



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

IDENTIFICACION DE *Clostridium perfringens* y
Erysipelothrix rhusiopathiae A PARTIR DE UN
SISTEMA DE TRATAMIENTO PRIMARIO DE AGUAS
RESIDUALES EN UNA GRANJA PORCINA A
PEQUEÑA ESCALA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ANA BEATRIZ CORDERO LANNOY

ASESORES: MC ROBERTO GUSTAVO MARTINEZ GAMBA
MC ROSARIO ESPERANZA GALVAN PEREZ



MEXICO, D. F.

2005

m341515



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.

DEDICATORIAS

A Dios, por que él es antes de todas las cosas,
y todas las cosas en él subsisten. Col. 1:17

A mi amada familia,
como testimonio de mi agradecimiento.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor MC Roberto Gustavo Martínez Gamba con admiración y gran estima, por su tiempo, apoyo, confianza, paciencia, dirección, consejos y corazón de padre. Así como a mi asesora MC Esperanza Galván P., al MC M. Antonio Herradora L., al MC Gerardo Ramírez H.; quienes me han brindado su invaluable apoyo.

A los miembros del jurado: MVZ Gustavo Adolfo García Delgado, MVZ Rafael Suárez Castrejon, MVZ Marco A. Herradora Lozano, MVZ Gerardo Ramírez Hernández; por su disposición, su tiempo y gentil revisión de la tesis.

Al PAPIIT con el proyecto IN223903, de la línea de investigación: "Sistema alternativo para el tratamiento y aprovechamiento de aguas residuales de un sistema de tratamiento primario de aguas residuales de granjas porcinas, propuestas para disminuir la contaminación ambiental".

A las personas que me apoyaron en la realización del presente trabajo, como Victor, MVZ Raúl, etc.

Con respeto y aprecio a cada uno de los profesores que influyeron en mi vida de forma importante: Lic. Mario Alcántara T., el MC Francisco Castrejon Pineda, MVZ Ortiz, entre otros.

Con amor a cada una de mis amigas: Esther GC, Dianita HG, Abigail SF, Mariana GD, Miriam CP, Gaby PP, Claudia RP, Sandra RS, y a todos aquellos que por falta de espacio me faltan mencionar; por entregarme su amistad sincera, por compartir su vida conmigo estos años, por estar a mi lado en cada una de las aventuras, en las buenas y en las malas; por caminar juntas por triunfos y derrotas, risas y llantos.

CONTENIDO

Página

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
RESULTADOS.....	20
DISCUSIÓN	23
LITERATURA CITADA	27
CUADROS	32
ANEXOS	39
FIGURAS.....	41

ÍNDICE DE CUADROS

Página

1.- Características nutricionales aproximadas de las excretas porcinas	32
2.- Niveles de elementos contaminantes de las aguas residuales porcinas	33
3.- Principales toxinas liberadas por <i>C. perfringens</i>	34
4.- Principales enfermedades causadas por <i>C. perfringens</i>	35
5.-Principales enfermedades causadas por <i>E. rhusiopathiae</i>	36
6.- Registros de temperatura y pH de las muestras obtenidas.....	37
7.- Resultados de las bioquímicas para <i>C. perfringens</i>	38

ÍNDICE DE ANEXOS

Página

1.- Puntos de muestreo en el sistema de tratamiento primario.....	39
2.- Formato de Bioquímica para identificación de <i>C. perfringens</i>	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

1.- El ensilaje de excretas animales	41
2.- Sistema de tratamiento de aguas residuales de tipo primario	42
3.- Toma de muestras del cárcamo de colección (CC)	43
4.- Toma de muestras de la Fosa de sedimentación (FS)	44
5.- Medición del pH en las muestras recién obtenidas	45
6.- Medición de la temperatura en las muestras recién obtenidas.....	46
7.- Siembra de la muestra directa en Agar sangre	47
8.- Siembra de la muestra directa en Agar sangre	48
9.- Jarra de anaerobiosis con un generador de hidrógeno-dióxido de carbono (Gas Pack).....	49
10.- Medios de cultivo en jarra de anaerobiosis	50
11.- Dilución de muestra en agua peptonada para <i>E. rhusiopathiae</i>	51

RESUMEN

CORDERO LANNON ANA BEATRÍZ. Identificación de *Clostridium perfringens* y *Erysipelothrix rhusiopathiae* a partir de un sistema de tratamiento primario de aguas residuales en una granja porcina a pequeña escala. (Bajo la dirección de: MCV Roberto Gustavo Martínez Gamba y MCV Rosario Esperanza Galván Pérez).

El objetivo del presente trabajo fue identificar la presencia de *C. perfringens* y *E. rhusiopathiae* en la porción líquida de excretas porcinas en un sistema de tratamiento primario, que consiste en la separación de sólidos y sedimentación. El muestreo se realizó en una granja porcina ubicada en el municipio de Otumba, Estado de México. Se obtuvieron muestras a partir de los siguientes puntos del sistema de tratamiento: Cárcamo de colección (CC), líquido separado (LS) y líquido sedimentado (FS). Para lo cual se tomaron 200 ml en cinco áreas de cada uno de los tres puntos de muestreo. Estas cinco muestras iniciales se mezclaron para obtener una muestra final de un litro para cada punto de muestreo. Se realizaron cinco repeticiones con intervalos de una semana, que es el tiempo de retención del sistema. De cada muestra se tomaron 50 μ l. y se sembraron en agar sangre, incubándolas a 37 °C por 48 h. en anaerobiosis para *C. perfringens* y en microaerofilia para *E. rhusiopathiae*. Después de procesadas las muestras se identificó *C. perfringens* del separador de sólidos del muestreo 1 y de la fosa de sedimentación del muestreo 5. En cuanto a *E. rhusiopathiae*, no se encontró en ninguna de las muestras. Al existir la presencia de *C. perfringens* en los desechos líquidos de granjas porcinas es posible el riesgo de transmisión de este agente y demuestra que el sistema de separación de sólidos por medio del dispositivo de tipo cilíndrico y el proceso de sedimentación no elimina su presencia.

INTRODUCCIÓN

México ocupa el noveno lugar como productor de carne de cerdo a nivel mundial ⁽¹⁾ y el segundo en Latinoamérica ⁽²⁾, con una población de 15 millones de cerdos ⁽³⁾ y un consumo anual por individuo de carne de cerdo de 10 kg ^(4, 5). La actividad porcícola en nuestro país tiene tres sectores principales: el de granjas tecnificadas que abarca el 46%, el de semi-tecnificadas con el 20% y el de traspatio con el 34% ⁽⁵⁾; en los tres sectores de la porcicultura se ha venido presentando un incremento de la productividad, el cual está relacionado con un aumento de los contaminantes originados a partir de los desechos generados por las granjas porcícolas. El impacto ambiental de los desechos porcinos incluye efectos sociales y políticos que son imposibles de cuantificar, factores de perturbación como olores y plagas de insectos, y principalmente efectos directos sobre los recursos del agua, el suelo y el aire ⁽⁵⁾. El impacto de la actividad porcina en el medio ambiente está dado principalmente por los siguientes factores ⁽⁵⁾:

- 1) alta concentración de animales;
- 2) desarrollo de una actividad especializada sin vinculación con la agricultura, dando como resultado una falta de disponibilidad de terrenos agrícolas para el uso de residuales como fertilizantes del suelo;
- 3) un empleo de dietas con alto contenido de proteína que el cerdo no es capaz de digerir y asimilar, originando un gran volumen de excreta;
- 4) falta de un programa de re-localización de las granjas alcanzadas por el crecimiento incontrolado de núcleos urbanos;
- 5) poca atención prestada al problema ambiental;
- 6) falta de personal profesional capacitado en manejo de residuos.

En función del grado de tecnificación y tipo de producción (ciclo completo, engorda, etc.), se pueden obtener dos clases de estiércol porcino: a) estiércol sólido o semisólido, y b) estiércol líquido; ambos constituidos por heces y orina ⁽⁶⁾. Aunque la cantidad de excretas que produce un cerdo depende de varios factores como: la edad, la madurez fisiológica, la cantidad y calidad de alimento consumido, la ingesta de agua y el clima, se estima que un cerdo elimina al día entre 0.6 y 1.0% de su peso vivo en materia seca fecal (MSF) ^(7, 8, 9). Las características más importantes de las excretas porcinas están relacionadas con los siguientes aspectos: parámetros fisicoquímicos, contenido de nutrientes de fertilización, micronutrientes, metales, valor alimenticio y cargas bacterianas ⁽⁵⁾. Las excretas porcinas están constituidas por un 55% de heces y un 45% de orina, el contenido de humedad es de 88%; cerca del 90% de los sólidos se excretan en las heces y un 10% en la orina como minerales y amoniaco-nitrógeno ⁽⁵⁾. Lo anterior genera un problema cuando el estiércol es empleado en la agricultura, al ocasionar una acumulación de estos elementos en el suelo y la contaminación del agua de los mantos freáticos ⁽⁷⁾.

En México existe un marco legal para el control de la contaminación generada por aguas residuales, el cual está constituido por cuatro leyes: la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, la Ley de aguas Nacionales, la Ley General de Salud y la Ley de Derechos, y a partir de enero de 1996 se cuenta con la NOM-001-ECOL-1996 ⁽¹⁰⁾ que especifica sobre descargas de aguas residuales, la cual tiene como objetivo proteger la calidad de las aguas nacionales y posibilitar sus usos posteriores. Regula seis tipos de cuerpo receptor:

ríos y acuíferos, embalses (naturales o artificiales), aguas costeras, suelo (para riego agrícola), estuarios y humedades naturales, y cinco usos posibles de estos cuerpos de agua: riego agrícola, abasto público urbano, protección de la vida acuática, explotación pesquera, navegación y por último, usos recreativos. También establece límites máximos permisibles para potencial de hidrógeno, coliformes fecales, huevos de helmintos, parámetros básicos (Demanda Bioquímica de Oxígeno, Demanda Química de Oxígeno, Sólidos Suspendidos Totales, Sólidos Sedimentables, Materia Flotante, Grasas y Aceites), cianuros y ocho metales pesados. Esta norma para el caso de la porcicultura es de cumplimiento obligatorio desde el año 2000 para granjas mayores de 833 hembras, desde el año 2005, granjas entre 333 y 833 y a partir del año 2010 para todas las granjas. La norma tiene varias limitaciones como por ejemplo: otorga el derecho a contaminar un bien de la nación a cambio de un pago, dejó fuera de control el nitrógeno y el fósforo cuando el agua residual se usa para riego agrícola.

Para solucionar el problema de impacto ambiental y el cumplimiento de la norma, se ha implementado el tratamiento de excretas en granjas porcinas mediante métodos físicos, biológicos y químicos⁽⁶⁾.

Tratamientos físicos:

- Separación de sólidos-líquidos. Utilizado para recuperar el alimento no digerido y para disminuir la cantidad de humedad. Al mezclar el estiércol con agua (de lavado), la parte sólida pierde valor nutritivo, por la dilución o por el arrastre de la materia en solución.

- Deshidratación al sol. Se emplea para lograr un producto seco que pueda ser almacenado de manera más adecuada.
- Secado artificial. De igual manera que el anterior, se emplea para lograr un producto seco que pueda ser almacenado.

Tratamientos químicos:

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

Este tratamiento se ha utilizado sólo como una alternativa de terminado o pulido de las aguas residuales, después de los tratamientos aerobios y anaerobios.

Tratamientos biológicos:

- Lagunas de estabilización. Se aprovecha la actividad bacteriana para degradar la materia orgánica presente en los desechos. Las lagunas se clasifican respecto a los procesos que intervienen en ellas, en:

- Anaerobias. El proceso se lleva a cabo sin la presencia de oxígeno.

Las bacterias involucradas en el proceso pueden ser de dos categorías:

* *formadoras de ácido* - procesan la materia orgánica a dióxido de carbono, agua, metano, sulfuro de hidrógeno y ácidos orgánicos.

* *formadoras de metano* - producen dióxido de carbono y pequeñas cantidades de mercaptanos.

- Aerobias. Se realiza a través de bacterias aerobias que degradan la celulosa y lignina muy lentamente. Otros compuestos orgánicos menos complejos

se degradan más rápido, con la consiguiente producción de nuevas células bacterianas, agua, dióxido de carbono y la conversión de nitrógeno proteico a nitritos, nitratos y nitrógeno libre. Los sistemas aeróbicos pueden ser aireados natural o mecánicamente.

- Facultativas. Se caracterizan porque dentro de la misma unidad se llevan a cabo tanto procesos anaeróbicos como aeróbicos, en el fondo de la laguna se lleva a cabo el primero y en la superficie el segundo. Se pueden emplear aireadores naturales, equipos mecánicos y neumáticos.

- Digestores anaeróbicos. Por medio de éstos posible obtener energía. Las excretas al ser digeridas de esta manera forman biogás, el cual puede ser recuperado, filtrado, comprimido e introducido a dispositivos de gas y ser empleado como combustible para calentamiento, o ser utilizado en generadores de vapor.

- Ensilaje. El ensilaje es un proceso en el cual son almacenados materiales bajo condiciones anaeróbicas, que permite que los microorganismos presentes fermenten los carbohidratos a ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, reduciendo el pH e inhibiendo la fermentación posterior y de esa forma preservar el ensilado (Figura 1).

La mezcla de grano de cereales molidos y melaza con las excretas, es la mejor opción para aprovechar el efecto de ambos aditivos, ya que al poseer diferencias en solubilidad, permiten dar continuidad al proceso de fermentación de la mezcla.

Al incluir excretas porcinas en la alimentación animal, sin que reciba ningún tratamiento que elimine el riesgo de patógenos presentes en el mismo, es necesario valorar el peligro potencial que presenta implementar esta práctica dentro de cualquier explotación. Por tal razón, se recomienda un procesamiento de las excretas antes de su uso en la alimentación animal ⁽¹¹⁾. La práctica de alimentar rumiantes con las excretas porcinas está ampliamente difundida en países de América Latina y llegan a sustituir al grano hasta un 40% en las etapas de engorda ⁽⁵⁾.

La mayoría de estos tratamientos se llevan a cabo a gran escala, lo cual requiere equipo, espacio, alta inversión y tecnificación, y se debe considerar que por lo general los pequeños productores no tienen acceso a esta tecnología. En la mayoría de las granjas pequeñas, aquellas con 100 hembras reproductoras o menos, los desechos no son sometidos a ningún tipo de tratamiento o en el caso de existir es únicamente de tipo primario. Dentro de los sistemas de tratamiento de excretas, el más utilizado en México por productores pequeños, es la dilución en agua para posteriormente sedimentar sólidos y a continuación realizar una separación mecánica, con lo que se obtienen por una parte sólidos ricos en nutrientes (Cuadro 1), y por la otra líquidos sin tratar, que generalmente son descargados en cuerpos de agua del dominio público ⁽¹²⁾.

En México dos estudios han abordado el impacto de las aguas residuales de las granjas porcinas: Uno hecho por el Programa de Medio Ambiente del Consejo Mexicano de Porcicultura que tuvo como objetivo contar con un

panorama general de la situación de manejo prevaleciente en las granjas porcinas medianas y grandes a nivel nacional, y generar información para alimentar un programa de cómputo que ofrece alternativas de manejo a los porcicultores medianos y grandes. La base de este estudio fue una encuesta realizada en 221 granjas de las 500 afiliadas al Consejo Mexicano de Porcicultura en 10 estados del país en el año de 1994. El segundo estudio es un trabajo académico circunscrito al estado de Yucatán, cuyo objetivo fue estudiar los aspectos económico-ambientales de los desechos porcinos.

Dentro de los resultados arrojados por ambos estudios se pueden destacar los siguientes ⁽⁵⁾ :

- Debido a la gratuidad del agua para las actividades agropecuarias, los porcicultores ignoran la cantidad de agua que utilizan en la granja, hacen un uso ineficiente de la misma y esto complica la instalación de sistemas de tratamiento.
- El 30% de las granjas encuestadas usaban el agua residual para riego agrícola y el 38% descargaba a un cuerpo receptor propiedad de la nación, particularmente a drenes.
- La mayoría de las granjas (76%) contaban con algún tipo de tratamiento, por lo general un cárcamo y lagunas de estabilización; las dimensiones de estas instalaciones no eran las adecuadas para el tamaño de la granja. El 10% de las granjas descargaban el agua residual sin tratar a cuerpos receptores de agua.

- El 23% de las granjas encuestadas utilizaban las excretas en la alimentación de rumiantes y sólo el 3% reciclaba el agua en la granja.
- Sólo una granja contaba con un sistema de tratamiento completo: fosa, separador, digestores, separación química y clarificador.
- Se encontró una alta variabilidad en la carga contaminante del agua residual y en los niveles de contaminación de los pozos de una misma granja y entre granjas.
- La cantidad de agua residual generada por unidad de producción animal varía muy poco entre granjas medianas, grandes y megas, pero mucho entre éstas y las granjas pequeñas donde se genera 50% más de agua residual por unidad de producción animal.
- El 36% del agua residual se descarga sin tratamiento. Un 30% corresponde a un gran número de granjas muy pequeñas y otro 30% a un pequeño grupo de granjas de más de 1000 hembras.
- Entre más grandes son las granjas mayor es su eficiencia en el uso del agua.

La evacuación de desechos fecales porcinos sin procesamiento previo, constituye un serio problema de contaminación, pues los cauces de agua reciben un material orgánico que produce un grave deterioro biológico, debido al aumento de la demanda bioquímica de oxígeno, a niveles incompatibles con la vida ⁽⁸⁾. Las excretas tienen diversos contaminantes físicos, químicos y biológicos, como

materia orgánica biodegradable, microorganismos patógenos, nitrógeno y minerales como fósforo, cobre, zinc, arsénico y potasio ⁽⁹⁾ (Cuadro 2).

Tanto los efluentes líquidos como la fracción sólida de las excretas, contienen gran cantidad de microorganismos patógenos, los cuales pueden sobrevivir por largos periodos de almacenamiento ^(13,14). Dentro de las bacterias que se pueden encontrar en este tipo de material están *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus spp*, *Bacillus anthracis*, *Brucella spp.*, *Leptospira spp.*, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* y *Clostridium spp*, entre otras ^(13. 15. 16. 17). Especialmente las dos últimas tienen una relevancia debido a que son patógenos que causan cuadros severos en los cerdos y que rara vez son buscadas en los desechos líquidos de unidades pecuarias; sin embargo, las bacterias del género *Clostridium spp.* debido a que son esporuladas resisten los cambios producidos en las fosas de sedimentación ⁽¹⁴⁾. Un ejemplo de lo anterior es que tanto en las excretas porcinas procesadas en un sistema anaeróbico con estanques de decantación y en un sistema aeróbico con estanques de agitación, se ha encontrado una carga de Clostridios de 0.7 y 6.9 UFC/g de Materia Fecal (MF) X 10⁴ respectivamente ⁽⁸⁾. Patógenos como *C. perfringens* y *E. rhusiopathiae* pueden utilizar los desechos porcinos para sobrevivir en el medio y así podrían infectar a los cerdos de la granja que tienen contacto con las excretas, o bien, al encontrarse presentes en los líquidos que se descargan de la granja, pueden llegar a tener contacto con otras poblaciones animales y causar trastornos de salud en ellas ^(17,18,19,20).

Clostridium perfringens (sinónimo *C. welchii*).

Es un Bacilo Gram+, relativamente aero-tolerante, es inmóvil y posee una cápsula de polisacáridos, mide 1-1.5 μm por 4.8 μm , posee esporas. Las esporas rara vez se pueden poner de manifiesto, las cuales pueden sobrevivir en congelación y en ebullición por más de 10 min., pero las células vegetativas son completamente susceptibles al calor ^(18, 21). Las esporas le confieren la capacidad de sobrevivir por periodos cortos de tiempo en condiciones adversas ⁽¹⁹⁾.

En condiciones de anaerobiosis a las 48 horas de incubación forma colonias circulares, grisáceas, de 1 a 3 mm de diámetro, de bordes lisos o irregulares y con beta hemólisis ⁽²¹⁾.

Dentro de las características diagnósticas incluyen: 1) actividad hemolítica de la fosfolipasa C y 2) la coagulación de la leche seguida de desprendimiento de gas ⁽¹⁸⁾.

Existen cinco tipos de *C. perfringens* (A, B, C, D, E), basados en la producción de toxinas. Cada uno de los tipos produce una combinación distinta de toxinas designadas con las letras griegas de la Alfa, Beta, Épsilon e Iota (Cuadro 3) ^(18, 17).

En el caso de *C. perfringens* tipo A, se encuentra en el tracto intestinal de las personas y de los animales y en los suelos. Los tipos B, C, D y E se encuentran principalmente en el intestino de los animales, y su supervivencia en el suelo es variable, pero el *C. perfringens* de origen intestinal que va en el

excremento aparentemente sobrevive por unos cuantos meses ⁽¹⁹⁾. Se facilita su transmisión por ingestión y por infección de heridas ⁽¹⁸⁾. También se ha demostrado su presencia en algunas dietas y en el medio ambiente ⁽²¹⁾.

Por las características de este agente, le confieren la posibilidad de ser un patógeno oportunista o respiratorio por existir en el aire a partir del suelo. Además esta bacteria es una importante causa de intoxicación alimenticia, por medio de carne, aves, pescado, suelo y aguas residuales; la enfermedad es el resultado de haber ingerido una gran dosis (más de 10^8 células) ⁽²⁰⁾. Las principales enfermedades causadas por *C. perfringens* se pueden observar en el cuadro 4.

Erysipelothrix rhusiopathiae.

Es un Bacilo Gram+, inmóvil, no posee cápsula, ni forma esporas, es anaerobio facultativo, cuando se procede al aislamiento crece mejor en una atmósfera de microaerofilia ^(17,22). Las colonias de *E. rhusiopathiae* son pequeñas de 0.5 a 1 mm de diámetro, lisas, convexas, circulares, transparentes, con el borde regular o irregular y también son planas, opacas; en gelosa sangre producen a menudo una hemólisis alfa ^(17,23).

Esta bacteria se aísla con frecuencia en los efluentes de aguas residuales, en los mataderos, en la mucosidad superficial del pescado fresco y del pescado en salazón, en el suelo puede sobrevivir durante 20 días o más, aunque su carácter saprofita es dudoso los suelos alcalinos y con un alto contenido en materia orgánica favorecen su supervivencia ^(17, 18). Ha sido aislada en más de 50 especies

de mamíferos ya que puede sobrevivir en tonsilas, en vesícula biliar y en el tracto intestinal. Se ha logrado aislar de las tonsilas de cerdos aparentemente sanos, los cuales son el reservorio natural. Así mismo, se ha identificado en más de 30 especies de aves silvestres ^(17, 18).

También es importante considerar que *E. rhusiopathiae* es resistente a la desecación y soporta la salazón, el encurtido y el ahumado. A temperaturas frías, sobrevive durante seis meses en las heces del cerdo y en la mucosidad de los peces; así mismo tiene la capacidad de sobrevivir en el agua ^(18, 22). Es destruido por el calor húmedo a 55°C durante 15 minutos ⁽¹⁸⁾.

En los animales, su transmisión es dada principalmente por ingestión de material contaminado como heces, aguas superficiales ó harina de pescado. Otra vía de transmisión son las infecciones de heridas y picaduras de artrópodos ⁽¹⁸⁾. Las principales enfermedades causadas por *E. rhusiopathiae* se mencionan en el cuadro 5.

E. rhusiopathiae también es una zoonosis, habitualmente el microorganismo penetra a través de la piel (intacta o lesionada) y después de uno a cinco días de incubación, se desarrolla una "Lesión Erisipeloide humana" ^(22, 24).

Justificación

Si bien las granjas porcinas deben establecer sistemas de tratamientos de las excretas que les permitan cumplir con los parámetros que marca la NOM-001-ECOL-1996 y así poder descargar los líquidos; esta norma sólo fija parámetros físico-químicos y establece un límite máximo permisible de bacterias coliformes fecales ⁽¹⁰⁾; por lo que otros patógenos, especialmente aquellos poco evaluados, como *C. perfringens* y *E. rhusiopathiae* pueden ser eliminados en los líquidos que se descargan de las granjas y representar un riesgo para otras operaciones pecuarias; lo anterior es importante en granjas a pequeña escala, las cuales sólo cuentan con sistemas de tratamiento de excretas de tipo primario que no han sido evaluados suficientemente. La necesidad de identificar y cuantificar *C. perfringens* y *E. rhusiopathiae* en lugar y además de otros agentes patógenos como *Salmonella spp.* o *E.coli*, se debe a que ya existen publicaciones al respecto y dentro de la línea de investigación en la que se encuentra este trabajo, se está llevando a cabo de manera simultánea otro experimento bajo las mismas condiciones, específicamente para identificar enterobacterias.

El determinar la presencia de *C. perfringens* y *E. rhusiopathiae* en la porción líquida de las excretas de un sistema de tratamiento primario en un modelo de granja a pequeña escala con antecedentes de dichos trastornos, permitirá determinar si es necesaria alguna modificación específica a ese sistema con el fin de eliminar este tipo de patógenos, de tal forma que se diseñen sistemas de tratamiento que los eliminen de los líquidos descargados de las granjas, para que estos puedan ser reutilizados en las granjas sin riesgo de transmitir enfermedades.

Hipótesis

Un sistema de tratamiento de excretas a base de separación de sólidos y sedimentación, empleado en una granja a pequeña escala no modifica la presencia de *C. perfringens* y *E. rhusiopathiae* en los líquidos resultantes del tratamiento.

Objetivos

- 1) Identificar la presencia de *C. perfringens* y *E. rhusiopathiae* en la porción líquida de las excretas porcinas, en un sistema a pequeña escala que consiste en separación de sólidos y sedimentación.
- 2) Comparar los resultados de las diferentes etapas del sistema empleado antes y después del tratamiento (separación y sedimentación) a la fracción líquida de las excretas porcinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo de campo del presente experimento se llevó a cabo en una granja porcina ubicada en el municipio de Otumba en el Estado de México, con una altitud media de 2,250 msnm, tiene un clima templado sub-húmedo con lluvias en verano, con una temperatura media anual de 14.8 °C y una precipitación pluvial promedio anual de 573.3 mm ⁽²⁵⁾. El propósito de la granja es la producción de lechones y está diseñada para una población de 100 hembras reproductoras, la cual tiene antecedentes de la presentación de casos de erisipela porcina con una incidencia del 0.9%, y existe sospecha de la presencia de *Clostridium perfringens*.

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio de bacteriología del Departamento de Producción Animal: Cerdos, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Sistema de tratamiento de excretas existente en la granja.

El sistema de tratamiento de excretas porcinas que se empleó es de tipo primario (Figura 2), el que consiste inicialmente en un cárcamo de colección (CC) de 2.34 m. de ancho, 3.06 m. de largo y 5 m. de profundidad al centro, al cual llegan las excretas de cada área de la granja, donde se almacenan. Posteriormente este material es tratado enviándolo con una bomba de semi-sólidos a un separador de sólidos de pantalla tipo cilíndrico dando como resultado líquido separado (LS) y sólidos. Después el LS va a una fosa de sedimentación (FS) anaeróbica que mide 1.66 m. de anchura, 1.95 m. de largo y 2.43 m. de

profundidad ⁽¹²⁾, donde después de un periodo de sedimentación el líquido es descargado fuera de la granja.

Muestras analizadas.

Con base en estudios previos se ha determinado que el paso del material líquido por el sistema de tratamiento primario tiene una duración de 6 días, por lo que cada muestreo se llevó a cabo una vez a la semana. Para establecer la homogeneidad del proceso de tratamiento, el muestreo se repitió durante cinco semanas. Cada semana se obtuvieron muestras iniciales a partir de los siguientes puntos de muestreo: el cárcamo de colección (CC) (Figura 3), del líquido separado (LS) y del líquido de la fosa de sedimentación (FS) (Figura 4). Para lo cual, utilizando un dispositivo hidráulico, se tomaron 200 ml en cinco áreas diferentes de cada uno de los tres puntos de muestreo, dos veces en cada uno (Anexo 1). Estas cinco muestras iniciales se mezclaron con el fin de obtener una muestra final de un litro para cada punto de muestreo.

Las muestras finales se depositaron en recipientes de vidrio previamente esterilizados y se procedió a medir el pH con tiras reactivas (Figura 5) y a tomar la temperatura (Figura 6) del líquido colectado (Cuadro 6). Se identificaron los recipientes y se colocaron en una caja de poliuretano con refrigerantes. Este procedimiento se repitió una vez en cada muestreo y así se obtuvieron dos muestras por cada semana para cada punto de muestreo. Las muestras se conservaron en refrigeración a 4°C durante el traslado de la granja al laboratorio.

Procesamiento de laboratorio.

Identificación y cuantificación de *C. perfringens*. Para cada muestra se realizaron inicialmente diluciones décuples seriadas colocando un ml. de muestra en 9 ml. de solución salina fisiológica estéril con pH de 7, se homogenizó y transfirió un ml. a otro tubo para hacer la dilución siguiente y así sucesivamente hasta el tubo 10⁽¹⁵⁾. Al hacer el cultivo de las diluciones en condiciones de anaerobiosis, se observó que no existía ningún tipo de crecimiento, por lo que se decidió a trabajar exclusivamente con la muestra directa del material sin diluir. Por lo tanto a partir de cada muestra directa (Figuras 7 y 8) se tomaron 50 µl. y sembraron en agar sangre (previamente reducida 48 horas) por duplicado: una se incubó a 37 °C por 48 h. en una jarra de anaerobiosis con un generador de hidrógeno-dióxido de carbono (Gas Pack) (Figura 9), para proporcionar las condiciones de anaerobiosis (Figura 10)^(15, 23, 26, 27), y la otra se incubó en condiciones aerobias para observar si las colonias identificadas eran anaerobias estrictas.

Aquellas colonias circulares, grisáceas, de uno a tres mm de diámetro y lisas o de bordes irregulares y con presencia de doble hemólisis^(18,21), se consideraron como sugestivas de ser *C. perfringens*; se purificaron y cuando se obtuvo un cultivo puro, se les hizo frotis con tinción de Gram para comprobar si eran bacilos G+, a las colonias que si lo fueron se les realizó tinción de Maneval la cual es para la identificación de cápsula, finalmente a las colonias se realizaron pruebas bioquímicas para su identificación^(23, 27, 28, 29).

Identificación de *E. rhusiopathiae*. En nueve ml de agua peptonada, se colocó un ml de muestra (Figura 11) incubándolas a temperatura ambiente, y a las 48 horas se sembraron 50 µl en agar sangre incubando a 37 °C por 48 horas en una jarra de microaerofilia para proporcionar 10% de CO₂. A todas las colonias que se consideraron sospechosas al medir entre 0.5 y 1 mm de diámetro, lisas, convexas, circulares, transparentes, con el borde regular o irregular y que presentaron una hemólisis alfa ^(17, 23), se les realizó frotis con tinción de Gram y a las que fueron bacilos Gram+ filamentosos, se les purifico y realizó la bioquímica correspondiente para su identificación ^(23, 27, 28, 29).

RESULTADOS

Para *Clostridium perfringens*

De todos los aislamientos de cada uno de los muestreos, crecieron colonias con características morfológicamente parecidas a las de *C. perfringens*, ya mencionadas en material y métodos, en los siguientes elementos de cada muestreo:

- muestreo 1: separador 2 y fosa 2
- muestreo 2: separador 1
- muestreo 3: fosa 1
- muestreo 4: cárcamo 1 y 2, separador 1 y 2
- muestreo 5: fosa2

Alrededor de las colonias sospechosas se observó un tipo de crecimiento diferente. Al realizar la tinción de Gram se corroboró la presencia de bacilos Gram+, pero también se observó la presencia de otras formas bacterianas como bacilos G+ filamentosos y muy largos, bacilos G- y cocos G+. Por lo cuál se procedió a purificar las colonias sembrándolas de nuevo en Agar sangre, pero sin lograr la purificación de dichas colonias, por lo cuál se empleo Cloranfenicol Ofteno (Lab. Sophia) para lograr la inhibición de los otros agentes. La forma en que se aplicó fue:

- Primeramente sembrando las colonias de Agar sangre en caldo Tioglicolato con el fármaco a diferentes dosis: al 1%, 0.50%, 0.25%, 0.12% y se incubaron los tubos durante 48 horas a 37°C.
- Se sembró una gota de esos cultivos a cajas de Agar sangre, las cuales se incubaron en anaerobiosis por 48 horas a 37°C.
- De todas las cajas sembradas de las diferentes dosis empleadas la del 1% fue con la que se observó inhibición del crecimiento no deseado alrededor de las colonias sospechosas.
- Después de los dos pases cuando las colonias estuvieron puras, al realizar la tinción de Gram se observaron bacilos G+ característicos de *C. perfringens*; únicamente de los siguientes aislamientos:
 - muestreo 1: separador 2 y fosa 2
 - muestreo3: fosa 1
 - muestreo 5: fosa 2

De estos aislamientos puros, al realizarles la tinción de Maneval para determinar la presencia de cápsula y al realizar la bioquímica (Anexo 2) se obtuvieron resultados positivos a *C. perfringens* únicamente en dos aislamientos: del separador de sólidos 2 del muestreo 1 y de la fosa de sedimentación 2 del muestreo 5 (Cuadro 7).

El aislamiento de la fosa de sedimentación 2 del muestreo 1 fue sugestivo a *C. fallax* y el aislamiento de fosa de sedimentación 1 del muestreo 3 fue sugestivo a *C. oroticum*.

Para *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Todos los aislamientos de cada muestreo del elemento correspondiente (cárcamo 1-2, separador 1-2 y fosa 1-2) se fueron descartando al no cumplir con las características indicadas.

Los aislamientos bacterianos, al no cumplir con las características de *E. rhusiopathiae* se consideraron negativos ya que a ninguno se le pudo identificar por medio de pruebas bioquímicas.

DISCUSIÓN

El hecho de que en el presente trabajo se logrará identificar la presencia de *C. perfringens* en la porción líquida de las excretas porcinas en el LS y en la FS, a pesar del sistema de tratamiento, concuerda con lo reportado por Íñigo *et al.* ⁽⁸⁾ quienes tanto en las excretas porcinas procesadas en un sistema anaeróbico con estanques de decantación como en un sistema aeróbico con estanques de agitación, encontraron una carga de clostridios de 0.7 y 6.9 UFC/g MF X 10⁴ respectivamente. Esto indica que el agente está presente en la porción líquida de las excretas a pesar del sistema de tratamiento primario.

Lo anterior es posible ya que de *C. perfringens* tiene las características de ser anaerobia facultativa, esporulada, con cápsula, por lo tanto puede resistir cambios adversos del medio en que se encuentre y sobrevivir en las excretas porcinas hasta por varios meses ^(17,18,19,20). Lo cual sigue representando un riesgo cuando el agua residual es empleada para uso agrícola o simplemente es eliminada al medio ambiente o alcantarillado público, y aún más si se pretende reciclarla en las instalaciones pecuarias.

En este trabajo no se identificó la presencia de *C. perfringens* en el cárcamo, a diferencia de lo reportado en un trabajo donde los autores aislaron al agente en líquido residual crudo, es decir sin tratamiento previo, y en excreta sólida, en cantidades de 3×10^4 y 1.6×10^5 respectivamente. Así mismo, dichos

autores reportan la presencia de otros clostridios en líquido residual crudo (0.8×10^4) y en excreta sólida (0.5×10^4)⁽³⁰⁾.

Por otra parte, y a diferencia de lo encontrado en este estudio, en otro estudio se ha identificado la presencia de otro tipo de clostridios como *C. butyricum* y *C. diporicum* en la porción líquida de excretas porcinas⁽³¹⁾.

Es conveniente mencionar que las características de las bacterias que se trataron de identificar en el presente trabajo hacen más difícil lograr su aislamiento, particularmente en las condiciones del material de desecho de las granjas, y en especial si se toma en cuenta que en ocasiones los agentes patógenos sólo pueden ser aislados en el estiércol si su número es muy alto y se emplean métodos específicos de cultivo, a diferencia de las enterobacterias, que pueden ser aisladas con cierta facilidad mediante métodos convencionales de cultivo aún a pequeñas concentraciones⁽¹³⁾.

La presencia de *C. perfringens* en el material proveniente del separador y en el líquido sedimentado indica que este tipo de sistema de tratamiento de aguas residuales por separación mecánica y sedimentación no tiene una eficiencia total en remover ciertos patógenos; lo anterior coincide con un reporte donde *C. perfringens* sólo fue removido en un 51% de los casos en una planta de tratamiento de aguas residuales a gran escala ubicada en Canadá⁽³²⁾.

Respecto a la identificación de *E. rhusiopathiae*, en este trabajo, no se encontró presente en ninguna muestra. A diferencia de lo anterior algunos autores señalan que es factible el aislamiento de *E. rhusiopathiae* a partir de líquidos provenientes de diferentes fuentes; por ejemplo, ha sido reportada la presencia de *E. rhusiopathiae* junto con *Clostridium spp* como agentes patógenos en aguas industriales ⁽³²⁾. También se ha reportado la supervivencia de *E. rhusiopathiae* y *C. perfringens* en desechos líquidos crudos de granjas porcinas almacenados ⁽³³⁾.

Aunque *E. rhusiopathiae* en el suelo puede sobrevivir durante 20 días o más y hasta por seis meses en las excretas de cerdo, esta bacteria si bien es anaerobia facultativa, no posee cápsula, ni forma esporas. Por lo cual, debe tomarse en cuenta que las condiciones de exposición de las excretas en el corral, en los drenajes, el contacto con desinfectantes, la exposición a condiciones de sequedad y el tiempo de retención en el cárcamo, pueden alterar su tiempo de sobrevivencia. El hecho de que no se encuentre presente en las excretas no indica que no lo esté en la población animal de una granja. Y por el contrario, si la bacteria patógena está presente en las excretas, no se debe considerar que la enfermedad está presente, 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 ⁽¹⁵⁾.

CONCLUSIONES

Se cumplió el objetivo de identificar la presencia de *C. perfringens* en los desechos líquidos de la granja porcina, por lo que es posible la transmisión de este agente.

El sistema de separación de sólidos por medio de un dispositivo de tipo cilíndrico no elimina la presencia de *C. perfringens*.

Respecto a *E. rhusiopathiae*, no se cumplió el objetivo de identificar su presencia en los desechos líquidos de la granja porcina.

LITERATURA CITADA

1. USDA. Foreign Agricultural Service. USA. <http://www.sagar.gob.mx>. México, 2002.
2. SAGARPA. Análisis y perspectivas del mercado internacional de ganado porcino. [mercado int porcino sagarpa 160204.pdf]. <http://www.sagar.gob.mx>. México, D.F., Noviembre, 2002.
3. SAGAR 2000. Centro de Estadística Agropecuaria. <http://www.sagar.gob.mx>. México, DF 1995.
4. SAGARPA. Estadísticas sobre la porcicultura. <http://www.porcicultura.com/estadisticas/estadistica.php?tema=estad13-04>. México, 2003.
5. Pérez ER. Porcicultura intensiva y medio ambiente en México, situación actual y perspectivas. <http://www.cipav.org.co/cipav/conf/iespejo.htm>. México, 1999.
6. Liceaga M.M. Manejo de excretas en granjas porcinas: Estudio recapitulativo (tesis de licenciatura). México, D.F.: FMVZ, UNAM, 1994.
7. Pérez ER. La ganadería porcina y el medio ambiente. Desarrollo porcícola, 1992; 7:4-6.
8. Íñigo DC, Ianata AS, Soto AC, Alcaíno HC. Caracterización bacteriológica y parasitológica del desecho fecal porcino en Chile. Avances en Ciencias Veterinarias 1991;1:23-28.

9. Alvarado RA. Comportamiento productivo de cerdos en finalización al adicionar ensilado de excretas porcinas en su dieta (tesis de licenciatura). México, D.F.: FMVZ, UNAM, 1999.
10. Norma Oficial Mexicana. <http://www.comercori.com/nom.html>.
NOM-001-ECOL-1996.
11. Salazar GG. Algunas consideraciones sobre el manejo y valor de las excretas en la alimentación animal. Memorias del XIV Congreso Panamericano en Ciencias Veterinarias. Acapulco, Guerrero, México PANVET, 1994:595-596. Octubre 9-15, 1994.
12. Taiganides PE, Pérez ER, Girón SE. Manual para el manejo y control de aguas residuales y excretas porcinas en México. México: Consejo mexicano de porcicultura, A.C., 1996.
13. Strauch D, Ballanini G. Hygienic aspects of the production and agricultural use of animal wastes. *Journal Veterinary Medicine* 1994; 41:176-228.
14. Hernández CB. Determinación de bacterias patógenas en ensilados de excretas porcinas con caña de azúcar (tesis de licenciatura). México, D.F.: FMVZ, UNAM, 1997.
15. Ramírez HG. Evaluación microbiológica de excretas porcinas sólidas y frescas de 10 granjas ubicadas en la región central de México (tesis de maestría). México, D.F.: FMVZ, UNAM, 2002.
16. Martínez GR, Pradal RP, Castrejón PF, Herradora LM, Galván E, Mercado C. Persistence of *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, Aujeszky's Disease virus and Blue Eye Disease virus in ensilages based on the solid fraction of pig faeces. *Journal of Applied Microbiology* 2001;91:750-758.

17. Scanlan CM. Introducción a la bacteriología veterinaria. Zaragoza, España: Acribia. 1991.
18. Biberstein EL, Chung ZY. Tratado de microbiología veterinaria. Zaragoza, España. Acribia , 1994.
19. Gyles CL, Thoen CH.O. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Ames, Iowa, E.U.A. Iowa State University, 1988.
20. Madigan M., Martinko J., Parker J. Brock Biología de los microorganismos. Madrid España: Prentice Hall, 200.
21. Straw B, D'Allaire, Mengeling S, Taylor D. Diseases of swine. 8th ed. Ames, Iowa U.S.A.: Iowa State University Press, 2002.
22. Tarradas C., Luque I., Maldonado A., Arenas A., Huerta B., Borge C., y Astorga R.. Zoonosis transmitidas por animales de experimentación. Parte 2 Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. http://www.colvet.es/infovet/sep00/ciencias_v/articulo1.htm
23. Quinn PJ, Carter GR. Clinical Veterinary Microbiology. London, Great Britain: Wolfe, 1994.
24. Carter G.R. Bacteriología y micología veterinarias, 2^a edición. México, D.F: El Manual Moderno, 1994.
25. Secretaria de gobernación y Gobierno del Estado de México. Los municipios del Estado de México. Colección: Enciclopedia de los municipios de México. México, D.F., 1988.
26. Carter GR. Procedimientos de diagnóstico en bacteriología y micología veterinarias. Zaragoza, España: Acribia. 1969.

27. Krieg NR, Holt JG. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 2. Baltimore, USA: Williams & Wilkins, 1984.
28. Cowan ST. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge, Great Britain: Cambridge University Press, 1974.
29. Mac Feddin J.F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. México, D.F.: Panamericana, 1991.
30. Cruz E., Vinjoy M., Martínez V., García MD, Placencia J., García E. y Ferrer R. Evaluación microbiológica de la producción de peces en tres estanques fertilizados con residuales porcinos. Instituto de Investigaciones Porcinas. La Habana, Cuba: Centro de Desarrollo de Tecnologías Acuícolas. <http://www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/Rev41/ELIZA2.htm>
31. Leung K., Topp E. Bacteril community dynamics in liquid swine manure during storage: molecular analysis using DGGE/PCR of 16S rDNA. FEMS Microbiology Ecology. 2001,38:169-177.
32. Jones F., Watkins J. Microbial Aspects of water management. Journal of Applied Bacteriology, symposium Supplement, 1985, 59:27-36.
33. Strauch D. Survival of pathogenic microorganisms and parasites in excreta, manures and sewage sludge. In: Office International des Epizooties (ed.), Animals pathogens and the environment. Scientific and Technical Review . E.U.A.,1991, 10, 3.
34. Salazar GG. Manejo del estiércol de cerdo para su reciclaje en la alimentación de cerdos en la etapa de crecimiento – finalización. (Tesis de maestría). Cuauhtitlan Izcalli (Edo. Méx.) FES Cuauhtitlan. UNAM, 1994.

35. Duarte VF, Magaña CA, Rodríguez GF. Utilización de heces en la alimentación animal. Caracterización químico-nutricionales de heces en bovinos y porcinos. *Tecnología Pecuaria México*. 28(1):22-29, 1990.
36. Escobedo GCL. La contaminación y la definición de tecnología. *Memorias del XIV Congreso Panamericano en Ciencias Veterinarias*. Acapulco, Guerrero, México. PANVET, 1994:600-602. Octubre 9-15, 1994.

Cuadro 1.- Características nutricionales aproximadas de las excretas porcinas.

Componente	Iniciación	Finalización	Reproductoras	Mixtas ¹
MS	28.4 +/- 3.3	28.5 +/- 3.7	38.5 +/- 10.7	27.00
PC	27.2 +/- 3.3	26.5 +/- 4.1	18.9 +/- 6.3	23.80
Grasa cruda				10.03
Materia mineral	19.3 +/- 2.9	21.6 +/- 4.5	39.1 +/- 18.5	9.58
FND	39.7 +/- 4.5	45.3 +/- 4.4	48.4 +/- 9.7	
FDA	18.0 +/- 3.4	23.2 +/- 4.9	34.7 +/- 12.6	

+/- desviación estándar.

1 Excretas recolectadas de todas las etapas de una granja

Fuentes: (35 y 36)

Cuadro 2.- Niveles de elementos contaminantes
de las aguas residuales porcinas.

Elemento	Mg/L
Nitrógeno	30 a 50
Amonio	80 a 90
Nitrato	3
Fosfato	80 a 90
DBO	5 a 1000
SST	200 a 4000
Coliformes	10 millones/100 ml

DBO = Demanda Bioquímica de Oxígeno

SST = Sólidos Suspendidos Totales

Fuente (36)

Cuadro 3.- Principales toxinas liberadas por *C. perfringens*.

Tipo	Alfa	Beta	Épsilon	Iota
A	++	-	-	-
B	+	++	+	-
C	+	++	-	-
D	+	-	++	-
E ^a	+	-	-	++

++ grandes cantidades

+ pequeñas cantidades

- no producida

^a La cepa de tipo E con frecuencia se encuentra en el intestino de los bovinos y ovinos. Raramente implicada en la enterotoxemia.

Fuertes (17, 18)

Cuadro 4.- Principales enfermedades causadas por *C. perfringens*:

Tipo	Huésped	Enfermedad
A	Humano	Intoxicación alimentaria
	Corderos	Ictericia enterotoxémica
B	Corderos mayores de 3 semanas de edad	Disentería de los corderos
	Vacas y Potros	enteritis hemorrágica neonatal
C	Lechones de 1-3 días de edad	Enterotoxemia hemorrágica (enteritis clostridial)
	Corderos, potros y vacas	Enterotoxemia neonatal (necrótica, hemorrágica)
	Aves de 2-12 semanas de edad	Enteritis necrótica
	Ovejas adultas y cabras	Enterotoxemia aguda
D	Ovejas de todas las edades excepto neonatos	Enfermedad del riñón pulposo
	Raros casos en vacas y cabras	Enterotoxemia
E	Vacas y corderos	Enterotoxemia

Cuadro 5.-Principales enfermedades causadas por *E. rhusiopathiae*:

Hospedadores	Enfermedad específica
Porcinos	Mal rojo
Ovinos	Poliartritis
pavos, patos, gansos y otras aves	septicemia aguda
Hombre	Erisipeloide

(Fuente 17)

Cuadro 6.- Registros de temperatura y pH de las muestras obtenidas.

Muestreo	Elemento	Temperatura	pH
1	CC1	18	7.5
	CC2	18	7.5
	LS1	18	7.5
	LS2	18	7.5
	FS1	18	7.5
	FS2	18	7.5
2	CC1	17	7.5
	CC2	17	7.5
	LS1	17	7.5
	LS2	17	7.5
	FS1	17	7.5
	FS2	17	7.5
3	CC1	18	8
	CC2	18	8
	LS1	18	8.5
	LS2	18	8.5
	FS1	18	8
	FS2	19	8
4	CC1	17	7.5
	CC2	17	7.5
	LS1	17	7.5
	LS2	17	7.5
	FS1	17	8
	FS2	17	8
5	CC1	18	8
	CC2	18	8
	LS1	18	8
	LS2	18	8
	FS1	18	8
	FS2	18	8

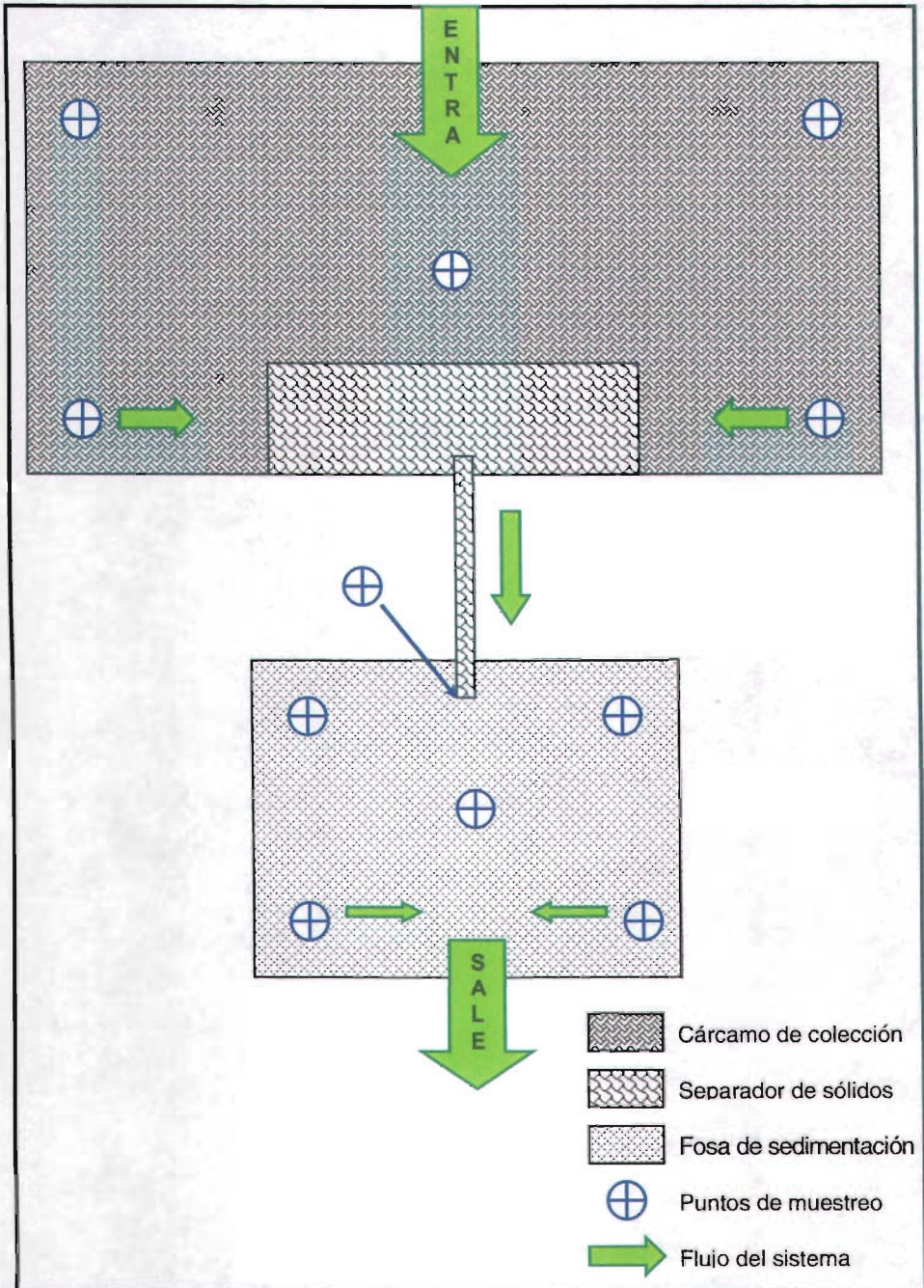
CC = Cárcamo de colección

LS = Líquido separado

FS = Fosa de sedimentación

Cuadro 7.- Resultados de *C. perfringens*

	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
Cárcamo 1	-	-	-	-	-
Cárcamo 2	-	-	-	-	-
Separador 1	-	-	-	-	-
Separador 2	+	-	-	-	-
Fosa 1	-	-	-	-	-
Fosa 2	-	-	-	-	+

Anexo 1.- Puntos de muestreo en el sistema de tratamiento primario.

Anexo 2.- Formato de Bioquímica para identificación de *C. perfringens*

	<i>C. perfringens</i>	Aislamiento del muestra 1, del separador 2	Aislamiento del muestra 1, de la fosa 2	Aislamiento del muestra 3, de la fosa 1	Aislamiento del muestra 5, de la fosa 2
Tinción de Gram	G +	G +	G+	G+	G+
Tinción de Maneval	Con cápsula	Con cápsula	Con cápsula	Con cápsula	Con cápsula
β-Hemólisis	+	+	+	+	+
Catalasa	-	-	-	-	-
Motilidad	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-
Leche tomasolada	Coágulo	Coágulo	Coágulo	Coágulo	Coágulo
Reducción de Nitratos	+/-	+	+	+	+
Arabinosa	-	-	+	-	-
Galactosa	+w	+	+	+	+
Glucosa	+	+	-	+	+
Inositol	+/-	+	-	+	+
Lactosa	+	+	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+	+
Manitol	-	-	-	+	-
Rafinosa	d	+	-	+	+
Ramnosa	-	-	-	+	-
Sacarosa	+	+	-	-	+
Salicin	-	-	-	+	-
Sorbitol	-/+	-	-	-	-
Trealosa	d	+	-	+	+
Xilosa	-	-	-	+	-

- +/- → 61-89% de las cepas son positivas
- +w → reacción positivo de 90-100% de las cepas (pH de carbohidratos debajo de 5.5), reacción débil (pH de carbohidratos 5.5-5.9)
- -/+ → 11-39% de las cepas son positivas
- d → 40-60% de las cepas son positivas

■ Positivos a *C. perfringens*

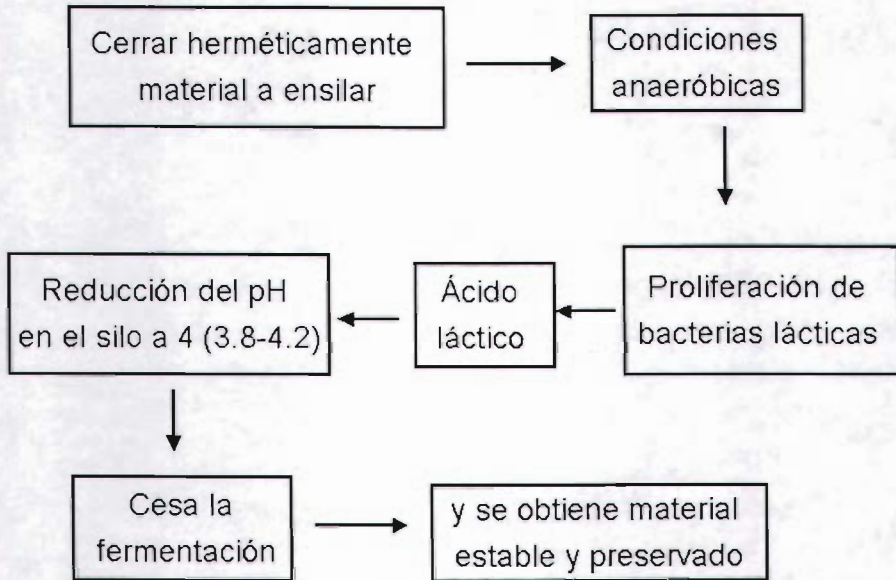


Figura 1.- El ensilaje de excretas animales.



Figura 2.- Sistema de tratamiento de aguas residuales de tipo primario con separador de sólidos por medio de un dispositivo de tipo cilíndrico y con proceso de sedimentación, en una granja porcina a pequeña escala.



Figura 3.- Toma de muestras del cárcamo de colección (CC).



Figura 4.- Toma de muestras de la fosa de sedimentación (FS).



Figura 5.- Medición del pH en las muestras recién obtenidas.



Figura 6.- Medición de la temperatura en las muestras recién obtenidas.



Figura 7.- Siembra de la muestra directa en agar sangre.



Figura 8 .- Siembra de la muestra directa en agar sangre.



Figura 9.- Jarra de anaerobiosis con un generador de hidrógeno-dióxido de carbono (Gas Pack).



Figura 10.- Medios de cultivo en jarra de anaerobiosis.



Figura 11.- En nueve ml de agua peptonada se colocó un ml de muestra, para el aislamiento de *E. rhusiopathiae*.