, la edad del animal y la cantidad de bacterias ingeridas. Los animales jóvenes frecuentemente excretan al agente solamente durante la convalecencia; mientras que los adultos muy probablemente se vuelven eliminadores crónicos (**Wray y Sojka, 1977**).

El portador activo excreta *Salmonella spp.* por meses o años. El estado de portador activo puede seguir cuando se recupera de la enfermedad clínica; esto es común para ganado adulto que se recupera de salmonelosis debido a *S. dublin*. Estos animales son a veces referidos como excretadores persistentes y generalmente excretan organismos en una tasa hasta de $10^5/g$ de heces. **Plym y Ekesbo (1993)** observaron que *S. dublin* puede encontrarse en las heces hasta por 183 días, en cambio *S. senftenberg* y *S. typhimurium* solo son viables hasta los 183 días.

Los portadores pasivos son animales que ingieren *Salmonella spp.*; en ellos, el microorganismo que está en las heces pasa a través del intestino y puede o no invadir los linfonodos mesentéricos. Estos animales cesan de eliminar *Salmonella spp.* poco después de ser removidos de un medio contaminado (**Plym y Ekesbo, 1993**).

Los portadores latentes son animales que tienen organismos de *Salmonella spp.* en sus tejidos pero generalmente no los excretan constantemente en sus heces; estos animales pueden ser eliminadores intermitentes (**Plym y Ekesbo, 1993**).

Ciertos factores de tensión como es la transportación de animales, el hacinamiento, la administración de corticosteroides, el parto y las infecciones virales concurrentes o de protozoarios, tienden a aumentar la susceptibilidad de animales a la enfermedad y pueden promover la excreción de *Salmonella spp.* por portadores y reactivar la enfermedad (**Henry et al., 1983**).

Escherichia coli

Es un organismo Gram (-) en forma de bacilo, que fermenta la lactosa y produce colonias características en medios diferenciales como el agar MacConkey.

E. coli es el principal habitante del colon, se establece en el intestino delgado después del nacimiento cuando el intestino de los lechones es inoculado con la bacteria que proviene tanto de la madre como del medio ambiente. En animales adultos es usualmente el aislamiento dominante sobre cultivos aeróbicos de heces o de contenido

intestinal. Muchas cepas de *E. coli* son saprofitas e inofensivas, pero otras son patógenas que afectan el intestino o sitios extraintestinales. Las enfermedades que provoca *E. coli* son infecciones entéricas, septicémicas, infección del tracto urinario y mastitis, las cuales se pueden observar en el siguiente cuadro.

Enfermedades causadas por *E. coli*.

Enfermedad	Designación de <i>E. coli</i>	Factores de virulencia
Diarrea en diversas especies	ETEC	Enterotoxinas, Pili
Diarrea en lechones	EPEC	Unión / destrucción Pili?
Enfermedad del edema en cerdos	VTEC	Verotoxina Vte Pili
Colitis hemorrágica en bovinos	VTEC	VT1, VT2 Unión / destrucción
Septicemia en diversas especies	Septicemia	Resistencia al suero Eliminación de hierro LPS?
Infección del tracto urinario	Uropatogénico	Pili Eliminación de hierro Hemolisina Alfa? LPS?
Mastitis	Mastítico	Oportunista

ETEC = Enterotoxigénico.
EPEC = Enteropatogénico.
VTEC = Verotoxigénico.
VT = Verotoxina.
LPS = Lipopolisacárido.

Dos factores de virulencia han sido identificados para la *E. coli* enterotoxigénica (ETEC): los pilis, que intervienen en la colonización del intestino, y las enterotoxinas, que son responsables de trastornos en el fluido y movimiento de electrolitos en el epitelio intestinal. Con la ayuda de la genética molecular se han podido definir algunas diferencias entre los tipos de *E. coli* que causan enfermedad entérica. Verotoxinas o toxinas Shiga-like han sido involucradas en un número de enfermedades de *E. coli* que provoca manifestaciones entéricas o sistémicas.

Algunas estructuras de *E. coli* tienen un papel potencial en la virulencia en el intestino y otros tejidos, estas estructuras incluyen un lipopolisacárido capsular que ayuda a colonizar el intestino. Tiene la ventaja de ser antifagocítico y es antigénicamente pobre.

En bovinos y cerdos provoca diarrea y en humanos septicemia. La pared celular (LPS), tiene la particularidad de provocar coagulación intravascular diseminada y fiebre que se presentan comúnmente en problemas septicémicos. Además cuenta con pili (fimbria), los cuales son filamentos proteínicos que salen de la superficie de la bacteria y confiere la propiedad adhesiva del organismo. Dentro de los cuales se encuentran más comúnmente en los cerdos K88 o F4, K99 o F5, 987P o F6, F41 y el pili asociado a la diarrea postdestete y enfermedad del edema en cerdos. Los productos incluyen enterotoxinas, las cuales se clasifican en termolábil (LT) y termoestable (ST). Cepas enterotoxigénicas de *E. coli* han sido caracterizadas en aislamientos de humanos, bovinos y cerdos. La LT induce hipersecreción de fluidos dentro del lumen del intestino delgado, lo que da como resultado la presencia de diarrea.

Los cerdos pueden sufrir de diarrea por *E. coli* desde el nacimiento hasta las 12 semanas de vida. Esta se ocasiona por una deficiente barrera ácida en el estómago, establecimiento de la flora intestinal, presencia de receptores para la colonización de pili y una alta susceptibilidad a las enterotoxinas que afectan en forma grave a cerdos recién nacidos. La diarrea postdestete se observa en forma profusa y se presenta en mayor proporción cuando los animales sufren hipersensibilidad a antígenos en la dieta. Aunado a la proliferación de la *E. coli*, se presenta atrofia en la vellosidad intestinal, siendo el resultado una mala absorción (Gyles y Thoen, 1993).

Marco legal para la disminución de la contaminación generada por la descarga de aguas residuales.

Por lo expuesto anteriormente, fue necesaria la implementación de un marco legal acerca de los aspectos ambientales, que esta constituido por cuatro leyes: la Ley General de Equilibrio Ecológico y de Protección al Ambiente; la Ley de Aguas Nacionales; la Ley General de Salud y, la Ley Federal de Derechos. En enero de 1997, se publicó la Norma

(NOM-001-ECOL-1996) especifica sobre descargas de aguas residuales, la cual es genérica y establece regulaciones acerca de las características que deben tener seis cuerpos receptores, así como cinco usos posibles del agua de estos cuerpos; establece además, límites máximos permisibles para el pH, la temperatura, los coliformes fecales, los huevecillos de helmintos, el contenido de cianuro y ocho metales pesados. La aplicación de la norma es gradual y las fechas de cumplimiento son los años 2000, 2005 y 2010, según la carga contaminante medida por la demanda bioquímica de oxígeno o sólidos suspendidos totales. Dicho documento presenta varias deficiencias: la principal es que otorga el derecho de contaminar a cambio de un pago; además, deja fuera de control el nitrógeno y el fósforo cuando las aguas residuales se usan para el riego agrícola, y establece un límite máximo permisible para coliformes fecales, lo cual es imposible de alcanzar con un tratamiento secundario. Los instrumentos económicos para la solución de los problemas ambientales relacionados con las descargas de aguas residuales son únicamente dos y están en el ámbito de la política tributaria como un incentivo fiscal, el cual consiste en deducir el 100% del monto de las inversiones en equipo para prevenir y controlar la contaminación ambiental, además del pago de un derecho por la descarga de aguas residuales a aguas y terrenos de propiedad de la nación, consignado en la Ley Federal de Derechos.

Es importante conocer el riesgo sanitario que se tiene al usar excretas, tanto frescas como sólidas en la alimentación animal; sin embargo, en México no existen estudios de las características bacteriológicas de las excretas porcinas, en granjas industriales en las diferentes áreas porcícolas del país.

Por lo tanto es necesario realizar evaluaciones en granjas con diferentes características, para tener un conocimiento básico de la situación y realizar recomendaciones respecto al tratamiento de las excretas, antes de ser recicladas como alimento, ya sea para cerdas gestantes, ovinos o bovinos.

Objetivo general

Determinar la presencia de *Salmonella spp.* y *E. coli* a partir de las excretas porcinas de la fosa de sedimentación, de los sólidos y de los efluentes separados y su sobrevivencia en ensilados a base de la fracción sólida, en 10 granjas porcinas ubicadas en la región central de México.

Objetivos específicos.

1. Realizar el conteo de enterobacterias a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, sólidos y efluentes de 10 granjas porcinas ubicadas en la región central de México.
2. Determinar el género de las bacterias presentes en las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, sólidos y efluentes de 10 granjas porcinas ubicadas en la región central de México.
3. Determinar si existen diferencias en la cantidad de enterobacterias en efluentes y sólidos de acuerdo al tipo de separador de sólidos usado en el proceso.
4. Determinar la presencia de *Salmonella spp.* y *E. coli* a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, sólidos y efluentes de 10 granjas porcinas ubicadas en la región central de México.
5. Tipificar tanto a *Salmonella spp.* como a *E. coli* aisladas a partir de los desechos de la fosa de sedimentación, sólidos y efluentes de 10 granjas porcinas ubicadas en la región central de México.
6. Evaluar la supervivencia de *Salmonella spp.* y *E. coli* en ensilados a partir de la fracción sólida.
7. Realizar el conteo de enterobacterias y determinar el género de las bacterias presentes al onceavo día de ensilaje.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Área geográfica y granjas a evaluar.

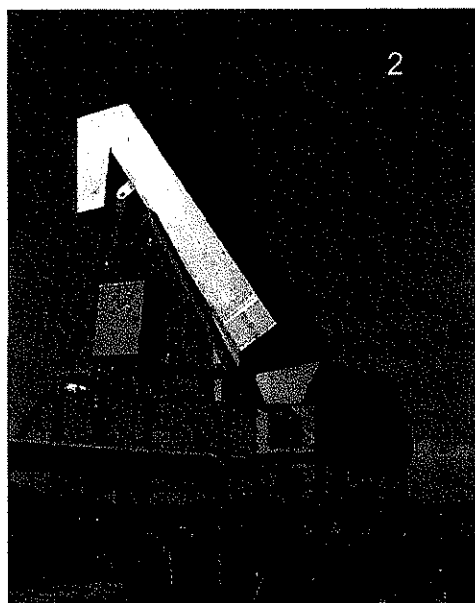
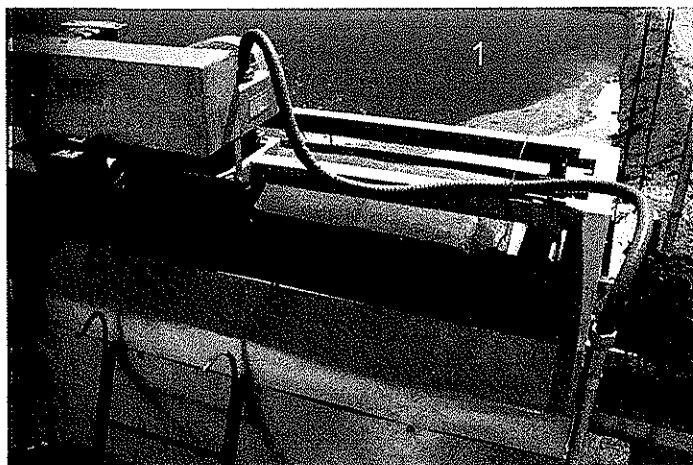
Para realizar el presente trabajo se seleccionaron algunos estados de la región central de la República Mexicana: Guanajuato, Estado de México, Morelos y Puebla; ya que en ésta existe la mayor concentración de granjas porcinas y volumen de producción ([www. agroenlinea. com](http://www.agroenlinea.com)). Se evaluaron diez empresas porcícolas, de tipo industrial con un mínimo de 250 y un máximo de 1,500 hembras reproductoras. Todas las explotaciones contaban con un sistema de separación de sólidos de excretas porcinas. De las granjas, cinco tuvieron antecedentes de problemas entéricos durante los dos últimos años.

Caracterización de las granjas.

En cada una de las granjas se recabaron los siguientes datos:

- I. Características generales.- Ubicación de la empresa; inventario del pie de cría y total de animales. Abastecimiento del alimento. Procedencia del agua. Tratamiento de ésta para su potabilización. Lavado y desinfección de los depósitos del agua.
- II. Antecedentes sanitarios.- Enfermedades que se han presentado en los últimos dos años.
- III. Programa de inmunización.- Medicaciones en agua o alimento. Forma en que se introducen los animales a las casetas (sistema todo dentro-todo fuera ó flujo continuo).
- IV. Que manejo de excretas utilizan (manual o golpe de agua).
- V. Tipo de aparato de separación de sólidos y líquidos con que cuenta la granja.

- VI. Que uso se le da al sólido y al efluente.
- VII. Con la información anterior se realizó la clasificación de las granjas en dos rubros: de acuerdo al tipo de separador de sólidos de excretas porcinas (**Figura 1**) utilizado en cada una de éstas (cilíndrico o cascada) y por otra parte, que empresas porcinas en los últimos dos años habían observado problemas entéricos.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 1. Separadores de sólidos de tipo cilíndrico (1) y cascada (2).

Muestreo.

En cada granja se colectó un litro de líquido de la fosa de sedimentación (FS) en cinco diferentes lugares (**Figura 2**). Las muestras se depositaron en recipientes de vidrio previamente esterilizados (**Figura 3**) y se procedió a medir el pH con ayuda de tiras reactivas (**Anexo 1**). Se identificaron los frascos y se colocaron en una caja de poliuretano con refrigerantes.

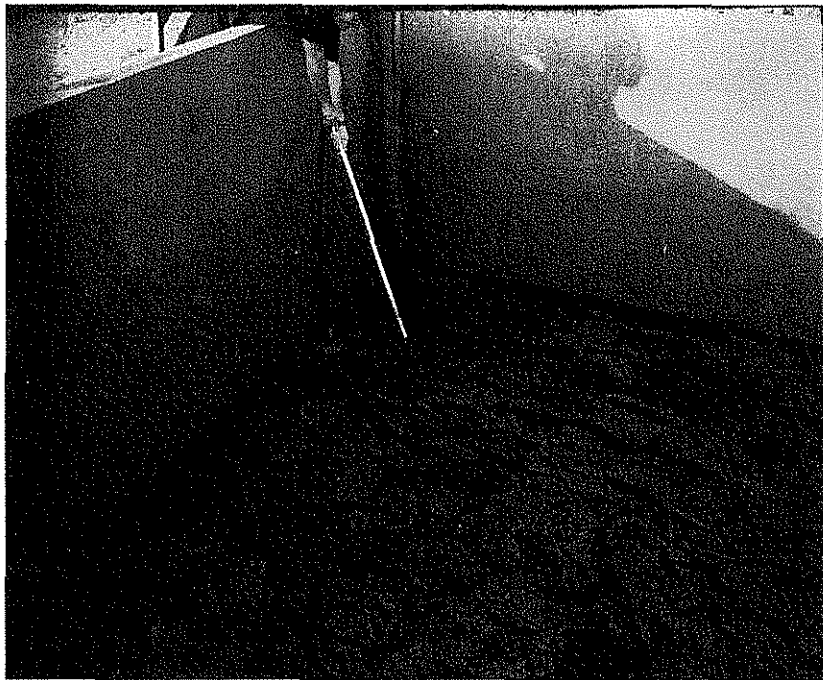


Figura 2. Momento en que se introduce un tubo de plástico rígido en diversas partes de la fosa de sedimentación para la obtención del material.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

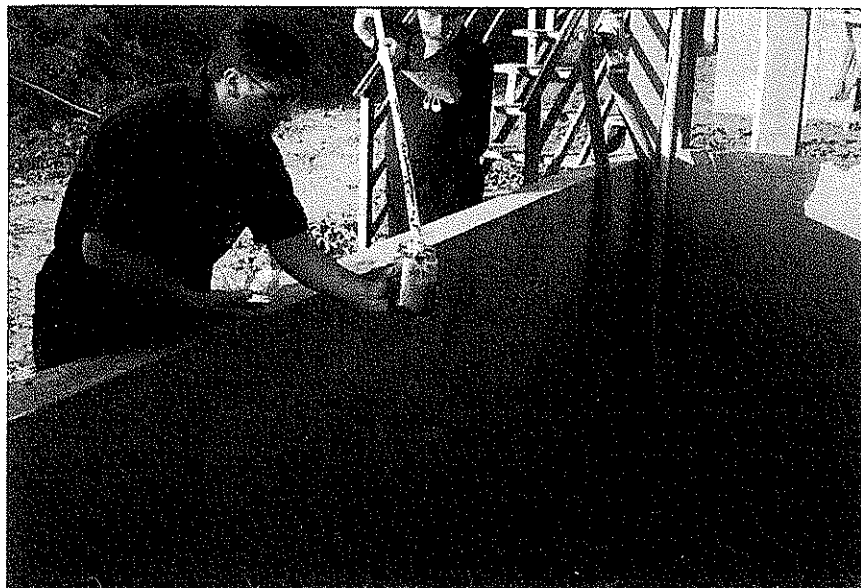
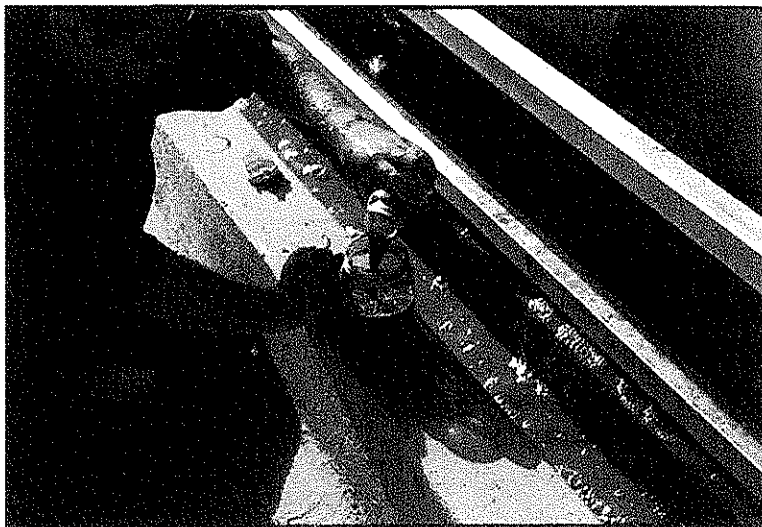


Figura 3. Una vez que se obtenía el material se vertía en frascos de vidrio previamente esterilizados e identificados.

Posteriormente, del aparato de separación de sólidos y líquidos (L), se tomaron pequeñas muestras hasta completar un litro de agua residual a partir de la manguera que conduce el efluente a la laguna de fermentación o al exterior de la granja. A los 10 minutos de haber tomado la primer muestra, se tomó otro litro de líquido (**Figura 4**) (**Martínez et al., 2001**). Se procedió a medir el pH con ayuda de tiras reactivas (**Anexo 1**). Se identificaron los frascos y se colocaron en una caja de poliuretano con refrigerantes.

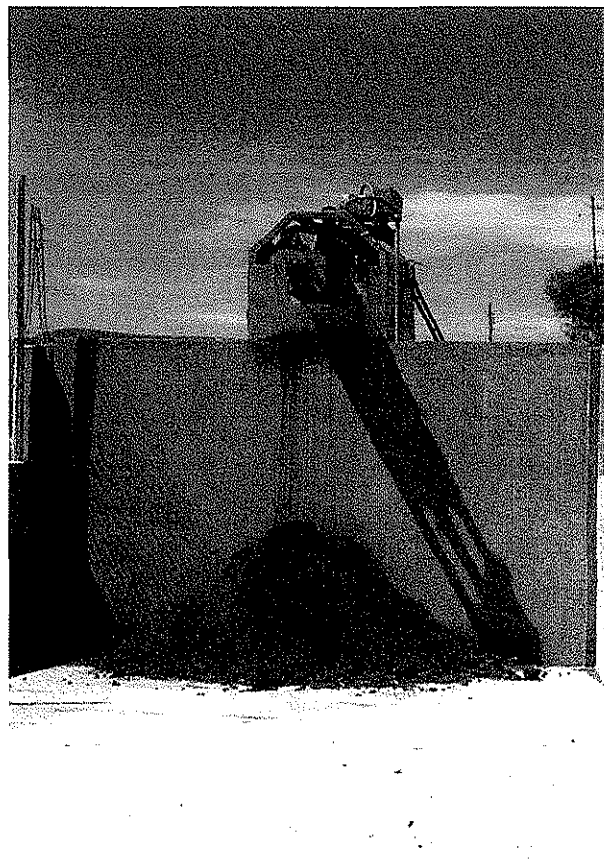
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 4. En algunas granjas que tenían el separador de sólido tipo cilíndrico con un receptáculo de captación, se procedía a tomar de éste la muestra de efluente.

En el caso de los sólidos (S) que salen del separador (**Figura 5**), se colectó una muestra de 500 g en cinco puntos diferentes del depósito de sólidos. A partir de las cinco muestras se realizó una mezcla, se homogenizó y posteriormente se tomaron 500 g que se colocaron en una bolsa de plástico estéril con capacidad de 1 kg, ésta se consideró la muestra de sólido de la cual, una porción se utilizó para ensilar y otra parte se dejó al medio ambiente durante 144 horas. Para cada granja hubo una repetición de acuerdo al método reportado por **Monteith y Shannon (1986) (Cuadro 1) (Anexo 2)**.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 5. Del depósito de los sólidos, previo a la toma de muestra se homogenizaba el material y posteriormente se tomaba de cinco lugares diferentes, para obtener las muestras por granja.

Cuadro 1. Número de muestras evaluadas por granja.

Granja no.	Fosa de sedimentación	Efluente	Sólido
1	2	2	2
2	2	2	2
3	2	2	2
4	2	2	2
5	2	2	2
6	2	2	2
7	2	2	2
8	2	2	2
9	2	2	2
10	2	2	2
TOTAL	20	20	20

Aislamiento bacteriológico.

Una vez colectadas todas las muestras, se procesaron en el laboratorio de diagnóstico del Departamento de Producción Animal: Cerdos, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para evitar la modificación de la carga bacteriana durante el transporte, las muestras fueron conservadas en refrigeración a 4 °C durante su traslado de la granja al laboratorio.

A partir de cada muestra se realizó la cuantificación de enterobacterias; así como el aislamiento y tipificación, tanto de *Salmonella spp.* como de *E. coli*, a través de los procedimientos descritos a continuación:

Conteo de Enterobacterias.

Para realizar el conteo de enterobacterias, se llevaron a cabo diluciones décuples seriadas, colocando un gramo de muestra en nueve mililitros (ml) de solución salina fisiológica estéril, la cual tenía un pH de 7.0, se homogeneizó 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 (**Figura 6**). A partir de cada dilución se tomaron 50 microlitros (μ l) y se sembró en agar MacConkey¹, incubándose a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente se registró el número de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) (**Martínez et al. 2001**).

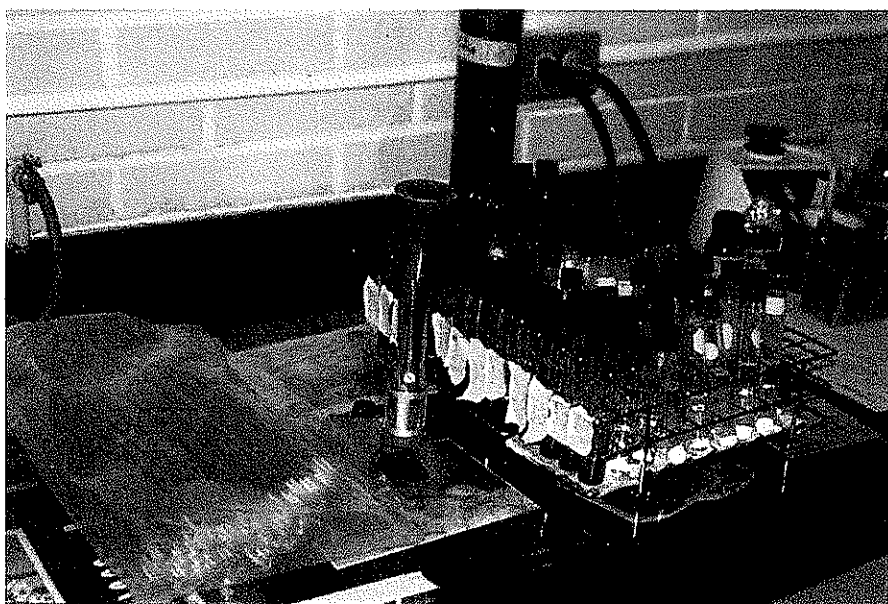


Figura 6. Gradilla que contiene tubos con muestra, a partir de éstas se realizó la dilución décuple seriada.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

[®] Vortex-genie-2. Scientific Industries.

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

Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp.

Se tomaron 5 ml y 5 gramos de líquido y sólido respectivamente y se inocularon en 50 ml de caldo selenito de sodio¹ así como en caldo tetratonate² (Figura 7); se incubaron a 37 °C durante 18 a 24 horas.



Figura 7. Frascos que contienen caldo selenito (1) y caldo tetratonate (2) inoculados con muestras de sólido.

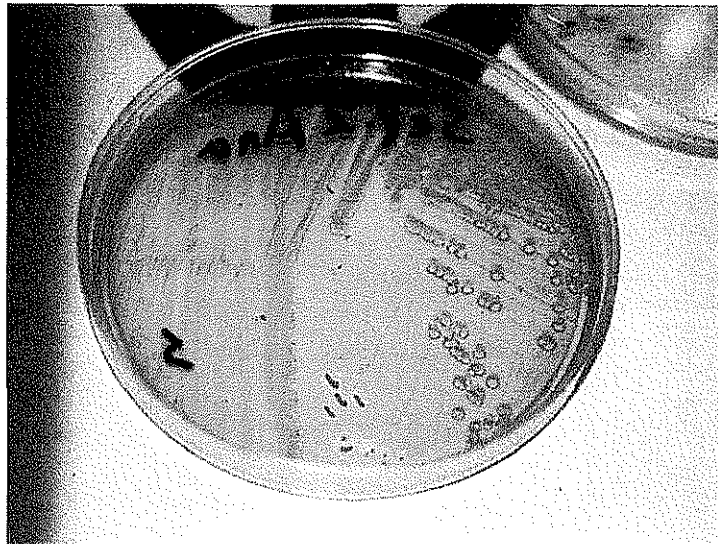
Se resembraron por la técnica de hisopo en cajas con agar *Salmonella-Shigella*³ (SS) y Verde brillante⁴ (VB), a las 24 horas se hizo una resiembra en agar SS y VB (Carter, 1979). Al tercer pase se dio por concluida la presencia o no del agente. Las cajas se examinaron diariamente y se seleccionaron colonias sospechosas de *Salmonella* spp. (Henry et al. 1995) esto es, que fueran de color trasparente con un punto negro en el centro (en el caso del agar SS). Se les realizó un frotis y las colonias de bacilos Gram negativo, se resembraron en una placa con agar SS (Figura 8).

¹ Bioxon. Hecho en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 220300 (REF 4300203)

² Bioxon. Hecho en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 211683 (REF 4300120)

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

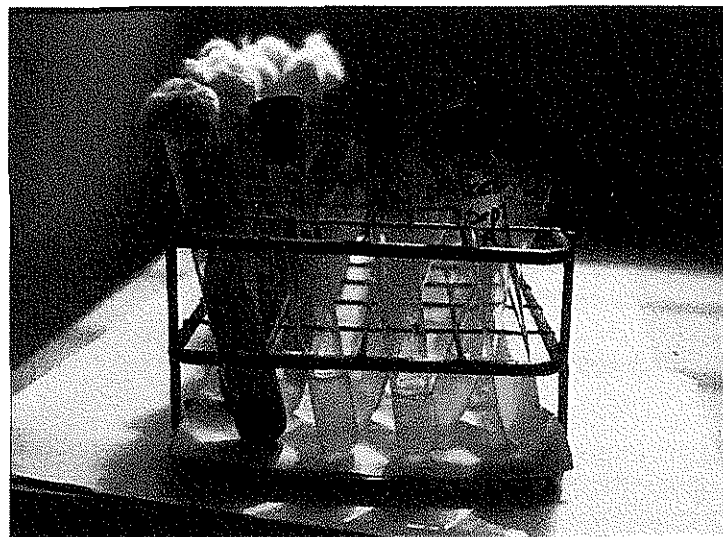
⁴ Bioxon. Hecho en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 211708 (REF 4300124)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 8. Caja que contiene agar MacConkey con colonias de *Salmonella spp.*

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 los azúcares como ramanosa, arabinosa y trealosa (**Figura 9**); incubándose durante 24 horas a 37 °C. Se registraron los datos en un formato de identificación bacteriana (**Anexo 3**). Con esta información se concluyó el serotipo (**Carter, 1979**).



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 9. A partir del TSI se realizó la bioquímica para identificar *Salmonella spp.* utilizando los azúcares ramnosa, arabinosa y trealosa.

Además para corroborar el serogrupo se realizó la técnica desarrollada por Difco Laboratories¹ de la siguiente manera:

Se colocaron 50 µl de antisuero polivalente de *Salmonella* grupo somático O (*Salmonella* O Antiserum Poly A-I & Vi²) en una placa de vidrio. Posteriormente con un asa bacteriológica se tomaron colonias del Agar Hierro Tres Azúcares (TSI), 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.

Por otra parte, una vez identificada la *Salmonella spp.*, se colocaron 50 µl de los siguientes antisuecos, uno del grupo C de *Salmonella* grupo somático O (*Salmonella* O Grupo C1, factores 6, 7³) y otro que contenía el grupo D1, factores 1, 9, 12⁴, en una placa de vidrio. Posteriormente con un asa bacteriológica se tomaron colonias del Agar Hierro

¹ Difco Laboratories. Detroit, Michigan. USA.

² Difco. Distribuido en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 222641

³ Difco. Distribuido en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 229491

⁴ Difco. Distribuido en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 2951470

Tres Azúcares (TSI), 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. Cabe señalar que con esta prueba se hizo la diferenciación entre *S. choleraesuis* y *S. enteritidis*.

Aislamiento e identificación de *E. coli*.

Para efectuar el aislamiento de *E. coli*, de las mismas muestras tomadas de FS, L y S, se sembró 1 ml de líquido o 1 g de sólido en agar MacConkey, posteriormente se incubó a 37 °C durante 24 horas. Se seleccionaron tres colonias sospechosas (colonias grandes mucoides de color rosa), se les realizó un frotis y aquellas Gram negativas y con morfología coco-bacilar, se resembraron en agar MacConkey (**Figura 10**). Posteriormente se les realizó las pruebas bioquímicas, sembrándolas en Agar Hierro Tres Azúcares (TSI), medio de SIM, Agar Citrato de Simmons y Urea, incubándose durante 24 horas. Se registraron los datos en un formato de identificación bacteriana (**Henry et al., 1995, Martínez et al. 2001**).



Figura 10. Caja de Petri con agar MacConkey que contiene colonias de *E. coli* con 24 horas de sembrada.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Una vez realizada la identificación, se procedió a conocer el serotipo, el cual se realizó a través de una prueba de aglutinación en placa (antisueros adquiridos del Centro de Referencia de la Universidad del Estado de Pennsylvania, USA), de la siguiente manera:

Se colocaron 50 μ l de cada uno de los antisueros (F4, F5 y F6) y su control positivo en una placa de papel. Posteriormente con un asa bacteriológica se tomó una colonia del agar MacConkey, previamente sembrado con *E. coli*. Se homogenizó con la misma asa bacteriológica y durante los tres primeros minutos, en el caso de positividad, se observó aglutinación, siempre realizando la comparación con el control positivo (Figura 11).

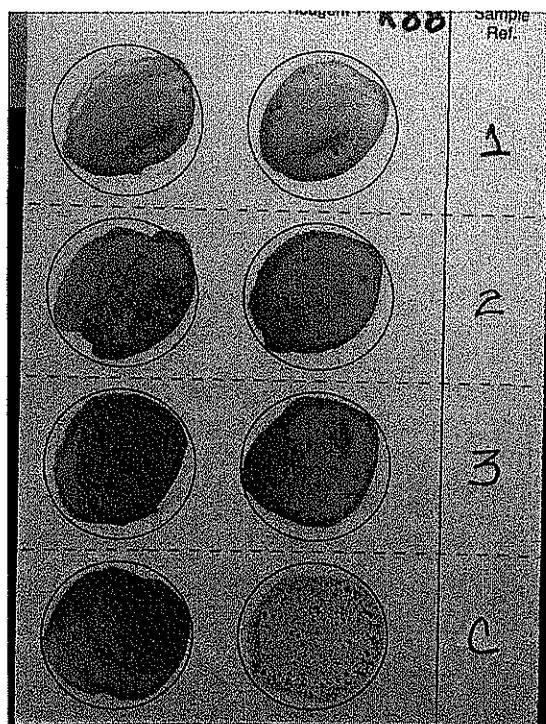


Figura 11. Serotipificación de *E. coli* por la prueba de aglutinación en tarjeta.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Sólido expuesto al medio ambiente durante 144 horas.

De las muestras de la porción sólida, una parte (3 kg) se depositó en un recipiente de plástico con capacidad de 10 kg y se colocó en un anaquel, la condición ambiental a la

que estuvo expuesto el material fue una temperatura de 18 °C durante 144 horas, al termino de este periodo se procedió a tomar las muestras pertinentes para llevar a cabo el conteo de enterobacterias, el aislamiento de *Salmonella spp.* y su tipificación. Así mismo se llevó a cabo el aislamiento de *E. coli* y su tipificación.

Ensilado de excretas sólidas.

Las muestras de sólidos obtenidas de cada una de las 10 granjas, se ensilaron de la siguiente manera: en un recipiente de plástico con capacidad de 30 kg se colocaron excretas en un 82 %, grano de sorgo molido que se incluyó en un 10 %, melaza de caña en un 8 %, todo esto se mezcló manualmente homogenizando durante 5 minutos (**Figura 12**). Una vez elaborada la mezcla se procedió a llenar por capas los frascos de plástico con capacidad de 500 g previamente esterilizado. Entre cada una de las capas se compactaba el material y se colocaba la siguiente, una vez llenos a su máxima capacidad, para evitar la entrada de aire se cerraron y sellaron los microsilos. Se utilizaron dos replicas, cada una con su grupo control.



Figura 12. Proceso de elaboración del ensilado a partir de sólido, sorgo molido y melaza.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Análisis microbiológico de los ensilados

Después de 11 días de iniciado el proceso de ensilaje, los microsilos fueron abiertos en condiciones de asepsia (Figura 13). Se esterilizó una espátula de aluminio y se procedió a desechar una capa superficial de 4 a 5 cm de espesor, con la finalidad de remover el material que pudo no haber alcanzado anaerobiosis, ni niveles óptimos de acidificación y evitó con ello contaminación bacteriana; posteriormente se tomaron 5 gramos del material y se sembraron en los diferentes medios para corroborar la presencia de *Salmonella spp.* y *E. coli*, con las técnicas antes mencionadas. Además, se tomó un gramo y se introdujo en un tubo que contenía 9 ml de solución salina fisiológica, para realizar el conteo de enterobacterias.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 13. Características organolépticas a los 11 días de ensilaje.

Cabe señalar que una vez extraída la primera capa del material ensilado, se determinaron además las principales características sensoriales (presencia de hongos, olor y color).

Por otra parte, se tomó un gramo del material ensilado y se sembró en cajas de Petri que contenían agar Columbia¹. Estas cajas se colocaron en una jarra de anaerobiosis con presencia de CO₂ generado a través de un kit que provee un sistema anaeróbico², y se incubaron durante toda la noche a 37 °C. Se seleccionaron colonias, se les realizó un frotis y aquellas bacterias Gram positivas y con morfología coco-bacilar (**Figura 14**), que median de 0.5 a 1.1 µm, se resembraron en agar Columbia. Posteriormente, a las 24 horas se examinaron las cajas de agar y una vez purificadas las colonias, se les realizó su identificación a través de pruebas bioquímicas, sembrándolas en medio de SIM y en los azúcares como arabinosa, maltosa y salicin, además de la presencia de ácido sulfhídrico que permitieron diferenciar entre los géneros *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Listeria spp.* y *Lactobacillus spp.*.

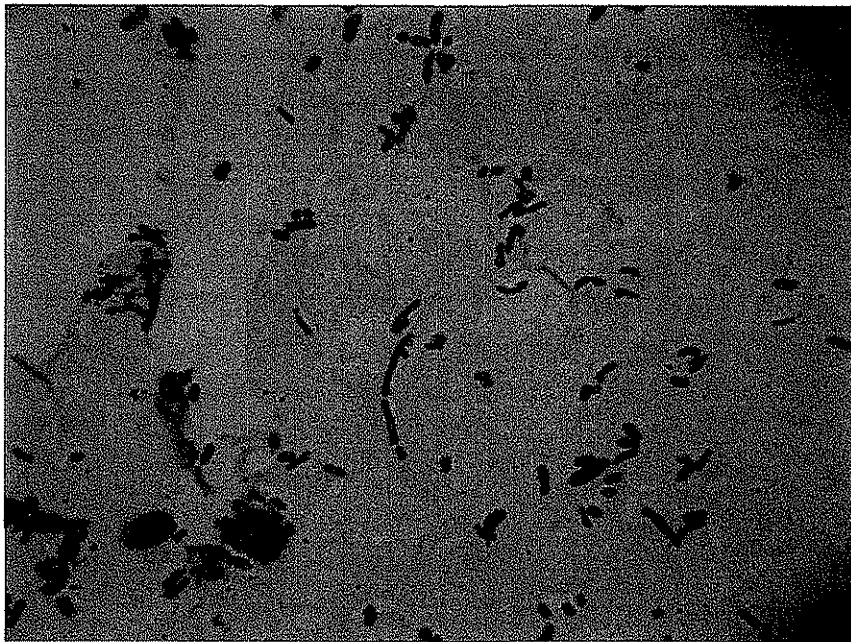


Figura 14. Frotis en el que se observan bacterias coco-bacilares que corresponden a *Lactobacillus spp.*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

¹ Bioxon. Hecho en México por Becton Dickinson de México. Catálogo 224000 (REF 4300240)

² Difco Laboratories. Distribuido por Biotec Biomed Industria. Catálogo 1952248

Además al material ensilado de cada granja se le realizó el análisis químico proximal, exclusivamente para conocer su composición.

Análisis estadístico

Los resultados de las unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) tanto para el conteo de enterobacterias como de *E. coli*, de las muestras tomadas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido, fueron transformados obteniendo el logaritmo base 10; con los datos así transformados se llevó a cabo el análisis de varianza, por medio del paquete estadístico SAS (Statistic Analysis System, 1998) utilizando el siguiente modelo:

$$\gamma_{ijk\lambda} = \mu + A_i + T_j + M_\kappa + AT_{(ij)} + AM_{(i\kappa)} + TM_{(j\kappa)} + ATM_{(ij\kappa)} + e_{ijk\lambda}$$

donde:

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

μ = media general.

A_i = Efecto de la granja (1=con y 2=sin antecedentes de problemas entéricos),
i=1, 2

T_j = Efecto del tipo de separador de excreta (1 = cascada, 2 = cilindro), j = 1, 2

M_κ = Efecto del tipo de muestra (1 = Efluente, 2 = Sólido), κ = 1, 2,

$AT_{(ij)}$ = Efecto de la interacción granja por tipo de separador.

$AM_{(i\kappa)}$ = Efecto de la interacción granja por tipo de muestra.

$TM_{(j\kappa)}$ = Efecto de la interacción tipo de separador por muestra.

$ATM_{(ij\kappa)}$ = Efecto de la interacción tipo de granja por tipo de separador por tipo de muestra.

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

Los resultados del aislamiento de *Salmonella spp.* se presentan con un análisis descriptivo, debido a que es suficiente con la presencia del microorganismo para considerar la muestra como una fuente de contaminación potencial.

RESULTADOS

Descripción de las granjas.

Granja # 1

Características generales.- Esta explotación se encuentra ubicada en Guayabo de Pedrosa, municipio de Pénjamo, Guanajuato. Cuenta con 440 cerdas y 6 sementales. Para satisfacer su necesidad de reemplazos, se abastecen de semen de un centro de inseminación artificial de la misma empresa. El total de animales que tiene es de 4,000, el alimento lo abastece una casa comercial, el agua proviene de pozo y se le adiciona cloro, para la potabilización. Los depósitos del agua como son la cisterna y los tinacos aéreos, se lavan periódicamente.

Antecedentes sanitarios.- Las enfermedades que se han presentado en los últimos dos años son:

Área de Servicios y Gestación.- Síndrome Respiratorio y Reproductivo del Cerdo (PRRS) y Enfermedad del Ojo Azul (EOA).

Área de Destete y Engorda.- Estreptococosis, Enfermedad de Glässer; Salmonelosis (S), Neumonía Enzootica (NE) y Complejo Respiratorio Crónico (CRC).

Se tiene establecido un programa de inmunización para las siguientes enfermedades: Fiebre Porcina Clásica (FPC), Enfermedad de Aujeszky (EA), NE, EOA y Leptospirosis-Parvovirus (Lepto-Parvo).

Se utilizan medicaciones constantes para prevenir problemas respiratorios en las etapas de destete y crecimiento (45-50 kg).

En maternidad y destete se utiliza el sistema todo dentro-todo fuera, pero en la engorda el flujo es continuo.

El manejo de excretas en el área de maternidad y destete es por golpe de agua, en la engorda y servicios-gestación es por paleo y barrido manual.

Sistema de manejo de excretas.- El aparato de separación de sólidos y líquidos con que cuenta la granja es de tipo cilíndrico.

El líquido que se obtiene del separador se vierte a tres lagunas de fermentación escalonadas y posteriormente se descargan a un canal que lo lleva a un cuerpo receptor,

cabe señalar que no se agrega ningún producto a las fosas o lagunas, por lo que cumple con lo establecido por la norma oficial (NOM-001-ECOL-1996).

El sólido que se obtiene de la separación se vende como fertilizante y otra parte se utiliza para alimentar rumiantes que están alojados en un predio de la misma empresa.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja con antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cilíndrico.

Granja # 2

Características generales.- Esta ubicada en Las Liebres, municipio de Pénjamo, Guanajuato. En la actualidad tienen 720 cerdas reproductoras, 10 sementales y 7, 500 animales en total. El alimento lo abastece una casa comercial. El agua que se utiliza en la granja es tratada y es transportada a través de pipas desde La Piedad, Michoacán. Se vacía en una cisterna general de 25,000 litros, la que por gravedad se distribuye a las diferentes áreas. Este depósito se llena dos veces al día.

Antecedentes sanitarios.- Las enfermedades que se han presentado en los últimos dos años han sido:

Área de Servicios y Gestación.- EOA y PRRS.

Área de Destete y Engorda.- Estreptococosis, CRC y S.

Se tiene establecido un programa de inmunización contra las siguientes enfermedades: FPC, EA, NE, EOA y Lepto-Parvo.

Se utiliza medicación en forma de pulsos en las áreas de destete y al entrar a la engorda.

En todas las áreas se usa el sistema todo dentro-todo fuera.

El manejo de excretas en las áreas de maternidad, gestación y destete es manual. En la engorda se tienen charcas.

Sistema de manejo de excretas.- El aparato de separación de sólidos y líquidos con que cuenta la granja es de tipo cilíndrico.

El líquido que se obtiene del separador se vierte a tres lagunas de fermentación escalonadas y posteriormente se descargan a un canal que lo lleva a un cuerpo receptor.

El sólido que se obtiene de la separación se utiliza para alimentar rumiantes que están alojados en el mismo predio.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja con antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cilíndrico.

Granja # 3

Características generales.- Esta explotación se encuentra ubicada en San Felipe Chilarillo, municipio de Pénjamo, Guanajuato. Tiene 870 cerdas reproductoras y 44 sementales, con un total de 9,000 animales. Todos los trabajadores así como el médico veterinario y el asesor, se bañan antes de entrar y al momento de salir de la granja. La empresa cuenta con un camino exclusivo. El alimento lo abastece una casa comercial. El agua proviene de pozo y recibe un tratamiento con cloro para su potabilización. Los depósitos del agua que se encuentran sobre plataformas son lavados y desinfectados en forma periódica.

Antecedentes sanitarios.- Las enfermedades que se han presentado en los últimos dos años han sido:

Área de Servicios y Gestación.- EOA y PRRS.

Área de Destete y Engorda.- CRC.

Se tiene establecido un programa de inmunización contra las siguientes enfermedades: FPC, EA, NE, EOA y Lepto-Parvo.

Se utiliza medicación en forma de pulsos en las áreas de destete y al entrar a la engorda.

En las diferentes áreas se usa el sistema todo dentro todo fuera.

Sistema de manejo de excretas.- El manejo de excretas en el área de maternidad es a través de golpe de agua; en gestación es manual y en destete es 50 manual y 50% golpe de agua. En la engorda se tienen charcas.

El aparato de separación de sólidos y líquidos con que cuenta la granja es de tipo cilíndrico.

El líquido que se obtiene de la separación se vierte a las lagunas de fermentación y posteriormente se van a una cañada.

El sólido que se obtiene de la separación se les proporciona a los rumiantes.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja sin antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cilíndrico.

Granja # 4

Características generales.- Esta explotación se encuentra ubicada en Santa Ana Jilotzingo, Estado de México. Tiene 283 cerdas reproductoras y 6 sementales, con un total de 2,800 animales. La empresa se encuentra a la orilla de una carretera lo que establece que sus medidas de aislamiento son inexistentes. El alimento lo elaboran en la granja. El agua proviene en parte de la red pública, aunque también se compran pipas con agua y no recibe ningún tratamiento. Los depósitos del agua se encuentran sobre plataformas y son lavados y desinfectados en forma periódica.

Antecedentes sanitarios.- Las enfermedades que se han presentado en los últimos dos años han sido:

Área de Destete y Engorda.- CRC.

Se tiene establecido un programa de inmunización contra la FPC.

Se utiliza medicación en forma de pulsos con oxitetraciclinas en las áreas de destete y al entrar a la engorda.

En las diferentes áreas se usa el sistema todo dentro todo fuera.

Sistema de manejo de excretas.- El manejo de excretas en las diferentes áreas productivas de la granja es manual.

La zona donde se ubica la granja es muy fría, por lo que en el área de engorda se coloca paja para incrementar la temperatura dentro de los corrales.

El aparato de separación de sólidos y líquidos con que cuenta la granja es de tipo cascada.

El líquido que se obtiene de la separación se vierte a las lagunas de fermentación y posteriormente se utiliza para el riego de la vermicomposta, misma que se emplea como sustrato para la lombriz roja y obtener humus. El agua que escurre se vierte a una barranca.

El sólido obtenido de la separación tiene un alto contenido de paja.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja sin antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cascada.

Granja # 5

Características generales.- Esta ubicada en la carretera Tétela del volcán - Tlacotepec, Morelos. Tiene 150 cerdas reproductoras y 9 sementales, con un total de 1, 450 animales. El alimento se fabrica en la granja. La granja se provee de agua de tres fuentes, un ojo de agua, un arroyo y por último se extrae de un pozo y no se le da tratamiento para su potabilización. Los depósitos del agua se lavan y desinfectan con cloro en forma esporádica.

Antecedentes sanitarios.- Las enfermedades que se han presentado en los últimos dos años son:

Área de Destete y Engorda.- Enteropatía Proliferativa Porcina (EPP) y Erisipela porcina (EP).

Se tiene establecido un programa de inmunización contra las siguientes enfermedades: FPC, Parvo-Lepto.

Se utiliza medicación en forma de pulsos con tilosina o tiamulina en las áreas de engorda para controlar el problema de EPP.

Sistema de manejo de excretas.- El manejo de excretas es manual en todas las áreas.

El aparato de separación de sólidos y líquidos con que cuenta la granja es de tipo cascada.

Una vez que el líquido sale del aparato de separación, se utiliza para riego de los campos de cultivo o se vierten a la barranca.

El sólido obtenido de la separación se usa como fertilizante.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja con antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cascada.

Granja # 6

Características generales.- La explotación esta localizada en la carretera Los Reyes - Zumpango, Estado de México. Tiene 500 cerdas reproductoras y 8 sementales, con un total de 3, 508 animales. El alimento se fabrica en la granja. El agua se extrae de un pozo y no se le da tratamiento para su potabilización. Los depósitos de la misma no se lavan ni desinfectan.

Antecedentes sanitarios.- Las enfermedades que se han presentado en los últimos dos años son:

Área de Servicios y Gestación.- PRRS y EOA.

Área de Destete y Engorda.- Pleuropneumonía por *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) y NE.

En las diferentes áreas de la granja, no se han observado signos clínicos de un cuadro digestivo.

Se tiene establecido un programa de inmunización contra las siguientes enfermedades: FPC y EOA.

Se dan medicaciones continuas en la línea de producción para controlar App, NE y otros agentes secundarios, utilizando tiamulina, clortetraciclina y enrofloxacina.

Sistema de manejo de excretas.- El manejo de excretas es manual en todas las áreas.

El aparato de separación de sólidos y líquidos con que cuenta la granja es de tipo cascada.

Una vez que el líquido sale del aparato de separación, éste se vierte a una laguna fuera de la granja, donde los campesinos de la zona lo usan para riego, cabe señalar que no se le adiciona ninguna sustancia, ni se realiza tratamiento alguno.

El sólido obtenido de la separación se les proporciona como alimento a los rumiantes en una proporción de 100 kg por tonelada.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja sin antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cascada.

Granja # 7

Características generales.- Esta granja esta localizada en la carretera Puebla – Tehuacan, en el Estado de Puebla. Actualmente tiene 1, 500 cerdas reproductoras de alta salud, las cuales están repoblando el sitio uno. No tienen sementales ya que se cuenta con un centro de inseminación artificial, que abastece a las diversas granjas que integran al complejo. Los Médicos Veterinarios, asesores y todos los trabajadores se bañan antes de entrar y al momento de salir de la granja. Aunque se tiene un camino comunal a la empresa, el transito por parte de vehículos ajenos a la explotación es mínimo. El alimento se fabrica en la propia granja. El agua proviene de un pozo y se le adiciona cloro, para potabilizarla. Los depósitos del agua, se lavan y desinfectan cada tres meses.

Antecedentes sanitarios.- son cerdas reproductoras de origen canadiense con certificados de libre de enfermedades, las cuales hasta el momento no han presentado signos clínicos de enfermedad.

Se tiene establecido un programa de inmunización contra las siguientes enfermedades: Parvovirus-leptospira-erisipela antes del servicio.

Se han realizado medicaciones en pulsos con tiamulina y clortetraciclina.

Sistema de manejo de excretas.- El manejo de excretas en este sitio es manual.

El aparato de separación de sólidos y líquidos es de tipo cilíndrico.

Una vez que el líquido sale del aparato de separación, se vierte a las lagunas de fermentación.

El sólido lo venden como fertilizante.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja sin antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cilíndrico.

Granja # 8

Características generales.- Esta localizada en la carretera Puebla – Tehuacan, en el Estado de Puebla, con 5, 000 animales en total. Los trabajadores, así como el médico veterinario y el asesor, se bañan antes de entrar y al momento de salir de la granja. Cuenta con un camino comunal a la empresa. El alimento se fabrica en la granja. El agua

proviene de un pozo y se le adiciona cloro para su potabilización. Los depósitos del agua son lavados y desinfectados cada tres meses.

Antecedentes sanitarios.- Las enfermedades que se han presentado en los últimos dos años son:

Área de Servicios y Gestación.- PRRS.

Área de Destete y Engorda.- Enfermedad de Glässer y Estreptococosis, NE, EPP.

Se tiene establecido un programa de inmunización contra la FPC.

Se realizan medicaciones en pulsos con tiamulina y lincomicina para controlar problemas de EPP.

Sistema de manejo de excretas.- El manejo de excretas es manual.

El aparato de separación de sólidos y líquidos es de tipo cilíndrico.

Una vez que el líquido sale del aparato de separación, se vierte a las lagunas de fermentación.

El sólido lo venden como fertilizante.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja con antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cilíndrico.

Granja # 9

Características generales.- La granja esta localizada en Tejocote, Tequistengo, Querétaro. Tiene en total 6, 000 animales. Los trabajadores, el Médico Veterinario y el asesor se bañan antes de entrar y al momento de salir de la granja. La empresa tiene un camino comunal. El alimento se fabrica en la granja. El agua proviene de pozo y no recibe tratamiento alguno para su potabilización. Sin embargo, los depósitos se lavan y desinfectan cada dos meses.

Antecedentes sanitarios.- Las enfermedades que se han presentado en los últimos dos años son:

Área de Servicios y Gestación.- PRRS.

Área de Destete y Engorda.- Enfermedad de Glässer, Estreptococosis, NE, EPP.

Se tiene establecido un programa de inmunización contra las siguientes enfermedades: NE y FPC.

Medicaciones a pulsos con tiamulina y clortetraciclina para controlar problemas respiratorios.

Sistema de manejo de excretas.- Para el manejo de excretas se tienen fosas anegadas, las cuales se vacían, se lavan y desinfectan cuando sale el lote.

El aparato de separación de sólidos y líquidos es de tipo cascada.

Una vez que el líquido sale del aparato de separación, se vierte a las lagunas de fermentación.

El sólido que se obtiene del aparato de separación lo venden para utilizarse como fertilizante.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja con antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cascada.

Granja # 10

Características generales.- Esta ubicada en Tejocote, Tequistengo, Querétaro. Tiene 1,200 cerdas reproductoras, el semen lo adquieren de un centro de inseminación artificial de la misma empresa. Los trabajadores, el médico veterinario y el asesor, se bañan antes de entrar y al momento de salir de la explotación. Cuenta con un camino comunal a la granja, pero son pocos los vehículos ajenos a la empresa que lo usan. El alimento se fabrica en la granja. El agua proviene de pozo y no recibe tratamiento alguno para su potabilización. Los depósitos son lavados y desinfectados cada dos meses.

Antecedentes sanitarios.- Enfermedades presentes en los últimos dos años:

Área de Servicios y Gestación.- PRRS.

Área de Destete y Engorda.- NE, solo se reportan algunos cuadros de diarrea por *E. coli* en lechones.

Calendario de vacunación: Parvo-Lepto-Erisipela, FPC y PRV.

Medicaciones a pulsos en gestación con sulfapiridacina-trimetoprim; doxiciclina. En lactancia sulfas-cloropiridacina para controlar problemas de *E. coli*.

Sistema de manejo de excretas.- Para el manejo de excretas se tienen pisos con slat en la gestación y fosas anegadas, las cuales se vacían, se lavan y desinfectan cada 2 meses. En maternidad se tienen jaulas elevadas y pisos con declive, todo el excremento se va a una coladera.

El aparato de separación de sólidos y líquidos es de tipo cascada.

Una vez que el líquido sale del aparato de separación, se vierte a las lagunas de fermentación.

El sólido lo venden como fertilizante.

Clasificación de la granja para fines de esta investigación.- Granja sin antecedentes clínicos de problemas entéricos y separador de sólidos de excretas porcinas de tipo cascada.

De las diez granjas porcinas que fueron muestreadas en el presente trabajo, cinco tuvieron antecedentes clínicos de problemas entéricos siendo estas las siguientes: 1, 2, 5, 8 y la 9. Las granjas 3, 4, 6, 7 y 10 no tuvieron antecedentes clínicos de problemas entéricos. Las empresas que cuentan con separador cilíndrico son la 1, 2 y 8, mientras que la 5 y 9 tienen separador de cascada. De las granjas sin antecedentes, que tuvieron el separador de cascada fueron la 4, 6 y 10. Las que tuvieron el separador cilíndrico fueron la 3 y la 7 (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Clasificación de granjas por antecedentes clínicos de problemas entéricos y tipo de separador.

Granja No.	Antecedentes	Tipo de separador
1	Si (salmonelosis)	Cilíndrico
2	Si (salmonelosis)	Cilíndrico
5	Si (ileitis)	Cascada
8	Si (salmonelosis)	Cilíndrico
9	Si (ileitis)	Cascada
3	No	Cilíndrico
4	No	Cascada
6	No	Cascada
7	No	Cilíndrico
10	No	Cascada

Conteo de enterobacterias

Los resultados del análisis de varianza para el conteo de enterobacterias, se muestran en el **Cuadro 3**.

Cuadro 3. Análisis de varianza para el conteo de enterobacterias.

TIPO	GL	Cuadrado Medio	Valor de F	Pr > F
Modelo	7	5.01911691	5.23	0.0005
A	1	5.43321893	5.66	0.0235
T	1	3.26127423	3.40	0.0745
M	1	24.05202623	25.06	0.0001
A T	1	2.83150616	2.95	0.0955
AM	1	0.11988719	0.12	0.7261
TM	1	0.00220511	0.00	0.9621
ATM	1	3.47663230	3.62	0.0660
Error	32	0.95967532		

GL = Grados de libertad.

A = Granjas antecedentes y sin antecedentes de problemas entéricos.

T = Tipo de separador de excreta porcina.

M = Tipo de muestra.

AT = Efecto de la interacción granja por tipo de separador.

AM = Efecto de la interacción granja por tipo de muestra.

TM = Efecto de la interacción tipo de separador por muestra.

ATM = Efecto de la interacción tipo de granja por tipo de separador por tipo de muestra.

El análisis muestra que no hubo efecto de la interacción triple (antecedentes, tipo de separador y tipo de muestra) ($p > 0.05$).

La cantidad de enterobacterias al comparar las granjas que tuvieron antecedentes de problemas entéricos con aquellas que no manifestaron esta condición, fue diferente ($p < 0.05$) (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Conteo de UFC/g de enterobacterias entre granjas con y sin antecedentes de problemas entéricos.

Tipo de granja	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Con antecedentes	30	1.93×10^6 a	7.41×10^6
Sin antecedentes	30	1.35×10^7 b	5.65×10^7

N.- Tamaño de muestra.

\bar{x} UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

a, b - Literales distintas en la misma columna, indican diferencia estadística ($p < 0.05$).

La cantidad de enterobacterias en las muestras de las granjas que tenían antecedentes de enfermedades digestivas y aquellas cuyas historias clínicas no reportaron problemas entéricos en los últimos dos años, se muestra en el **Cuadro 5**.

Cuadro 5. Promedio de UFC/g de enterobacterias entre granjas con y sin antecedentes de problemas entéricos por tipo de muestra.

Tipo de muestra	Con Antecedentes			Sin antecedentes		
	N	\bar{x} UFC/g	D. E.	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Fosa de sedimentación	10	2.63×10^5 a	3.7×10^5	10	5.23×10^5 a	6.5×10^5
Efluente	10	6.65×10^4 a	6.3×10^4	10	2.37×10^5 a	2.8×10^5
Sólido	10	5.46×10^6 a	1.2×10^7	10	3.99×10^7 a	9.5×10^7

N.- Tamaño de muestra.

\bar{x} UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

a, b - Literales distintas en el mismo renglón, indican diferencia estadística ($p < 0.05$).

Se puede observar que en ambos tipos de granjas la cantidad de enterobacterias en los sólidos fue mayor.

El promedio general del conteo de enterobacterias de todas las muestras fue de 7.5×10^6 UFC/g, y como se mencionó, hubo una mayor concentración en los sólidos.

La cantidad de enterobacterias (UFC/g) registrada en el material de la fosa de sedimentación (**Anexo 4**), el efluente (**Anexo 5**) y los sólidos (**Anexo 6**) se presenta en el **Cuadro 6**.

Cuadro 6. Promedio de UFC/g de enterobacterias a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.

Tipo de muestra	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Fosa de sedimentación	20	3.9×10^5	5.3×10^5
Efluente	20	1.5×10^5	2.1×10^5
Sólido	20	2.2×10^7	6.8×10^7

N.- Tamaño de muestra.

\bar{X} UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

El número de enterobacterias (UFC/g) en las muestras de acuerdo al tipo de separador y muestra se presenta en el **Cuadro 7**. Con ambos tipos de separador la cantidad de enterobacterias es más elevada en los sólidos.

Cuadro 7. Promedio de UFC/g de enterobacterias por tipo de separador y muestra.

Tipo de muestra	Cilíndrico			Cascada		
	N	\bar{x} UFC/g	D. E.	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Fosa	10	8.60×10^4	7.89×10^4	10	7.0×10^5	6.28×10^5
Efluente	10	9.8×10^4	9.1×10^4	10	2.0×10^5	2.9×10^5
Sólido	10	4.4×10^7	9.4×10^7	10	1.2×10^6	1.4×10^6

N.- Tamaño de muestra.

\bar{X} UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

Conteo de *E. coli*.

Los resultados del análisis de varianza para el conteo de *E. coli*, se muestran en el **Cuadro 8**. Como puede observarse no hubo efecto de la interacción triple (antecedentes, tipo de separador y tipo de muestra) ($p > 0.05$). Se encontró un efecto en la interacción granja con antecedente y sin antecedentes por tipo de separador ($p < 0.05$).

Cuadro 8. Análisis de varianza para el conteo de *E. coli*.

TIPO	GL	Cuadrado Medio	Valor de F	Pr > F
Modelo	7	5.39086571	5.44	0.0004
A	1	6.88001344	6.94	0.0129
T	1	4.63130386	4.67	0.0383
M	1	21.38184165	21.56	0.0001
A T	1	4.65403021	4.69	0.0379
AM	1	0.00045117	0.00	0.9831
TM	1	1.87121475	1.89	0.1791
ATM	1	1.52229630	1.53	0.2244
Error	32	0.99182933		

GL = Grados de libertad.

A = Granjas antecedentes y sin antecedentes de problemas entéricos.

T = Tipo de separador de excreta porcina.

M = Tipo de muestra.

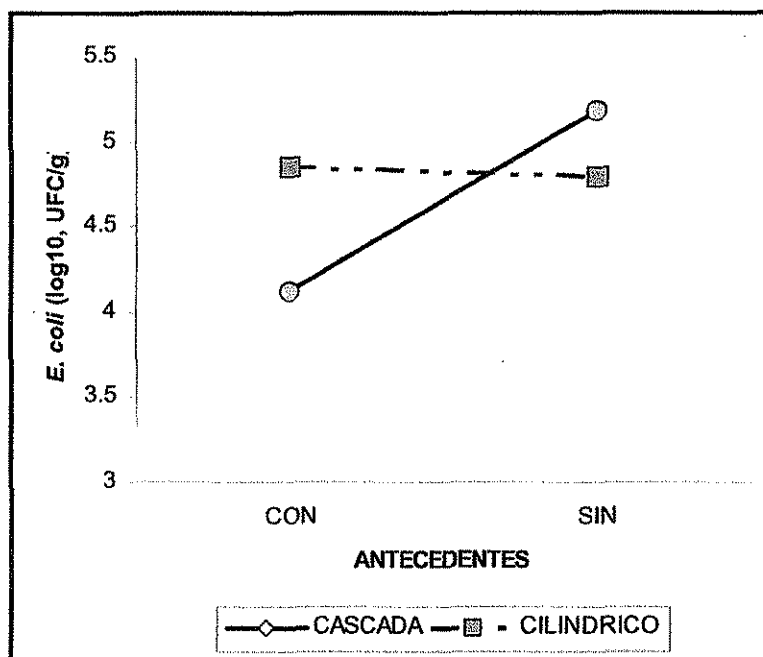
AT = Efecto de la interacción granja por tipo de separador.

AM = Efecto de la interacción granja por tipo de muestra.

TM = Efecto de la interacción tipo de separador por muestra.

ATM = Efecto de la interacción tipo de granja por tipo de separador por tipo de muestra.

La interacción granja (con y sin antecedentes) por tipo de separador se muestra en la **Figura 15**. En las granjas sin antecedentes de enfermedades digestivas la cantidad de *E. coli* fue mayor en general en todas las muestras (**Cuadro 9**), en esta situación se presentó un mayor contenido de *E. coli* en las granjas que utilizan el separador de tipo cascada, en cambio en las granjas con antecedentes de enfermedades digestivas el mayor contenido de *E. coli* correspondió a aquellas que cuentan con separador cilíndrico.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 15. Interacción granja (con y sin antecedentes) por tipo de separador sobre la cantidad de *E. coli*.

Cuadro 9. Promedio de UFC/g de *E. coli* entre granjas con y sin antecedentes de problemas entéricos por tipo de muestra.

Tipo de muestra	Con Antecedentes			Sin antecedentes		
	N	\bar{x} UFC/g	D. E.	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Fosa de sedimentación	10	1.6×10^5	2.3×10^5	10	3.2×10^5	4.2×10^5
Efluente	10	2.6×10^4	3.9×10^4	10	8.1×10^4	7.5×10^4
Sólido	10	2.0×10^6	4.1×10^6	10	2.2×10^7	6.2×10^7

N.- Tamaño de muestra.

X UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

Se puede observar que en ambos tipos de granjas la cantidad de *E. coli* en los sólidos fue mayor. Por otra parte, aún cuando el contenido de *E. coli* es mayor en el material de la fosa de sedimentación (Anexo 7) de las granjas que cuentan con

separador de tipo cascada, en el efluente (**Anexo 8**) su cantidad se ve disminuida, por lo tanto la concentración de este microorganismo en los sólidos es mayor (**Anexo 9**).

La cantidad de *E. coli* al comparar las granjas que tuvieron antecedentes de problemas entéricos con aquellas que no manifestaron esta condición, fue diferente ($p < 0.05$) (**Cuadro 10**).

Cuadro 10. Conteo de UFC/g de *E. coli* entre granjas con y sin antecedentes de problemas entéricos.

Tipo de granja	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Con antecedentes	30	7.62×10^5 a	2.51×10^6
Sin antecedentes	30	7.54×10^6 b	3.65×10^7

N.- Tamaño de muestra.

\bar{x} UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

a, b - Literales distintas en la misma columna, indican diferencia estadística ($p < 0.05$).

El promedio general del conteo de *E. coli* de todas las muestras fue de 4.1×10^6 UFC/g. Hubo una mayor concentración en los sólidos (**Cuadro 11**). No obstante, como se señaló existió el efecto significativo de la interacción separador por tipo de muestra.

Cuadro 11. Promedio de UFC/g de *E. coli* a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.

Tipo de muestra	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Fosa de sedimentación	20	2.4×10^5	3.4×10^5
Efluente	20	5.3×10^4	6.4×10^4
Sólido	20	1.2×10^7	4.4×10^7

N.- Tamaño de muestra.

\bar{x} UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

El número de *E. coli* (UFC/g) en las muestras de acuerdo al tipo de separador se muestra en el **Cuadro 12**.

Cuadro 12. Promedio de UFC/g de *E. coli* por tipo de separador y muestra.

Tipo de muestra	Cilíndrico			Cascada		
	N	\bar{x} UFC/g	D. E.	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Fosa	10	3.8×10^4	5.7×10^4	10	4.5×10^5	3.9×10^5
Efluente	10	3.4×10^4 ^a	4.1×10^4	10	7.3×10^4 ^a	7.9×10^4
Sólido	10	2.4×10^7 ^a	6.2×10^7	10	2.1×10^5 ^a	1.9×10^5

N.- Tamaño de muestra.

\bar{x} UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

Literales distintas en cada renglón, indican diferencia estadística ($p < 0.05$).

Principales géneros bacterianos presentes en las muestras.

El género de las bacterias presentes en las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido, se muestra en el **Cuadro 13**.

Cuadro 13. Principales géneros de bacterias presentes en las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.

Granja No.	Muestra	Genero	Granja No.	Muestra	Genero
1	Fosa (1)	<i>Proteus spp.</i>	6	Fosa (1)	<i>Proteus</i> abundante, <i>Klebsiella spp.</i> y <i>Bacillus spp.</i>
	Fosa (2)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>		Fosa (2)	<i>Proteus spp.</i> en cantidad abundante, <i>Pseudomona spp.</i> y <i>Klebsiella spp.</i>
	Efluente (1)	<i>Proteus spp.</i>		Efluente (1)	<i>Proteus spp.</i> cantidad abundante
	Efluente (2)	<i>Proteus spp.</i>		Efluente (2)	<i>Proteus spp.</i> cantidad abundante, <i>Pseudomona spp.</i>
	Sólido (1)	<i>Proteus</i> , <i>Klebsiella spp.</i>		Sólido (1)	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Pseudomona spp.</i> y hongos
Sólido (2)	<i>Proteus spp.</i>	Sólido (2)	<i>Pseudomona spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> y hongos		
2	Fosa (1)	<i>Klebsiella spp.</i>	7	Fosa (1)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Pseudomona spp.</i> , y <i>Bacillus spp.</i>
	Fosa (2)	<i>Proteus spp.</i>		Fosa (2)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Pseudomona spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> y <i>Bacillus spp.</i>
	Efluente (1)	<i>Proteus spp.</i>		Efluente (1)	<i>Klebsiella spp.</i>
	Efluente (2)	<i>Pseudomona spp.</i>		Efluente (2)	<i>Proteus spp.</i> y <i>Klebsiella spp.</i>
	Sólido (1)	<i>Proteus spp.</i>		Sólido (1)	<i>Proteus spp.</i>
Sólido (2)	<i>Proteus spp.</i>	Sólido (2)	<i>Proteus spp.</i>		
3	Fosa (1)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Pseudomona spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>	8	Fosa (1)	<i>Proteus spp.</i>
	Fosa (2)	<i>Proteus spp.</i>		Fosa (2)	<i>Klebsiella spp.</i> y <i>Bacillus spp.</i>
	Efluente (1)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Pseudomona spp.</i>		Efluente (1)	<i>Proteus spp.</i>
	Efluente (2)			Efluente (2)	<i>Proteus spp.</i>
	Sólido (1)			Sólido (1)	<i>Proteus spp.</i>
Sólido (2)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i>	Sólido (2)	<i>Bacillus spp.</i>		
4	Fosa (1)	<i>Proteus spp.</i> en grandes cantidades	9	Fosa (1)	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>
	Fosa (2)	<i>Proteus spp.</i> en grandes cantidades		Fosa (2)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i>
	Efluente (1)	<i>Proteus spp.</i> en grandes cantidades		Efluente (1)	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i>
	Efluente (2)	<i>Proteus spp.</i> en grandes cantidades		Efluente (2)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i>
	Sólido (1)	<i>Proteus spp.</i> en grandes cantidades		Sólido (1)	<i>Proteus spp.</i> y hongos
Sólido (2)	<i>Proteus spp.</i> en grandes cantidades	Sólido (2)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i>		
5	Fosa (1)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Pseudomona spp.</i>	10	Fosa (1)	Gran cantidad de <i>Proteus spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>
	Fosa (2)	<i>Proteus spp.</i>		Fosa (2)	Gran cantidad de <i>Proteus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i>
	Efluente (1)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>		Efluente (1)	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>
	Efluente (2)	<i>Proteus spp.</i>		Efluente (2)	<i>Bacillus spp.</i>
	Sólido (1)	<i>Proteus spp.</i>		Sólido (1)	<i>Proteus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i>
Sólido (2)	<i>Proteus spp.</i>	Sólido (2)	<i>Proteus spp.</i> , y <i>Klebsiella spp.</i>		

De las 60 muestras en total provenientes de la fosa de sedimentación, de efluente y de sólido, en estas el género bacteriano más común al menos común, aislado a partir de la siembra en agar MacConkey fue: *Proteus spp.* en el 78.3 % de las muestras,

Klebsiella spp. en el 28.3 % de los casos, *Bacillus spp.* en el 21.6 %, *Pseudomona spp.* 16.6 % de las muestras, *Citrobacter spp.* 10 % de las muestras y hongos en un 5 %.

De las muestras provenientes de la fosa de sedimentación se aisló: *Proteus spp.*, *Pseudomona spp.*, *Klebsiella spp.*, *Bacillus spp.* y *Citrobacter spp.*.

Del efluente: *Proteus spp.*, *Pseudomona spp.*, *Klebsiella spp.*, *Bacillus spp.* y *Citrobacter spp.*.

En los sólidos: *Proteus spp.*, *Pseudomona spp.*, *Klebsiella spp.*, *Bacillus spp.*, hongos y *Citrobacter spp.*.

En todas las granjas y en sus respectivas muestras se aisló *Proteus spp.*.

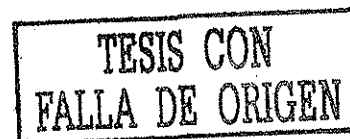
En las granjas 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10 y en todas sus muestras se aisló *Klebsiella spp.*.

Se logró aislar *Pseudomona spp.* en todas las muestras provenientes de las granjas 2, 3, 5, 6, 7.

Bacillus spp. se aisló en las granjas 3, 6, 7, 8, 9 y 10, pero no en la 1, 2, 4 y 5.

Citrobacter spp. se aisló en todas las muestras de la granja 9 y en la granja 10 se aisló a partir de las muestras de la fosa de sedimentación y del sólido.

En el caso de los hongos solo se aislaron en las granjas 6 y 9 de las muestras de sólido (**Cuadro 13**).



Aislamiento y Tipificación de *Salmonella spp.*

Se logró el aislamiento de *Salmonella spp.* en el 80% de las granjas, a excepción de la número 2 y 10. De manera general en 27 de las 60 muestras (45%). Esta información se puede observar en el **Cuadro 14**.

Cuadro 14. Presencia de *Salmonella spp.* a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.

No. de granja	Antecedentes	Tipo de Separador	<i>Salmonella spp.</i>					
			Fosa		Efluente		Sólido	
1	Si	Cilíndrico	+	+	-	+	-	-
2	Si	Cilíndrico	-	-	-	-	-	-
3	No	Cilíndrico	+	+	+	+	-	-
4	No	Cascada	+	+	+	-	+	+
5	Si	Cascada	+	+	-	-	+	-
6	No	Cascada	+	+	-	+	-	+
7	No	Cilíndrico	+	+	-	-	+	-
8	Si	Cilíndrico	+	-	+	-	-	+
9	Si	Cascada	+	-	-	+	-	-
10	No	Cascada	-	-	-	-	-	-

A partir del material de la fosa de sedimentación, se aisló en 8 granjas (80%) y en 14 de 20 muestras (70%).

En los efluentes se aisló en 6 granjas (60%) y en 7 de 20 muestras (35%).

En el caso de los sólidos se aisló en 5 granjas (50%) y en 6 de 20 muestras (30%).

Se aisló en 4 de 5 granjas (80%) tanto con antecedentes como sin antecedentes de problemas entéricos. La mínima diferencia se observó por tipo de separador.

Por otra parte, tanto en las granjas que tuvieron un tipo de separador cilíndrico como aquellas con separador de cascada, se logró aislar la bacteria en un 80 %.

Al realizar la tipificación de la *Salmonella spp.* se obtuvo que el 100 % de las cepas correspondieron a *Salmonella enteritidis*.

Aislamiento y Tipificación de *E. coli*.

Se aisló *E. coli* en todas las muestras provenientes de la fosa de sedimentación, efluente y sólido, de todas las granjas (**Cuadro 15**).

Cuadro 15. Presencia de *E. coli* a partir de las muestras de la fosa de sedimentación, efluente y sólido.

No. de granja	Antecedentes	Tipo de Separador	<i>E. coli</i>					
			Fosa		Efluente		Sólido	
1	Si	Cilíndrico	+	+	+	+	+	+
2	Si	Cilíndrico	+	+	+	+	+	+
3	No	Cilíndrico	+	+	+	+	+	+
4	No	Cascada	+	+	+	+	+	+
5	Si	Cascada	+	+	+	+	+	+
6	No	Cascada	+	+	+	+	+	+
7	No	Cilíndrico	+	+	+	+	+	+
8	Si	Cilíndrico	+	+	+	+	+	+
9	Si	Cascada	+	+	+	+	+	+
10	No	Cascada	+	+	+	+	+	+

No se logró la tipificación de F4, F5 o de F6 en las diversas cepas aisladas de *E. coli*.

Conteo de enterobacterias a partir de muestras de sólido, expuestas al medio ambiente durante 144 horas.

El promedio de enterobacterias de las muestras de sólido expuestas por 144 horas al medio ambiente, fue de 1.5×10^7 UFC/g (**Anexo 10**); no se encontró diferencia ($p > 0.05$) al compararlo con el promedio de UFC/g de las muestras de sólido obtenido inmediatamente del separador (**Cuadro 16**) (**Anexo 11**).

Cuadro 16. Comparación en el conteo de enterobacterias a partir de muestras de sólido expuestas 144 horas al medio ambiente y del sólido obtenido del separador.

Muestra	N	\bar{x} UFC/g	D. E.
Expuesta 144 h al medio ambiente	10	1.5×10^7 ^a	3.0×10^7
Sólido obtenido del separador	10	2.2×10^7 ^a	6.8×10^7

N.- Tamaño de muestra.

\bar{x} UFC/g.- Promedio de unidades formadoras de colonias por gramo de heces.

D. E.- Desviación estándar.

Literales distintas en cada columna, indican diferencia estadística ($p < 0.05$).

Aislamiento de *Salmonella spp.* a partir de muestras de sólidos expuestas al medio ambiente durante 144 horas.

De las muestras de sólido expuestas por 144 horas al medio ambiente, correspondientes a las 5 granjas positivas al aislamiento de *Salmonella spp.*, el agente se recuperó nuevamente a partir de 3 de éstas, lo que representa el 60% (**Cuadro 17**).

Cuadro 17. Recuperación de *Salmonella spp.* a partir de muestras de sólido expuestos al medio ambiente durante 144 horas.

No. De granja	Sólido
4	+
5	+
6	-
7	+
8	-

Características sensoriales de ensilados elaborados con 82% de sólido de excretas de cerdo.

El promedio general del pH del material ensilado fue de 4.8. En el 80% de los frascos se observó la salida de líquido por el borde del tapón y por la orilla de la tapa de rosca, durante las primeras 72 horas.

Después de 11 días de iniciado el proceso de ensilaje, se procedió a abrir los microsilos, los cuales presentaban las siguientes características (**Cuadro 18**):

Cuadro 18. Características sensoriales de ensilados de excretas sólidas de cerdo.

Granja no.	Presencia de hongos macroscópicos	Olor ácido	Olor alcohólico	Olor a excretas	Color	pH
1	-	+++	-	-	Café claro	4.71
2	-	+++	-	-	Café claro	4.70
3	-	+++	-	-	Café claro	4.66
4	-	++	-	-	Café	4.54
5	-	++	+	-	Café	4.79
6	+	+	+	+++	Negro	5.07
7	+	++	-	-	Café	4.71
8	+	++	-	-	Café	4.85
9	-	++	+	-	Negro	4.84
10	-	++	+	++	Negro	5.19

+ Ligero ++Moderado +++Abundante - Negativo

En los microsilos de las granjas 6, 7 y 8, se observó crecimiento de hongos, a nivel de la superficie en el área cercana al borde de los frascos.

El ensilado de las granjas 1, 2 y 3 tuvieron olor ácido abundante. La granja 6 tuvo olor alcohólico. El ensilado de las granjas 6 y 10 tuvieron olor a excretas y el color de estas era negro.

Sobrevivencia de *Salmonella spp.* y *E. coli*, después de 11 días de iniciado el proceso de ensilaje.

Se tomaron muestras para sembrarlas en los diferentes medios y corroborar la presencia de *Salmonella spp.* y *E. Coli*; los resultados fueron negativos, así como el conteo de enterobacterias.

Géneros bacterianos encontrados en muestras de ensilado con sólido de excreta.

Las bacterias presentes al onceavo día de ensilaje fueron *Lactobacillus spp.*

La composición del análisis químico proximal de los ensilados se presenta en el **Anexo 12.**

DISCUSIÓN.

Características de las granjas.

Las características de las 10 granjas evaluadas son muy semejantes entre sí, en cuanto a los sistemas de producción, prácticas generales de manejo, calendarios de vacunación y material con el que están construidas las instalaciones; sin embargo, se encontraron diferencias importantes en las condiciones medio ambientales (temperatura), sistemas de alimentación, sistemas de recolección de excretas, antecedentes de enfermedades infecciosas y tamaño de población.

Respecto al manejo de las excretas, en todas las granjas el sistema de recolección de sólidos es manual, excepto en las granjas uno, dos y tres, localizadas en el municipio de Pénjamo, Guanajuato; donde existen, para algunas de las áreas de las granjas, sistemas de arrastre hidráulico por medio de tanques "volcadores" y charcas. Estos sistemas aumentan el nivel de dilución de las deyecciones y el flujo de líquido que llega a las fosas de sedimentación y a los separadores. Por esta razón las excretas presentan mayor cantidad de humedad como se discutirá más adelante.

En la granja número cuatro el volumen de material sólido que se maneja es mayor, debido al uso de paja como material de cama, esto puede modificar el nivel de humedad del material separado y la eficiencia del separador. Lo anterior es determinante sobre las variaciones entre las granjas muestreadas, lo que permite tener un espectro amplio de condiciones de producción, por lo tanto los hallazgos que se indican a continuación no estén influenciados por un sistema de producción en particular o condición ambiental específica.

Enterobacterias

Con relación a los hallazgos bacteriológicos, se encontró que el promedio general de UFC/g de enterobacterias (7.5×10^6), fue similar a lo reportado por **Hernández (1997)**, quién al utilizar la fracción sólida obtenida a partir de un separador de excretas tipo cascada, obtuvo un conteo de enterobacterias de 1.6×10^6 UFC/g. Del mismo modo, los resultados de este trabajo coinciden con los encontrados por **Iñigo et al. (1991)**, quienes

obtuvieron 1.1×10^5 UFC de enterobacterias /g, de muestras obtenidas a partir de la fosa de sedimentación, al muestrear un grupo de granjas en la región central de Chile.

Los promedios encontrados en el presente trabajo para el conteo bacteriano de las muestras de excretas recuperadas a partir de la fosa de sedimentación, del efluente y de los sólidos fueron: 3.9×10^5 , 1.5×10^5 y 2.2×10^7 , respectivamente; mismos que coinciden con lo reportado por **Martínez et al. (2001)**, quienes observaron los siguientes valores: 8×10^4 , 1.6×10^5 , 2×10^5 y 4×10^6 , a partir de muestras obtenidas de la fosa de sedimentación a nivel de la superficie y a un metro de profundidad, efluente y sólido respectivamente. Al igual que en los datos de estos últimos investigadores, la cantidad de enterobacterias encontrada en los sólidos fue aparentemente superior que la hallada en los líquidos; aunque no se encontraron diferencias significativas.

Sin embargo, los resultados de enterobacterias obtenidos, con respecto a la carga bacteriana de la fosa de sedimentación, discrepan con los presentados por **Mateu et al. (1992)**, quienes al realizar el muestreo de dicho material con 10, 14 y 18 días de retención, encontraron una lectura inicial de 2.11×10^9 , que disminuyó a 2.87×10^7 al día 18, siendo esta cantidad ligeramente superior a la reportada por otros autores. Cabe señalar, que existe una serie de factores que afectan la presencia de coliformes, como es la fermentación o degradación, ya sea anaeróbica o aeróbica (**Iñigo et al., 1991**). Concentración de ácidos grasos volátiles que tienen una actividad inhibitoria o bactericida, la disminución del pH (**Mateu et al., 1992**) y por último, la realización o no de la remoción constante del material que se encuentra en la fosa de sedimentación.

En el presente trabajo se observó un proceso de fermentación anaeróbica, en el 40 % de las granjas evaluadas: en dos casos, debido a que la fosa de sedimentación se encontraba llena a su máxima capacidad. En otros dos casos la anaerobiosis se debió a que el aparato de separación no se había utilizado de forma rutinaria, ambas situaciones pudieron provocar una marcada disminución de las cargas bacterianas que incidieron sobre el promedio general .

Es importante señalar que el incremento en la carga de enterobacterias en los sólidos, con respecto al material de la fosa de sedimentación, está dado por la concentración que sufren los sólidos después de la extracción del contenido líquido.

Los hallazgos del presente trabajo indican en primer lugar, que no existen variaciones en las cantidades de enterobacterias entre una granja y otra, a pesar de que estas tienen sistemas de recolección de excretas, prácticas nutricionales, condiciones medio ambientales, tamaño de población y situaciones sanitarias diferentes; y en segundo lugar, que el proceso de tratamiento por separación mecánica (cilíndrico o cascada) de las fracciones sólida y líquida no afecta la carga bacteriana, tanto en los sólidos como en los líquidos.

Lo anterior se confirma al no haber encontrado diferencias en la cantidad de enterobacterias tanto en los sólidos como en los líquidos, cuando las granjas se clasificaron por tipo de separador. El uso de un separador de sólido cilíndrico o de cascada, no influyó en la carga de enterobacterias. Aparentemente estos sistemas no disminuyen la carga bacteriana, y tanto los sólidos como los líquidos presentan cargas similares, por lo que siguen representando un riesgo en la transmisión de agentes patógenos.

Tampoco se encontraron diferencias en las cantidades de enterobacterias halladas en las muestras de efluentes y sólidos de acuerdo a los antecedentes sanitarios de las granjas. Lo anterior se explica por el hecho de que una gran cantidad de las enterobacterias halladas en el presente estudio no resultan patógenas para el cerdo, así como por el hecho de que existen otros agentes patógenos del tracto digestivo que no se clasifican dentro de las enterobacterias, tales como: *Brachyspira hyodysenteriae*, *Clostridium spp.*, *Lawsonia intracelularis*.

Strauch y Ballarini (1994) señalan, que pequeñas concentraciones de enterobacterias pueden ser aisladas con cierta facilidad mediante métodos convencionales de cultivo, tal y como se hizo en el presente estudio, y en muchas

ocasiones agentes patógenos solo pueden ser aislados en el estiércol si su número es muy alto y se emplean métodos específicos de cultivo.

Por lo anterior, es necesario tomar en cuenta que las condiciones a las que son expuestas las excretas en el corral, en los drenajes, el contacto con desinfectantes, exposición a condiciones de sequedad y el tiempo de retención de las mismas en las fosas de sedimentación, pueden alterar las condiciones que facilitan la sobrevivencia a una bacteria patógena, y el hecho de no encontrarla en las excretas no indican que no se encuentre en la población animal de una granja. En sentido opuesto, la presencia de una bacteria patógena en las excretas, no tiene que ser considerada como un diagnóstico definitivo de una enfermedad, ya que para el desarrollo de ésta son necesarias otras condiciones como: el nivel de inmunidad o estrés en los animales y la interacción con otros microorganismos patógenos.

E. coli.

En lo que respecta al conteo de *E. coli* por tipo de muestra se encontró que la mayor cantidad de *E. coli* correspondió a los sólidos con 1.2×10^7 UFC/g y la menor se encontró en las muestras del efluente con 5.3×10^4 UFC/g, conteo similar al obtenido por **Iñigo et al. (1991)**, quienes estudiaron la contaminación por coliformes totales y fecales, en el desecho fecal porcino procesado en forma aeróbica y anaeróbica, encontrando 1.1×10^5 y 0.26×10^4 , respectivamente. Así mismo, **Mateu et al. (1992)**, encontraron 1×10^4 UFC/g cuando tomaron muestras de efluente.

Géneros bacterianos

Con relación a los géneros bacterianos aislados de las diversas muestras, los resultados obtenidos en el presente trabajo son similares a los de **Martínez et al. (2001)**, quienes al tomar muestras provenientes de la fosa de sedimentación y del efluente, encontraron *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *E. coli*, *Pseudomona spp.* y *Salmonella choleraesuis*. Sin embargo, no reportan la presencia de *Proteus spp.* ni de *Bacillus spp.*

Aislamiento de *Salmonella spp.*

El porcentaje de aislamientos de *Salmonella spp.*, en el presente trabajo fue menor al reportado por **Letellier et al. (1999)**, quiénes encontraron *Salmonella spp.* en el 61 % de las muestras; sin embargo, si se toma en cuenta la cantidad de aislamientos logrados en este estudio a partir de la fosa de sedimentación (70 %), los datos son semejantes. Los datos anteriores son mayores a lo reportado por **Rajic et al. (2002a)**, que de 90 granjas porcícolas con una producción anual de 2000 cerdos, tomaron 85 muestras de 25 g/ml de material de desagüe, de donde lograron aislar el agente en el 31.76 % de los casos.

Con respecto a los aislamientos por granja, los datos del presente estudio concuerdan con los reportados por **Letellier et al. (1999)** y **Stege et al. (2000)**, quienes indican como positivas 100% y 77% de las granjas respectivamente. Sin embargo, no son concordantes con los señalados por el Sistema Nacional de Monitoreo en Salud Animal del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica, que encontró un 38 % de granjas positivas a esta bacteria (**Center for Food Safety and Applied Nutrition, 1998**).

El hecho de encontrar esta bacteria en la mayoría de las granjas evaluadas, puede indicar que existe una alta prevalencia de la misma en la zona en estudio. Lo cual es consistente con la falta de programas o campañas a nivel nacional para el control y la erradicación de la salmonelosis en el ganado porcino.

En el caso de los líquidos, *Salmonella spp.* se aisló en 6 granjas y en 35 % de las muestras. Al respecto, es difícil establecer una comparación con otras investigaciones, ya que no existen reportes del aislamiento de esta bacteria en efluentes previamente separados por un proceso mecánico. **Jones (1976)** reporta el aislamiento de *Salmonella spp.* en el 76 % de las muestras obtenidas a partir de excretas líquidas almacenadas por 30 días. Este investigador concluyó que *Salmonella spp.* puede sobrevivir en las excretas líquidas durante varios meses y puede dar un resultado positivo, aun cuando no existan animales infectados al momento de tomar la muestra. Sin embargo, el número de

Salmonella spp. presente en los líquidos, puede declinar en un 90% durante las primeras dos o cuatro semanas de almacenada y puede ser diluida por la continua adición de excreta líquida no infectada, especialmente en aquellos sistemas que tienen un vaciado regular. No obstante las limitaciones, este método de inspección se considera de valor, en la detección de infecciones por *Salmonella spp.* en granjas de cerdos y hatos de ganado.

El riesgo de transmisión de *Salmonella spp.* a través de los desechos líquidos de una granja, se establece claramente con el trabajo realizado por **Baloda et al. (2001)**, quienes seleccionaron una granja porcina que tenía antecedentes recurrentes de problemas entéricos. Se asperjó excreta líquida en el campo de cultivo, y se tomaron 10 muestras después de la aspersión (día 0), 2, 6 y 14 días. Lográndose el aislamiento de *Salmonella spp.* en el 90 % de las muestras inmediatamente después de la aspersión, 70%, 50% y 50% de los aislamientos fueron positivos a 2, 6 y 14 días, respectivamente.

Por el contrario, **Iñigo et al. (1991)** no lograron aislar *Salmonella spp.* a partir de los efluentes de cinco granjas porcinas que contaban con un sistema de fermentación aeróbica, cuando fueron granjas sin antecedentes de salmonelosis clínica.

Por otra parte, en este trabajo se logró el aislamiento de *Salmonella spp.* a partir de los sólidos en 6 de 20 muestras (30%). Al igual que en el caso de los líquidos, no existe información respecto al aislamiento de *Salmonella spp.* a partir de sólidos previamente separados; sin embargo, estos datos pueden compararse con el estudio de **Rajic et al. (2002b)**, quienes a partir de 90 granjas porcícolas obtuvieron muestras de heces del piso en cuatro ocasiones, logrando aislar este agente bacteriano en el intervalo del 19 al 42 % de las muestras.

En cuanto al aislamiento de *Salmonella spp.* con base en los antecedentes clínicos de las granjas evaluadas, 30 muestras provenientes de la fosa de sedimentación, de efluente y de sólido, de granjas que no presentaban signos clínicos de problemas entéricos, se logró el aislamiento en 53.33 % de las muestras. Al respecto **Jones (1976)** que tomó muestras tanto de excreta líquida como de hisopos rectales a cerdas del área de servicios y gestación, las cuales no presentaban signología clínica de problemas

entéricos, encontró *Salmonella spp.* en el 1.55% de los hisopos rectales (15 de 969 muestras) y en el 76.5 % de las excretas líquidas, concluyendo que el analizar las excretas líquidas solo ofrece un indicio parcial de los animales infectados.

Lo anterior no concuerda con lo reportado por **Letellier et al. (1999)**, quienes al realizar el muestreo en granjas que no tenían problemas entéricos, encontraron la bacteria en sólo 17 de 93 muestras (18.27%). Los datos anteriores permiten concluir, que el hecho de no encontrar signos clínicos no se relaciona con la posibilidad de aislar una bacteria patógena.

En la presente investigación, en las muestras provenientes de la fosa de sedimentación, del efluente y del sólido, de las granjas que sí presentaban antecedentes de problemas entéricos, se logró el aislamiento en 11 de 30 muestras (36.66%). Estos resultados concuerdan con **Vidal et al. (2002)** quienes aislaron *Salmonella spp.* en 26 de 84 granjas (31%) con antecedentes de problemas entéricos. Así mismo, **Van der Wolf et al. (2000)** analizaron 326 muestras de heces de animales que presentaban signos de problemas entéricos, y aislaron *Salmonella spp.* como único patógeno en el 40% de las muestras.

Estos resultados difieren con lo obtenido por **Letellier et al. (1999)**, quienes a partir de 115 muestras de animales con signos clínicos, 70 (60.86%) fueron positivas a *Salmonella spp.* A la vez, **Stege et al. (2000)**, al realizar la inspección en 39 granjas con alta prevalencia clínica de *Salmonella spp.* y llevar a cabo el muestreo de las excretas acumuladas en los pisos de los corrales, aislaron al agente en el 77% de las granjas.

Tipificación de *Salmonella spp.*

En el presente estudio al realizar la tipificación de *Salmonella*, se encontró que el 100 % era *S. enteritidis*, estos datos no concuerdan con lo señalado por **Baggesen (1996)**, quién reporta 30 diferentes serotipos de *Salmonella enterica*, mismos que fueron aislados de 832 cerdos (6.2%). El serotipo predominante fue *S. typhimurium* en 536 (64.4%) de los aislamientos y solamente se encontró *S. enteritidis* en 5 cerdos (0.6%). También **Rajic et al. (2002a)** encontraron 15 diferentes serotipos de *S. enterica*, las más

frecuentes fueron *S. typhimurium*, *S. derby*, *S. infantis* y *S. enteritidis*. La serotipificación y fagotipificación la realizó el Laboratorio de Referencia de Salmonelosis de Guelph, Ontario.

Jung et al. (2002) de un total de 397 cepas de *Salmonella spp.*, tipificaron 27 diferentes serovariedades, siendo estas las siguientes: *S. typhimurium* (30%), *S. derby* (16.1%), *S. schwarzengrund* (14.9%), *S. mbandaka* (6.3%), *S. enteritidis* (6.3%), *S. litchfield* (3.3%), *S. braenderup* (3%), *S. ardwick* (3%), *S. rissen* (2.3%), *S. agona* (2%), *S. london* (2%), *S. newport* (1.3%), *S. ruiru* (1%), *S. bredeney* (0.8%). Encontraron dos aislamientos de *S. tennessee*, *S. kinshasa*, *S. eimsbuettel*, *S. thomasville* y un aislamiento de *S. navana*, *S. langensalza*, *S. cubana*, *S. senftenberg*, *S. montevideo*, *S. brandenburg*, *S. orion*, *S. anatum* y *S. westhampton*.

Vidal et al. (2002), identificaron 11 diferentes serovariedades. Un máximo de 3 diferentes serovariedades fueron detectadas en el mismo hato, y se tipificaron *S. typhimurium*, *S. muenchen*, *S. derby*, *S. anatum*, *S. panama*, *S. london*, *S. bradeney*, *S. infantis*, *S. altona*, *S. brandenburg*.

La frecuencia de los porcentajes de las diversas serovariedades encontradas por los anteriores investigadores no concuerdan con esta investigación, debido a la técnica de tipificación. En este trabajo se utilizaron tres diferentes antisueros, uno que es polivalente de *Salmonella* grupo somático O (*Salmonella* O Antiserum Poly A-I & Vi), que identifica el género *Salmonella spp.* y otros dos antisueros, uno que pertenece al grupo C de *Salmonella* grupo somático O (*Salmonella* O Grupo C1, factores 6, 7) y otro que contiene el grupo D1, factores 1, 9, 12, que permite la diferenciación entre *S. choleraesuis* de *S. enteritidis*.

Aislamiento y tipificación de *E. coli*.

En el 100 % de las muestras provenientes de las excretas recuperadas a partir de la fosa de sedimentación, del efluente y de los sólidos, se logró aislar *E. coli*., resultados que concuerdan con **Gyles y Thoen, 1993**. Así mismo con los resultados de **Melin et al.**

(2000) quienes aislaron 598 cepas de *E. coli* cuando trabajaron 576 muestras fecales de cerdos que representaban a 186 granjas.

Sin embargo, cuando en el presente trabajo se tipificaron las diversas cepas, no se logró la tipificación de F4, F5 o de F6. Estos resultados difieren de los obtenidos por **Fairbrother et al. (2000)** quienes analizaron 633 cepas de *E. coli* aisladas de muestras de heces de cerdos, los que presentaban un cuadro clínico de problema entérico. La edad de estos animales era entre 21 a 50 días de edad. Estas cepas fueron analizadas a través de la prueba de ADN específica para las enterotoxinas STa, STb y LT, para verotoxinas VT1 y VT2 y para la adhesina Eae. Posteriormente, de las cepas toxina-positiva se analizaron por ADN específico para la fimbria F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P), F18 y F41. Lográndose la tipificación en el 65.5%. Las enterotoxinas más frecuentes fueron LTSTb (34%), LTSTaSTb (13%), STaSTb (12%), STb (10%), STa (4%) y Eae (4%). Solamente se aisló Vte en un 2% de los cerdos. Casi todos los aislamientos de LTSTb y LTSTaSTb fueron positivos a F4 (K88), hemolítico y pertenecieron al serogrupo O149. Entre los aislamientos de STaSTb, 12% fueron hemolíticos y positivo a F18 y el resto fueron no hemolíticos, pertenecieron al serogrupo O?:K48 y fueron negativos a las demás adhesinas fimbriales. Entre los aislamientos de STb, 10% fueron positivos a F18 pero el resto fue negativo al resto de las adhesinas fimbriales. De los aislamientos de STa, 70% fue positivo a F5 (K99) y el resto a F6 (987P).

Así mismo, **Cho et al. (2000)** sometieron 400 cepas de *E. coli* (aisladas de contenido ileal de animales con problemas de diarrea) a la prueba de PCR, el cual contenía genes para la detección de tres enterotoxinas y cuatro adhesinas fimbriales. Encontraron que 97 de las 400 (24.3%) eran portadoras del gen tanto para adhesinas fimbriales como enterotoxinas. En el primer caso, observaron que de 60 aislamientos, 17 (28.3%) contenía genes para la fimbria F4, 8 (13.3%) para la fimbria F5, 24 (40%) para F6, y 13 (21.7%) contenía genes para la fimbria F41. Uno de los 60 aislamientos contenía genes para F4 y F6. Una cepa de las 60 contenía genes para F5 y F6. En el caso de las enterotoxinas, 64 aislamientos fueron positivos, de los cuales 9 (14.1%) contenía genes para LT, 19 (29.7%) para STa y 12 (18.8%) STb. Cuatro (6.3%) aislamientos tenían

genes para LT y Sta; dos (3.1%) contenía genes para LT y STb y dos (3.1%) para LT, STa y STb.

Baccaro et al. (2000), de 472 cepas obtenidas de muestras de cerdos con diarrea, encontraron que el 27.3% tuvo el pato-tipo ETEC y ninguna cepa de VTEC. El gen que codifica a STb se encontró en 111 cepas (23.5%), el gen para LT lo mostraron 59 cepas (12,5%) y el gen para Sta, se observó en 22 aislamientos (4,6%). De 129 cepas enterotoxigénicas de *E. coli*, se encontró que los genes para F4 se observaron en 73 (56,6%), F5 en 1 cepa (0,77%), F6 en 50 aislamientos (38,7%) y F41 en 3 (2,32).

También **Van der Wolf y Peperkamp (2001)** al trabajar con 451 muestras de heces, lograron el aislamiento de *E. coli* enteropatógena en el 20.2%.

Estos resultados no coinciden con lo reportado en esta investigación, por tres razones, una es por la técnica empleada por los investigadores antes citados, que fue la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que es mas sensible que la aglutinación en tarjeta, otra posibilidad es que por cada muestra de heces se trabajaban mínimo seis diferentes cepas de *E. coli*, en cambio en este trabajo solo se tipificaron dos por muestra. Por último, que estas cepas coincide con lo encontrado por **Do et al. (2002)** quienes al analizar 106 cepas de *E. coli*, no detectaron factores de virulencia para ETEC en 25 (23.6%), de los cuales 14 (44%) no poseían genes fimbriales. Por lo que se asume que estas cepas de ETEC no eran patógenas o que fueran portadoras de genes para otros (nuevos o desconocidos) tipos fimbriales.

Características organolépticas de los ensilados.

El material ensilado proveniente de siete granjas (70%), tuvieron características organolépticas similares a las encontradas por **Hernández (1997)** y **Martínez et al. (2001)** en cuanto al aumento de olor ácido, disminución en el olor a excreta, coloración café rojiza y principalmente por disminución en los valores de pH obtenidos en los diferentes tratamientos. Esto se debe a que el ensilado es el resultado de los procesos de conservación y fermentación en condiciones anaeróbicas, en el que los carbohidratos solubles (melaza de caña) son transformados en ácidos orgánicos por la acción de las bacterias ácido lácticas, lo que provoca la presencia de pH entre 3.5 a 4.5, provocando

una disminución en el olor a heces y en la población de microorganismos patógenos (**Salazar y Cuarón, 2000**).

Por lo contrario, las muestras de ensilado provenientes de las granjas 6, 9 y 10 presentaron una coloración negra, así mismo el pH de éstas fue de 4.84, 5.07 y 5.19, respectivamente. Además en los microsilos 6 y 10 se percibió olor a excretas. Estas anomalías se debieron probablemente a que los recipientes no quedaron cerrados herméticamente o compactado adecuadamente, en estas condiciones no se favorece la producción de calor y de dióxido de carbono, lo que inhibe la condición anaeróbica esencial para la proliferación de bacterias productoras de ácido láctico (**Salazar y Cuarón, 2000**).

Por otra parte en las muestras de las granjas 6 y 7, se observó macroscópicamente el crecimiento de hongos, a dos cm por abajo del nivel de la superficie del borde de los frascos, y en la granja 8 se detectaron hasta que se realizó el AQP, lo que coincide con **Hernández (1997)** y **Serrano (2001)** quienes encontraron esporas en algunos microsilos, esto es ocasionado por dos circunstancias: que estos organismos están presentes de forma microscópica pero inhibidos momentáneamente y al proporcionarse las condiciones adecuadas se desarrollen, también el crecimiento fungal se puede dar por que los recipientes se llenaron al tope y con la fermentación se produce gas, el cual pudo destapar el deposito o presentarse alguna fuga, inhibiendo la condición de anaerobiosis (**Martínez et al., 2001**).

Conteo bacteriano en los ensilados.

En el presente trabajo, no se encontraron enterobacterias cuando los sólidos se ensilaron durante once días, lo que concuerda con lo que obtuvo **Hernández (1997)**, quién realizó el ensilaje de excretas sólidas con caña de azúcar y melaza por 0, 30, 45 y 60 días y encontró crecimiento de enterobacterias (23×10^7 UFC/g), solamente en las mezclas antes de ensilar (día 0), similar a lo que ocurrió en esta investigación; posteriormente no detectó organismos coliformes en las mezclas ensiladas durante 30, 45 y 60 días. Concluyó acerca de la necesidad de evaluar periodos mas cortos de ensilaje, para tener la seguridad de la desaparición de las bacterias coliformes.

Los resultados de esta investigación confirman el trabajo de **Martínez et al. (2001)**, quienes no encontraron crecimiento bacteriano en microsilos hechos a base de sorgo molido, fracción sólida y melaza e inoculados con *S. choleraesuis* y *Escherichia coli*.

Con base en la información anterior y a partir de los resultados obtenidos en esta investigación, se puede concluir que el ensilaje de las excretas es un proceso eficaz para el tratamiento de las excretas sólidas que permite destruir las enterobacterias, sin importar la composición de las mismas, su procedencia, el tipo de separación de los sólidos y la presencia de agentes patógenos.

Conteo bacteriano en los sólidos mantenidos durante 144 horas al medio ambiente.

Por otra parte, el aislamiento de *Salmonella spp.* a partir de sólidos mantenidos a una temperatura de 18 °C por 144 horas, en tres de las cinco granjas que habían resultado positivas, demuestra la capacidad que tiene este agente de sobrevivir en condiciones medio ambientales adversas. El no haber podido aislar la bacteria en las cinco muestras puede explicarse con los resultados encontrados por **Davies et al. (2002)**, quienes al estudiar el efecto de la conservación de las muestras para la recuperación de *Salmonella spp.*, encontraron solo un 11.4 % de muestras positivas, cuando se trabajó un gramo de heces, mientras que cuando se trabajaron 10 y 25 g la proporción de aislamientos fue del 22.4 y 24.1%, respectivamente. En el presente estudio solo se trabajaron 5 g por cada muestra, esto pudo ocasionar que no se lograra el re-aislamiento en el 100 % de las muestras.

Sin embargo, este aislamiento coincide con lo reportado por **Jones (1976)** quien encontró que en las muestras de excreta líquida de una fosa de sedimentación que captaba los desechos de 100 bovinos, el agente sobrevivió durante 122 días a 10 °C, con un pH de 7.0 y con un 5.7 % de contenido de sólidos. En cambio, cuando vertió excreta líquida en botes y los inoculó con *S. choleraesuis*, ésta sobrevivió 140 días.

Lo anterior pone de manifiesto la importancia de tratar los sólidos antes de suministrarlos en la alimentación animal, ya que como se observó en el presente estudio, el potencial de sobrevivencia de *Salmonella spp.* al medio ambiente es importante.

Composición proximal de los ensilados.

Por último y con relación a la cantidad de materia seca (MS) de los ensilados a base de excretas porcinas, que provenían del aparato de separación tipo cilíndrico, se observó en promedio un 53.55%; cabe señalar que dos microsilos tuvieron 75.76% y 79.90%; para el material del separador de cascada el porcentaje de MS correspondió a 46.08%. Este contenido de MS se encontró dentro de los niveles óptimos que recomiendan **McCullough (1978)** e **Iñiguez (1991)** en ensilados de maíz, de excretas y de otros forrajes, para una adecuada compactación y estabilización de la fermentación láctica. De acuerdo con estos investigadores, niveles superiores al 60% de MS dificultan la compactación, haciendo muy difícil que se logren las condiciones adecuadas de anaerobiosis, por lo que hay mayor pérdida de nutrimentos en el ensilado. Así mismo, cantidades de MS inferiores al 28% limitan una adecuada fermentación, ya que se produce sobrecalentamiento, que a temperaturas superiores a los 50 °C ocasiona pérdidas de nutrimentos.

Generalmente los ensilados que tienen menos del 30% de MS son especialmente propensos a fermentaciones por *Clostridium spp.*. Niveles de MS de 35 a 40% proporcionan mayor cantidad de energía para las necesidades de los animales, por kg de ración; por otro lado, proporcionan una presión osmótica suficiente para inhibir la generación de *Clostridium spp.*, aún cuando en este intervalo no disminuye completamente su desarrollo, si se retarda por algunos días, lo cual da oportunidad a que las bacterias lácticas participen produciendo suficiente ácido para estabilizar y preservar el ensilado (**Iñiguez, 1991**).

CONCLUSIONES

El uso de un aparato de separación de sólidos y líquidos, ya sea de tipo cascada o cilíndrico, no tiene efecto sobre la cantidad de enterobacterias o de *Salmonella spp.*

El hecho de encontrar *Salmonella enteritidis* en la mayoría de las granjas evaluadas, puede indicar que existe una alta prevalencia de la misma en la zona en estudio y la importancia de un tratamiento previo de las excretas cuando se van a reciclar en la alimentación animal.

Un lapso de 144 horas no es suficiente para destruir enterobacterias ni *Salmonella spp.* en muestras de sólidos expuestas al medio ambiente por lo que es necesario recurrir y someterlas a un tratamiento como el ensilaje.

El proceso de ensilaje de los sólidos de excretas, (aun cuando estos presentaron una cantidad de enterobacterias de 2.2×10^7 UFC/g y la presencia de *Salmonella spp.*) destruyó los microorganismos los cuales no se encontraron a los 11 días de ensilaje. Por lo tanto, el ensilaje es un tratamiento de las excretas que elimina los microorganismos patógenos y las deja aptas para reciclarlas en la alimentación animal, ya sea que procedan de un separador cilíndrico o de cascada.

LITERATURA CITADA.

Andreadakis, A. D. (1992). Anaerobic digestion of piggery wastes. *Wat. Sci. Tech.* 25: 9-16.

Baccaro, M.R., Moreno, A.M. Ferreira, A.J.P. Calderaro, F.F. Bronzoni, P.V.M. Campos, D.S. Shinya, L.T. (2000). Occurrence of some virulence genes among *escherichia coli* isolates from piglets in brazil. *16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia, 17-20 Sept. PP. 52.*

Baloda, B. S., Christensen, L. and Trajcevska, S. (2001). Persistence of a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT12 clone in a piggery and in agricultural soil amended with Salmonella-contaminated slurry. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 6. PP. 2859-2862.

Baggesen, D. L., Wegener, H. C., Bager, F., Stege, H. and Christensen, J. (1996). Herd prevalence of *Salmonella enterica* infections in Danish slaughter pigs determined by microbiological testing. *Preventive Veterinary Medicine* 26: PP. 201-213.

Barreiro, I. J. A. (1998). Determinación de riesgos y puntos críticos de control en alimentos en puestos de venta en la vía pública (taco al pastor), en Coyoacán, D. F. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

Berends, B. R., Urlings H. A. P., Snijders, J. M. A., van Knapen, F. (1996). Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella spp.* in pigs. *Int. J. Food Microbiol.* 30: 37-53.

Cabrera, M. P. (1998). Ácidos grasos de cadena corta, macro y microminerales en ensilados de excretas porcinas (fracción sólida) con caña de azúcar picada. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

Carter, G. R. (1979). Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and micology. 3th edition. C.C. Thomas, Springfield, USA.

Castañeda Vázquez H., Soto Rosales M. M., Campos Bravo C. A., Reyes Munguía F. G. y Sánchez Martínez L. M. (1991). Investigación de las fuentes de contaminación de carne de cerdo por Salmonella en los rastros de Guadalajara y Atemajac. XXVI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. Mérida, Yuc. Agosto. Pag. 301-304.

Castrejón, P. F. A. (1993). Algunos estudios sobre el reciclaje de excretas en la alimentación de bovinos. Memorias del curso internacional avanzado en nutrición de rumiantes. Colegio de Posgraduados. 27: 51-54.

Cho, W. S., Park, Y. C. and Chae, C. (2000). Genotypic prevalence for fimbriae and enterotoxins in *escherichia coli* isolated from diarrheic piglets in korea. 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia, 17-20 Sept. Pag. 54.

Davies, Peter. R.; Funk, J.; Turkson, P.; O'Carroll, J.; Nichols, M. and Gebreyes, W. (2002). Effects of methods on the isolation of Salmonella from swine feces and implications for design and interpretation of epidemiologic studies. <http://www.swinefile.com/Arthlthlst.htm>.

Do, T-N, Townsend, K. M., Frost, A. J. and Trott, D. J. (2002). Multiple antimicrobial resistance in *escherichia coli* strains isolated from preweaning piglets with diarrhoea in Vietnam. 17 th Congress of the International Pig Veterinary Society. June 2-5, Iowa State University. Ames, Iowa USA. Volumen 2. PP. 42.

Duffy, E. A., Belk, K. E., Sofos, J. N. (2000). United States retail pork microbiological baseline In: Proceeding Pork Quality and Safety Summit. National Pork Producers Council 305-309.

Fairbrother, J.M., Higgins, R. and Desautels, C. (2000). Trends in pathotypes and antimicrobial resistance of *escherichia coli* isolates from piglets with postweaning diarrhea

in Quebec. *16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia, 17-20 Sept. PP. 17*

García, S. J. (1993). Evaluación del efecto de la adición de un ensilado elaborado a base de cerdaza y sorgo sobre el comportamiento productivo de cerdos alimentados durante la etapa de desarrollo. Tesis Licenciatura. FMVZ-UNAM. México.

Gyles, L. C. and Thoen O. C. (1993). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. *Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.*

Henry, D. P., Frost, A. J., Samuel, J. L., O'Boyle, D. A. and Thompson, R. H. (1983). Factors affecting the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* in anaerobically fermented pig waste. *Jour. Applied Bact. 55: 89-93.*

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.*

Hernández, C. B. (1997). Determinación de bacterias patógenas en ensilados de excretas porcinas con caña de azúcar. Tesis Licenciatura. FMVZ-UNAM. México.

Iñigo, D. C., Angelo, I. S., Soto, C. S. y Alcaíno, H. (1991). Caracterización bacteriológica y parasitológica del desecho fecal porcino en Chile. *Avances en Ciencias Veterinarias 6(1) 23-28.*

Iñiguez, C. G. (1991). Fermentación de estiércol de cerdo para la obtención de un alimento para rumiantes. Tesis de doctorado. Instituto de Investigaciones Biomédicas. U.N.A.M. México D.F.

Iñiguez, C. G. (1993). Aprovechamiento del estiércol de cerdo mediante fermentación. *Nuestro Acontecer Porcino 1 Pag. 14-20*

Jones, W. P. (1976). The effect of temperature, solids content and pH on the survival of Salmonellas in cattle slurry. *Br. Vet. J.* 132: 284

Jung, B-Y, Cho, K-H, Lee, H-S, Jyeong, J-S, and Kim, B-H. (2002). Serotypes and antimicrobial susceptibility of Salmonella from Korean pigs. 17 th Congress of the International Pig Veterinary Society. June 2-5, Iowa State University. Ames, Iowa USA. PP.10. Volumen 2.

Letellier, A., Messier, S., Pare, J., Menard, J. y Quessy S. (1999). Distribution of Salmonella in swine herds in Quebec. *Veterinary Microbiology* 67: 299-306

Liceaga, M. M. (1994). Manejo de excretas en granjas porcinas: Estudio recapitulativo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

López, G. G. (1994). Importancia del reciclaje de excretas porcinas. *Acontecer porcino* 2 (10), 5-12

Martínez C. A. (1999). Efecto de la inclusión de cerdaza en ensilados de planta de maíz y melaza sobre los parámetros productivos de corderas criollas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

Martínez-Gamba. R., Pradal-Roa P., Castrejón, P. F., Herradora, M., Galvan, E. and Mercado, C. (2001). Persistence of *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, Aujeszky's Disease virus, Blue Eye Disease virus in ensilages based on the solid fraction of pig faeces. *J. of Appl Microbiol* 91: 750-758.

Mateu, A., Mata Alvarez, J. y Parés, R. (1992). Enterobacterial and viral decay experimental models for anaerobic digestion of piggery waste. *Applied Microbiology and Biotechnology* 38: 291-296.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

McCollough, M. E. (1978). Fermentation of silage. National Feed Ingredients Association. Des Moines, Iowa, USA. PP. 3, 4, 31, 35.

Mead, P. S. L., Slutsker, V., Dietz, L. F., McCaig, S. J. S., Bresee, C., Shapiro, P. M., Griffin and R.V. Tauxe. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 607-625.

Melin, L., Franklin, A., Persson, M., Svensson, T. and Wallgren, P. (2000). Mic values for *E. coli* isolated from faeces of piglets with enteric disorders in Sweden. *16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia, 17-20 Sept.* Pag. 119

Molina, R. R. (1997). Utilización de la cerdaza en la alimentación animal. Memorias del II seminario de Manejo y Reciclaje de Residuales Porcinos. *CMP* Octubre 22-25, Querétaro, México. Pag. 63-65.

Monteith, H. D. and Shannon E. E. (1986). The inactivation of a bovine enterovirus and a bovine parvovirus in cattle manure by anaerobic digestion, heat treatment, gamma irradiation, ensilage and composting. *J. Hyg. Camb.* 97:175-184

Morgan, M. W. (2002). Salmonella como patógeno transmitido por alimentos provenientes del cerdo. *Cerdos swine.* Año 5, No. 52.

Ortega, C. M. E., Carranco, J. E. M. (1993). Factores que afectan la digestibilidad in situ de los alimentos en el rumen. *Vet. Mex.* 24.

Peñalva, G. (1984). Reciclaje de heces en alimentación de hembras. *Porcivama* 8 (93) 25-39

Pérez, E. R. (1997). Porcicultura y medio ambiente. Memorias II Seminario Manejo y Reciclaje de Residuales Porcinos. *CMP* Octubre 22-25. Querétaro, México.

Pérez, E. R. (1999). Porcicultura intensiva en México. 1999. Oct-Dec. www.fao.org/docrep/x17t/x1700t03.htm.

Plym, F. L. and Ekesbo, I. (1993). Survival of Salmonellas in composted and not composted solid animal manures. *J. Vet. Med. B* 40, 654-658.

Rajic, A., Muckle, A., MacFall, M., Deckert, A., Dewey, C., McEwen, S. y Manninen, K. (2002a). *Salmonella* occurrence and serotype diversity on 90 finishing farms in Alberta. 17 th Congress of the International Pig Veterinary Society. June 2-5, Iowa State University. Ames, Iowa USA. Pag. 315. Volumen 1

Rajic, A., Keenlside, J., McFall, M., Wu, J., Chow, E., Deckert, A., Dewey, C. y McEwen, S. (2002b). *Salmonella* infections on 90 farms in Alberta: farm prevalence and risk factors. 17 th Congress of the International Pig Veterinary Society. June 2-5, Iowa State University. Ames, Iowa USA. Pag. 316. Volumen 1

Salazar, G. G. y Cuarón, I. J. (2000). Usos de los desechos de origen animal en México. Noviembre. Capitulo 8. Available from: www.fao.org/ag/aga/AGAP/FRG/APH134/cap.8.htm.

Salgado, M. J., Jaramillo, A. C. J, Núñez, E. F. J. y Mora M. P. (1999). *Salmonella* sp. en tres tipos de chorizos, como peligro dentro de un sistema de análisis de riesgos e identificación de puntos críticos de control (HACCP) en una empacadora de la Ciudad de México. *Veterinaria México* 30 (2).

Serrano, G. E. (2001). Efecto del proceso de ensilaje sobre las unidades formadoras de colonias de hongos en excretas porcinas. Tesis Licenciatura. FMVZ-UNAM. México.

Stegé, H., Christensen, J., Nielsen, J. P., Baggesen, D. L., Enøe, C. and Willeberg, P. (2000). Prevalence of subclinical *Salmonella* enterica infection in Danish finishing pig herds. *Prev. Vet. Med.* 44: 175-188

Strauch, D. and Ballarini, G. (1994). Hygienic aspects of the production and agricultural use of animal wates. *J. Vet. Med. B.* 41: 176-228.

Sutton, A. (1993). El manejo del desperdicio porcino. *Desarrollo Porcícola* 3(9) 24-27.

Taiganides, P. E. (1994). Pig Waste Management and Pollution Control. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias Acapulco 8-12 de octubre. Acapulco, México 313-322.

Taiganides, P. E., Pérez, E. R. y Girón, S. E. (1996). Manual para el manejo y control de aguas residuales y excretas porcinas en México. Consejo mexicano de porcicultura. Pag.77-80

Van der Wolf, P.J., Peperkamp, N.H.M.T. and Franssen F.M.M.C. (2000). *Salmonellae* isolated from faeces and necropsies of pigs in the Netherlands. 16th International Pig Veterinary Society Congress, September 17-20, Melbourne, Australia. PP. 223

Van der Wolf, P. J. and Peperkamp, N.H.M.T. (2001). *Salmonellae* (sero)types and their resistance patterns in pig faecal and post-mortem samples. *Vet. Quart* 23: PP. 175-181.

Vidal, A. B., Pozo, J., de Arriba, M. L., Carvajal, A. y Rubio, P. (2002). Detection of *Salmonella* in Spanish swine herds with diarrhoea. 17 th Congress of the International Pig Veterinary Society. June 2-5, Iowa State University. Ames, Iowa USA. Pag. 203.

Wray, C. W. and Sojka, W. J. (1977). Reviews of the progress of dairy science: Bovine salmonellosis. *J. Dairy Sci* 44: 383-425

ANEXOS

Anexo 1. pH de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación y efluentes.

Granja No.	Muestra	Valor	Granja No.	Muestra	Valor
1	Fosa de sedimentación (1)	7.0	6	Fosa de sedimentación (1)	7.0
	Fosa de sedimentación (2)	7.0		Fosa de sedimentación (2)	7.0
	Efluente (1)	7.0		Efluente (1)	7.0
	Efluente (2)	7.0		Efluente (2)	7.0
2	Fosa de sedimentación (1)	6.8	7	Fosa de sedimentación (1)	7.0
	Fosa de sedimentación (2)	6.8		Fosa de sedimentación (2)	7.0
	Efluente (1)	6.8		Efluente (1)	7.0
	Efluente (2)	6.8		Efluente (2)	7.0
3	Fosa de sedimentación (1)	7.0	8	Fosa de sedimentación (1)	7.0
	Fosa de sedimentación (2)	7.0		Fosa de sedimentación (2)	7.0
	Efluente (1)	7.0		Efluente (1)	7.0
	Efluente (2)	7.0		Efluente (2)	7.0
4	Fosa de sedimentación (1)	6.8	9	Fosa de sedimentación (1)	7.0
	Fosa de sedimentación (2)	6.8		Fosa de sedimentación (2)	7.0
	Efluente (1)	7.0		Efluente (1)	7.0
	Efluente (2)	7.0		Efluente (2)	7.0
5	Fosa de sedimentación (1)	6.8	10	Fosa de sedimentación (1)	7.0
	Fosa de sedimentación (2)	6.8		Fosa de sedimentación (2)	7.0
	Efluente (1)	7.0		Efluente (1)	7.0
	Efluente (2)	7.0		Efluente (2)	7.0

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Anexo 3. Formato para la identificación de bacterias.

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL: CERDOS.**

Fecha _____ No. de Caso _____ Muestra _____

Colonia					
Tinción Gram					
Medio					
Tamaño					
Descripción					
Hemólisis					
Subcultivo					
KOH 3%					
Catalasa					
Coagulasa					
TSI					
Citrato					
Urea					
Nitratos					
RM/VP					
Malonato					
Fenilalanina					
Amilasa					
NaCl 6.5 %					
Adonitol					
Arabinosa					
Dulcitol					
Fructuosa					
Glucosa					
Inositol					
Lactosa					
Maltosa					
Manitol					
Rafinosa					
Ramnosa					
Salicin					
Sorbitol					
Sacarosa					
Trealosa					
Xylosa					
Leche torasolada					

Anexo 4. Conteo de UFC/g de enterobacterias a partir de las muestras de excreta de la fosa de sedimentación.

Granja No.	Muestra	UFC/g de muestra
1	Fosa de sedimentación (1)	5×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	1×10^5
2	Fosa de sedimentación (1)	4×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	3×10^4
3	Fosa de sedimentación (1)	7×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	1×10^5
4	Fosa de sedimentación (1)	9×10^5
	Fosa de sedimentación (2)	9×10^5
5	Fosa de sedimentación (1)	10×10^5
	Fosa de sedimentación (2)	9×10^5
6	Fosa de sedimentación (1)	6×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	1×10^5
7	Fosa de sedimentación (1)	6×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	4×10^4
8	Fosa de sedimentación (1)	7×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	3×10^5
9	Fosa de sedimentación (1)	4×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	1×10^5
10	Fosa de sedimentación (1)	1×10^6
	Fosa de sedimentación (2)	2×10^6

Anexo 5. Conteo de UFC/g de enterobacterias a partir de las muestras de efluente.

Granja No.	Muestra	UFC/g de muestra
1	Efluente (1)	1×10^5
	Efluente (2)	9×10^4
2	Efluente (1)	1×10^5
	Efluente (2)	2×10^4
3	Efluente (1)	1×10^5
	Efluente (2)	3×10^5
4	Efluente (1)	9×10^5
	Efluente (2)	5×10^5
5	Efluente (1)	9×10^1
	Efluente (2)	1×10^2
6	Efluente (1)	2×10^5
	Efluente (2)	3×10^5
7	Efluente (1)	2×10^4
	Efluente (2)	4×10^3
8	Efluente (1)	2×10^5
	Efluente (2)	5×10^4
9	Efluente (1)	5×10^3
	Efluente (2)	1×10^5
10	Efluente (1)	4×10^4
	Efluente (2)	1×10^4

Anexo 6. Conteo UFC/g de enterobacterias a partir de las muestras de sólido.

Granja No.	Muestra	UFC/g de muestra
1	Sólido (1)	1×10^6
	Sólido (2)	4×10^5
2	Sólido (1)	5×10^4
	Sólido (2)	1×10^5
3	Sólido (1)	2×10^5
	Sólido (2)	1×10^5
4	Sólido (1)	6×10^5
	Sólido (2)	5×10^5
5	Sólido (1)	3×10^4
	Sólido (2)	1×10^5
6	Sólido (1)	2×10^6
	Sólido (2)	5×10^6
7	Sólido (1)	9×10^7
	Sólido (2)	3×10^8
8	Sólido (1)	4×10^7
	Sólido (2)	1×10^7
9	Sólido (1)	2×10^6
	Sólido (2)	1×10^6
10	Sólido (1)	6×10^5
	Sólido (2)	8×10^5

Anexo 7. Conteo UFC/g de *E. coli* a partir de las muestras de excretas de la fosa de sedimentación.

Granja No.	Muestra	UFC/g de muestra
1	Fosa de sedimentación (1)	3×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	3×10^4
2	Fosa de sedimentación (1)	2×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	2×10^4
3	Fosa de sedimentación (1)	1×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	2×10^4
4	Fosa de sedimentación (1)	6×10^5
	Fosa de sedimentación (2)	6×10^5
5	Fosa de sedimentación (1)	6×10^5
	Fosa de sedimentación (2)	6×10^5
6	Fosa de sedimentación (1)	1×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	1×10^4
7	Fosa de sedimentación (1)	10×10^3
	Fosa de sedimentación (2)	1×10^4
8	Fosa de sedimentación (1)	3×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	2×10^5
9	Fosa de sedimentación (1)	1×10^4
	Fosa de sedimentación (2)	1×10^5
10	Fosa de sedimentación (1)	1×10^6
	Fosa de sedimentación (2)	1×10^6

Anexo 8. Conteo UFC/g de *E. coli* a partir de las muestras de efluente.

Granja No.	Muestra	UFC/g de muestra
1	Efluente (1)	1×10^5
	Efluente (2)	1×10^4
2	Efluente (1)	1×10^4
	Efluente (2)	1×10^4
3	Efluente (1)	8×10^4
	Efluente (2)	1×10^5
4	Efluente (1)	2×10^5
	Efluente (2)	1×10^5
5	Efluente (1)	2×10^1
	Efluente (2)	3×10^1
6	Efluente (1)	1×10^5
	Efluente (2)	2×10^5
7	Efluente (1)	1×10^3
	Efluente (2)	1×10^3
8	Efluente (1)	1×10^4
	Efluente (2)	2×10^4
9	Efluente (1)	5×10^3
	Efluente (2)	1×10^5
10	Efluente (1)	2×10^4
	Efluente (2)	1×10^4

Anexo 9. Conteo UFC/g de *E. coli* a partir de las muestras de sólido.

Granja No.	Muestra	UFC/g de muestra
1	Sólido (1)	4×10^5
	Sólido (2)	3×10^5
2	Sólido (1)	3×10^4
	Sólido (2)	1×10^5
3	Sólido (1)	1×10^5
	Sólido (2)	4×10^4
4	Sólido (1)	1×10^5
	Sólido (2)	2×10^5
5	Sólido (1)	2×10^4
	Sólido (2)	1×10^5
6	Sólido (1)	5×10^5
	Sólido (2)	3×10^5
7	Sólido (1)	2×10^7
	Sólido (2)	2×10^8
8	Sólido (1)	1×10^7
	Sólido (2)	1×10^7
9	Sólido (1)	1×10^4
	Sólido (2)	1×10^4
10	Sólido (1)	4×10^5
	Sólido (2)	5×10^5

Anexo 10. Conteo de UFC/g de enterobacterias a partir de sólidos dejados 144 h al medio ambiente.

Granja No.	Muestra	UFC/g de muestra
1	Sólido (1)	1×10^7
2	Sólido (1)	1×10^7
3	Sólido (1)	1×10^7
4	Sólido (1)	2×10^6
5	Sólido (1)	1×10^8
6	Sólido (1)	1×10^7
7	Sólido (1)	1×10^7
8	Sólido (1)	1×10^6
9	Sólido (1)	1×10^6
10	Sólido (1)	1×10^5

Anexo 11. Comparación en el conteo de enterobacterias a partir de muestras de sólidos dejados 144 h al medio ambiente y del sólido obtenido del separador .

Granja No.	Muestra	UFC/g de muestra
1	Sólido (1)	1×10^7
2	Sólido (1)	1×10^7
3	Sólido (1)	1×10^7
4	Sólido (1)	2×10^6
5	Sólido (1)	1×10^8
6	Sólido (1)	1×10^7
7	Sólido (1)	1×10^7
8	Sólido (1)	1×10^6
9	Sólido (1)	1×10^6
10	Sólido (1)	1×10^5
1	Sólido (1)	3.5×10^5
2	Sólido (1)	6.5×10^4
3	Sólido (1)	7×10^4
4	Sólido (1)	1.5×10^5
5	Sólido (1)	6×10^4
6	Sólido (1)	4×10^5
7	Sólido (1)	1.1×10^8
8	Sólido (1)	1×10^7
9	Sólido (1)	1×10^4
10	Sólido (1)	4.5×10^5

Anexo 12. Análisis químico proximal de los ensilados.

No. de granja	MS, %	PC, % (bs)	Cen, %	EE, %	FC, %	ELN, %
1	50.53	12.10	8.59	8.73	17.25	53.33
2	63.06	13.50	7.81	7.68	15.98	55.02
3	61.03	13.59	10.54	8.07	15.38	52.42
4	46.24	12.36	7.93	8.95	13.86	56.90
5	45.77	13.45	12.05	9.28	9.30	55.91
6	43.97	11.35	10.64	9.34	15.94	52.74
7	45.78	9.58	8.71	7.67	15.14	58.89
8	47.38	11.88	17.36	5.05	15.26	50.46
9	41.82	14.58	13.28	8.20	9.53	54.41
10	52.64	10.90	30.79	7.86	7.00	43.45

MS = Materia seca.

PC = Proteína cruda.

Cen = Cenizas.

EE = Extracto etéreo.

FC = Fibra cruda.

ELN = Extracto libre de nitrógeno.