

Facultad de Estudios
Superiores
IZTACALA

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA Y DE LOS
ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV), EN CONDICIONES DE
ANAEROBIOSIS, SOBRE HUEVOS DE HELMINTOS
(*Ascaris suum*).”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER ÉL TÍTULO DE
B I O L Ó G O
P R E S E N T A
ALEJANDRO SAÚL HERNÁNDEZ URESTI

**PROYECTO REALIZADO EN LA COORDINACIÓN DE BIOPROCESOS
AMBIENTALES DEL INSTITUTO DE INGENIERIA DE LA UNAM.**

TUTOR: Dra. NATHALIE CABIROL



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.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por financiar el presente trabajo con el proyecto (J32708-B).

A la Dra. Nathalie Cabirol por su apoyo y consejos en la realización de este trabajo, gracias.

A la Dra. Ma. Del Rosario Sánchez, al Dr. Alfonso Lugo, al M. en C. Mario Chávez y al Biol. Ángel Mora Silva de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por sus valiosas aportaciones y sugerencias académicas.

A toda la banda del vivario, a los inflásticos y demás personas que siempre me alentaron para concluir este trabajo.

Al Biol. Marcelo Rojas por sus comentarios tan atinados que ayudaron al buen término de este trabajo, gracias compadre.

A los amigos y compañeros de la carrera de Biología que hicieron de ese tiempo una experiencia digna de repetir, así como a mis compañeros de Instituto de Ingeniería que compartimos esos momentos en el laboratorio tan emotivos e inolvidables.

DEDICATORIAS

A esas dos personas que siempre me han alentado a luchar por mis sueños hasta volverlos una realidad sin importar que tan difícil parezca conseguirlos, porque son lo que más amo y respeto en esta vida, gracias papás, Saúl y Mercedes.

Por su guía, apoyo incondicional y todos esas peleas que se transformaron en momentos de risas tan especiales, una de las formas de decirles cuanto los quiero y admiro es dedicándoles este trabajo, gracias hermanos, Víctor y Adriana.

Como olvidar con quien he compartido tanta vivencias buenas y malas, gracias por ser mi carnal, Francisco.

Este trabajo también es para ti Estre que te amo y admiro por esa fuerza que me trasmites siempre que estoy a tu lado, gracias por todo amor.

ÍNDICE

ÍNDICE	I
LISTA DE TABLAS	3
LISTA DE ILUSTRACIONES	4
LISTA DE ABREVIATURAS.....	4
RESUMEN.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
INTRODUCCIÓN.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
OBJETIVOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
ALCANCES	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
JUSTIFICACIÓN	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
1 BIOLOGIA DE LOS HELMINTOS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
1.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS DE LOS HELMINTOS.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
1.1.1 Características de los helmintos nematodos.....	¡Error! Marcador no definido.
1.1.2 Características de los huevos de helminto.	¡Error! Marcador no definido.
1.2 ASPECTOS ECOLÓGICOS DE LOS HELMINTOS.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
1.2.1 Factores propicios a las parasitosis.....	¡Error! Marcador no definido.
1.2.2 Relación huésped-hospedero.....	¡Error! Marcador no definido.
2 HUEVOS DE HELMINTOS Y LODOS RESIDUALES;¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
2.1 DISPOSICIÓN DE LODOS Y MEDIO AMBIENTE.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.2 PARÁMETROS RELACIONADOS A LA PÉRDIDA DE VIABILIDAD DE LOS HH.¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
2.2.1 Temperatura.	¡Error! Marcador no definido.
2.2.2 Velocidad de sedimentación.	¡Error! Marcador no definido.
2.2.3 pH.	¡Error! Marcador no definido.
2.2.4 Ácidos grasos volátiles (AGVs).	¡Error! Marcador no definido.
2.2.5 Radiación.....	¡Error! Marcador no definido.
2.2.6 Tiempo de retención celular (TRC).	¡Error! Marcador no definido.
2.3 MÉTODOS DE TRATAMIENTO DE LODOS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.3.1 Tratamiento físico.....	¡Error! Marcador no definido.
2.3.2 Tratamiento químico.....	¡Error! Marcador no definido.
2.3.3 Tratamiento biológico.	¡Error! Marcador no definido.
2.4 LÍMITES PERMISIBLES PARA LA DISPOSICIÓN DE LODOS. ...	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.1 OBTENCIÓN DE ORGANISMOS.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.2 PREPARACIÓN DEL ÁREA PARA DISECCIÓN.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.3 DISECCIÓN DE ORGANISMOS.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.4 CONCENTRADO DE HUEVOS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.5 PREPARACIÓN DE TRATAMIENTOS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.6 PREPARACIÓN DE MEDIOS PARA TESTIGOS Y TRATAMIENTOS;¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
3.7 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.7.1 Arranque.....	¡Error! Marcador no definido.
3.7.2 Cambio de atmósfera.....	¡Error! Marcador no definido.
3.7.3 Mesofilia y termofilia.....	¡Error! Marcador no definido.
3.7.4 pH y AGVs.	¡Error! Marcador no definido.
3.7.5 Recuperación y lavado de HH.....	¡Error! Marcador no definido.
3.8 VIABILIDAD DE LOS HUEVOS.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3.8.1 Incubación.	¡Error! Marcador no definido.

3.8.2	Lecturas al microscopio y estudio estadístico de los resultados obtenidos.	¡Error! Marcador no definido.
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
4.1	VIABILIDAD DE <i>ASCARIS SUUM</i> A 35°C.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
4.1.1	Efecto de los ácidos grasos volátiles	¡Error! Marcador no definido.
4.1.2	Efecto del pH.	¡Error! Marcador no definido.
4.1.3	Efecto del Tiempo de retención celular (TRC).	¡Error! Marcador no definido.
4.2	VIABILIDAD DE <i>ASCARIS SUUM</i> A 55° C.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5	CONCLUSIONES	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
	RECOMENDACIONES	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
	REFERENCIAS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
	ANEXOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
ANEXO 1.		¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
	Preparación del medio anaerobio c/buffer fosfato para los tubos testigos.	¡Error! Marcador no definido.
	Preparación del medio anaerobio c/buffer fosfato para los tratamientos.	¡Error! Marcador no definido.
	Preparación y ajuste de los tratamientos.....	¡Error! Marcador no definido.
ANEXO 2		¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
	Fotografías.....	¡Error! Marcador no definido.

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.1 Características de los huevos de nematodos.... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 1.2 Características de los principales nematodos intestinales en el ser humano.
..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 1.3 Características de las principales enteroparasitosis del hombre. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.1 Tipos de microorganismos que se encuentran típicamente en aguas residuales domésticas **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.2 Tiempo de sobrevivencia de los patógenos **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.3 Parámetros que influyen la sobrevivencia de los huevos de helminto ... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.4 Influencia de la temperatura °C sobre los huevos de *Ascaris* **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.5 Velocidad de sedimentación teórico de los HH en el agua (ley de Stoke).
..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.6 Tratamientos físicos eficaces sobres los huevos de helmintos **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.7 Tratamiento físico poco eficiente sobre los huevos de helmintos **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.8 Tratamientos químicos eficaces sobre huevos de helmintos **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.9 Tratamientos biológicos eficaces sobre los huevos de helmintos **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.10 Tratamientos biológicos poco eficientes sobre los huevos de helminto
..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.11 Tratamiento anaerobio termofilico **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.12 Límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en biosólidos **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2.13 Límites permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 3.1 Volumen de los ácidos utilizados para los tratamientos (mL) **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 3.2 Concentración de los ácidos para cada tratamiento (mg/L) **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 3.3 pH Inicial de cada tratamiento..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 3.4 pH Final de buffer mas tratamiento..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 3.5 Diseño experimental general **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 4.1 Concentración de AGVs (mg/ L) a los tiempos 0 y 4 días.. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 4.2 Valores de p del testigo y de los tratamientos **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 4.3 pH de cada tratamiento a/los diferentes TRC en 35° C .. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 4.4 Porcentaje de pérdida de viabilidad de la ANOVA..... **¡Error! Marcador no definido.**

LISTA DE ILUSTRACIONES

- Ilustración 1.1 Ciclo de vida de *Ascaris lumbricoides* ... **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 2.1 Requerimientos de tiempo-temperatura para la obtención de lodos virtualmente libres de patógenos - Gráfica de Strauch (Carrington, 2001).....**¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.1 Área de disección para las hembras de *Ascaris suum* . **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.2 Diferenciación entre hembras y machos. **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.3 Inicio de disección..... **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.4 Región distal del útero donde se encuentran los huevos maduros . **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.5 Suspensión de los huevos en solución salina **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.6 Concentración de HH **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.7 Etiquetado de frascos..... **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.8 Retirado de sobrenadante y lavados de los huevos. **¡Error! Marcador no definido.**
Ilustración 3.9 Incubación **¡Error! Marcador no definido.**

LISTA DE ABREVIATURAS

Huevos de helmintos: HH
Digestión anaerobia: DA
Digestión anaerobia mesofílica: DAM
Digestión anaerobia termofílica: DAT
Ácidos grasos volátiles: AGVs
Tiempo de retención celular: TRC
Huevos viables: HV

RESUMEN

México ofrece ventajas ecológicas para la existencia de helmintiasis que se transmiten al hombre a través del suelo contaminado con excrementos, cuyo uno de los agentes es: *Ascaris lumbricoides*. El desarrollo de este parásito se favorece por condiciones de insalubridad y falta de educación higiénica y constituyen un fuerte impacto sobre la salud pública.

En el presente trabajo, se estudió el efecto de las diferentes condiciones que se generan en el interior de un digestor anaerobio y que afectan la viabilidad de los huevos de helmintos (HH), se usó como modelo huevos de *Ascaris suum* en lugar de *Ascaris lumbricoides* ya que son muy similares en cuanto a su morfología y dimensiones, presentando ciclos de vida semejantes, los parámetros simulados fueron pH, la concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs), en este diseño experimental se utilizaron ácido acético, propiónico, butírico, valérico e isovalérico, con los que se elaboraron cuatro tratamientos con diferentes concentraciones cada uno, los HH y los tratamientos se mantuvieron en mesofilia a 35° y termofilia a 55°, durante cuatro diferentes tiempos de retención celular (TRC), tiempos en el que los HH estuvieron en contacto con los tratamientos, en condiciones de anaerobiosis.

Después de haber transcurrido los TRC, los HH pasaron por un periodo de incubación de 28 días a temperatura ambiente, transcurrido este tiempo, se realizaron observaciones directas al microscopio, determinando como viables aquellos huevos que desarrollaron una larva.

Los resultados obtenidos de este trabajo, dejan ver que los cuatro tratamientos presentan un efecto sobre la viabilidad de los HH a partir del TRC 3 días, así mismo se determinó que el tratamiento III presentó mayor efecto sobre la viabilidad de los HH, a partir del TRC 4 días, esto concuerda ya que fue uno de los tratamientos con mayor concentración de ácido acético, este se ha utilizado como agente para desinfección con buenos resultados. De igual manera se tienen que realizar más estudios de cada parámetro por separado con la finalidad de entender de mejor manera el efecto de cada uno sobre los HH.

Con los resultados obtenidos, se hace la propuesta de realizar estudios de digestión anaerobia en dos fases, en la cual, se sugiere un digestor para que se lleve a cabo la parte de metanogénesis y en otro la de acidogénesis.

INTRODUCCIÓN

Los lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales de la Ciudad de México son dispuestos sin tratamiento previo. Por consecuencia estos lodos, fuente de contaminación por parásitos, representan un gran problema de Salud pública: hasta 66% en comunidades rurales y zonas tropicales, de las cuales ascariasis y amibiasis son las más frecuentes con 36 y 27% respectivamente (Biagi *et al.*, 1990; Tay *et al.*, 1991).

El origen de los parásitos es principalmente la materia fecal de individuos enfermos y portadores asintomáticos y eventualmente de excretas de portadores intermediarios, o también de algunas otras vías alternas e indirectas como lo es el caso de productos agropecuarios contaminados y organismos vectores. Aún cuando la mayoría de los microorganismos parásitos, como los helmintos son destruidos durante la exposición al medio natural, muchos de ellos son resistentes y sobreviven en el suelo durante varios meses, incluso años y por lo tanto representan una fuente potencial de enfermedades (EPA, 1992).

Lo anterior ha conducido a las autoridades responsables de la salud y de la protección del ambiente hacia la adopción de normas que controlen los vectores de enfermedades de tipo gastrointestinal. La normatividad ambiental (NOM-001-ECOL-1996, NOM-003-ECOL-1997) especifica el límite máximo de coliformes fecales así como de huevos de helmintos en aguas residuales. Adicionalmente, ambos contaminantes están regulados en la norma oficial mexicana relativa al aprovechamiento y disposición de lodos (biosólidos) en terrenos con fines agrícolas (NOM-004-SEMARNAT-2002).

Entre las alternativas para la estabilización de los lodos de desecho, la digestión anaerobia puede ser una buena opción para la estabilización de lodos. Sin embargo, la aplicación de procesos anaerobios tradicionales no logra la destrucción de los microorganismos patógenos y parásitos a límites permisibles, para un reuso de biosólidos clase A en actividades agrícolas (WEF, 1993; Bruce, 1984). No obstante la digestión anaerobia termofílica (DAT) permite la remoción de patógenos (coliformes fecales indicadores, *Salmonella* spp.) (Krugel *et al.*, 1996). En cuanto a pérdida de viabilidad y remoción de huevos de helminto Rojas Oropeza *et al.* (2001) reportaron una mayor eficiencia de la digestión anaerobia termofílica (DAT) sobre la mesofílica (DAM), ya que casi cumplió con las recomendaciones del apartado 503 de la EPA (1996).

El interés en la DAT es poder acoplar factores físicos y químicos que afectan la sobrevivencia de patógenos y parásitos, tal como la presencia de ácidos grasos volátiles (AGV) y la temperatura. Existen pocos trabajos que describen la influencia de estos parámetros sobre la viabilidad de parásitos. Por lo anterior es importante determinar, de qué manera influyen los ácidos grasos volátiles en condiciones mesofílicas y termofílicas, sobre la pérdida de viabilidad y la remoción de huevos de helmintos. El presente trabajo tiene por objetivo simular el proceso de digestión anaerobia de doble fase (Acidogénesis/Metanogénesis), con la finalidad de optimizar la pérdida de viabilidad de parásitos en la estabilización de lodos municipales.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar en condición anaerobia la pérdida de viabilidad de huevos de *Ascaris suum*, por efecto combinado de cuatro ácidos grasos volátiles y temperatura, a diferentes tiempos de retención celular.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Evaluar el efecto de cuatro mezclas de los ácidos acético, propiónico, butírico y valérico sobre la pérdida de viabilidad de huevos de *Ascaris suum* en condición anaerobia.
- ❖ Evaluar el efecto de la temperatura sobre la pérdida de viabilidad de huevos de *Ascaris suum* en condición anaerobia mesófila (35°C) y termófila (55°C).
- ❖ Evaluar el efecto del tiempo de retención celular en relación con las mezclas de ácidos grasos volátiles sobre la pérdida de viabilidad de huevos de *Ascaris suum* en condición anaerobia.
- ❖ Evaluar el efecto del tiempo de retención celular en relación con la temperatura sobre la pérdida de viabilidad de huevos de *Ascaris suum* en condición anaerobia.
- ❖ Evaluar si hay relación entre el efecto combinado de las mezclas de ácidos grasos volátiles y temperatura, a diferentes tiempos de retención celular que en conjunto afecten significativamente la pérdida de viabilidad de huevos de *Ascaris suum* en condición anaerobia.

ALCANCES

- ❖ Enriquecer el conocimiento sobre distintos factores de presión ambiental del proceso biológico anaerobio que afectan la sobrevivencia de los huevos de helminto durante la estabilización de lodos residuales.
- ❖ Aportar evidencias al conocimiento en la eliminación de parásitos por digestión anaerobia de doble fase durante la estabilización de lodos residuales, que contribuyan a dar soluciones prácticas en problemas de salud pública y contaminación ambiental.

JUSTIFICACIÓN

El tratamiento y disposición de lodos residuales provenientes del tratamiento de las aguas residuales en México, es insuficiente e inadecuado. Originando problemas de salud pública (enfermedades gastroentericas bacterianas, helmintiasis y amibiasis) y contaminación ambiental (contaminación de mantos freáticos, atmosférica, zoonosis en vida silvestre) debido a las características microbiológicas que estos presentan y por ser dispuestos a cielo abierto cuando se quieren reusar como abono o material de relleno.

La digestión anaerobia de doble fase es una modalidad que permite realzar el efecto de los factores (temperatura y ácidos grasos) que inciden de forma directa en la capacidad de supervivencia de patógenos y parásitos. Sin perder la capacidad de mineralización de la materia orgánica a estabilizar en el lodo.

1 BIOLOGIA DE LOS HELMINTOS

1.1 Aspectos biológicos de los helmintos.

Los helmintos son un grupo de organismos muy abundante en la naturaleza que no constituyen un grupo monofilético, ya que bajo este término se incluyen representantes de cuatro *phyla* que no están relacionados filogenéticamente: Platyhelminthes, Acanthocephala, Nematoda y Annelida; se caracterizan por ser metazoarios, macroparásitos y por su aspecto vermiforme. En México el estudio de este grupo, como parásitos de vertebrados silvestre, comenzó hace más de 70 años, a pesar de ello los helmintos descubiertos y descritos en nuestro país no supera el 20 % de los existentes (Pérez y García, 2001).

El *phylum* Nematoda (cuyo nombre es una modificación del termino Nematodea, establecido por Rudolphi en 1808, que deriva del griego *nema* “hilo”) contiene una serie de organismos vermiformes, la mayor parte con el cuerpo cilíndrico, aunque pueden ser: fusiforme (*Ascaris*), filiforme (*Onchoserca*), piriforme (*Heterodera*), con extremo anterior fusiforme y el posterior filiforme (*Rhabditis*), y con el extremo anterior filiforme y el posterior fusiforme (*Trichuris*). Su tamaño varía de unas cuantas micras (*Criconemella similicrenata*, parásita de las acelgas, que mide 242 micrometros) a varios metros (como *Placentonema gigantisima*, parásita de la placenta de ballenas, que mide 8.4 m de largo) (Lamothe y García, 1988).

1.1.1 Características de los helmintos nematodos.

La mayoría de los nematodos son incoloros y transparentes; sin embargo, algunas especies parásitas pueden presentar coloraciones blanco amarillentas o rojizas, su cuerpo puede dividirse en dos regiones, la cefálica y la caudal (Lamothe y García, 1988). La pared corporal está constituida por tres estratos: cutícula, hipodermis y capa muscular. Son considerados pseudocelomados ya que este se origina a partir del blastocele persistente del embrión y no de una cavidad mesodérmica; como lo hace el celoma verdadero, el pseudoceloma funciona como esqueleto hidrostático permitiendo diversos tipos de movimientos locomotores. El sistema nervioso es relativamente simple, los dos principales elementos nerviosos se localizan uno, en la región de faringe, y otro cerca del ano (Lamothe y Garcia, 1988).

La principal función del aparato excretor de los nematodos parece estar centrada en la osmorregulación, el poro excretor en los nematodos difiere del aparato del resto de los pseudocelomados por no presentar células en flama, siendo de dos tipos principales: glandular y tubular. La mayoría de los nematodos son dioicos, con un marcado dimorfismo sexual aunque se conocen algunas especies hermafroditas y partenogenéticas: el aparato reproductor masculino en los nematodos está compuesto por uno o dos testículos y son generalmente cortos, de ellos sale un conducto deferente o espermoducto, que se ensancha para constituir la vesícula seminal, esta se continúa en el conducto eyaculador y finalmente se une con el recto para formar la cloaca, situada ventralmente en el extremo posterior del cuerpo (Lamothe y Garcia, 1988).

El aparato reproductor femenino está formado por un número variable de ovarios, de ahí que se les divida en monodelfas (con un solo ovario, como *Trichuris trichiura*), didelfas (con dos ovarios, como “*Ascaris lumbricoides*”) y polidelfas (con más de dos ovarios, como *Physaloptera turgida*). Los ovarios, dispuestos paralelamente, se continúan con los oviductos y desembocan en el receptáculo seminal, en él que se almacenan los espermatozoides y donde comúnmente ocurre la fecundación; y continua con uno o varios úteros (Lamothe y Garcia,

1988).

El dimorfismo sexual de los nematodos está representado principalmente por el mayor tamaño de las hembras entre 25 y 35 cm de longitud por 3 a 6 mm de ancho, pueden llegar a contener 27 millones de huevos, producir 200,000 huevos al día, que se eliminan con las heces, siendo resistentes al ambiente, y se tornan infecciosos a las pocas semanas de su maduración en el suelo. Los machos presentan una curvatura ventral del extremo posterior y dimensiones de 15 a 30 cm de longitud y de 2 a 4 mm de ancho, con diversas estructuras copultrices en la región caudal (Lamothe y Garcia, 1988).

1.1.2 Características de los huevos de helminto.

El modelo más estudiado es representado por los huevos de nematodos; en la Tabla 1.1; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se indican las características de la pared que componen a este tipo de huevos.

Tabla 1.1 Características de los huevos de nematodos

Pared	Composición	Función
Capa interna lipídica	Lípidos Proteínas	permeabilidad selectiva cambio con el ambiente
Capa quitinosa	quitina proteínas	estructura resistencia
Capa vitelina	Lipoproteínas	adhesión
Capa externa uterina	mucopolisacáridos proteínas Lípidos	adhesión

(Gaspard, 1995)

La pared de los huevos de helminto (HH) presentan 4 capas, pero algunos huevos no presentan la capa uterina (externa), ni la capa vitelina (Wharton, 1983). Los huevos fértiles de *Ascaris* presentan una capa uterina externa que tiene forma ovoidal con las siguientes dimensiones, de 50 a 70 µm de longitud y 30 a 40 µm de ancho, están constituidos por una célula protegida en una cáscara, con la capa externa de origen uterino y las 3 restantes de origen embrionario. Los huevos fértiles descorticados (sin capa externa que se pierde en la vía digestiva o el ambiente), indican la fragilidad relativa de esta capa externa. (Tay y Sánchez, 2001).

1.2 Aspectos ecológicos de los helmintos.

Estos organismos parasitan a más de mil millones de personas en todo el mundo, estos parásitos son frecuentes en regiones con higiene deficiente, sobre todo en países en vías de desarrollo del área tropical (Tabla 1.2).

Tabla 1.2 Características de los principales nematodos intestinales en el ser humano.

	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Necator americanus</i>	<i>Strongyloides stercoralis</i>	<i>Trichuris trichiura</i>	<i>Enterobius vermicularis</i>
Prevalencia (millones)	1000	900	50	500	300
Áreas endémicas	Mundial	Cálidas y	Cálidas y	Mundial	Mundial

		húmedas	húmedas		
Fase infecciosa	Huevo	Larva filariforme	Larva filariforme	Huevo	Huevo
Vía de infección	Oral	Percutánea	Percutánea o autoinfección	Oral	Oral
Localización del gusano	Luz yeyunal	Mucosa yeyunal	Mucosa intestino delgado	Ciego y colon	Ciego y apéndice
Tamaño del gusano	15-40 cm	7-12 mm	2 mm	30-50 mm	8-13 mm (hembra)
Tránsito pulmonar de larvas	Sí	Sí	Sí	No	No
Período de incubación * (días)	60-75	40-100	17-28	70-90	35-45
Longevidad	1 año	2-8 años	Decenios	5 años	2 meses
Fecundidad (huevo/día/gusano)	240.000	4.000-25.000	5.000-10.000	3.000-7.000	2.000
Síntomas principales	Rara vez obstrucción	Anemia	Síntomas gastrointestinales	Síntomas gastrointestinales	Prurito perianal
Diagnósticos	Huevos en heces	Huevos en heces	Larvas en heces	Huevos en heces	Huevos en piel perianal
Tratamiento	Mebendazol, Albendazol Pamoato de pirantel	Mebendazol Albendazol Pamoato de pirantel	Mebendazol Albendazol Ivermectina	Mebendazol Albendazol	Mebendazol Albendazol Pamoato de pirantel

* Tiempo transcurrido desde la infección hasta la producción de huevos por la hembra madura (Fleta *et al.*, 2002)

La parasitosis en animales, puede producir anisquiasis, capilariasis, tricostrongiliasis y angiostrongiliasis abdominal, que deben ser consideradas como infecciones zoonóticas (Fleta *et al.*, 2002) (Tabla 1.3).

Tabla 1.3 Características de las principales enteroparasitosis del hombre.

	Agentes	Forma infectante	Mecanismos de infección
Nematodos			
Ascaridiasis	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Huevo larvado	Fecalismo
Tricocefalosis	<i>Trichuris trichiura</i>	Huevo larvado	Fecalismo
Anquilostomiasis	<i>Ancylostoma duodenal</i>	Larva filariforme	Percutáneo u oral
	<i>Necator americanus</i>	Larva filariforme	Percutánea
Estrongiloidiasis	<i>Strongyloides stercolaris</i>	Larva filariforme	Percutánea
Enterobiosis	<i>Enterobius vermicularis</i>	Huevo larvado	Ciclo ano-mano boca
Anisakiiasis	<i>Anisakis simples</i>	Larva	Ingesta de peces crudos
Triscostrongilosis	Triscostrongilosis	Larva	Alimentos contaminados
Capilariasis intestinal	<i>Capillaria philippinensis</i>	Larva	Ingesta de peces crudos
Fisalopterosis	<i>Physaloptera caucásica</i>	Larva	Desconocido
Esofagostomiasis	<i>Oesophagostomum spp</i>	¿Larva, huevo?	Desconocido
Cestodos			
Teniasis	<i>Taenia sulium</i>	Larva, cisticerco	Ingesta de carne cruda de cerdo
	<i>Taenia saginata</i>	Larva, cisticerco	Ingesta de carne cruda de vacuno
Difilobotriosis	<i>Diphyllobothrium latum</i>	Larva, pleroceroide	Ingesta de peces de agua dulce
	<i>Diphyllobothrium pacificum</i>	Larva, pleroceroide	Ingesta de peces de mar
Himenolepiasis	<i>Hymenolepis sp.</i>	Huevo embrionado	Fecalismo
Dipilidiasis	<i>Diphylidium caninum</i>	Cisticercoide	Ingesta de pulgas
Railletionosis	<i>Railletina spp</i>	Desconocida	Ingesta de hormigas infectadas
Inermicapsiferosis	<i>Inermicapsifer spp</i>	Desconocida	Ingesta de artrópodos infectados
Bertielosis	<i>Bertiella studeri</i>	Desconocida	Desconocido
Trematodos			
Fasciolopsiosis	<i>Fasciolopsis buski</i>	<i>Fasciolopsis buski</i>	Ingesta de plantas de agua
Equinostomiasis	<i>Echinostoma sp</i>	Larva, metacercaria	Ingesta de caracoles
Heterofiasis	<i>Heterophyes heterophyes</i>	Larva metacercaria	Ingesta de peces de mar
Metagonimiasis	<i>Metagonimus yokogawai</i>	Larva, metacercaria	Ingesta de peces de mar
Acantocéfalos			
Macracantorincosis	<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>	Cistacanto	Fecalismo
Moniliformes	<i>Moniliformis moniliformes</i>	Cistacanto	Fecalismo

(Fleta *et al.*, 2002)

1.2.1 Factores propicios a las parasitosis.

México, situado en el hemisferio occidental del Continente Americano al norte del Ecuador y al oeste del Meridiano de Greenwich, ofrece ventajas ecológicas para la existencia de helmintiasis que se transmiten al hombre a través del suelo contaminado con excrementos, cuyos agentes causantes son principalmente: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercolaris*, *Necator americanus* y *Ancylostoma duodenal*. El desarrollo de estos organismos se favorece por condiciones de insalubridad y falta de educación higiénica y constituyen un fuerte impacto sobre la salud pública (Lara, 1984).

Su frecuencia es tan variable, como diversa es su geografía y desigual el desarrollo económico. Ante estas diferencias socioeconómicas dos son los principales indicadores: la deficiencia sanitaria y una baja escolaridad. La primera es debida a la carencia de servicios básicos, y la segunda es muy contrastante entre el medio rural y urbano. Esto se acentúa en las localidades rurales, en donde por demás es más grave el hacinamiento, el fecalismo al aire

libre y una marcada coexistencia con todo tipo de animales. Otro factor de influencia, es el hábito alimenticio de ciertos grupos con predilección por la ingesta de carne semicruda (zoonosis) o carnes con quistes de origen parasitario conocidos como “zahuate”, “granillo” ó “tomatillo” (cisticercosis), predilección que resulta en cuadros endémicos de alta incidencia (Tay *et al.*, 1995).

Los más afectados son los niños pequeños de las zonas pobres, por su tendencia a llevarse las heces de las manos a la boca. La infección también puede ocurrir fuera de las zonas endémicas a través de verduras, frutas, agua y utensilios contaminados por los huevos, o por medio de vectores como los son, los ectoparásitos (mosquitos o chinches) o de vehículos (viento, agua), según los casos, la transmisión se puede describir como temporal o permanente (Fleta *et al.*, 2002).

Ecológicamente, esta asociación es benéfica para los parásitos, pero a escala global supone un grave problema sanitario para el hombre y su estructura social. El parasitismo y las enfermedades infecciosas se encuentran entre las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, afectando al 75 % de la población establecida en países en desarrollo, de la cual el 50 % tiene menos de 15 años siendo la población más susceptible (Fleta *et al.*, 2002).

1.2.2 Relación huésped-hospedero.

Ascaris lumbricoides es el mayor nematodo intestinal que parasita a la especie humana (Ilustración 1.1), este se encuentra ampliamente distribuido por las regiones tropicales y subtropicales, así como en otras regiones húmedas. En algunas zonas desfavorecidas puede llegar a parasitar al 90 % de la población (Pérez y García, 2001).

En el hombre pueden habitar en el intestino, vasos sanguíneos, órganos linfáticos y otras localizaciones. Con frecuencia migran a través de tejidos hasta alcanzar el órgano definitivo en el que se asientan. Pueden sobrevivir durante años en el hospedero infectado, al que no tienen como objeto destruir, debido a que han desarrollado estrategias de evasión ante la respuesta inmunitaria del hospedero (Caballero, 1998).

La simbiosis es una asociación íntima y permanente entre organismos de distintas especies, existen tres tipos de relaciones simbióticas, el mutualismo, comensalismo y parasitismo (Curtis, 1983).

Generalmente el daño que ocasiona el parásito a su huésped, se debe a:

- ❖ Competencia nutricional.
- ❖ Acción mecánica (por ejemplo, oclusión intestinal por *Ascaris lumbricoides*) o producción de sustancias tóxicas.
- ❖ Acción directa del parásito mismo que produce la destrucción del tejido (Curtis, 1993).

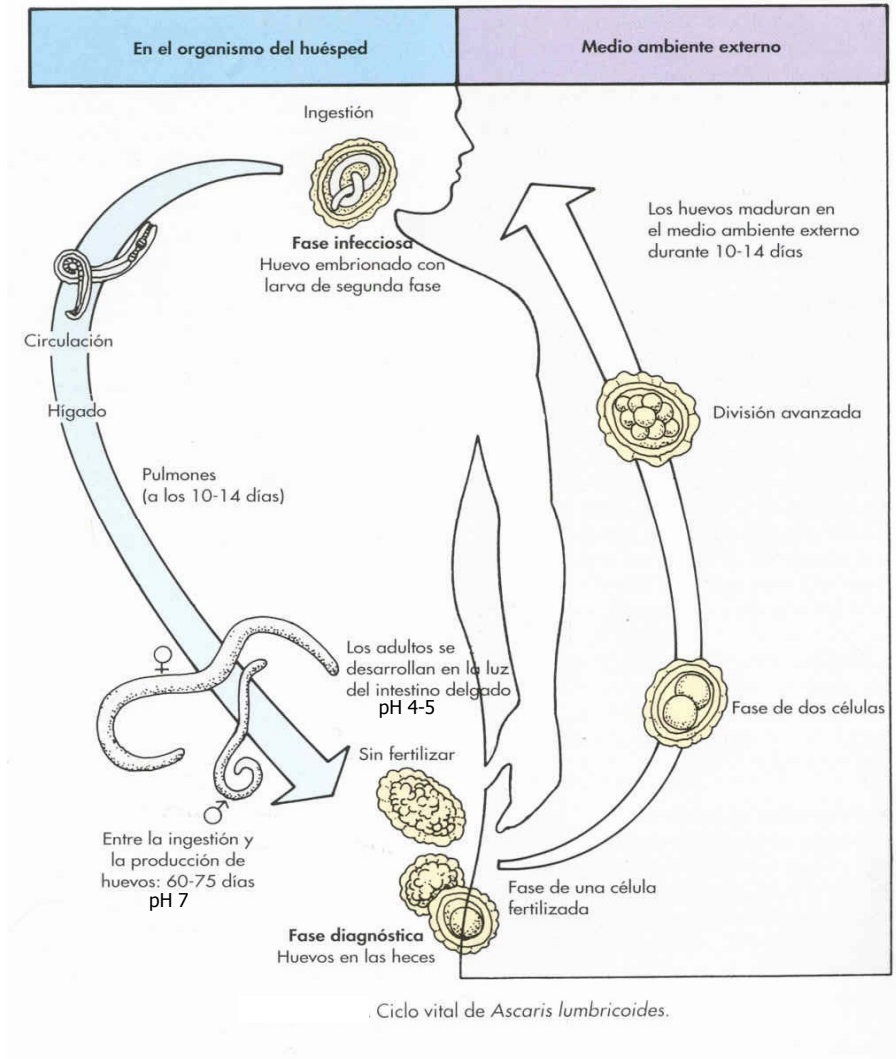


Ilustración 1.1 Ciclo de vida de *Ascaris lumbricoides*

1 HUEVOS DE HELMINTOS Y LODOS RESIDUALES

1.1 Disposición de lodos y medio ambiente.

En general se considera como contaminante al exceso de materia o energía (calor) que provoque daño a los humanos, animales, o plantas. El tratamiento de aguas produce lodos como subproducto, provenientes ya sea de sólidos originalmente presentes en el agua residual, o bien, por formación de nuevos. En estos lodos se concentran todos los contaminantes extraídos y deben ser regresados al medio ambiente sin alterar los ecosistemas (Jiménez, 2001).

Tabla 1.1 Tipos de microorganismos que se encuentran típicamente en aguas residuales domésticas

Organismos	Concentración número/100ml	
	Estados Unidos	México
Coliformes totales	10^5 - 10^6	10^8 - 10^{10}
Coliformes fecales	10^4 - 10^5	10^7 - 10^9
Estreptococo fecal	10^3 - 10^4	10^6 - 10^8
Enterococos	10^2 - 10^3	10^5 - 10^7
<i>Shigella</i>	Presente	Presente
<i>Salmonella</i>	10^0 - 10^2	10^5 - 10^7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10^1 - 10^2	10^4 - 10^6
<i>Clostridium perfringens</i>	10^1 - 10^3	10^4 - 10^6
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Presente	Presente
Quiste de protozoario	10^1 - 10^3	10^3 - 10^5
Quiste de Giardia	10^{-1} - 10^2	10^2 - 10^4
Quiste de Cryptosporidium	10^{-1} - 10^1	10^2 - 10^3
Helmintos	10^{-2} - 10^1	1-40
Entero virus	10^1 - 10^2	10^3 - 10^4

(Jiménez, 2001)

Cuando los lodos provienen de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales y han sido tratados (estabilizados y/o digeridos) se les denomina biosólidos. Este nuevo nombre fue creado por la EPA en 1994, reflejando la tendencia actual de considerarlos más como un producto susceptible de revalorización que como un desecho. Su aplicación depende del contenido de elementos químicos y de microorganismos patógenos en cantidad y calidad (Tabla 1.1) (Jiménez, 2001).

El contenido de microorganismos patógenos en los lodos es una de sus propiedades más importantes para limitar su manejo, ya que puede provocar problemas sanitarios (Jiménez, 2001). El contacto con los microorganismos patógenos y parásitos presentes en los lodos pueden ser por dos vías, contacto directo y contacto indirecto (Rojas-Oropeza, 2001).

Contacto directo: I) Contacto inadvertido con el lodo de desecho; II) Por encontrarse en un área en donde el lodo de desecho ha sido aplicado (campo abierto, área forestal, recreativa); III) Por utilizar suelo, en donde se ha aplicado el lodo de desecho, como fertilizante en jardines, o como material de relleno; IV) Por inhalación de los microbios que son transportados por el aire al momento de aplicar el lodo de desecho al sitio de disposición, ó por causa de polvos levantados en época de vientos (Rojas Oropeza, 2001).

Contacto indirecto: I) Consumo de alimentos agrícolas, contaminados por los lodos de desecho usados como abono en los campos; II) Consumo de leche o productos animales contaminados, en donde los animales sean infectado al comer pastos, ó alimentos provenientes de campos en donde fueron aplicados lodos de desecho; III) Ingestión de agua en áreas recreativas, que han sido contaminadas por disposición de lodos de desecho en zonas

cercanas; IV) Consumo de pescado con insuficiente cocción, que ha sido infectado por encontrarse en un área cercana a un sitio de aplicación del lodo de desecho; V) Infección causada por vectores que han tenido contacto directo ó indirecto con el lodo de desecho, y que pueden ser insectos, roedores, aves y otros (Rojas Oropeza, 2001).

Muchos de los parásitos han desarrollado estrategias y estructuras especializadas que les permiten resolver sus problemas de sobrevivencia. En general, los platelmintos tienen que pasar un tiempo fuera del huésped, su hábitat natural y definitivo, ante lo cual han desarrollado huevos resistentes que pueden soportar periodos largos, en condiciones adversas (temperatura, humedad, pH, tensión, depredación, insolación) como se muestra en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2 Tiempo de sobrevivencia de los patógenos

Microorganismo	Suelo		Vegetación	
	Máximo absoluto-común		Máximo absoluto-común	
Bacterias	1 año	2 meses	6 meses	1 mes
Virus	1 año	3 meses	2 meses	1 mes
Quistes protozoarios	10 días	2 días	5 días	2 días
Huevos de helmintos	7 años	2 años	5 meses	1 mes

(EPA, 1992).

Los factores favorables y desfavorables para la sobrevivencia de los HH se resumen en la Tabla 1.3, por lo tanto los tratamientos de estabilización de los lodos de desecho, incluyen métodos que permiten superar las estrategias naturales de los helmintos y otros patógenos (Rojas-Oropeza, 2001).

Tabla 1.3 Parámetros que influyen la sobrevivencia de los huevos de helminto

Factores favorables	Factores desfavorables
❖ Temperatura baja	❖ Temperatura alta
❖ Humedad elevada	❖ Humedad baja
❖ Horizonte profundo de suelo	❖ Superficie inclinada del suelo
❖ Suelo arcilloso	❖ Suelo arenoso
❖ Follaje medio	❖ Medio o sin cobertura vegetal
❖ Mala exposición al sol	❖ Exposición al sol.

(Gaspard, 1995).

1.2 Parámetros relacionados a la pérdida de viabilidad de los HH.

La eliminación de los huevos no indica pérdida de viabilidad. La eliminación corresponde a una separación de los huevos del medio físico en el que se encuentra, mientras que la pérdida de viabilidad corresponde en la disminución del potencial biológico de cada huevo para poder desarrollar con éxito una larva infectiva.

1.2.1 Temperatura.

La temperatura es un factor íntimamente ligado a la pérdida de viabilidad de los microorganismos patógenos y parásitos, por lo que se encuentra presente en la fase final de

algunos de los distintos procesos en que se alcanza la estabilización. Biológicamente, esta afecta directamente el equilibrio de la vida de los microorganismos en dos vías opuestas. Incrementa o decrece el desarrollo de las reacciones químicas y enzimáticas de los procesos celulares, alterando y afectando diferencialmente los distintos organelos celulares y por lo tanto el metabolismo, hasta llegar a un punto crítico de inactivación de las reacciones (Madigan *et al.*, 1999).

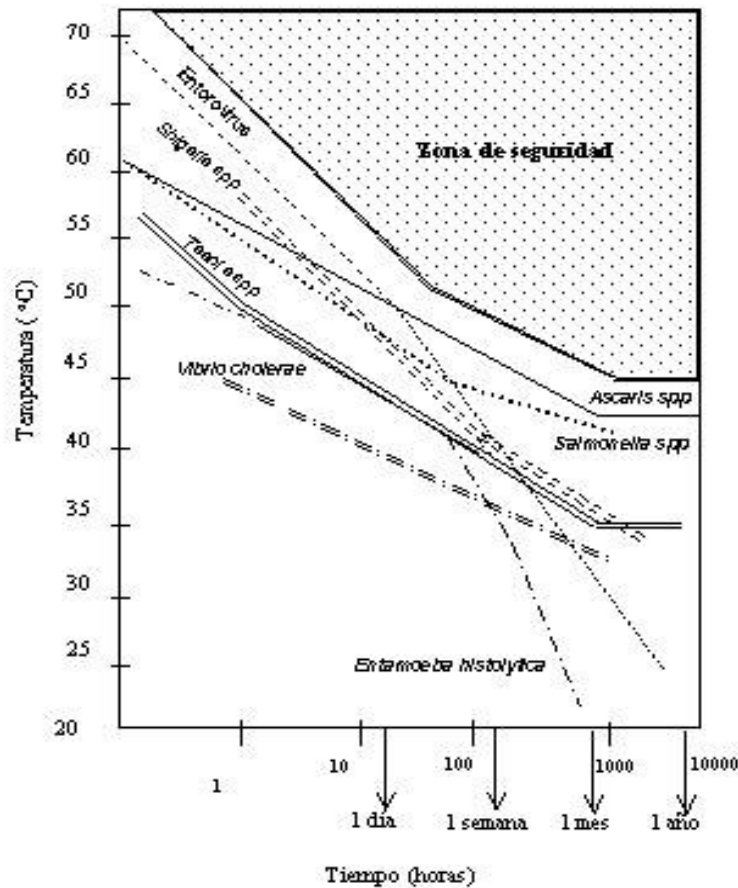


Ilustración 1.1 Requerimientos de tiempo-temperatura para la obtención de lodos virtualmente libres de patógenos - Gráfica de Strauch (Carrington, 2001)

La inactivación de los microorganismos a temperaturas altas esta en relación directa con el tiempo, representado por la gráfica de Strauch, en donde se indica una zona de seguridad en el cual el lodo se encontrará libre de microorganismos patógenos y parásitos: por ejemplo, 70°C durante 30 minutos o 55°C durante 4 horas (Carrington, 2001) (Ilustración 1.1).

La US EPA realizó una formula matemática para determinar el tiempo y la temperatura, al que se deben de tratar los lodos para obtener biosólidos clase A (US EPA, 1999). Esto depende del contenido de sólidos presentes en el lodo:

Si el contenido de sólidos en el lodo es del 7% o más.

$$D = (131.7 \times 10^6) / 100^{0.14t}$$

Donde D es tiempo en días y t la temperatura en °C, el tiempo del contacto debe ser mayor de 30 minutos y la temperatura no menor de 50 °C.

Si el contenido de sólidos en el lodo es menor al 7 % le calculo se realizara:

$$D = (50.07 \times 10^6) / 10^{0.14t}$$

Con los mismos parámetros de tiempo y temperatura que en el caso anterior.

En la Tabla 1.4 se muestra específicamente el impacto de la temperatura sobre los huevos de *Ascaris*, para lo cual definieron una zona de seguridad con el 100 % de huevos no viables (Feach *et al.*, 1983). Esta zona esta basada en función de la temperatura y del tiempo de exposición (TRC) de los huevos. Los resultados indican un impacto rápido en condiciones de alta temperatura (algunos segundos a 70° C) (Gaspard, 1995).

Tabla 1.4 Influencia de la temperatura °C sobre los huevos de *Ascaris*

Pérdida de viabilidad en tiempo	Temperatura	Medio	Referencia
0.44 segundos	68	agua	Swales y Froman (1939)
1 segundo	70	agua	Ogota (1925)
2 minutos	65	heces	Reyes <i>et al.</i> (1963)
3 minutos	54	agua	Nolf (1932)
3 minutos	103	lodos	Cram (1943)
6.5 minutos	55	medio vitrificante	Barnard <i>et al.</i> (1987)
19 minutos	55	heces	Reyes <i>et al.</i> (1963)

(Gaspard, 1995).

Es interesante notar la importancia del medio, en el cual se encuentran los HH, por ejemplo para el mismo tiempo (3 minutos) en lodo se necesita una temperatura equivalente al doble de lo que se necesita en agua. En ese sentido, la reglamentación de los Estados Unidos de América (US EPA 503) propone una formula para determinar la relación tiempo-temperatura para la producción de biosólidos *clase A*, la cual varia en función del contenido en sólidos totales del lodo (Carrington, 2001).

1.2.2 Velocidad de sedimentación.

Este factor permite solamente la eliminación de los HH, de la fracción a tratar. Gracias a la forma, talla y densidad, es posible calcular la velocidad de sedimentación (Tabla 1.5).

Tabla 1.5 Velocidad de sedimentación teórico de los HH en el agua (ley de Stoke).

Parásitos	Talla (µm)	Forma	Densidad (g/mL)	Vt m/sec	Velocidad de sedimentación m/h
<i>Ascaris lumbricoides</i>	55x40	esférico	1.11	0.0181	0.65
Anquilostoma	60x40	esférico	1.055	0.0108	0.39
Taenia saginata	36	esférico	1.1	0.0074	0.26

<i>Trichuri trichuria</i>	22x50	cilíndrico	1.15	0.04261	1.53
Schistosoma	50x150	cilíndrico	1.18	0.3386	12.55

(Gaspard, 1985)

1.2.3 pH.

El pH es también fundamental como parámetro de control en los procesos de tratamiento de los lodos. Su influencia sobre los microorganismos ocurre de forma similar a como afecta la temperatura, de modo que es un parámetro íntimamente ligado a la pérdida de viabilidad de los microorganismos parásitos (Madigan *et al.*, 1999). Por lo tanto, su aplicación extrema ácida o básica puede resultar en beneficio de la destrucción de parásitos y patógenos, tal y como se utiliza en la estabilización con cal, y aún en tratamientos poco convencionales y no bien estudiados, como la estabilización ácida (Fraser *et al.*, 1984; Godfree *et al.*, 1984; Barrios *et al.*, 2000; Carrington, 2001).

1.2.4 Ácidos grasos volátiles (AGVs).

Barrios *et al.* (2000) realizaron pruebas de estabilización ácida con cuatro diferentes ácidos: dos orgánicos (acético y peracético) y dos inorgánicos (sulfúrico y perclórico) obteniendo que al mismo pH, los ácidos acético (ácido tipo AGV) y peracético lograron las mejores eficiencias de remoción de bacterias y huevos de helminto. Se confirmó la similitud de eficiencia en la reducción y inactivación de huevos de helminto entre los ácidos acético y peracético lo que demuestra que son buenos agentes desinfectantes y representan una alternativa para la estabilización de lodos fisicoquímicos con problemas de microorganismos patógenos (González *et al.*, 2002).

1.2.5 Radiación

La eficacia en la desinfección de los lodos por irradiación ha sido estudiada usando un acelerador del haz electrónico, con huevos de *Ascaris* como modelo, ya sea de disecciones de hembras maduras o provenientes de lodo residual, en este tipo de tratamiento se debe considerar tres factores que influyen en los resultados: el porcentaje inicial de huevos viables, la fuente de los huevos (disección de hembras o lodo) y el contenido de materia seca del medio en el que se irradian los HH (Capizzi y Schwartzbrod, 2001).

1.2.6 Tiempo de retención celular (TRC).

El TRC hace referencia al tiempo durante el cual el lodo de desecho es sometido a la presión de las condiciones físicas, químicas y biológicas que prevalecen en cualquiera de los procesos de tratamiento. En el caso de la temperatura, existe una relación directa representada en la gráfica de Strauch presentada anteriormente (Carrington, 2001).

1.3 Métodos de tratamiento de lodos.

La estabilización de lodos residuales se entiende como el proceso mediante el cual se busca eliminar los microorganismos patógenos y parásitos, disminuir la fracción volátil, reducir o eliminar su potencial de putrefacción y consecutivamente, eliminar los problemas de malos olores y atracción de vectores (Rojas-Oropeza, 2001).

1.3.1 Tratamiento físico.

Las condiciones necesarias para obtener la eliminación en la viabilidad de los huevos se presentan en la Tabla 1.6.

Tabla 1.6 Tratamientos físicos eficaces sobres los huevos de helmintos

Tipo de tratamiento	Características	Referencia
Temperatura	55°C durante 2 hrs tratamiento recomendado para lodos.	Carrington (1985)
Irradiación	Radiación gama 1 Mrad (<i>Ascaris</i>)	Yeager et O Brien (1983)
	Micro onda frecuencia 2450 MHz, λ: 12 cm, poder: 600W, 20 seg) (huevos de <i>Toxocara, Ascaris, Trichuris</i>)	Bouchet (1985)
	Radiación beta 0,11 Mrad	Horak (1994)
Ultrasonido	49 KHz durante 6 min (<i>Toxocara</i>)	Reimers <i>et al.</i> , (1981)
Almacenamiento	-16 meses a 25 °C (<i>Ascaris</i> de lodos de digestión anaerobia)	O'Donnell <i>et al.</i> , (1984)
	-10 meses a 25 °C (<i>Toxocara</i> de lodos de digestión anaerobia).	
Pasteurización	60 A 65 °C 30 minutos 70 °C 5 minutos	Hays 1976 Pike <i>et al.</i> ,1988
Incineración	Temperatura > 800 °C generando < 5% de materia orgánica	Viessman <i>et al.</i> ,1993 Kreith 1994.

(Modificada de Gaspard, 1985)

Por el contrario, otros tipos de tratamiento presentan una eficacia poco confiable o nula, respecto a la pérdida de viabilidad de los HH, como se muestra en la Tabla 1.7.

Tabla 1.7 Tratamiento físico poco eficiente sobre los huevos de helmintos

Tratamiento	Características	Referencias
Frió	-25 °C durante 7 días ineficaz sobre <i>Ascaris</i>	Sanin <i>et al.</i> , (1994)
Desecación	Lodo con 20 % de humedad sobre lecho secado	Reimers <i>et al.</i> , (1981)
Almacenamiento	Almacenamiento a una temperatura de 4 °C (poco eficiente sobre <i>Toxocara, Ascaris</i>)	O'Donnell <i>et al.</i> , (1984)

(Gaspard, 1985)

1.3.2 Tratamiento químico.

El principal parámetro de eliminación en este tipo de tratamiento es el pH, consiste en el uso de compuestos como la cal y el cloro. La cal, que es el reactivo más común, se adiciona para aumentar el pH hasta 12 o más con un tiempo de contacto adecuado para inactivar o destruir patógenos y parásitos. Existen dos formas de estabilización química alcalina: la

preestabilización y la post-estabilización. En la primera, la cal es adicionada antes del desaguado, utilizándola como acondicionador acompañada de sales de aluminio y hierro. En la postestabilización en cambio, la cal se añade a la pasta obtenida después del proceso de desaguado. Los diferentes tipos de tratamiento químicos eficaces en la pérdida de viabilidad de los HH (*Ascaris*) se presentan en la Tabla 1.8.

Tabla 1.8 Tratamientos químicos eficaces sobre huevos de helmintos

Tratamientos	Características	Referencias
Fertilizantes	Periodo de sobrevivencia de los huevos de <i>Ascaris</i>	
Scories Thomas	2 días en solución al 10 %	Hamdy (1970)
Sulfato de potasio	5 días en solución al 10 %	
Carbonato de potasio	6 días en solución al 10 %	
Estabilización alcalina	pH > 12 durante 2 horas	Lue-Hing <i>et al.</i> (1998)
	-Aumento de temperatura por cal viva 60 °C durante 30 min.	Marcinkowski (1985)
Estabilización ácida	Se ha reportado en literatura, sin decir las condiciones de operación con los siguientes ácidos: acético, peracético, sulfúrico, clorhídrico, perclórico, propiónico	Roth y Keenan (1971); Fraser <i>et al.</i> (1984); Godfree <i>et al.</i> (1984); Kiff y Lewis-Jones (1984); Barrios <i>et al.</i> (2000)

(Modificada de Gaspard, 1985)

1.3.3 Tratamiento biológico.

Existen varios tratamientos de tipo biológico eficaces en la eliminación de los HH: digestión aerobia y anaerobia termofílica, composteo (Gaspard, 1995). Las diferentes condiciones de estos tratamientos son presentadas en la Tabla 1.9.

Tabla 1.9 Tratamientos biológicos eficaces sobre los huevos de helmintos

Tratamiento	Características	Referencia	Pérdida de viabilidad de HH
Digestión aerobia termofílica	45°C durante 20 días (destrucción de los huevos)	Reyes <i>et al.</i> (1963)	Plym-Forshell (1995) no encuentro ningún huevo viable, con temperaturas entre 48 y 55°C.
	55 a 60°C durante 10 días 45°C durante 2 días	Reimers <i>et al.</i> (1981)	
Digestión anaerobia termofílica	38°C pendiente 30 días 45°C (duración no precisa) 49°C durante de 10 a 20 días	Reyes <i>et al.</i> (1963) Reimers <i>et al.</i> (1981) Pike <i>et al.</i> (1983)	70.2 % de remoción de HH _{total} /gST. Rojas Oropeza (2001)
	60 a 76°C durante 4 h	Wiley y Westerberg (1969)	Disminuye 3 unidades logarítmicas. Plachy (1997)
Composteo (pilas aireadas)	Temperatura máxima alcanzada (60-70°C) inactivación de los huevos de <i>Ascaris</i> en 8 días	Nell <i>et al.</i> (1983)	

(Modificada de Gaspard, 1995).

La característica mas común de estos tratamientos, son los aspectos termofílicos, para las

temperaturas inferiores a 50° C, los tratamientos son relativamente largos (hasta 30 días), cuando para los de temperaturas superiores a 50° C, la duración puede limitarse a algunas horas (Gaspard, 1995).

Los otros tratamientos biológicos, poco eficientes sobre la viabilidad de los HH son presentados en la Tabla 1.10.

Tabla 1.10 Tratamientos biológicos poco eficientes sobre los huevos de helminto

Tratamiento	Características	Referencias
Digestión aerobia mesofílica	Temperatura ambiente (viabilidad de los huevos de helminto 90-95%)	Black <i>et al.</i> (1982) Gaspard <i>et al.</i> (1994)
Digestión anaerobia mesofílica	35° C pendiente 10 a 20 días (viabilidad de los huevos de helminto varía de 30 a 98 %)	Reimers <i>et al.</i> (1981) Fitzgerald <i>et al.</i> (1981) Black <i>et al.</i> (1982) Pike <i>et al.</i> (1988)
Composteo (pilas fijas)	Temperatura máxima 39° C. Ninguna inactivación de los huevos de <i>Ascaris</i> en 10 días	Nell <i>et al.</i> (1983)
	Usando pilas estáticas	Lue-Hing <i>et al.</i> (1992)

(Modificada de Gaspard, 1995).

1.3.3.1 Tratamientos aerobios.

Composteo. Es un proceso en el cual la materia orgánica experimenta una degradación biológica hasta dar un producto final estable sin problemas de carácter sanitario, exento de olores y similar al humus. Por efecto de una reacción exotérmica natural, alcanza niveles termofílicos de temperatura, y aproximadamente del 20 al 30% de sólidos volátiles se convierten en dióxido de carbono y agua (Lue-Hing *et al.*, 1998; Metcalf y Eddy, 1996; Bruce, 1984).

Digestión aerobia. Los digestores aerobios son aplicables a lodos biológicos. Es una continuación del proceso de aeración tomando los subproductos del sedimentador secundario y del espesamiento. Los lodos procesados por la digestión aerobia están mineralizados por la respiración endógena y por el metabolismo del protoplasma. Son relativamente inertes pero tienen alto contenido de agua. La reducción del contenido de humedad se logra por centrifugado, filtración al vacío, secado por aire o secado en lechos de lodos (Jiménez, 2001).

1.3.3.2 Tratamiento anaerobio.

Se usan comúnmente para lodos del sedimentador primario que contienen elevadas concentraciones de materia orgánica, ya que de tratarse en condiciones aerobias induciría un rápido crecimiento de la biomasa y elevado consumo de oxígeno. La función es convertir los lodos en productos finales tales como líquidos, gases (65 a 70% como CH₄ y de 25 a 30% como CO₂) y tener la menor producción posibles de biomasa. El funcionamiento es similar al de los reactores anaerobios de tratamiento de agua (Jiménez 2001). En el caso de la digestión anaerobia los intervalos de temperatura que se emplean pueden ser mesofílico y termofílico (Rojas-Oropeza, 2001). Las ventajas y desventajas que ofrece un tratamiento anaerobio termofílico se muestran en la Tabla 1.11.

Tabla 1.11 Tratamiento anaerobio termofílico

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Buena reducción de SSV (40 % a 60 %). ❖ Producción de gas metano. ❖ Los costos de operación pueden ser bajos si se utiliza el gas metano. ❖ Amplia aplicación. ❖ Los sólidos obtenidos son apropiados para uso agrícola. ❖ Buena reducción de patógenos. ❖ Reducción de la masa total. ❖ Tiempos de retención hidráulica menores (8 ó 10 días.). ❖ Lodos biológicamente estables. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Requiere que los operadores sean experimentados. ❖ Pueden formarse espumas. ❖ Los organismos metanogénicos pueden crecer lentamente en digestores ácidos. ❖ Se recobra lentamente después de un colapso. ❖ Sobrenadante con alto contenido de DQO, DBO, SST y NH₃. ❖ La limpieza es difícil. ❖ Puede generar olores desagradables. ❖ Alto costo inicial. ❖ Incrustación potencial de minerales. ❖ Medidas de seguridad por la producción de gas inflamable

(Jiménez, 2001).

1.4 Límites permisibles para la disposición de lodos.

Se ha considerado que los lodos por sus características propias o por las adquiridas después de un proceso de estabilización pueden ser susceptibles de aprovechamiento siempre y cuando cumplan con los límites máximos permisibles de contaminantes establecidos en la Norma oficial mexicana (NOM). En la Tabla 1.12 se muestra los límites máximos de patógenos y parásitos permisibles de acuerdo al apartado 503 de la EPA, con respecto a biosólidos.

Tabla 1.12 Límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en biosólidos

Clase	Patógenos		Parásitos
	Coliformes fecales NMP /gr. ST	<i>Salmonella</i> spp. NMP / 4gr ST	Huevos de Helminto viables /4gr ST
A	Menos de 1,000	Menor de 3	Menor de 1
B	Menor de 2000,000	ND	ND

Fuente: EPA Apartado 503 Norma para el uso y disposición de los lodos de desecho, 1996.

En el caso de México la Tabla 1.13 muestra los límites permisibles de patógenos y parásitos, de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 para las tres clases de biosólidos que engloba esta.

Tabla 1.13 Límites permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos

Clase	Indicador bacteriológico de contaminación	Patógenos	Parásitos
	Coliformes fecales NMP /g en base seca	<i>Salmonella</i> spp. NMP /g en base seca	Huevos de helmintos /g en base seca
A	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 1 (a)
B	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2000,000	Menor de 300	Menor 35

Fuente: NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-SEMARNAT-2002. (a) viables

1 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El experimento se desarrollo utilizando muestra sintética de huevos de helminto, es decir, a partir de hembras maduras de *Ascaris suum* (organismo modelo) se obtuvieron huevos viables.

1.1 Obtención de organismos.

Las especies *Ascaris suum* y *Ascaris lumbricoides* presentan ciclos de vida muy similares y la morfología de los huevos de estos parásitos no son la excepción (Johnson *et al.*, 1997), razón por lo cual se utilizaron huevos de *Ascaris suum* como modelo experimental.

Los organismos de *Ascaris suum* se obtuvieron en las instalaciones del rastro de Tlalnepantla, Estado de México, México. Esto fue en el momento de realizar el sacrificio de cerdos, ya que estos parásitos se alojan en el intestino del hospedero. Los parásitos seleccionados se colectaron en frascos de plástico con capacidad de 2L, inmersos en una solución salina a una concentración de 9 g/L y conservados en el laboratorio a una temperatura de 4°C (Ghiglietti *et al.*, 1995).

1.2 Preparación del área para disección.

Es importante delimitar el área de trabajo cuando se realiza la disección de parásitos hembras. Es recomendable cubrir la mesa de trabajo con papel para desecho. El instrumental de disección, los recipientes contenedores de muestra y para el material orgánico que se deseche, se usaron estériles y de material plástico autoclabable. Las disecciones se realizaron sobre una base de unicel, con riguroso uso de guantes de cirujano, cubre bocas y lentes protectores como medidas de seguridad para evitar cualquier posibilidad de zoonosis (Ilustración 1.1).



Ilustración 1.1 Área de disección para las hembras de *Ascaris suum*

1.3 Disección de organismos.

Se separaron hembras y machos, las cuales son fáciles de identificar con respecto a los machos por talla y solo se utilizaron las hembras de mayor longitud, (Ilustración 1.2).

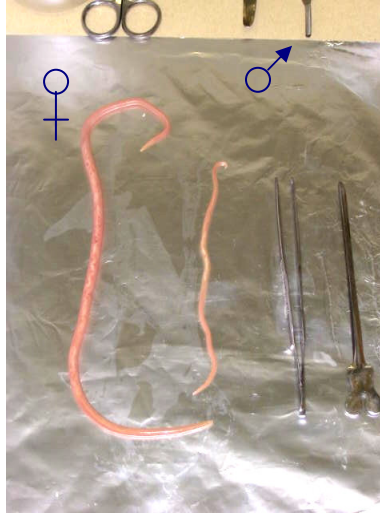


Ilustración 1.2 Diferenciación entre hembras y machos

Posteriormente cada una se colocó y fijo sobre una base de unicel con alfileres, uno en la región anterior donde se presenta un ligero adelgazamiento y otro más en la parte posterior.



Ilustración 1.3 Inicio de disección

El primer corte se realizó con tijeras en la región media del organismo, continuando la abertura hacia la parte anterior, abriendo y fijando con alfileres hacia los lados la epidermis al unicel para hacer facilitar el manejo del organismo (Ilustración 1.3).

Después se realizó un corte de 2-3 mm en el tracto del útero próximo a la vulva que se une al poro genital como lo describe Capizzi *et al.* (2004). Esto permite abrir esta región donde se localizan los huevos maduros, fertilizados, y próximos a ser expulsados, teniendo sumo cuidado de no cortar el útero. Los HH presentan dimensiones de 50 a 75 x 40 a 60 μm .

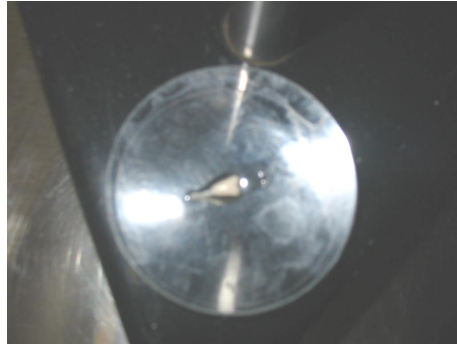


Ilustración 1.4 Región distal del útero donde se encuentran los huevos maduros

Ya obtenidos los huevos de la parte distal del útero, el siguiente paso fue la separación de estos. Para esta operación se necesitó, un mortero, y un par de pinzas entomológicas con el fin de desempaquetarlos del tejido epitelial al cual están fijados. Para su homogenización los huevos se colocaron en un tubo Falcon de plástico de 50 mL y se usó un vortex para terminar la separación (Ilustración 1.4).



Ilustración 1.5 Suspensión de los huevos en solución salina

Ya separados, se suspendieron en solución isotónica salina de 9 g/L conservándose en refrigeración a 4 °C (Ghiglietti *et al.*, 1995), (Ilustración 1.5).

Todo el material utilizado durante la disección, así como los restos de las hembras diseccionadas se esterilizaron antes de desecharse, se utilizó una autoclave marca AESA Mod. CV 3000 a una presión de 1.5 K, con una temperatura de 110°C durante 15 minutos.

1.4 Concentrado de huevos.

Se realizaron varios conteos al microscopio óptico, con la ayuda de una cámara Don Caster para determinar el volumen adecuado de la alícuota: el concentrado que se utilizó fue de 1000 huevos en promedio y se determinó un volumen de 300 microlitros (μl). Este concentrado se obtuvo con la disección de 10 hembras, ya estandarizado el volumen, el concentrado se conservó a pH 7 en solución salina a 4°C (Ghiglietti *et al.*, 1995), (Ilustración 1.6).



Ilustración 1.6 Concentración de HH

1.5 Preparación de tratamientos.

Se utilizó una mezcla de diferentes ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico, butírico) (Fukushi *et al.*, 2003), (valérico e isovalérico) (Cabirol *et al.*, 2002; Ghosh *et al.*, 1995), ya que estos se producen dentro de los digestores anaerobios (Ghosh *et al.*, 1995).

Para el diseño experimental se prepararon cuatro tratamientos, mezclando los distintos ácidos mencionados anteriormente, en diferentes concentraciones, con la finalidad de simular las condiciones que se generan en un digestor anaerobio; cada tratamiento se preparó en 50 mL de agua destilada de acuerdo a la Tabla 3.1.

Tabla 1.1 Volumen de los ácidos utilizados para los tratamientos (mL)

Tratamientos	Acético	propiónico	Butírico	valérico	Isovalérico
I	4.0	2.2	1.2	-	-
II	2.2	4.0	1.2	-	-
III	4.0	2.2	-	0.6	0.6
IV	2.2	4.0	-	0.6	0.6

Para la preparación de cada tratamiento se usaron botellas serológicas de cristal con tapones de caucho para evitar que los ácidos se volatilizaran. La concentración de los tratamientos utilizada en mg/L se presenta en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2 Concentración de los ácidos para cada tratamiento (mg/L)

Tratamientos	acético	propiónico	Butírico	Valérico	Isovalérico
I	4200	2200	1200	-	-
II	2200	4200	1200	-	-
III	4200	2200	-	600	600
IV	2200	4200	-	600	600

(Cabirol *et al.*, 2002; Ghosh *et al.*, 1995).

Se tomaron las lecturas de los pH iniciales de cada tratamiento utilizando un potenciómetro de marca Orion modelo 410 A, obteniendo los valores que se muestran en la Tabla 1.3.

Tabla 1.3 pH Inicial de cada tratamiento

Tratamientos	pH Inicial
I	2.21
II	2.34
III	2.31
IV	2.34

1.6 Preparación de medios para testigos y tratamientos:

Para los frascos que funcionaron como testigo, se preparó un buffer fosfato, el cual se utilizó como solución base para preparar un medio anaerobio; esto último se logró cambiando la atmósfera con N₂, finalizando con un pH promedio de 5.6 tal como lo reporta Ghosh *et al.*, (1995), después de haber sido esterilizado el medio en autoclave a 110 °C durante 15 minutos (Cabirol *et al.*, 2002; Ghosh *et al.*, 1995).

Para el caso de los tratamientos, igualmente se utilizó un buffer fosfato como base para preparar medio anaerobio, cambiando atmósfera con N₂ (Fukushi *et al.*, 2003) y esterilizando en autoclave bajo las mismas condiciones del testigo. Se realizaron pruebas en los buffers de tratamientos, para obtener el valor deseado de pH a 5.6. (Ghosh *et al.*, 1995)

Con esto se consiguió tener los dos medios ajustados, él de los frascos testigos sin tratamiento y él de los tratamientos más el medio, quedando los dos en el pH requerido como se muestra en la Tabla 1.4.

Tabla 1.4 pH Final de buffer mas tratamiento

Testigo y tratamientos	Ph buffer	pH de tratamiento	pH final de buffer mas tratamiento
Testigo	5.8	-	5.8
I	7.0	2.2	5.2
II	7.0	2.3	5.3
III	7.0	2.3	5.4
IV	7.0	2.3	5.2

Tanto para los testigos como para los tratamientos se utilizó un volumen de 10 mL por botella, todos los medios se mantuvieron en botellas serológicas de cristal, con tapones de caucho hasta el momento de ser usados. La composición de cada buffer y del medio anaerobio se presenta en el anexo.

1.7 Protocolo experimental.

El diseño experimental para estudiar el efecto de los ácidos de cada tratamiento sobre la viabilidad de los HH en condiciones de anaerobiosis a distintos TRC con dos temperaturas (35 ° C y 55 ° C), consiste en simular las condiciones que se generan dentro de un digestor anaerobio, y poder proponer algunas recomendaciones con la finalidad de que este proceso sea más eficiente.

El diseño general de este experimento se muestra en la siguiente Tabla 1.5.

Tabla 1.5 Diseño experimental general

Tratamientos	Temperaturas	TRC (días)
I	35	0,1, 2, 3 y 4
	55	
II	35	0,1, 2,3 y 4
	55	
III	35	0,1, 2, 3 y 4
	55	
IV	35	0,1, 2, 3 y 4
	55	

Nota: El desarrollo experimental es en condiciones de anaerobiosis.

El inicio del experimento se realizó, con el etiquetado, de las botellas por testigo, tratamiento, TRC y temperatura (Ilustración 1.7).

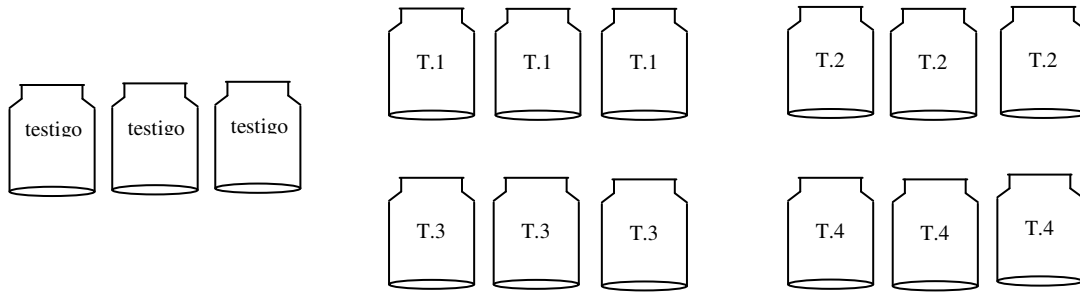


Ilustración 1.7 Etiquetado de frascos.

1.7.1 Arranque.

Se trabajó en medio estéril para evitar contaminación alguna, los primeros que se inocularon fueron los testigos, vaciando el buffer (10 mL) en los tubos Falcon de plástico; seguido a esto, el concentrado de huevos se homogenizó con la ayuda de un vortex durante 30 segundos, tomando la alícuota de 300 μ L y añadiendo a los tubos, colocando tapones de caucho, esto se realizó por triplicado en cada caso.

Para los tratamientos, se vació el buffer designado, posteriormente se agregaron los HH y por último el tratamiento (500 μ L), colocando los tapones de caucho, de igual manera por triplicado para cada tratamiento, y para cada temperatura y TRC.

1.7.2 Cambio de atmósfera.

Ya inoculados los tubos testigos y los de cada tratamiento, se prosiguió a cambiar la atmósfera, para lograr condiciones de anaerobiosis; esto se realizó con la ayuda de un manifold inyectando N_2 durante 1 minuto (Fukushi *et al.*, 2003).

1.7.3 Mesofilia y termofilia.

El mismo tratamiento que se aplicó a los HH con los tratamientos en mesofilia, se aplicó en termofilia, este paso consistió únicamente en colocar los tubos testigos y los tratamientos designados a mesofilia en una incubadora a 35 °C y los designados a termofilia en una incubadora a 55 °C, donde permanecieron el TRC designado.

1.7.4 pH y AGVs.

Aquí se tomaron los valores de pH y de AGVs de los tubos testigos y de cada uno de los tratamientos, primero al tiempo cero, y posteriormente se tomaron las lecturas de cada tratamiento después de haber transcurrido su TRC. Para el pH, se usó un potenciómetro de marca Orion modelo 410 A, los AGVs fueron determinados por cromatografía de gases, cromatógrafo SRI 8610 con detector FID, columna capilar de sílice fundida Superos FA, Alltech.

1.7.5 Recuperación y lavado de HH.

Transcurrido cada uno de los TRC, los HH se recuperaron y se lavaron para eliminar los

tratamientos del medio, y que estos ya no tuvieran algún efecto sobre los HH (Peterson, 1971). El primer paso para esto fue centrifugar los HH a una velocidad de 2500 rpm x 5 minutos (Z513K, Hermle, Labortechnik). Posteriormente con la ayuda de una pipeta de 5 mL se tomó el sobrenadante, con mucho cuidado de que sólo fuera de la parte superior de los tubos, esto con la finalidad de que no se perdieran HH en este paso, esta primer muestra es la que se utilizó para verificar el valor de pH del medio al cual estuvieron los HH, seguido a esto se añadieron 5 mL de agua destilada y se realizó el lavado durante 1 minuto con la ayuda del vortex seguido por centrifugación: (Ghiglietti *et al.*, 1996), este lavado se realizó en cinco ocasiones retirando el sobrenadante y añadiendo agua destilada en cada una (Ilustración 1.8).

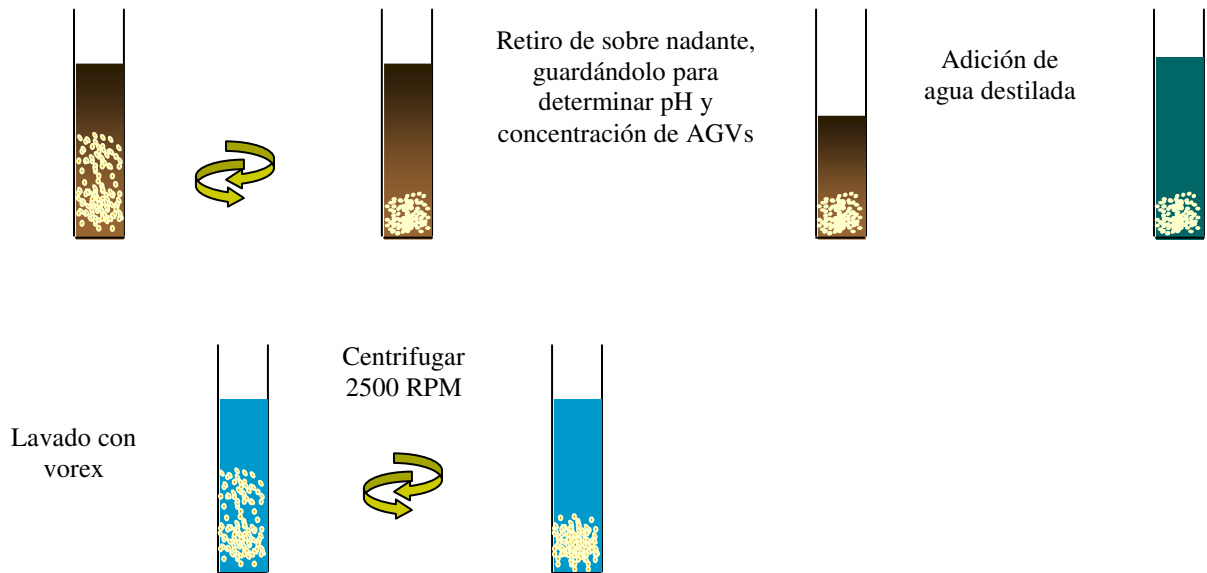


Ilustración 1.8 Retirado de sobrenadante y lavados de los huevos.

1.8 Viabilidad de los huevos.

La norma oficial mexicana, NOM-001-SEMARNAT-1996, describe la determinación de la viabilidad de los HH mediante la observación microscópica de formación o no formación de larva dentro del huevo, después de un periodo de incubación de 20 días en solución salina a 26°C. Este método se aplica en análisis de parásitos indicadores en aguas y lodos residuales.

1.8.1 Incubación.

Después del ultimo lavado se añadieron 15 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0.1 N, dejando incubar durante 4 semanas a 26°C ± 2°C (NOM-004-SEMARNAT-2002), (Ilustración 1.9).

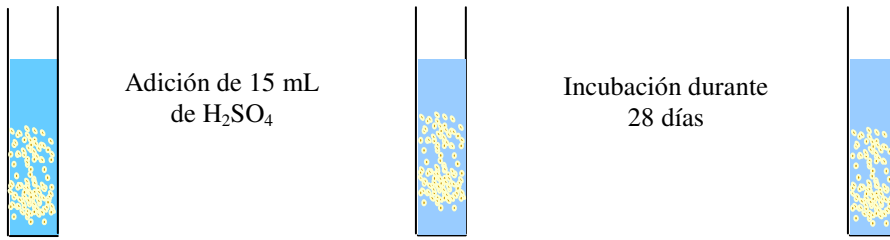


Ilustración 1.9 Incubación

1.8.2 Lecturas al microscopio y estudio estadístico de los resultados obtenidos.

Después de haber transcurrido las 4 semanas de incubación se realizaron observaciones directas al microscopio Axioskop, Zeiss con la ayuda de una cámara Don Caster, tomando como huevo viable aquel en el cual se generó una larva y no viable en los que no se generó (Ghiglietti *et al.*, 1997). Se realizaron conteos en cada uno de los tubos con base a estas observaciones se tomaron fotografías de los huevos y se realizaron las pruebas estadísticas de covarianza factorial y prueba de Duncan.

1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo del diseño experimental pretende evaluar en condición anaerobia mesofílica (35°C) y termofílica (55°C), en diferentes tiempos de retención celular, el efecto de cuatro mezclas distintas de ácidos grasos volátiles sobre la viabilidad de huevos de helminto (viabilidad: capacidad de generar una larva infectiva).

1.1 Viabilidad de *Ascaris suum* a 35°C.

1.1.1 Efecto de los ácidos grasos volátiles

Al inicio y fin del experimento se cuantificaron las concentraciones de AGVs (mg/L) en cada tratamiento y se probó que no hubo variaciones durante el tiempo de prueba (Tabla 1.1). Esto permite asegurar una constancia de las condiciones de contacto y presión que ejercen los AGVs sobre la viabilidad inicial de los huevos de helminto, y al mismo tiempo indica la confiabilidad del protocolo experimental utilizado.

Tabla 1.1 Concentración de AGVs (mg/ L) a los tiempos 0 y 4 días

Tratamientos Ácido	0 días	4 días
I		
acético	4272.12	4599.40
propiónico	2298.72	2547.62
butírico	1303.14	1372.11
[] Total	7873.98	8519.13
II		
acético	2256.95	2511.56
propiónico	3910.93	4028.23
butírico	1171.15	1245.77
[] Total	7339.03	7785.56
III		
acético	4865.67	5137.82
propiónico	2093.93	2108.86
isovalérico	651.05	624.29
valérico	690.72	657.42
[] Total	8301.37	8528.39
IV		
acético	1558.19	1575.98
propiónico	3332.81	3781.32
isovalérico	620.18	677.74
valérico	651.12	711.45
[] Total	6162.30	6746.49

[] = Concentración

A partir del conteo de huevos viables y no viables se definieron los porcentajes de viabilidad para cada tratamiento y cada uno de los tiempos de retención celular. Posteriormente con estos datos se evaluó el efecto específico de cada tratamiento sobre los HH a lo largo del tiempo, mediante un análisis de regresión lineal (Tabla 1.2).

Tabla 1.2 Valores de p del testigo y de los tratamientos

Tratamientos	Coefficientes de	Coefficientes de	Valores de f	Valores de p
--------------	------------------	------------------	--------------	--------------

	regresión (b_1)	correlación (r^2)		
Testigo	-0.3917	0.29	1.66	0.2675
Tratamiento 1	-2.29	0.28	4.64	0.0522
Tratamiento 2	-3.65	0.63	20.75	0.000066
Tratamiento 3	-4.00	0.73	32.86	0.000094
Tratamiento 4	-3.76	0.73	34.17	0.000057

Nota: Los análisis de regresión fueron en base a 15 datos (tres repeticiones por tiempo).

El testigo confirma un nulo efecto sobre la viabilidad en los HH durante toda la prueba, ya que el coeficiente de regresión es cercano a 0 con un valor de p superior a 0.05, lo cual significa que no existe diferencia significativa entre sus valores en el tiempo.

En los 4 tratamientos se muestra un efecto de pérdida de viabilidad en los HH: sus coeficientes de regresión son valores negativos y diferentes de 0. Sin embargo, el tratamiento 3 presentó el mayor coeficiente de regresión (valor b_1), el cual corresponde a la mayor velocidad de pérdida de viabilidad, confirmado estadísticamente ($p \leq 0.05$).

Barrios *et al.* (2000) obtuvieron una buena eficiencia en la remoción de bacterias y HH con la utilización de ácidos acético y peracético. La eficiencia en la remoción de microorganismos y de inactivación de HH es muy similar entre los ácidos acético y peracético, lo que demuestra que son buenos agentes desinfectantes (González *et al.*, 2001). En nuestro estudio, el tratamiento 3 fue uno de los tratamientos con mayor concentración de ácido acético, combinado con menor concentración de ácidos propiónico, valérico e isovalérico, concentraciones similares a las encontradas en digestores anaerobios de doble fase. Por lo tanto el ácido acético podría presentar una mayor actividad sobre la pérdida de viabilidad como se ha reportado. Sin embargo, el tratamiento 1 que contiene la misma concentración de dicho ácido presenta la menor eficiencia en la pérdida de viabilidad de los HH. La mayor eficacia del tratamiento 3 podría apoyarse con el tipo de mezcla de ácidos.

Se han realizado pocos estudios para entender el proceso mediante el cual afectan los ácidos la viabilidad de los HH. Entre los ácidos que se han probado para estabilizar lodos se incluyen los ácidos sulfúrico, perclórico, peracético, acético, propiónico, isobutírico, n-butírico e iso valérico (Roth y Keenan, 1971; Fraser *et al.*, 1984; Godfree *et al.*, 1984; Kiff y Lewis-Jones, 1984; Owen, 1984; Barrios *et al.*, 2000). Fraser *et al.* (1983) observaron durante una investigación realizada con ácido peracético, que este presenta propiedades ovicidas que pueden estar relacionadas con su capacidad de desnaturalizar proteínas, como se ha demostrado cuando es usado como esporicida. Los huevos de helmintos que han sido inactivados por ácido peracético presentan coloración oscura, granulación y apariencia ovoide en cestodos, lo cual podría relacionarse con una afectación de la pared celular (Fraser *et al.*, 1983).

Por otro lado en un estudio realizado por Fairbairn (1954), se determinó que huevos de helminto no embrionados contienen cierta concentración de ácidos grasos (acético, butírico y pentanoico), los cuales disminuyen durante la embrionación, siendo esta reducción hasta del 66%. Es importante mencionar que de acuerdo con el autor, los huevos de *Ascaris* contienen una gran cantidad de grasas que sirven como reserva de energía al huevo durante la etapa de desarrollo, mientras que espera la ingestión por parte del huésped. Adicionalmente, parte de dichas grasas la constituyen ácidos grasos volátiles que coinciden con los ácidos que excretan las hembras adultas como productos

de la fermentación. Por ello, parece probable que algunos de los ácidos desechados durante la fermentación, sean incorporados y utilizados durante el metabolismo del huevo.

A pesar de que no ha sido establecido el mecanismo por el cual los huevos de helminto son afectados por los ácidos, lo anterior podría explicar el efecto de la aplicación de ácidos orgánicos (volátiles) en la reducción de la concentración de huevos de helmintos en lodos. Adicionalmente, el hecho de que la capa lipídica sea semipermeable, y esta permeabilidad varíe de acuerdo con las condiciones ambientales y el grado de desarrollo del huevo, permitiría al igual que en el caso de las bacterias, el paso de los ácidos orgánicos que una vez en el interior se disociarían acumulándose tanto protones como aniones que contribuirían a la inactivación del organismo (Gaspard, 1995).

La digestión anaerobia permite la transformación de materia orgánica a CH₄ y CO₂ (Horiuchi *et al.*, 2002). Productos intermediarios son los ácidos grasos volátiles, principalmente ácidos acético, propiónico, butírico y valérico. Las concentraciones de AGVs son uno de los factores responsables (sin olvidar el pH, TRC y temperatura) de la presión que sufren los microorganismos, lo cual refuerza nuestros resultados con respecto a la pérdida de viabilidad de HH (Buyukkamaci *et al.*, 2003). Se necesita realizar estudios muy puntuales de la etapa hidrolítica-fermentativa de la digestión anaerobia por ser en esta fase cuando se da la producción de AGVs (Dinamarca *et al.*, 2002).

1.1.2 Efecto del pH.

Durante el experimento se obtuvieron los valores de pH de cada tratamiento, obteniendo un promedio de estos (Tabla 1.3).

Tabla 1.3 pH de cada tratamiento a/los diferentes TRC en 35° C

TRC	0	1	2	3	4
Testigo	6.57 ± 0.06	6.70 ± 0.00	6.63 ± 0.06	6.60 ± 0.00	6.77 ± 0.06
Tratamiento 1	5.53 ± 0.06	5.50 ± 0.00	5.50 ± 0.10	5.57 ± 0.06	5.60 ± 0.00
Tratamiento 2	5.57 ± 0.35	5.70 ± 0.00	5.67 ± 0.06	5.70 ± 0.10	5.73 ± 0.06
Tratamiento 3	5.63 ± 0.06	5.67 ± 0.06	5.67 ± 0.06	5.60 ± 0.00	5.70 ± 0.00
Tratamiento 4	5.67 ± 0.06	5.63 ± 0.12	5.63 ± 0.06	5.67 ± 0.06	5.63 ± 0.06

Nota: Las medias y desviaciones estándar fueron calculadas con base en tres repeticiones por tratamiento y tiempo.

El comportamiento del pH durante el experimento fue homogéneo en cada ensayo con un valor promedio de 6.65 para el testigo y de 5.63 para los tratamientos. De acuerdo a los valores obtenidos del pH a lo largo del experimento se comprueba que el buffer fosfato efectivamente evitó variaciones en cada uno de los tratamientos, siendo esto lo que se esperaba, validando así la eficacia de la solución amortiguadora a base de fosfatos.

El pH de los tratamientos es el que se da en los digestores anaerobios de doble fase. Ghosh *et al.*, (1995) cita que en un sistema de doble fase, el digestor ácido mesofílico tiene un pH de 5.6, debido a la alta concentración de ácidos grasos volátiles (alrededor de 10 g l⁻¹).

En los tratamientos el pH disminuye de una unidad en comparación del testigo. El pH podría tener un papel sobre la pérdida de viabilidad de los 4 tratamientos (Tabla 1.2).

Sin embargo, no explica la mayor eficiencia del tratamiento 3 como lo citamos anteriormente, ya que su valor es constante en todos los ensayos. Por lo tanto, el pH no parece tener efecto directo sobre la pérdida de viabilidad sino más bien el tipo de ácidos presentes. Barrios *et al.* (2002) reportaron que la pérdida de viabilidad de los huevos de helmintos es una tarea difícil cuando se trata los lodos por procesos que no cambian el pH significativamente o que no incrementan la temperatura del lodo por encima de 50°C.

Para el caso de la reducción de patógenos, Fukushi *et al.* (2003) demostraron que con una mezcla de lodo y ácidos orgánicos (5000-7000 mg l⁻¹ totales), simulando un digestor ácido de un proceso de digestión anaerobia en doble fase, el número de *Salmonella* spp. decrece hasta niveles indetectables, cuando el valor de pH es mantenido por debajo de 5.5 durante dos días de retención o más. González *et al.* (2002) utilizaron dos ácidos, el peracético y acético: el primero tuvo un valor de pH de 4.9 y el segundo de 3.4, en el mismo tiempo de contacto se observó que la viabilidad de los HH bajó de 88% con el ácido peracético y de 76% con el acético, lo cual permitió concluir que el ácido peracético presentó mayor eficiencia sobre la pérdida de viabilidad de los HH aun teniendo valor de pH menos ácido que el acético.

Los valores de los ensayos testigos se incrementaron en comparación de los tratamientos, esto pudo haber ocurrido ya que a estos tubos no se les suministraron ningún tipo de ácidos. Para confirmar que el pH no tiene efecto en la pérdida de viabilidad, sería necesario adaptar una solución amortiguadora manteniendo el testigo a un pH similar a los tratamientos.

1.1.3 Efecto del Tiempo de retención celular (TRC).

El TRC hace referencia al tiempo durante el cual el lodo de desecho esta sometido a la presión de las condiciones físicas, químicas y biológicas que prevalecen en cualquiera de los procesos de tratamiento (Rojas-Oropeza, 2001). En este experimento el TRC corresponde al tiempo durante el cual los HH permanecieron en contacto con los ácidos grasos volátiles.

En la Tabla 1.4 se muestran los porcentajes de pérdida de viabilidad de los HH que presentaron los diferentes ensayos a cada uno de los TRC. Recordemos que son valores promedio, de los cuales existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos y el testigo sólo si el valor de p es \leq a 0.05.

Tabla 1.4 Porcentaje de pérdida de viabilidad de la ANOVA

TRC (días)	0	1	2	3	4
Valores de F y p de anova	2.67 (p=0.0943)	0.64 (p=0.6472)	1.01 (p=0.4564)	4.36 (p=0.0367)	6.84 (p=0.0107)
Testigo	82.6 ^a ± 0.99	80.7 ^a ± 0.97	81.9 ^a ± 1.01	80.0 ^a ± 1.10	81.1 ^a ± 0.95
Tratamiento 1	82.5 ^a ± 2.10	80.5 ^a ± 8.39	86.2 ^a ± 2.08	72.9 ^b ± 1.03	76.3 ^b ± 0.68
Tratamiento 2	82.2 ^a ± 0.32	85.9 ^a ± 2.26	81.9 ^a ± 4.47	71.4 ^b ± 0.35	72.5 ^b ± 2.17
Tratamiento 3	84.5 ^a ± 2.39	80.3 ^a ± 6.33	85.4 ^a ± 3.27	71.1 ^b ± 3.23	66.4 ^c ± 5.33
Tratamiento 4	85.6 ^a ± 1.02	84.4 ^a ± 0.60	85.1 ^a ± 1.90	72.1 ^b ± 1.95	72.9 ^b ± 0.49

Nota. Las medias y desviaciones estándar fueron calculadas con base en tres repeticiones por tratamiento y tiempo; las medias con la misma letra son estadísticamente iguales.

Podemos observar que en el tiempo inicial, la viabilidad promedio de los HH va de 82.2 a 85.6% sin existir una diferencia estadística significativa entre el testigo y cada uno de los tratamientos, lo cual confirma la confiabilidad técnica del experimento. En efecto, esto permite demostrar la homogeneidad del concentrado de HH, ya que todos los ensayos presentaron un contenido inicial idéntico. Conjuntamente el porcentaje de viabilidad de los HH es bastante elevado: eso revela que la disección se hizo de manera adecuada.

En los tiempos 1 y 2 días, el comportamiento es muy similar, ya que las medias entre el testigo y los tratamientos se mantienen sin diferencia significativa, siendo el valor de p > a 0.05. Nos permite decir que los ácidos grasos volátiles no tienen efecto dentro de ese tiempo.

A partir del TRC 3 días, se observó un mismo efecto en la pérdida de viabilidad en los 4 tratamientos: son diferentes estadísticamente al valor del testigo. Al TRC 4 días, destaca el tratamiento 3 con una mayor eficiencia en la pérdida de viabilidad en comparación de los otros tratamientos (estadísticamente comprobado): dicho tratamiento presenta una disminución de 18%, cuando en los demás es de 9% con base al testigo. El tratamiento 3 confirma que a mayor tiempo de contacto de los HH, mayor fue el efecto. Ghiglietti *et al.* (1995) observaron que aplicando un tratamiento con NH₄OH durante tres diferentes TRC (7, 14 y 21 días) con huevos de *Ascaris suum* y *Ascaris lumbricoides*, hubo efecto en la pérdida de viabilidad de los huevos a 30°C a partir de los 14 días de TRC (2 HH viables del tratamiento por 99 HH viables del control).

En un experimento previo que se realizó, los TRC utilizados fueron diferentes (0, 2, 3 y 7 días). En este se obtuvo un mayor decremento de viabilidad en los tratamientos 1 y 3 al tiempo 3 días. Hay que destacar que el tipo de mezcla de AGVs es esencial y que su efecto no es inmediato: se requiere un tiempo mínimo de contacto, en este caso 4 días. Por lo tanto el TRC es un factor indirecto que influye sobre el desarrollo de los HH al exponerlos a presión de factores fisicoquímicos (Carrington *et al.*, 1991; Madigan *et al.*, 1999).

1.2 Viabilidad de *Ascaris suum* a 55° C.

A partir del TRC 1 días, se observó una pérdida total de la viabilidad de los huevos de *A. suum* en presencia de AGVs a un pH de 5.6 y a 55°C. La temperatura presentó mayor

eficacia sobre la disminución de viabilidad de los HH, ya que el tiempo mínimo de contacto fue menor. Por lo tanto, la temperatura fue probablemente el factor principal que afectó la viabilidad de los HH. Gaasenbeek *et al.* (1998) observaron que sólo se requiere de 60 minutos a 55°C para destruir los huevos de *Ascaris suum*. Strauch elaboró una grafica relacionando temperatura y destrucción de patógenos y parásitos (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) (Carrington, 2001). También Ghiglietti *et al.* (1995) observaron que se necesitan 7 días a 40°C para tener un 100% de pérdida de viabilidad en huevos de *Ascaris suum* y *Ascaris lumbricoides*.

Ha sido reportado que la digestión anaerobia termofílica presenta mayor eficiencia en la remoción de patógenos y parásitos que la mesofílica (Rojas-Oropeza *et al.*, 2001). La construcción de reactores anaerobios toma en cuenta estos parámetros para así incrementar la eficiencia en la eliminación de patógenos y parásitos. En estudios realizados por Carrington y Harman (1984) con digestores anaerobios de 5 litros, encontraron que a 49°C los huevos de *Ascaris* fueron afectados en su viabilidad inhibiendo el desarrollo de una larva dentro del huevo, sin que se afecte la división celular inicial. En nuestro estudio, lo anterior explica la presencia de los huevos de *Ascaris suum* con división celular pero la ausencia de una larva infectiva, observado por microscopía después del periodo de incubación (55°C), así como daño físico en la pared externa de los huevos afectando el potencial para desarrollar una larva.

En un estudio realizado con un pH alcalino por Ghiglietti *et al.* (1995), se observó que la viabilidad de huevos de *Ascaris suum* y de *Ascaris lumbricoides* no fue afectada después de aplicarles un tratamiento con hidrato de amonio (NH₄OH 30% vol/vol) manteniendo un valor de pH 11.9 constante durante 21 días a 22°C. Por otra parte en la estabilización de lodos por medio de un tratamiento químico, Carrington (2001) reporta que al generar un pH de 12.5 con cal, se alcanza un 90% de pérdida de viabilidad de los HH. Es importante señalar que en la estabilización alcalina con cal, la temperatura que se genera es el factor que afecta la viabilidad de los HH. Sin embargo en ambos casos se observa que el pH aún extremo (alcalino o ácido) por sí sólo no afecta de forma directa la viabilidad de los HH sin estar combinado con la temperatura como sucedería en los digestores anaerobios de doble fase termofílicos. Por lo tanto, considerar alternativas como la separación de las fases que conforman el proceso de digestión anaerobia, permitirían conjuntar distintos factores capaces de afectar la viabilidad de los HH, eliminar patógenos, reducir las dimensiones de reactores y mejorar los requerimientos de operación y manejo en plantas de tratamiento.

El diseño de digestores anaerobios que optimicen los parámetros físicos, químicos y biológicos aquí descritos, podría conferir tecnología capaz de generar productos estabilizados, amables con la naturaleza y listos para su reintegración a los ciclos biogeoquímicos. Que además de reducir costos económicos por concepto de operación, entrarían a reforzar el concepto de desarrollo sostenido y sustentable.

1 CONCLUSIONES

- ❖ La mezcla de AGV en los cuatro tratamientos presentaron un efecto favorable en la pérdida de viabilidad de los huevos de *Ascaris suum*, siendo el tratamiento tres el que presento mayor velocidad de pérdida en la viabilidad.
- ❖ El efecto de los AGVs sobre la viabilidad de los huevos de *Ascaris suum* en condiciones de mesofilia, se presenta en función del efecto combinado con el TRC mínimo de 3 días.
- ❖ La condición de mesofilia (35° C) no es suficiente para tener un efecto favorable en la pérdida de viabilidad de los huevos de *Ascaris suum*.
- ❖ Todos los tratamientos a 55°C a partir del TRC 1 día muestran una eficiente pérdida de viabilidad de los huevos de helminto. Siendo la temperatura un factor de presión ambiental importante sobre la viabilidad de los huevos de helmintos.
- ❖ En el TRC 4 días, el tratamiento tres presentó la mayor eficiencia en la pérdida de viabilidad de los huevos de *Ascaris suum* en comparación a los otros tratamientos.

Es importante que en la mezcla de ácidos grasos la proporción de acético sea superior hasta en tres veces a los otros ácidos para poder tener un efecto en un tiempo mínimo de tres días en condiciones mesofílicas, sin importar que el pH sea muy bajo. Mientras que la proporción de la mezcla de ácidos es irrelevante en condiciones de termofilia para afectar considerablemente la viabilidad de los huevos de helminto.

REFERENCIAS

Barnejee, A., Elefsiniotis, P. y Tuhtar, D. (1998) Effect of HRT and temperature on the acidogenesis of municipal primary sludge and industrial wastewater. <i>Water Science Technology</i> . 38, (8-9):417-423.
Barrios, J. A., Jiménez, B., González, O., Salgado, G., Sanabria, L Iturbe, R. (2000). Destrucción de coliformes fecales y huevos de helmintos en lodos fisicoquímicos por vía ácida. Instituto de Ingeniería de la UNAM. XII Congreso Nacional, FEMISCA, Morelia, México: 683-692.
Barrios, J. A., Maya, C., Jiménez, B. (2002) Tratamiento ácido de lodos residuales fisicoquímicos para reducir el contenido de bacterias. XXVIII Congreso interamericano de ingeniería sanitaria y ambiental. Gestión inteligente de los recursos naturales desarrollo y salud, FEMISCA, AIDIS CWWA, octubre 27 a noviembre 1 de 2002 Cancún, Quintana Roo México.
Bruce, A. (1984) Sewage sludge stabilisation and disinfection. WRC by Ellis Horwood Limited. England. <i>Romental Microbiology</i> : 813.
Buyukkamaci, N., Filibeli, A. (2003) Volatile fatty acid formation in an anaerobic hybrid reactor. <i>Process Biochemistry</i> , Artículo en prensa.
Caballero Ma. L., (1998) Inmunología de la infección por helmintos. <i>Revista Española Alergol Inmunología Clínica</i> . 13,(6):299-313.
Cabirol, N., Rojas, O. M., Noyola, A. (2002) Removal of helminth eggs and fecal coliforms by anaerobic thermophilic sludge digestion. <i>Water Science and Technology</i> . 45,:269-274.
Capizzi, S. B. y Schwartzbrod, J. (2001) Irradiation of <i>Ascaris ova</i> in sludge an electron beam accelerator. <i>Water Research</i> .35,(9):2256-2260.
Capizzi, S. B., Deloge, M., Remy, M., Schwartzbrod, J. (2004) Liming as an advanced treatment for sludge sanitisation: helminth eggs elimination- <i>Ascaris</i> eggs as model. <i>Water Research</i> .38,:3251-3258.
Carrington, E. G. y Harman, S. A. (1984) Chapter 19 The effect of anaerobic digestion temperature and retention period on the survival of <i>Salmonella</i> and <i>Ascaris ova</i> . <i>Sewage sludge stabilisation and disinfection</i> . Editorial Bruce A. M.:369-380.
Carrington, E. G (1985) Pasteuritation; effects on <i>Ascaris</i> eggs. In: <i>Inactivation of Micro-organisms in Sewage by Stabilisation Processes</i> , Hohenheim, 8-10 October 1984, edit by D. Strauch, A. H. Havelaar and P. I Hermit. Elsevier Applied Science Publishers, London.:121-125.

Carrington, E., Pike, E., Auty, D and Morris, R. (1991) Destruction of fecal bacterial, enteroviruses and ova of parasites in wastewater sludge by aerobic thermophilic and anaerobic mesophilic digestion. <i>Water Science Technology</i> .24,(2):377-380.
Carrington, E. G. (2001) Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction-final report. Study Contract No. B4-3040/2001/322179/MAR/A2 for the European Commission Directorate-General Environment.
Curtis, H. (1983) <i>BIOLOGÍA</i> . Cuarta edición. Editorial medica panamericana
Dinamarca, S., Chamy, R., y Guerrero, L. (2002) Influencia del pH en la etapa hidrolítica de la digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos sólidos domiciliarios. VII Taller y Simposio Latinoamericano Sobre Digestión Anaerobia 22-25/10/2002, FEMISCA y International Water Association, Mérida, Yucatán, México.
Environmental protection agency. (1992) Environmental Regulations and Technology Control of pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge (including domestic septage) under 40 CRF part 503, Appendix I, Analytical Method for Viable Helminth Ova, Washington, D.C.
Environmental protection agency. (1984) A plain English guide to the EPA part 503. Biosolids rule. Rapport U.S. EPA 832/R-93/003,176.
Environmental protection agency. (1992) Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge Rapport U.S.EPA 625/RR-92/013,149.
Environmental protection agency. (1996) A plain English guide to the EPA Part 503. Biosolids rule. Estados Unidos de America.
Environmental protection agency. (1999) Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. Report EPA/625/R-92/013, US EPA, Washington DC.
Fairbarn, D. (1954) Embryonic and postembrionic changes in the lipids of <i>Ascaris lumbricoides</i> eggs. <i>Canadian Journal of Biochemistry and Physiology</i> ,33,:122-129.
Fleta, J. Z, Rodríguez, G. M. L, Moreno, A. (2002) Helmintiasis intestinales: infecciones por nematodos poco frecuentes. <i>Salud Pública</i> . XIX, (8) 1ª quincena de mayo.
Fraser, J.A.L., Godfree, A.F., Gibson, D., Jones, F. y Slater, D. (1983). Sewage sludge disinfection using peracetic acid. Presented to the North Western Branch of the Institute of Water Pollution Control. 9 th. November (in press).
Fraser, J.A.L., Godfree, A.F. y Jones, F. (1984). Use of peracetic acid in operational sewage sludge disposal to pasture. <i>Water. Science. and Technology</i> .17,:451-466.
Fukushi, K., Babel, S., Burakrai, S. (2003) Survival of <i>Salmonella spp.</i> in a simulated acid-phase anaerobic digester treating sewage sludge. <i>Bioresource Technology</i> .86,:177-181.

<p>Gaasenbeek, C. P. H, and Borgsteede, F. H. M. (1998) Studies on the survival of <i>A. suum</i> eggs under laboratory and simulated field conditions. <i>Veterinary parasitology</i>, 75 (2-3):227-234.</p>
<p>Gaspard, P. (1995) Contamination parasitaire dans l'environnement : prospective pour une gestion des risques sanitaires. Docteur de L'Université Henri Poincaré-Nancy.</p>
<p>Ghiglietti, R., Rossi, P., Ramsan, M., Colombi, A. (1995) Viability of <i>Ascaris suum</i>, <i>Ascaris lumbricoides</i> and <i>Trichuris muris</i> eggs to alkaline pH and different temperatures. <i>Parassitologia</i>.37,:229-232.</p>
<p>Ghiglietti, R., Genchi, C., Di Matteo, L., Calcaterra, E., Colombi A. (1997) Survival of <i>Ascaris suum</i> eggs in ammoni-treated wastewater sludges. <i>Bioresource Thechnology</i>.59,:195-198.</p>
<p>Ghosh, S., Buoy, K., Dressel, L., Miller, T., Wilcox, G., Loos, D. (1995) Pilot-and full-scale two-phase anaerobic digestion of municipal sludge. <i>Water Environmental Research</i>.67 (2):206-214.</p>
<p>Godfree, A.F., Jones, F., Satchwell, M., Watson, D.C. (1984) The effectiveness of chemical disinfection on faecal bacteria in sludge en: sewage sludge stabilisation and disinfection. Editor Bruce, A.M., Water Researcher Centre, Ellis Horwood Limited.</p>
<p>González, A., Rodríguez, J. A., Barrios, A., Maya, y Jiménez, B. (2002) Evaluación del tratamiento de lodo fisicoquímico con ácido acético y peracético para producir biosólidos. Expo Ambiental XIII Congreso Nacional, FEMISCA, Instituto de Ecología Guanajuato AIDIS abril.</p>
<p>Horiuchi, J-I., Shimizu, T., Tada, K., Kanno, T., and Kobayashi, M. (2002) Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. <i>Bioresource Technology</i>.82,(3):209-213, FEMISCA, Instituto de ecología de Guanajuato y AIDIS.</p>
<p>Jiménez, C. B., La contaminación ambiental en México causas, efectos y tecnología apropiada. Limusa Noriega Editores, México.</p>
<p>Johnson, P. W., Dixon, R. y Ross, A. D. (1997) An in vitro test for assessing the viability of <i>Ascaris suum</i> eggs exposed to various sewage treatment processes. <i>International Journal for Parasitology</i>.28,:627-633.</p>
<p>Kiff, R.J. y Lewis-Jones, R. (1984). Factors that govern the survival of selected parasites in sewage sludges. En: <i>Sewage Sludge Stabilisation and Disinfection</i>. Bruce, A.M. (ed.) Ellis Horwood Limited.:452-461.</p>
<p>Lamothe, R., García, L. (1988) Helminthiasis del hombre en México.:59-69 Editorial. AGT EDITOR, S.A.</p>
<p>Lara, A. R. (1984) Las geohelminthiasis en México y perspectivas de su control. <i>Salud Pública México</i>.26:573-578.</p>

López, M. M., Encinas, S. A., Cano, L. J., y Grupo de habilidades en patología digestiva (2001). Parasitosis intestinales. Medicina General.31,:143-148.
Lue-Hing, C., Zens, D. y Kuchenriter, R. (1992). Municipal sewage sludge management: processing, utilization and disposal. Ed. Technomic Publishin Company:663, Estados Unidos.
Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. (1999) Brock biología de los microorganismos. 8a Ed., Prentice may Iberia, Madrid,:1064.
Metcalf y Eddy (1996). Ingeniería de aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización. Tercera edición. 2 ^o Tomo. McGraw-Hill.:753-1485.
Norma oficial mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, Diario Oficial, 21 de septiembre de 1998.
Norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 Protección ambiental-Lodos y Biosólidos Especificaciones y Límites Máximos Permisibles de Contaminantes Para su Aprovechamiento y Disposición Final Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
Owen, R.R. (1984) The effectiveness of chemical disinfection on parasites in sludge. En: Sewage sludge stabilization and disinfection. Bruce, A.M. (ed.) Ellis Horwood Limited.:426-439.
Pérez, L. G. y García, P. L. (2001) Diversidad de helmintos parásitos de vertebrados silvestres de México. www.conabio.gob.mx .
Peterson, M. L. (1971) Parasitological examination of compost U.S. Enviromental Protection Agency. Office of Research and Monitoring Solid Waste Research. Cincinnati, OH.
Rojas-Oropeza. M., Cabirol, N., Ortega, S., Ortiz, C. L. P., y Noyola, A. (2001) Removal of fecal indicator organisms and parasites (fecal coliforms and helminth eggs) from municipal biologic sludge by anaerobic mesophilic and thermophilic digestion. Water Science Technology.44 (4) :97-101.
Rojas-Oropeza. M., (2001) Remoción de patógenos y parásitos (coliformes fecales y huevos de helmintos) durante el tratamiento de lodos por digestión anaerobia bajo condiciones de mesofilia y termofilia. Tesis de licenciatura. UNAM Iztacala.
Roth, L.A. y Keenan, D. (1971). Acid Injury of <i>Escherichia coli</i> . Canadian Journal of Microbiology.17, (8),:1005-1008.
Tay, Z. G., Gutierrez Q. M., Rodríguez Q. M. A. y López, M. R. C. R. (1995). Microbiología y parasitología médicas. Segunda edición. Ed Méndez. México : 3.1-3.33.

Tay, Z. J. y Sánchez, V. J. T. (2001) Características de protozoarios y helmintos capaces de causar diarrea aguda en humanos. Laboratorio de parasitología, Departamento de microbiología y parasitología, Facultad de medicina, UNAM. Unidad de medicina familiar No. 28 Gabriel Mancera, IMSS.

Ville, C., Solomon, E. P., Berg, L. R., Martin, D. W. (1998) Biología. Cuarta edición. McGraw-Hill Interamericana México: 1305.

Wharton, D. A. (1983) the production and functional morphology of helminth eggshells. Parasitology. 86:85-87.

www.drscope.com/pac/infecto-1/a5/inla5_p37.htm

ANEXOS

ANEXO 1.

En el siguiente capítulo se presentan las formas de preparación de cada medio que se utilizó tanto para el testigo así como para los tratamientos.

Tabla de anexos 1 Reactivos para buffer fosfato del testigo y tratamientos

	Testigo	Tratamientos
KH ₂ PO ₄	1.92 g	0.429 g
K ₂ HPO ₄	1.61 g	4.527 g

Para 1000 mL de agua destilada.

Preparación del medio anaerobio c/buffer fosfato para los tubos testigos.

- ❖ Mezclar los reactivos y soluciones de la Tabla de anexos 2 excepto la cisterna, en un matraz erlenmeyer de capacidad adecuada para el volumen de medio a preparar.
- ❖ Agregar agua destilada en un exceso aproximadamente un tercio del volumen a preparar, disolver y mezclar perfectamente, el medio presentará una coloración de violeta a rosa intenso.
- ❖ Poner a ebullición el medio en una parrilla caliente, en la zona donde está el manifold, introducir una de las jeringas sin aguja y dejarla por encima del nivel del líquido.
- ❖ Cuando el medio empiece a ebullición, iniciar el burbujeo con nitrógeno (N₂), permitir un burbujeo intenso, pero que no haga proyectarse al medio.
- ❖ Cuando el líquido alcance el volumen deseado, normalmente tendrá un color rosa muy pálido, si no es así agregar un poco de agua destilada y permitir que se siga reduciendo.
- ❖ Enfriar aún con la corriente de nitrógeno (N₂), se puede poner en un recipiente con agua fría.
- ❖ Tapar con un tapón de hule adecuado sellar, dejando una orilla libre para manipular en la cámara anaerobia.
- ❖ Meter a la precámara, junto con los frascos perfectamente limpios, los septos y el dosificador, llenar los frascos con 10 mL.
- ❖ Cambiar atmósfera con N₂ durante un minuto, introduciendo dos agujas en los tapones de los frascos e inyectando el gas por una de estas, hasta desplazar todo el oxígeno.
- ❖ Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 120 °C y bajo una presión de 15 psi.

- ❖ Permitir el enfriado de los tubos, revisar que el medio tenga un ligero color paja y esté cristalino, desechar los tubos que tengan coloración rosa o precipitados.

Tabla de anexos 2 Reactivos utilizados en el medio anaerobio c/ buffer fosfato para testigo

Soluciones	Cantidades
KH ₂ PO ₄	1.92 g
K ₂ HPO ₄	1.61 g
Solución de vitaminas	10 mL
Solución de oligoelementos	10 mL
Extracto de levadura	1 g
Peptona de caseína	1 g
Solución de FeSO ₄ ·7H ₂ O	1 mL
Solución de NiCl ₂	10 mL
Cisterna	1.2 g

Preparación en 2000 mL de agua destilada.

Preparación del medio anaerobio c/buffer fosfato para los tratamientos.

- ❖ Mezclar los reactivos y soluciones de la Tabla de anexos 3 excepto la cisterna, en un matraz erlenmeyer de capacidad adecuada para el volumen de medio a preparar.
- ❖ Agregar agua destilada en un excesote aproximadamente un tercio del volumen a preparar, disolver y mezclar perfectamente, el medio presentará una coloración de violeta a rosa intenso.
- ❖ Poner a ebulir el medio en una parrilla caliente, en la zona donde está el manifold, introducir una de las jeringas sin aguja y dejarla por encima del nivel del líquido.
- ❖ Cuando el medio empiece a ebulir, iniciar el burbujeo con N₂, permitir un burbujeo intenso, pero que no haga proyectarse al medio.
- ❖ Cuando el líquido alcance el volumen deseado, normalmente tendrá un color rosa muy pálido, si no es así agregar un poco de agua destilada y permitir que se siga reduciendo.
- ❖ Enfriar aún con la corriente de N₂, se puede poner en un recipiente con agua fría.
- ❖ Tapar con un tapón de hule adecuado sellar, dejando una orilla libre para manipular en la cámara anaerobia.
- ❖ Meter a la precámara, junto con os frascos perfectamente limpios, los septos y el dosificador, llenar los frascos con 10 mL.
- ❖ Cambiar atmósfera con N₂ durante un minuto, introduciendo dos agujas en los tapones de los frascos e inyectando el gas por una de estas, hasta desplazar todo el oxígeno.
- ❖ Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 120 °C y bajo una presión de 15 psi.

- ❖ Permitir el enfriado de los tubos, revisar que el medio tenga un ligero color paja y esté cristalino, desechar los tubos que tengan coloración rosa o precipitados.

Tabla de anexos 3 Reactivos utilizados en el medio anaerobio con buffer fosfato para tratamientos

Soluciones	
KH ₂ PO ₄	0.8580 g
K ₂ HPO ₄	9.0540 g
Solución de vitaminas	20 mL
Solución de oligoelementos	20 mL
Extracto de levadura	2 g
Peptona de caseína	2 g
Bicarbonato de sodio	6 g
Solución de FeSO ₄ ·7H ₂ O	2 mL
Solución de NiCl ₂ (5 mg/100mL)	20 mL
Cisterna	2.4 g

Preparación en 2000 mL de agua destilada.

En las siguientes dos tablas se muestra la preparación de las soluciones utilizadas en el medio anaerobio.

Tabla de anexos 4 Solución de vitaminas

Biotina	2.0 mg
Ácido fólico	2.0 mg
Piridoxina HCL	10.0 mg
Tiamina HCL	5.0 mg
Riboflavina	5.0 mg
Ácido nicotínico	5.0 mg
D.L pantotenato de calcio	5.0 mg
Vitamina B12	1.0 mg
Ácido p-aminobenzóico	5.0 mg
Acido lipoico	5.0 mg

Balch *et al.* 1977. Disolver en agua destilada, se recomienda disolver uno por uno completamente, la solución normal tiene un color amarillo muy tenue. Aforar a 1000 mL. Cubrir el frasco con papel aluminio.

Tabla de anexos 5 Solución de oligoelementos

Ácido nitrilotriacético	1.5 g
-------------------------	-------

Disolver en aproximadamente 900 mL de agua destilada y ajustar cuidadosamente el pH a 6.5 KOH antes de agregar los siguientes reactivos.

MgSO ₄ ·7H ₂ O	3.0 g
MnSO ₄ ·2H ₂ O	0.5 g
NaCl	1.0 g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.1 g
CoSO ₄	0.1 g
CoCl ₂ (cuando no existe el anterior)	0.1 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.1 g
ZnSO ₄	0.1 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.01 g
AlK (SO ₄) ₂	0.01 g
H ₃ BO ₃	0.01 g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.01 g

Balch *et al.* 1977. Disolver todos los reactivos, ajustar muy cuidadosamente el pH a 7 y aforar a 1000 mL con agua destilada previamente neutralizada con hidróxido de potasio (KOH).

Preparación y ajuste de los tratamientos.

Cada tratamiento se preparo en 50 mL de agua destilada, con distintas combinaciones de ácidos orgánicos en la Tabla de anexos 6 se muestra el volumen (mL) que se ocupo de estos para cada tratamiento

Tabla de anexos 6 Volumen de los ácidos utilizados para los tratamientos (mL)

Tratamientos	acético	Propiónico	butírico	valérico	isovalérico
I	4.0	2.2	1.2	-	-
II	2.2	4.0	1.2	-	-
III	4.0	2.2	-	0.6	0.6
IV	2.2	4.0	-	0.6	0.6

En la Tabla de anexos 7 se muestran las concentraciones de los ácidos para cada tratamiento.

Tabla de anexos 7 Concentración de los ácidos en mg/L

Tratamientos	acético	Propiónico	butírico	valérico	isovalérico
I	4200	2200	1200	-	-
II	2200	4200	1200	-	-
III	4200	2200	-	600	600
IV	2200	4200	-	600	600

Antes de usar los tratamientos se ajusto el pH para obtener el valor requerido en nuestro experimento, el ajuste se hizo añadiendo perlas de KOH, como se muestra en la Tabla de anexos 8.

Tabla de anexos 8 Ajuste del pH de los tratamientos con KOH

Tratamientos	pH Inicial	Perlas KOH	pH final
I	2.39	30	4.83
II	2.43	25	4.74
III	2.33	30	4.82
IV	2.41	25	4.76

En la Tabla de anexos 9 se muestran los valores obtenidos en las pruebas previas al arranque, al medio (c/buffer fosfato) se le adicionaron los 500 μ L de tratamiento, mostrando el valor final de pH en el cual estuvieron los HH durante todo el desarrollo del diseño experimental.

Tabla de anexos 9 pH final del medio más los tratamientos.

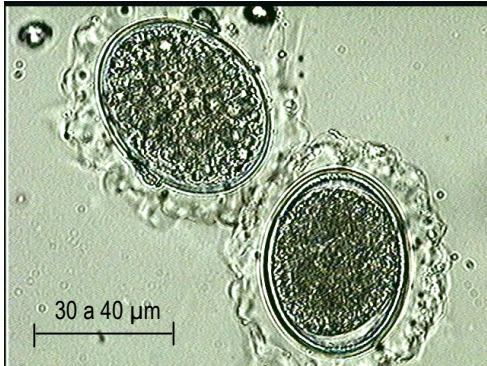
Tratamientos	pH del medio	pH tratamiento	pH final del medio
I	7.13	4.83	5.55
II	7.11	4.74	5.58
III	7.07	4.82	5.64
IV	7.10	4.76	5.58

Las botellas contenían 10 mL de medio y se adicionaron 500 μ L.de tratamiento.

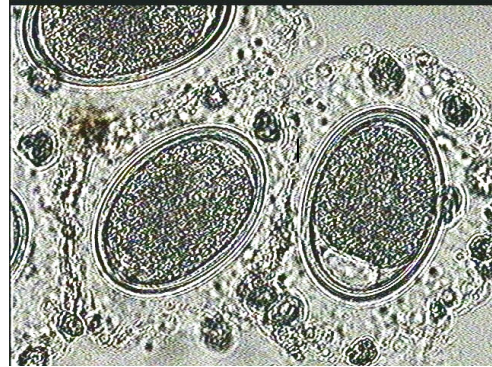
ANEXO 2

Fotografías.

La toma de fotografías se realizó con un microscopio Axioskop Zeiss, y la ayuda de una cámara Don Caster, tomando como huevo viable aquel en el cual se generó una larva y no viable en los que no se generó, también encontramos huevos no fertilizados, y otros destruidos.



Huevos recién diseccionados,
longitud de 50 a 70 μm x
30 a 40 μm de ancho.
40 x



Huevos recién diseccionados,
se observa, la cubierta de sustancia
mucilaginosa que cubre a los
huevos y los mantiene unidos.
40 x



Huevo de *Ascaris suum* en división
celular, la forma se modifica un poco,
haciéndose ligeramente redondo.
40 x



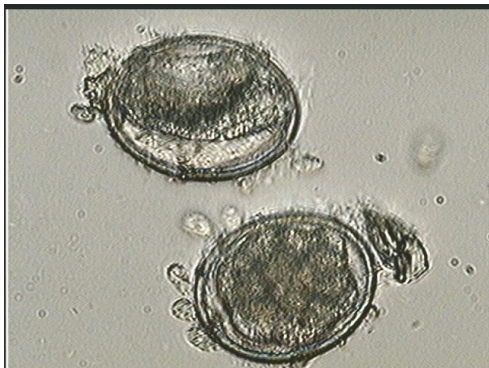
El huevo de *Ascaris suum*, en
división celular, donde los polos se
separan, adquiriendo forma
ligeramente ovoidal.
40 x



Huevo de *Ascaris suum* en división.
40 x



Se observa la pared externa e interna sin daño, continuando con la división celular.
40 x con filtro azul



En la parte superior se observa un huevo larvado o viable, y en la inferior otro en división, los dos de *Ascaris suum*.
40 x



Se observa claramente la larva formada, dentro del huevo de *Ascaris suum*, visto lateralmente.
40 x



Huevo de *Ascaris suum*,
perfectamente larvado, sin las
mamelas, vista frontal.
40 x



Huevo de *Ascaris lumbricoides*,
larvado, presentando las mamelas.
40 x



Larva de *Ascaris suum*,
eclosionando.
40 x filtro azul



Parte final de la eclosión de,
Ascaris suum.
40 x.

