



IZTACALA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

*FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA*

**INACTIVACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTOS BAJO EL  
EFECTO SINÉRGICO DE TEMPERATURA, ÓXIDO DE  
CALCIO (CaO) Y HUMEDAD**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I Ó L O G O**

**P R E S E N T A:**

**HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ EMILIO**

Tutor: M. en C. CATALINA MAYA RENDÓN

Reyes Iztacala, Edo. de México

2009



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 49032

A la M. en C. Catalina Maya Rendón por su comprensión, apoyo y consejos que tubo durante el trabajo experimental y escrito de esta tesis, gracias!!

A la Dra. Patricia Bonilla Lemus, a la Dra. Maria del Rosario Sánchez Rodríguez, a la Dra. Elvia Manuela Gallegos Neyra y a la M. en C. Elizabeth Ramírez Flores de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por sus valiosas aportaciones y sugerencias académicas.

A los profes que me alentaron a continuar y culminar con este sueño: Angel Lara, Víctor Esparza, Sergio Rosales.

A Judith (socios), Isabel (divorciados), Ericka (temoaya), Lucero, Angélica y Diana por dejarme compartir inolvidables momentos en el laboratorio y practicas de campo, ah! sin olvidarme de toda la banda del grupo 51: Nacho, Tomas, Ulises, Canijillo, Daniela, Mayra, Rodolfo, Karla, Mireyon, Paquis, Sergio, Rodrigo, Laura, Diana M. y compañeros que fui conociendo a lo largo de la carrera ya que cada uno de ustedes fueron parte fundamental de mi buen desarrollo académico y “social”, muchas gracias supermegavalepunks!!

A Soledad, Tania, Carolina e Idalia por su gran apoyo y enseñanza, así como a los compañeros que me hicieron más amena mi estancia en el Instituto de Ingeniería.

# **Dedicatorias**

## **DIOS**

**Gracias por darme la oportunidad y dicha no solo de vivir si no de poder entender un poquito más de la "vida", por toda la fortaleza y valor que me has proporcionado para cumplir esta meta y sobre todo gracias por mantener a mi lado a una gran familia.**

## **PADRES**

**Isabel (chabela) y Germán por enseñarme que luchando y manteniendo unida a las personas que amas se puede lograr "todo", por respetar y apoyarme en todas mis decisiones, durante toda mi vida, por su ejemplo de fuerza inagotable y perseverancia ante cualquier circunstancia.**

## **MIS HERMANOS**

**Salvador, Josefina, Leonardo y Mario (cuasihermano) gracias por todos sus cuidados, consejos y sobre todo por el apoyo incondicional que han**

tenido no solo económico si de verdaderos carnales, gracias por enseñarme a trabajar, estudiar, obedecer, escuchar, reir, llorar y amar, gracias por ser como son!



<b>5. RESULTADOS</b>	
5.1 Cantidad de sólidos totales y del porcentaje de humedad .....	42
5.2 Inactivación de las seis especies de huevos de helmintos.....	43
5.2.1 <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	43
5.2.2 <i>Ascaris suum</i> .....	44
5.2.3 <i>Toxocara canis</i> .....	45
5.2.4 <i>Trichuris trichiura</i> .....	46
5.2.5 <i>Hymenolepis nana</i> .....	46
5.2.6 <i>Taenia solium</i> .....	47
5.2.7 Contenido de huevos no viables (HNV) de los helmintos.....	48
5.2.7.1 Cantidad de HNV en la matriz seca .....	48
5.2.7.2 Cantidad de HNV en la matriz húmeda .....	49
5.3 Eficiencia de inactivación de los huevos de helmintos.....	50
5.3.1 Eficiencia de inactivación en matriz seca .....	50
5.3.2 Eficiencia de inactivación en matriz húmeda.....	51
5.4 Análisis estadístico .....	52
5.4.1 Factor especie fijo .....	53
5.4.2 Factor humedad fijo .....	56
5.4.3 Factor tiempo fijo .....	58
5.5 Monitoreo de pH, temperatura y viabilidad con azul tripán .....	60
5.6 Daños ocasionados en la morfología de los huevos de helmintos .....	62
<b>6. ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	
6.1 Variación del porcentaje de sólidos totales .....	67
6.2 Efecto de la temperatura de 45° C.....	67
6.3 Efecto del pH alcalino con CaO .....	67
6.4 Efecto de la humedad .....	68
6.5 Efecto sinérgico de temperatura, pH y humedad .....	69
6.6 Cambios en la morfología de los huevos .....	71
6.7 Indicador de contaminación fecal en lodos y biosólidos .....	73
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	74
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	76
<b>ANEXO I PREPARACIÓN DE SOLUCIONES</b> .....	83
<b>ANEXO II BASE DE DATOS</b> .....	84
<b>ANEXO III CERTIFICADO DE CONCENTRADOS DE LOS HUEVOS DE HELMINTOS</b> .....	90

## CONTENIDO DE TABLAS

1.1	Tiempo de sobrevivencia de microorganismos patógenos	10
1.2	Principales enfermedades transmitidas por helmintos	12
1.3	Estimación mundial de infecciones transmitidas por helmintos por grupo de edad-años	18
1.4	Principales estructuras de los céstodos	15
1.5	Principales características de los huevos de céstodos	17
1.6	Principales características de los huevos nemátodos	20
1.7	Función y composición de las capas de los huevos de nemátodos	20
1.8	Contenido de huevos de helmintos en lodos residuales a nivel mundial	21
2.1	Generación de lodos en diferentes países del mundo	23
2.2	Principales características químicas, físicas y biológicas de lodos residuales	24
2.3	Principales microorganismos patógenos en el agua y lodo residual	25
2.4	Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos	26
2.5	Diferentes procesos para el tratamiento del lodo residual	27
3.1	Efecto de la temperatura y tiempo sobre la viabilidad de los huevos de helmintos	29
3.2	Efecto de la humedad y tiempo sobre la viabilidad de los huevos de helmintos	30
3.3	Efecto del CaO, tiempo y humedad sobre la viabilidad de los huevos de helmintos	31
4.1	Origen del concentrado de los huevos de helmintos	34
5.1	Cantidad inicial, máximo y final de huevos no viables en la matriz seca	48
5.2	Cantidad inicial, máximo y final de huevos no viables en la matriz húmeda	49
5.3	Eficiencia de la inactivación de los huevos de helmintos en la matriz seca	51
5.4	Eficiencia de la inactivación de los huevos de helmintos en la matriz húmeda	52
5.5	Análisis de varianza factorial (ANOVA)	53
5.6	Variación de pH durante el tiempo de exposición	61
5.7	Monitoreo de temperatura en el área de almacenamiento de las unidades experimentales	62
10.1	Cantidad de sólidos totales y porcentaje de humedad en la matriz seca y húmeda en cada tiempo de exposición	84
10.2	Conteo de huevos viables y no viables en cada tiempo de exposición en la matriz seca y húmeda	85
10.3	Monitoreo de temperatura y humedad en el área de almacenamiento durante el periodo de experimentación	87

## CONTENIDO DE FIGURAS

1.1 Distribución mundial de infecciones de helmintos transmitidas por el suelo.....	13
1.2 Sistemática del grupo de los helmintos .....	14
1.3 Ciclo biológico de <i>Taenia solium</i> .....	16
1.4 Estructuras básicas de las capas de huevos de céstodos .....	17
1.5 Ciclo biológico de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	19
1.6 Índice de frecuencia de los huevos de helmintos en México .....	22
4.1 Metodología del acondicionamiento de la matriz .....	36
5.1 Variación del porcentaje de los sólidos totales y humedad en cada tiempo de exposición en la matriz húmeda .....	42
5.2 Variación del porcentaje de los sólidos totales y humedad en cada tiempo de exposición en la matriz seca .....	43
5.3 Inactivación de los huevos de <i>A. lumbricoides</i> .....	44
5.4 Inactivación de los huevos de <i>A. suum</i> .....	45
5.5 Inactivación de los huevos de <i>T. canis</i> .....	45
5.6 Inactivación de los huevos de <i>T. trichiura</i> .....	46
5.7 Inactivación de los huevos de <i>H. nana</i> .....	47
5.8 Inactivación de los huevos de <i>T. solium</i> .....	47
5.9 Cantidad de huevos no viables de cada especie en la matriz seca .....	49
5.10 Cantidad de huevos no viables de cada especie en la matriz húmeda.....	50
5.11 Inactivación de los huevos de <i>A. suum</i> en la matriz seca y húmeda .....	54
5.12 Inactivación de los huevos de <i>A. lumbricoides</i> en la matriz seca y húmeda....	54
5.13 Inactivación de los huevos de <i>T. canis</i> en la matriz seca y húmeda .....	55
5.14 Inactivación de los huevos de <i>T. trichiura</i> en la matriz seca y húmeda.....	55
5.15 Inactivación de los huevos de <i>H. nana</i> en la matriz seca y húmeda .....	56
5.16 Inactivación de los huevos de <i>T. solium</i> en la matriz seca y húmeda .....	56
5.17 Inactivación de los huevos de helmintos en matriz seca .....	57
5.18 Inactivación de los huevos de helmintos en matriz húmeda .....	58
5.19 Inactivación de los huevos de helmintos en 30 min. ....	59
5.20 Inactivación de los huevos de helmintos en 1 hora .....	60
5.21 Inactivación de los huevos de helmintos en 1 día .....	60
5.22 Huevos de <i>T. canis</i> teñidos con azul tripán .....	63
5.23 Huevos de <i>Ascaris</i> con cambios morfológicos en su estructura .....	64
5.24 Huevos de <i>Ascaris</i> e <i>H. nana</i> con cambios en su estructura .....	65
5.25 Huevos de <i>T. canis</i> y <i>T. trichiura</i> con algunos cambios morfológicos .....	66

## RESUMEN

Los helmintos son parásitos que, dentro de su ciclo de vida, presentan un estadio de huevo (fase infectiva), el cual, debido a la composición química de las capas o membranas que lo conforman, es resistente a diversas condiciones adversas. Esta propiedad los lleva a ocasionar una serie de enfermedades llamadas helmintosis, las cuales son responsables de más de 3 mil millones de infecciones a nivel mundial. Situación que se complica debido a la alta cantidad y variedad de huevos de helmintos que los lodos residuales de países en desarrollo presentan, como el caso de México, cuyo contenido sobrepasan los límites máximos permisibles para lodos y biosólidos. Debido a lo anterior, y después de los resultados observados en estudios previos sobre el efecto, de forma individual, que diversos agentes físicos y químicos ocasionan sobre la inactivación de huevos de helmintos, en el presente trabajo se evaluó la eficiencia que un efecto sinérgico (combinando temperatura, pH alcalino, % humedad y tiempo de contacto) tiene sobre la inactivación de estos parásitos. Para ello, se utilizaron dos matrices con dos humedades diferentes, a las que se les adicionó un número conocido de huevos viables de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum*, *Hymenolepis nana*, *Taenia solium*, *Toxocara canis* y *Trichuris trichiura*. Posteriormente, fueron sometidas a una temperatura de 45 °C por 2 h, para de forma inmediata adicionarles óxido de calcio, y finalmente se almacenaron a diferentes tiempos de contacto. La recuperación, cuantificación y determinación de la inactivación de los huevos se llevó a cabo a través de la técnica indicada en el anexo V de la NOM-004-SEMARNAT-2002. Los resultados obtenidos mostraron que el efecto sinérgico logró inactivar el 100% de todas las especies, en condiciones menos extremas y en tiempos menores a los reportados en la literatura. También se pudo observar que las especies más resistentes al tratamiento en la matriz seca fueron *A. lumbricoides* y *Taenia solium*, mientras que en la matriz húmeda fueron tanto *A. suum* como *A. lumbricoides*. Los daños observados en los huevos permiten afirmar que la inactivación se logró una vez que la capa lipídica cambió su permeabilidad, provocando la deformación de las demás capas y muerte del embrión.

## INTRODUCCIÓN

Los lodos residuales son subproductos del tratamiento de aguas residuales que concentran la mayor parte de contaminantes, entre ellos microorganismos tales como virus, bacterias, protozoos y huevos de helmintos; el tratamiento de lodos en los países en desarrollo, es una práctica que se realiza en un número limitado de plantas de tratamiento, donde en ocasiones se incluye sólo engrosamiento y vertido en las instalaciones municipales o, en el peor de los casos, se descargan al sistema de alcantarillado sin ningún tipo de tratamiento (Jiménez *et al.*, 2002; Oropeza, 2006). Problemática que se dificulta aún más al considerar la alta producción de lodo que se genera en la mayoría de los países, como por ejemplo el caso de México cuya producción es del orden de las 650 000 toneladas secas/año (DOF, 1998; Jiménez *et al.*, 2002).

Ante esta situación y con el propósito de controlar los riesgos inherentes a la generación de lodos residuales, en México se creó, la normatividad que establece los “límites máximos permisibles para indicadores, patógenos y parásitos en lodos y biosólidos” (DOF, 2003), para mejorar la estructura de saneamiento para prevenir la infección y reinfección, rompiendo el ciclo de transmisión de una persona a otra por los microorganismos, en particular por los huevos de helmintos, reportados como los de mayor resistencia a los sistemas convencionales de tratamiento y estabilización de lodos (EPA, 2002; Jiménez *et al.*, 2002).

En la actualidad los helmintos son los responsables de afectar a más de tres mil millones de personas en todo el mundo, siendo más frecuentes en regiones con higiene deficiente, sobre todo en países en vías de desarrollo del área tropical (EPA, 2002). La forma más común de contraer una infección por helmintos es a través del contacto con suelo, agua o alimentos que contienen los huevos o estadios larvarios de estos parásitos, por lo que el sector más afectado son niños menores de 5 años (Fleta *et al.*, 2002; Tay *et al.*, 2002).

Los helmintos son resistentes a un alto grado de condiciones ambientales pueden permanecer viables e infectantes durante meses o incluso varios años en el medio ambiente, lo anterior se debe a que presentan una etapa de incubación en el suelo por varias semanas antes de transformarse en infecciosos (Tay *et al.*, 2002; Ryan y Ray, 2005). De esta forma, resulta necesario llevar a cabo la estabilización de los lodos

residuales donde se logre la inactivación de los huevos y con ello eliminar y reducir el riesgo a la salud de la población, que su reúso pudiera implicar (Hernández, 1998).

Por lo anterior, el presente trabajo evaluó la inactivación de seis diferentes especies de huevos helmintos bajo el efecto sinérgico de la temperatura, humedad y óxido de calcio a diferentes tiempos de contacto. Con base en los resultados obtenidos se reconocieron las especies que pueden ser consideradas como microorganismos indicadores de cualquier proceso de estabilización aplicado a un lodo, una de las matrices más complejas de tratar.

# 1. Helmintos

## 1.1 Definición de Helminto

La palabra helminto se deriva del griego “*elmis* o *Helmis*” que significa gusano y la helmintología es la ciencia encargada del estudio de los gusanos, principalmente, de los microorganismos parásitos del hombre y animales.

El término parasitismo se define como: la asociación entre dos seres vivos que tiene consecuencias nocivas para uno de ellos (hospedador) y aporta beneficios al otro (parásito). Tradicionalmente en medicina este término se aplica de forma exclusiva a los protozoos, helmintos y artrópodos que viven temporalmente o permanentemente en el ser humano (Pérez *et al.*, 2006).

Los helmintos son un grupo de organismos parásitos que se caracterizan por ser metazoos, heterótrofos con una reproducción de tipo sexual, tienen órganos diferenciados; su ciclo de vida comprende la producción de huevos, larvas infecciosas y alternancia de generaciones que incluyen hasta tres huéspedes distintos (Tay *et al.*, 2002; Hernández, 2007).

Los helmintos son animales pluricelulares, de simetría bilateral con envoltura muscular cutánea, que rodea la cavidad general o celoma. Las estructuras anatómicas que poseen se hayan modificadas por la adaptación de la vida en el huésped o huéspedes, que le son necesarios. La mayoría presentan dimorfismo sexual, pero, en otros casos (céstodos y algunos tremátodos), son hermafroditas (Brusca y Brusca, 2003).

## 1.2 Huevos de helmintos

Los helmintos han desarrollado estrategias y estructuras especializadas con las que pueden sobrevivir en el ambiente durante largos periodos de tiempo antes de parasitar a un huésped, su hábitat natural y definitivo. Estas estructuras son de tal resistencia que les permiten soportar periodos largos en condiciones adversas de temperatura, humedad, pH extremos, tensión, depredación e insolación en comparación con otro tipo de microorganismos como bacterias, virus y de algunos quistes de protozoos (Tabla 1.1).

**Tabla 1.1 Tiempo de sobrevivencia de microorganismo patógenos**

Microorganismo	Suelo		Vegetación	
	Tiempo máximo Absoluto - común		Tiempo máximo Absoluto - común	
<b>Bacterias</b>	<b>1 año</b>	<b>2 meses</b>	<b>6 meses</b>	<b>1 mes</b>
<b>Virus</b>	<b>1 año</b>	<b>3 meses</b>	<b>2 meses</b>	<b>1 mes</b>
<b>Quistes de protozoos</b>	<b>10 días</b>	<b>2 días</b>	<b>5 días</b>	<b>2 días</b>
<b>Huevos de helmintos</b>	<b>7 años</b>	<b>2 años</b>	<b>5 meses</b>	<b>1 mes</b>

Fuente: EPA,1992

Las capas, que conforman a los huevos son básicamente tres, de composición química diferente: una interna de lípidos, otra intermedia de quitina y una externa de proteínas; que le confieren funciones de extrema impermeabilidad para asegurar una baja tasa de pérdida de agua, cuando los huevos son expuestos a desecación; al ataque de agentes químicos y/o al estrés mecánico (Wharton, 1983; Jiménez y Maya, 2007).

La resistencia de los huevos de helmintos se debe también a que presentan reservas de energía (principalmente triglicéridos e hidratos de carbono), tienen la capacidad de ajustar su metabolismo a las condiciones externas del medio y a la formación de diversas capas en su cascarón (Dmitryjuk *et al.*, 2006)

De acuerdo al origen embrionario (primaria, secundaria y terciaria), las capas, pueden estar o no formando parte de la estructura del huevo; llegando a diferenciarse en sub-capas, dependiendo al grupo al que pertenezca el helminto.

La importancia de la estructura y estadio de huevo de los helmintos, radica en que todos estos organismos dentro de su ciclo de vida lo presentan; el cual varía en forma y tamaño, dependiendo de la especie de la que se trate, llegan a medir entre 20 a 90  $\mu\text{m}$ , presentan una densidad de 1.06 a 1.24  $\text{g/cm}^3$  y las capas que los rodean son de consistencia viscosa (Jiménez *et al.*, 2001).

### 1.3 Helmintiosis

Los helmintos provocan enfermedades llamadas “helmintiosis” (Tabla 1.2), con importancia desde el punto de vista de la salud pública, debido a que la infección se lleva a través del contacto con suelo, agua y alimentos (como frutas y verduras)

contaminados con estos parásitos ya sea en estadio de huevo o larvas infectivas (Kozan *et al.*, 2005).

**Tabla 1.2.- Principales enfermedades transmitidas por helmintos**

Organismo patógeno	Enfermedad	Síntomas
Nemátodos		
<i>Ascaris lumbricoides</i> *	Ascariosis	Disturbios abdominales y nutricionales, dolor abdominal, vómito, inquietud, síntomas neurológicos.
<i>Ascaris suum</i>	Ascariosis	Abscesos de tos, dolor en el pecho y fiebre.
<i>Toxocara canis</i> *	Larva migrans visceral y cutánea.	Fiebre, disconformidad abdominal, dolores musculares, síntomas neurológicos.
<i>Trichuris trichiura</i>	Trichuriasis	Dolor abdominal, erosión de la mucosa intestinal y pérdida de peso.
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Strongyloidiasis	Dermatitis, neumonitis eosinofílica, diarrea con moco y náuseas.
<i>Necator americanus</i> *	Necatoriosis	Diarrea con sangre, anemia.
<i>Ancylostoma duodenale</i> *	Ancylostomosis	Cuadros diarreicos con sangrado
<i>Enterobius vermicularis</i>	Enterobiosis	Prurito y escoriaciones en región perianal y vulvar (niñas)
Tremátodos		
<i>Schistosoma spp</i> *	Schistosomosis	Diarrea sanguinolenta y obstrucción intestinal
Céstodos		
<i>Hymenolepis nana</i>	Hymenolepiosis	Enteritis, diarrea dolor abdominal y vómito
<i>Taenia solium</i> y <i>T. saginata</i>	Teniosis Cisticercosis	Nerviosismo, insomnio, anorexia, disturbios digestivos, dolor abdominal y diarrea.

Fuente: Tay *et al.*, 2002; Tay y Sánchez, 2002, \* también afecta al aparato respiratorio (Pérez *et al.*, 2006)

En general estas infecciones pueden causar variaciones nutricionales (anorexia y mala absorción), a largo plazo generan retardo en el crecimiento infantil. Los individuos infectados están determinados por procesos conductuales, sociales inmunológicos y nutricionales; ya que la prevalencia e intensidad máxima de las helmintosis se alcanza en la niñez, la adolescencia y en los grupos de jóvenes adultos (Tabla 1.3), dependiendo de la severidad de la transmisión del parásito y de su especie (Ocampo *et al.*, 1992).

**Tabla 1.3.- Estimación\* mundial de infecciones transmitidas por helmintos por grupo de edad- años**

Helminto	0 - 4	5 - 9	10 – 14	≥ 15	Total
<i>Ascaris lumbricoides</i>	122	143	144	812	1,221
<i>Trichuris trichiura</i>	86	98	96	514	795
<i>Ancylostoma duodenale</i> **	21	50	85	584	740

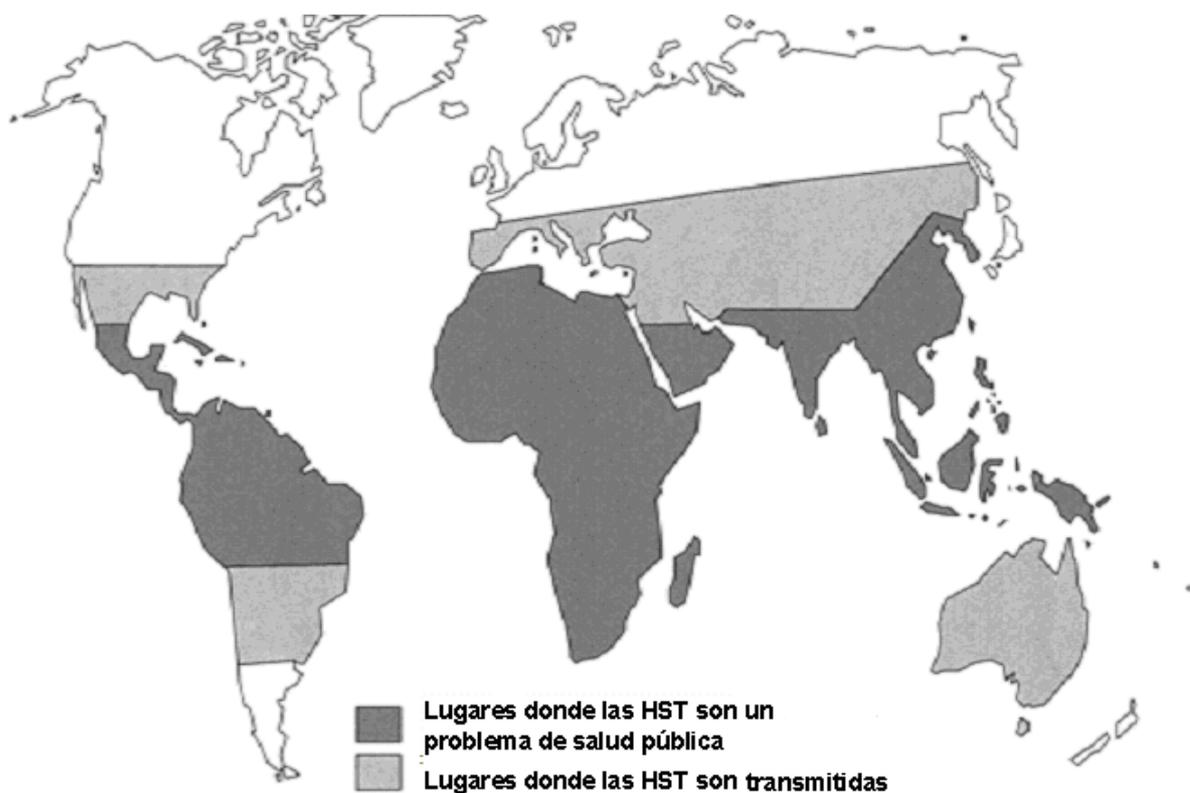
\* Millones de casos; \*\* Esta en combinación con *Necator americanus*. Fuente: De Silva, 2003

Las helmintosis parasitan a más tres mil millones de personas en todo el mundo (Fleta *et al.*, 2002) principalmente por *A. lumbricoides*, *T. trichiura* y *Ancylostoma duodenale* (Tabla 1.3); en 1999 provocaron 155 000 muertes anuales, reduciéndose a 135 000 y 27 000 muertes para el año 2002 y 2003, respectivamente (Crompton, 1999; WHO, 2002 y de Silva, 2003).

En el continente Americano se estima que entre el 20 y el 30% de la población puede estar parasitada por lombrices, tricocéfalos y/o uncinarias (Flisser y Pérez, 2006); estas infecciones son frecuentes en comunidades rurales y marginadas de países en vías desarrollo que se encuentran ampliamente distribuidas en áreas tropicales y subtropicales, las cuales principalmente son transmitidas por el suelo (Figura 1.1).

En lo que respecta a México y de acuerdo con el boletín del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SNVE) del 2005, se registraron 173 414 y 393 casos de ascariosis y taeniosis, respectivamente; otras helmintosis tales como himenolepiosis, toxocariosis y trichuriasis no están especificadas como tal; sin embargo, se reportan 400,759 casos en el rubro de “otras helmintosis”.

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 la baja escolaridad. Aspectos que se acentúan en las localidades rurales, donde el hacinamiento, el fecalismo al aire libre y la marcada coexistencia con todo tipo de animales prevalecen. Otro factor de influencia es el hábito alimenticio de ciertos grupos con predilección por la ingesta de carne semicruda con quistes de origen parasitario (Tay *et al.*, 2002).

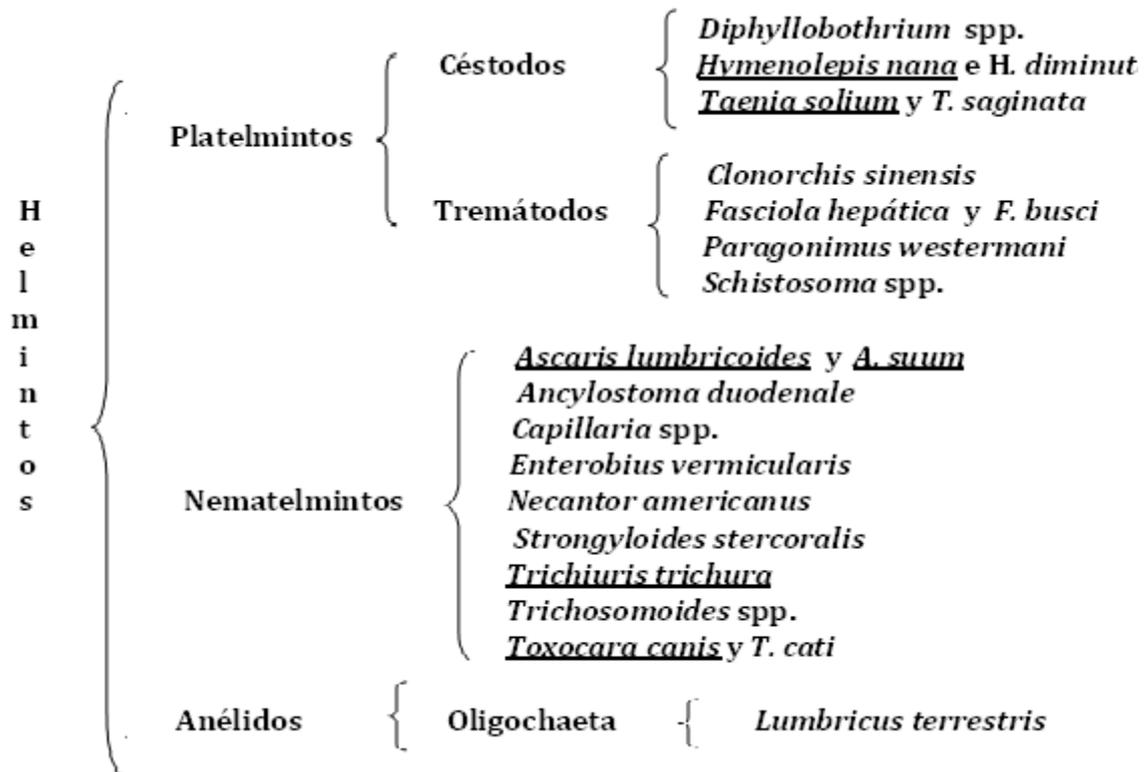


**Figura 1.1.- Distribución mundial de infecciones de helmintos transmitidas por el suelo (HTS), Fuente: Montresor *et al.*, 2002**

#### 1.4 Clasificación de los helmintos

La sistemática de los helmintos sigue siendo controvertida y es objeto de frecuentes revisiones por diferentes autores (Ruppert y Barnes, 1996; Brusca y Brusca, 2003; ADL, *et al.*, 2005), los cuales denotan principalmente tres grupos de helmintos que no están relacionados filogenéticamente entre ellos: Platelmitos, Nematelmitos y Anélidos.

En la figura 1.2 se describe la clasificación más aceptada a los grupos y especies de organismos (nombres subrayados) que experimentalmente fueron tomados en cuenta en el presente trabajo.



**Figura 1.2 Sistemática del grupo de los helmintos.** Fuente: Jiménez y Maya, 2007

A continuación se describen algunas generalidades de los Platelmintos (especialmente de céstodos) y Nematelmintos ya que de acuerdo con la clasificación que se muestra en la figura 1.2, estos dos grupos son de importancia médica.

#### 1.4.1 Generalidades de céstodos

Los céstodos constituyen la clase más diferenciada evolutivamente de los platelmintos. Las 3400 especies descritas son endoparásitos con el cuerpo cubierto por un tegumento sincitial, con modificaciones específicas, para la absorción de nutrientes (Ruppert y Barnes, 1996).

Los adultos a menudo son de color amarillo blanquecino, formado por tres estructuras: el escólex, cuello y estróbilos (Tabla 1.4), se alimentan directamente por ósmosis de los nutrientes existentes en el intestino del huésped. Es característica la presencia de una cabeza dotada de ventosas y, a veces, un róstelo armado con ganchos.

**Tabla 1.4.- Principales estructuras del cuerpo de los céstodos**

<b>Estructura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Función</b>
<b>Escólex</b>	<b>Son cuatro discos musculares de succión, fijos a una parte saliente llamada róstelo.</b>	<b>Para fijarse a la mucosa intestinal del huésped</b>
<b>Cuello</b>	<b>Es delgado, no segmentado, sin aparato genital y poco diferenciado.</b>	<b>Sirve de unión para el escólex y estróbilo</b>
<b>Estróbilo</b>	<b>Serie de proglótidos con órganos masculinos y femeninos cada uno.</b>	<b>Se realiza la fertilización conforme el proglótido o segmento se aleja cada vez más del cuello.</b>

Fuente: Tay *et al.*, 2002

### **1.4.2 Ciclo biológico de los céstodos**

La transmisión de un huésped a otro comienza cuando el embrióforo (huevo), se libera por la rotura de los proglótidos terminales y sale por las heces al medio externo, tras su ingestión (por el huésped intermediario y/ o específico) se forma la oncosfera (embrión hexacanto), el cual comienza a digerir los jugos gástricos.

Después atraviesa la pared intestinal con ayuda de los ganchos y, por vía linfática, circulatoria o parenquimatosa, llega a un determinado lugar del huésped, donde se convierte en larva, que dependiendo de la especie pueden concentrarse en: cisticerco, cisticercoide, cenuro, hidátide, procercoide y/o plerocercoide (Ruppert y Barnes, 1996; Tay, *et. al*; 2002; Brusca y Brusca, 2003).

Finalmente, del excólex se forma un proglótido, a nivel del cuello, hasta alcanzar en varios meses centenares de ellos (no en todas las especies) y formar un organismo adulto (Pumarula *et al.*, 1987).

Los céstodos presentan tres diferentes ciclos biológicos, de acuerdo al número de huéspedes intermediarios (Tay *et al.*, 2002):

1.- Con un huésped definitivo como *Hymenolepis nana*: una vez que la persona ingiere los huevos, éstos llegan al estómago, reblandecen su cubierta exterior y eclosionan en el intestino delgado, la oncosfera, que se introduce en las vellosidades intestinales, se transforma en cisticercoide; posteriormente se evagina y da lugar al parásito adulto.

2.- Con un huésped intermediario y un huésped definitivo como en el caso de *Taenia solium*: la persona infectada elimina proglótidos maduros llenos de huevos, los cuales se desintegran en el exterior liberando los huevos en el medio ambiente; cuando los proglótidos grávidos son ingeridos por los cerdos, el cisticerco, migra hacia la masa

muscular del huésped, infectándola, y al ser consumida por el humano, el cisticerco evagina en el intestino (Figura 1.3).

3.- Con un huésped definitivo y dos huéspedes intermediarios como *Dyphyllobotrium latum*

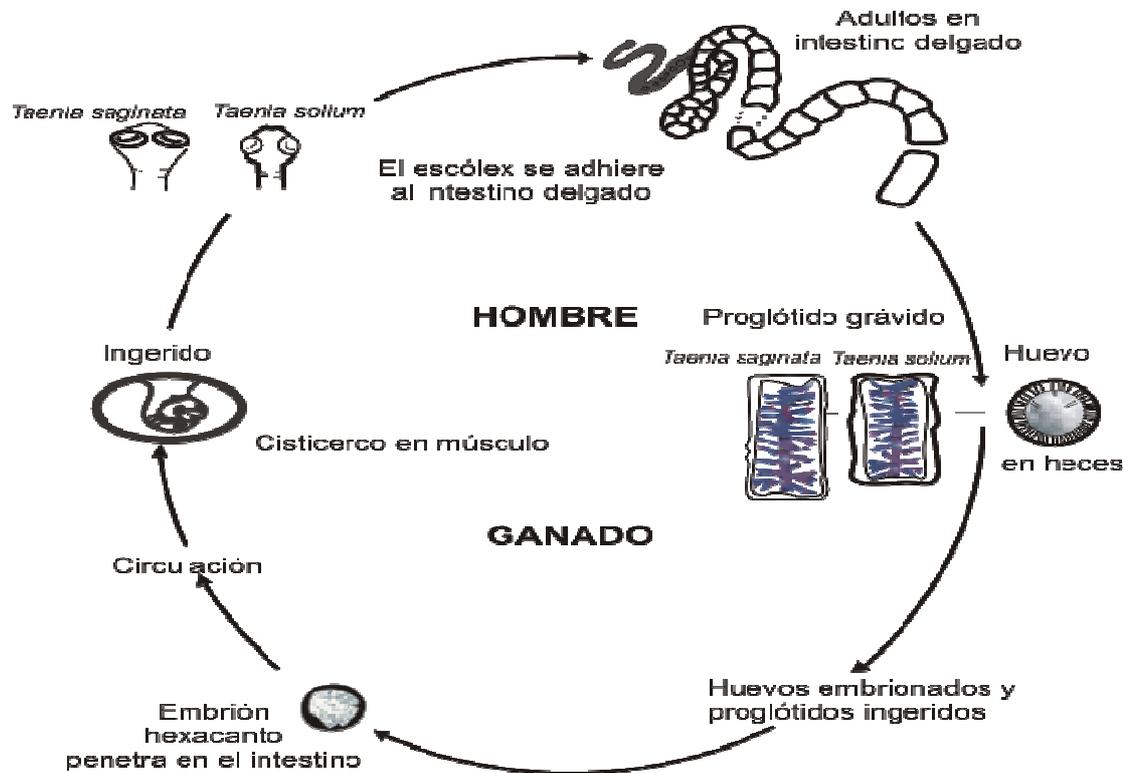


Figura 1.3. Ciclo biológico de *Taenia solium*. Fuente: Jiménez *et al.*, 2009

### 1.3.2.1 Características y composición química del huevo de céstodos

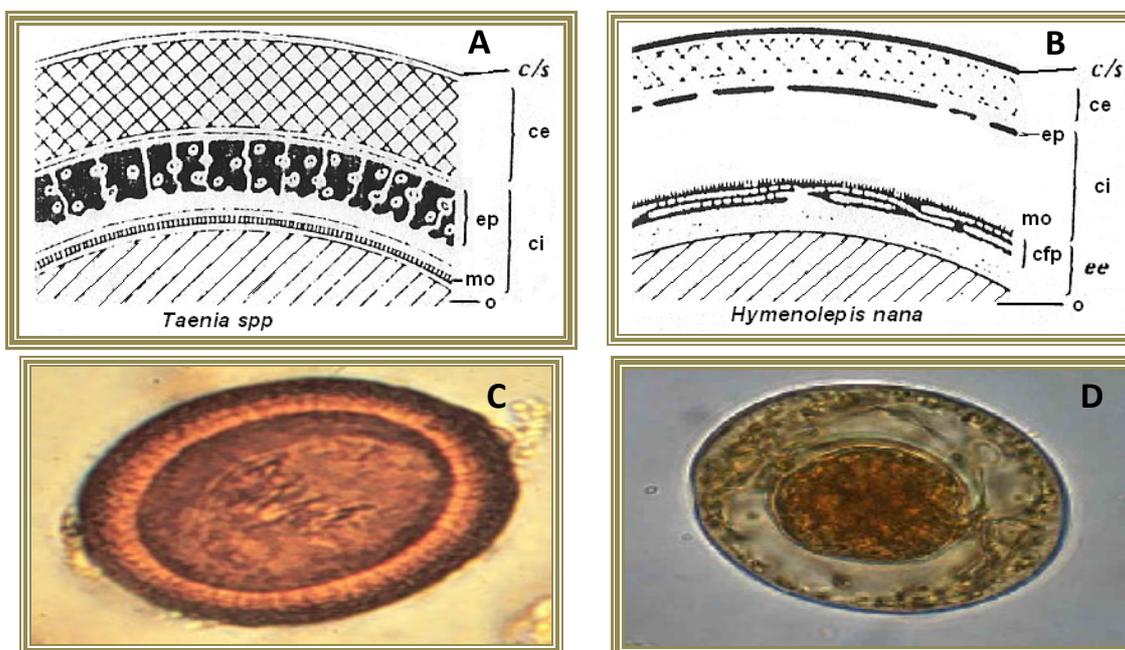
Las hembras de céstodos tienen una alta capacidad de ovoposición (cantidad de huevos que la hembra puede llegar a poner), y es dentro de los huevos donde se inicia la formación de la larva dentro del huésped. La forma y tamaño de los huevos varían con las especies (Tabla 1.5).

**Tabla 1.5.- Principales características de los huevos de Céstodos**

Céstodos	Forma	Tamaño (µm)	Capacidad de ovoposición	Tiempo de maduración	Características distintivas
<i>Hymenolepis nana</i>	Ovoide	45 x 35	80 a 180 huevos por proglótido	En el huésped	Filamentos polares
<i>Taenia solium</i>	Esférico	31 x 43	50 000 a 60 000 huevos	En el huésped	Estrías radiales

Fuente: Tay *et al.*, 2002

La oncosfera de los céstodos está rodeada por una compleja serie de capas que, según Rybicka en 1972 (citado por Wharton, 1983), son del interior al exterior: membrana oncosferal, embrióforo, capa interna, capa externa, cascarón y cápsula; los cuales pueden o no estar presentes (Figura 1.4).



**Figura 1.4.- Forma y estructura de los de huevos de céstodos.** Capas del huevo de *Taenia* spp. (A), capas del huevo de *Hymenolepis nana* (B), forma del Huevo de *Taenia solium* (C), forma del huevo de *Hymenolepis nana* (D); (u) oncosfera, (mo) membrana oncosferal, (ep) embrióforo, (cfp) capa de filamentos polares, (ci) capa interna, (ce) capa externa, (c/s) cascaron /capsula. Fuente: Wharton, 1983.

### 1.4.3 Generalidades de los Nematelmintos (nemátodos)

Los Nematelmintos o nemátodos (de *nema*, hilo y *oedes*, similar, parecido), son uno de los grupos de metazoos más abundante, con unas 25 000 especies descritas (Brusca y Brusca, 2003); en su estado adulto están rodeados de una cutícula externa hialina e interna epitelial, por debajo de la cual se encuentra una capa músculo-

subcutánea, formada por fibras musculares longitudinales; esta pared delimita el celoma, que aloja al resto de las estructuras (Tay *et al.*, 2002).

#### **1.4.4 Ciclo biológico de nemátodos**

La mayoría de los nemátodos tienen un huésped definitivo, su transmisión se produce, de forma directa o incluye huéspedes intermediarios, por la ingestión de huevos y/o larvas, a través de la piel, mucosas, o de un huésped intermediario (artrópodo); los huevos eliminados por las heces, se convierten en larvas, que presentan diversas mudas (de una a tres) hasta invadir al nuevo huésped. En algunas especies el huevo es la forma infectante (Pumarula *et al.*, 1987).

El ciclo de vida más simple lo presenta el género *Trichuris trichiura* que se alimenta, crece y cópula dentro del intestino del huésped antes de trasladarse al ano para depositar los huevecillos en la piel del perineo donde son expulsados con las heces. Los huevos deben incubarse en la tierra antes de volverse infectivos; tras la inhalación o ingestión, los huevos son deglutidos en el lumen intestinal, completando así el ciclo (Tay *et al.*, 2002).

De manera muy similar se transmite la especie de *Ascaris lumbricoides*, solo que después de brotar el huevo en el lumen intestinal, la larva penetra la pared intestinal y migra al hígado, vena cava, cavidades cardiacas derechas y pulmones del huésped, donde sufre dos mudas para penetrar en los alveolos pulmonares, rompe los capilares y asciende por los bronquios a la tráquea, hasta ser deglutida y llegar nuevamente al intestino, donde seguirá creciendo hasta convertirse en adulto (Figura 1.5).

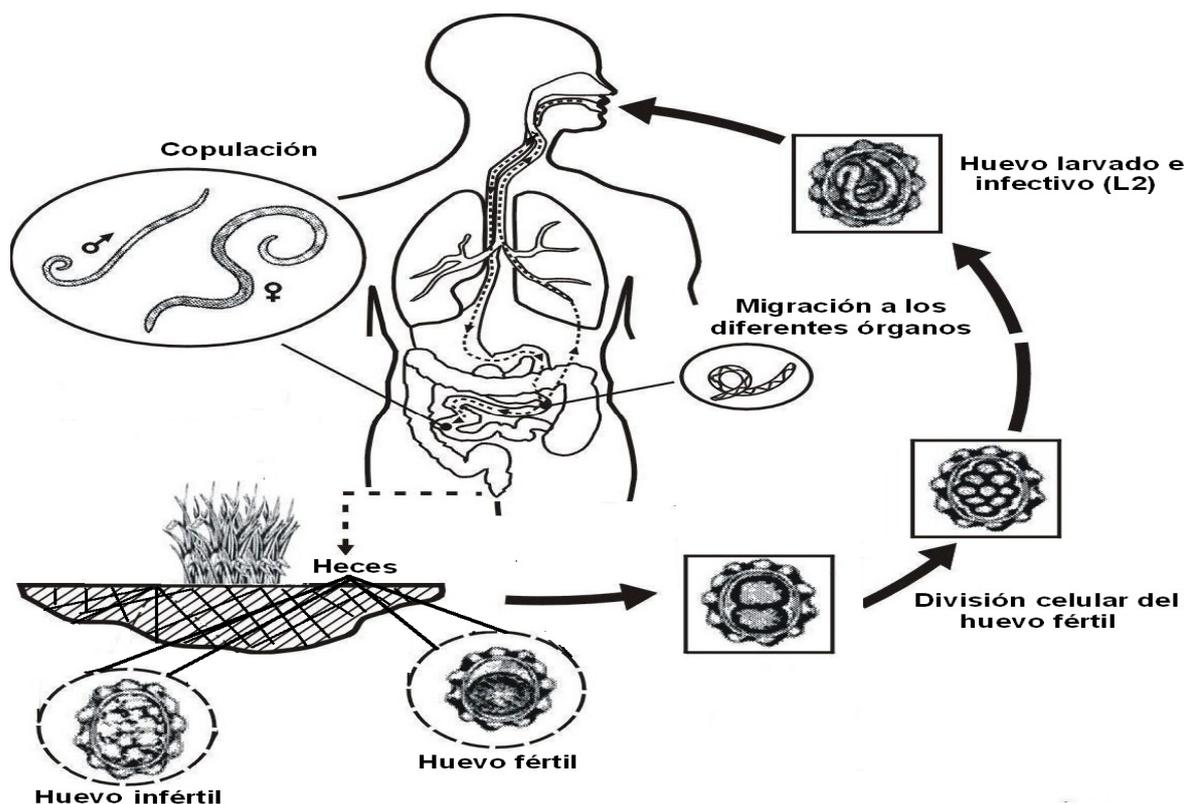


Figura 1.5 – Ciclo biológico de *Ascaris lumbricoides*. Fuente: Jiménez *et al.*, 2009

#### 1.3.4.1 Características y composición química del huevo de los nemátodos

La forma y tamaño de los huevos son específicas de cada especie; presentan una alta capacidad de ovoposición debido a que necesitan pasar algún tiempo en el suelo para que este se convierta en infectivo (tiempo de maduración), por lo que también se denominan geohelminintos (Tabla 1.6).

**Tabla 1.6.-Principales características de los huevos de algunos géneros de nemátodos**

Nemátodos	Forma	Tamaño (µm)	Capacidad de ovoposición <sup>1</sup>	Tiempo de maduración <sup>2</sup>	Característica distintiva
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Elíptico	40 a 80 x 35 a 50	200 000 a 240 000	1 a 2	Mamelones
<i>Ascaris suum</i>	Elíptico	50 a 80 x 40 a 60	1 000 000 a 2 000 000	2 a 3	Mamelones
<i>Trichuris trichiura</i>	Ovoide (bolillo)	50 a 60 x 21 a 26	3 000 a 10 000	3 a 5	Tapones polares
<i>Toxocara canis</i>	Esférico	85 a 95 x 75 a 90	200 000	2 a 3	Cubierta granulada

Fuente: Tay *et al.*; 2002. <sup>1</sup>huevos por día, <sup>2</sup>semanas.

La cubierta que rodea a los huevos está formada básicamente por tres capas, secretadas por el mismo huevo; solo algunos nemátodos presentan una o dos capas secretadas por el útero, la cual consiste en un sistema de fibras, poros o espacios (Tabla 1.7)

En el caso del género *Ascaris* la capa uterina tiene proyecciones de fibras filamentosas que dan una apariencia mamelonada (Bird y Bird, 1991). Cada capa tiene una composición química particular, que le confiere funciones para asegurar la supervivencia del huevo en el ambiente.

**Tabla 1.7.- Función y composición de las capas de los huevos de nématodos**

Capa	Función	Composición
1. Lipídica/ interna	Permeabilidad selectiva	Lípidos (75 %) y proteínas (25 %)
2. Quitinosa/ intermedia	Da estructura y resistencia a daños mecánicos	Quitina y proteínas
3. Vitelina/ externa	Adhesión	Lipoproteínas, carbohidratos
4. Uterina/ externa	Adhesión	Mucopolisacáridos, proteínas y lípidos

Fuente: Bird y Bird, 1991; Jiménez *et al.*, 2009

## 1.5 Huevos de helmintos en lodos

Los huevos de helmintos son concentrados en los lodos a través del tratamiento de las aguas residuales (Silva y Martínez, 2000). En la tabla 1.8 se muestra que el contenido de huevos de helmintos a nivel mundial es notoriamente diferente tanto en aguas

residuales como en lodos, ya que la información a este respecto, es muy escasa y obtenida con una variedad de técnicas analíticas.

Además de que el tipo y cantidad de huevos dependen de los factores socioeconómicos y culturales (Silva y Martínez, 2000), del estado epidemiológico de la comunidad y del endemismo del organismo en cuestión (Jiménez *et al.*, 2001).

**Tabla 1.8.- Contenido de huevos de helmintos en aguas residuales y en lodos a nivel mundial.**

<b>País /región</b>	<b>Aguas Residuales (HH/L)</b>	<b>Lodos (HH/g ST)</b>
<b>Países en desarrollo</b>	<b>70-3000</b>	<b>100-3000</b>
<b>México</b>	<b>6-98 y hasta 330 en regiones extremadamente pobres</b>	<b>73-177</b>
<b>Brasil</b>	<b>166 – 202</b>	<b>75</b>
<b>Egipto</b>	<b>SD</b>	<b>67-735</b>
<b>Ghana</b>	<b>SD</b>	<b>76-480</b>
<b>Marruecos</b>	<b>840</b>	<b>SD</b>
<b>Jordán</b>	<b>300</b>	<b>SD</b>
<b>Ucrania</b>	<b>60</b>	<b>SD</b>
<b>Estados Unidos</b>	<b>1-8</b>	<b>2-13</b>
<b>Francia</b>	<b>9</b>	<b>5-7</b>
<b>Alemania</b>	<b>SD</b>	<b>&lt; 1</b>
<b>Gran Bretaña</b>	<b>SD</b>	<b>&lt; 6</b>

SD sin datos, fuente: Jimenez y Maya, 2007.

En México el contenido de huevos de helmintos es el principal problema que afecta la calidad de los lodos ya que el contenido de metales pesados no representa una limitante real para su uso. Jiménez *et al.* (2008) reportaron que los géneros más comúnmente encontrados son: *Ascaris* spp., *Trichuris* spp., *Toxocara* spp., *Hymenolepis* spp. y *Taenia* spp. (Figura 1.6).

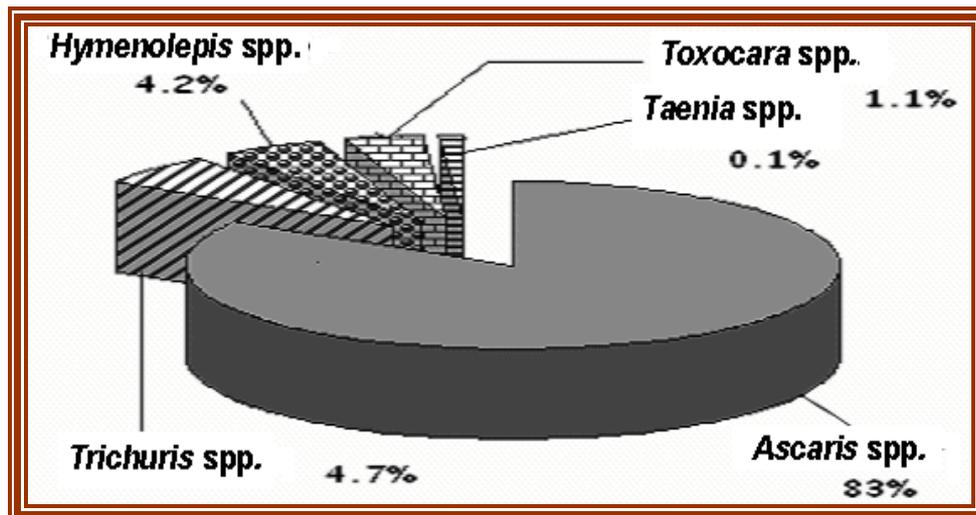


Figura 1.6.- Índice de frecuencia de los huevos de helmintos en México Fuente:Jimenez *et al.*, 2008

### 1.5.1 Indicadores de contaminación en lodos: huevos de helmintos

Un microorganismo indicador ideal de contaminación fecal debe reunir las siguientes características (Díaz *et al.*; 2007):

- Ser un constituyente normal de la flora intestinal de individuos
- Estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos.
- Estar presentes cuando los microorganismos intestinales lo están.
- Presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación.
- Debe ser incapaz de reproducirse fuera de los animales homeotérmicos.
- Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas.
- Debe ser fácil de aislar y cuantificar.
- No debe ser patógeno.

Como no existe ningún organismo que reúna todos los criterios de un indicador ideal de contaminación y sólo ciertos grupos llegan a satisfacer algunos de estos requisitos, la Organización Mundial de la Salud (WHO) en el 2004 propuso que los microorganismos modelo que pueden considerarse como indicadores del proceso de tratamiento de lodos, deben cumplir con los siguientes criterios (WHO, 2004):

1. Estar presente en el lodo crudo en un número elevado y de fácil determinación.
2. Debe ser una sola especie o de un grupo pequeño de especies estrechamente relacionados.

3. Los métodos de detección del indicador modelo deben ser estandarizados de una forma sencilla, rápida y confiable.
4. Debe ser igual o ligeramente más resistente a los demás agentes patógenos.
5. Si existiera la regeneración de agentes patógenos, el organismo indicador debe estar presente.

Debido al riesgo de contaminación tanto a nivel humano como ambiental que representan los huevos de helmintos, es necesario, la elección de un parásito indicador ya que el uso de indicadores tradicionalmente utilizados para ello como los coliformes fecales no garantiza la ausencia de virus y parásitos en el lodo tratado.

A diferencia de las bacterias indicadoras de contaminación fecal, los huevos de helmintos son más resistentes a los procesos de desinfección con cloro y pH extremos, además de que la cantidad de éstos no varía con el tiempo porque no se reproducen fuera del huésped (Silva y Martínez, 2000).

## 2. Generación de lodos

La información de lodos residuales generados, varía de acuerdo al nivel de desarrollo de cada país, siendo los Estados Unidos y la Unión Europea los de mayor generación, respecto a los demás países, donde la información de la cantidad de lodos es escasa y, en algunos casos prácticamente nula, como en México o Beijing (Tabla 2.1.; Aguilar, 2006).

**Tabla 2.1.- Generación de lodos en diferentes países del mundo**

País	Lodos (millones de toneladas base seca/año)	Referencia
Beijing	0.18	Aguilar, 2006
Canadá	0.39	Aguilar, 2006
Estados Unidos	7.6	Aguilar, 2006
Japón	1.8	Ito <i>et al.</i> , 2001 en Méndez, 2003
México	0.65	Barrios <i>et al.</i> ; 2003
Shangai*	0.29	Aguilar, 2006
Taiwán*	2.8x10 <sup>-6</sup>	Hsiau y Lo, 2001 en Barrios, 2003
Unión Europea**	10.1	Aguilar, 2006

\*Ciudades de mayor importancia de la República Popular de China. \*\*Conformado por 27 Estados. Aunque en México se desconoce la cantidad de lodos generados, la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996 (DOF, 1998), establece que las ciudades mayores a 50,000 habitantes tratarán 158 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales, mismos que a su vez generarán aproximadamente 650 000 tons de lodos en base seca/año.

## 2.1 Características del lodo residual

La composición del lodo varía de acuerdo con el tipo de agua residual a tratar (industrial, doméstica o municipal); por lo que se tienen que evaluar diferentes parámetros para definir las características y necesidades del tratamiento del lodo (Jiménez et al., 2001).

En la tabla 2.2 se muestran las características químicas, físicas y biológicas de los lodos, las cuales, dependen del proceso de tratamiento que los origina, de su edad y del proceso de tratamiento al que se someten.

**Tabla 2.2.- Principales características químicas, físicas y biológicas de lodos residuales**

Propiedad	Parámetros
Químicas	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Composición: Plaguicidas, metales y cianuro, compuestos orgánicos volátiles y semi-volátiles, bifenoles policlorados, nitrógeno y fósforo mineral.</b></li><li>• <b>Olor.</b></li></ul>
Físicas	<b>Concentración de sólidos, tamaño de partícula, color, tipo de fluido, forma en que se encuentra el agua, sedimentabilidad.</b>
Biológicas	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Bacterias</b></li><li>• <b>Virus</b></li><li>• <b>Protozoos y helmintos</b></li></ul>

Fuente: Jiménez *et al.*, 2001

### 2.1.1 Características biológicas del lodo

Las propiedades biológicas de un lodo dependen de la naturaleza de sus constituyentes orgánicos, toxicidad de los materiales, contenido de nutrientes y factores de crecimiento que le proporcionen al microorganismo su desarrollo óptimo.

Los microorganismos presentes son generalmente: virus, bacterias, hongos, algas, protozoos y huevos de helmintos cuya frecuencia se puede ir modificando según las características propias del lodo y el tratamiento que éstos reciban.

Se pueden clasificar en tres principales categorías: 1) los que participan en el proceso de depuración de los lodos, formando la biopelícula; 2) aquellos que pueden causar problemas en el proceso y 3) los que se encuentran a lo largo de todo el proceso, tales como los microorganismos patógenos, principalmente, virus y parásitos (Lue-Hing *et al.*, 1998).

Estos últimos provienen de las aguas residuales donde alcanzan concentraciones más altas en los lodos, en la tabla 2.3 se presentan los principales microorganismos patógenos en aguas y lodos residuales.

**Tabla 2.3.- Principales microorganismos patógenos reportados en lodos residuales**

<b>Virus entéricos</b>	<b>Bacterias</b>	<b>Protozoos</b>	<b>Helmintos</b>
<i>Hepatitis A Virus</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Ascaris suum</i>
<i>Norwalk</i>	<i>Shigella sp.</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>A. lumbricoides</i>
<i>Rotavirus</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Balantidium coli</i>	<i>Trichuris trichiura</i>
<i>Enterovirus (poliovirus, Coxsackievirus y Echovirus)</i>	<i>Escherichia coli</i> (cepas patógenas)	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Taenia saginata y T. solium</i>
<i>Reovirus</i>	<i>Campylobacter</i>		<i>Necator americanus</i>
<i>Calicivirus</i>			<i>Hymenolepis nana</i>

Fuente : EPA, 1992

## 2.2 Generación de Biosólidos

Cuando los lodos residuales son tratados (estabilizados y/o digeridos) se les denomina biosólidos, y su aplicación al medio ambiente no debe representar ningún daño a la salud o al equilibrio ecológico (Jiménez *et al.*, 2001). Por el contrario su aplicación como fertilizantes favorece la nutrición de las plantas añadiendo nitrógeno, fósforo y otros nutrimentos al suelo, lo que a su vez permite la reducción del uso de fertilizantes sintéticos, ya que los nutrimentos se liberan más lentamente conforme las necesidades de las plantas y son convertidos en biomasa (EPA, 1994).

Los biosólidos actúan como acondicionadores del suelo facilitando el transporte de nutrimentos, incrementan la retención del agua, en suelos compactos incrementan la porosidad y en suelos arenosos la retención de agua.

### 2.2.1. Normatividad de lodos residuales y biosólidos

Las autoridades mexicanas tomando como referencia el apartado 503 del código de Regulaciones Federal de la norma para los biosólidos de la Agencia de Protección Ambiental en sus siglas en inglés (EPA, 1996), crearon la NOM-004-SEMARNAT-2002, la cual establece las especificaciones y los límites máximos permisibles de

contaminantes en lodos y biosólidos, con el fin de posibilitar su aprovechamiento o disposición final y proteger al ambiente y la salud humana (DOF, 2003).

De acuerdo con esta norma, los biosólidos se clasifican en dos tipos: excelente y bueno en función de su contenido de metales pesados; y en las clases: A, B y C en función de su contenido de patógenos y parásitos (Tabla 2.4).

**Tabla 2.4.- Límites máximos 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
<b>A</b>	<b>&lt; 1000</b>	<b>&lt; 3</b>	<b>&lt; 1 (a)</b>
<b>B</b>	<b>&lt; 1000</b>	<b>&lt; 3</b>	<b>&lt; 10</b>
<b>C</b>	<b>&lt; 2000000</b>	<b>&lt; 300</b>	<b>&lt; 35</b>

(a) huevo viable; g en base seca = ST (sólidos totales). Fuente: DOF, 2003

### 2.3 Tratamiento de lodos residuales

El tratamiento de lodos resulta problemático, ya que puede representar el 50 % del costo de inversión y de operación en una planta de tratamiento, debido a la instalación de reactores para la estabilización de los lodos residuales, los sistemas de deshidratación y el traslado del lodo a los sitios de disposición. Muchas de estas plantas solo cuentan con lechos de secado donde el lodo se deshidrata y después se conduce a un tiradero o en el mejor de los casos al relleno sanitario.

El tratamiento de lodos residuales para producir biosólidos se agrupa en cuatro categorías, las cuales tienen, características metodológicas y técnicas muy específicas que las distinguen (Tabla 2.5); que sirven principalmente para la disminución de olores ofensivos, eliminación de vectores, reducción del volumen de agua, de la masa de sólidos y eliminación microorganismos patógenos (Mahamud *et al*; 1996).

**Tabla 2.5.- Diferentes procesos para el tratamiento del lodo residual.**

<b>Proceso</b>	<b>Técnica</b>	<b>Descripción</b>
<b>Físico</b>	<b>Espesamiento (decantación, flotación y centrifugación), desaguado (filtración secado, evaporación y prensado)</b>	<b>Destinados a la separación, reducción del volumen del lodo</b>
<b>Químico</b>	<b>Acondicionamiento, neutralización, extracción, óxido- reducción, estabilización y solidificación</b>	<b>Adición de químicos para modificar las características del lodo</b>
<b>Biológico</b>	<b>Digestión anaerobia y aerobia, compostaje</b>	<b>Aplicación de biomasa para la estabilización del lodo</b>
<b>Térmico</b>	<b>Incineración, vitrificación, congelamiento, cristalización, oxidación por aire húmedo y ceramización</b>	<b>Destinados a la destrucción y destoxicación del lodo</b>

Fuente: Van Nostrand, 1990.

Estos procesos toman como parámetros de control la temperatura, pH y tiempo de retención celular (tiempo durante el cual el lodo es sometido a la presión de las condiciones de cada técnica), porque están íntimamente ligados a la eliminación de microorganismos patógenos.

### **2.3.1 Estabilización alcalina**

Al proceso químico con cal se le denomina estabilización alcalina; la cual por más de 2000 años se ha empleado para estabilizar y deodorizar excrementos y estiércol. (Méndez, 2003)

La estabilización con cal reduce tanto a los grupos de indicadores y patógenos (coliformes fecales y *Salmonella*) en un 99.9 % y tiene una eficiencia parcial sobre los huevos de helmintos, no reduce el contenido de sólidos volátiles, pero si el pH desciende de 11 los procesos biológicos se pueden reactivar (EPA, 1992)

Para tener éxito en el proceso de estabilización se deben tener en cuenta determinados criterios de diseño como: a) tiempo de contacto de la cal y pH alcanzando; b) dosis de cal adicionada y c) humedad del lodo crudo para generar una reacción exotérmica (Méndez, 2003).

## **3. Estudios previos**

Dentro de los principales factores que repercuten directamente en el desarrollo del huevo a la fase infectiva se encuentran la humedad, temperatura y pH del medio al que son expuestos (WHO, 2004); estos factores evaluados de forma individual

respecto al tiempo podrían no ser la forma más eficiente para la inactivación de los huevos. En la tabla 3.1 se observa que cuando los huevos son sometidos a temperaturas de 30 y 40 °C esta tiene poco efecto sobre la viabilidad del huevo, observándose que al ir aumentando la temperatura hasta 80 °C, la inactivación de los huevos es mayor y total (Jiménez *et al.*, 2008). También se puede observar que a temperaturas de 34 a 65 °C la inactivación aumenta siendo que a tiempos de 5 y 10 min e inclusive hasta los 8 días de contacto se logra la inactivación total (WHO, 2004).

**Tabla 3.1 Efecto de la temperatura y tiempo sobre la viabilidad de los huevos de los helmintos**

Género/Especie	Temperatura (°C)	Tiempo de contacto	Viabilidad de los huevos de helmintos
<i>Ascaris</i> spp. <sup>1</sup>	34.4	13 días	10 % de larvas móviles
<i>A. lumbricoides</i> <sup>2</sup>	37.8	8 días	Pérdida de viabilidad
<i>A. suum</i>	30 y 40		Por debajo del 10 % de inactivación en todas las especies a los 30 °C

<i>T. canis</i> <i>T. solium</i> <i>H. nana</i> <i>T. trichiura</i>			En 40°C <i>Ascaris</i> y <i>Toxocara</i> tienen del 25 a 30 % de inactivación. . 70 % de inactivación en 40°C 50 % de inactivación “
<i>Ascaris</i> spp. <sup>1</sup>  <i>A. lumbricoides</i> <sup>2</sup> <i>A. suum</i>	50	1 min 10min	41 % de larvas móviles Pérdida de viabilidad 50 % de inactivación “
<i>T. canis</i> <i>T. solium</i> <i>H. nana</i> <i>T. trichiura</i>			55 % de inactivación “ 80 % de inactivación “
<i>Ascaris</i> spp. <sup>1</sup>	55	6.5 min 10 min 2 h	Huevos larvados Pérdida de viabilidad Pérdida de viabilidad
<i>Ascaris</i> spp. <sup>1</sup>  <i>A. lumbricoides</i> <sup>2</sup> <i>A. suum</i> <i>T. canis</i> <i>T. solium</i> <i>H. nana</i> <i>T. trichiura</i>	60	10 min	30% de larvas móviles Pérdida de viabilidad 85 % de inactivación “ 75 % de inactivación 80 % de inactivación 90 % de inactivación
<i>Ascaris</i> spp. <sup>1</sup>	65	5 min 5 min	Pérdida de viabilidad 43 % de larvas móviles
<i>Ascaris</i> spp. <sup>1</sup>  <i>A. lumbricoides</i> <sup>2</sup> <i>A. suum</i> <i>T. canis</i> <i>T. solium</i> <i>H. nana</i> <i>T. trichiura</i>	70 70 y 80	3 min	34 % de larvas móviles 68 % de larvas móviles Pérdida total de viabilidad de los huevos de las seis especies de helmintos en ambas temperaturas
<i>Ascaris</i> spp. <sup>1</sup>	103	3 min	Pérdida de viabilidad

<sup>1</sup> Tomado de WHO, 2004; <sup>2</sup> Jiménez *et al.*, 2008.

Diversos estudios sobre el efecto de la humedad sobre la viabilidad de los huevos han sido realizados por varios autores (Tabla 3.2), pero la mayoría de éstos han sido sobre el género *Ascaris*, dando como resultado que a humedades de 0% el huevo detiene totalmente su desarrollo, y logra mantenerse cuando la humedad del medio oscila entre 35.5 a 76% (Wharton, 1979). Siendo que a humedades mayores los factores como el tiempo de contacto y la temperatura ayudan a una eliminación más eficiente y total de la viabilidad (WHO, 2004).

**Tabla 3.2 Efecto de la humedad y el tiempo sobre la viabilidad de los huevos de helmintos**

Género / especie	Humedad (%)	Temperatura (°C)	Viabilidad de los huevos de helmintos
<i>A. lumbricoides</i> <sup>2</sup> <i>Ascaris spp.</i> <sup>1</sup>	0 3.3-4.2 5.5-11.2	16.5 y 30 38-46 13-46	Colapso de huevos a los 3 días Viabilidad hasta los 51 días Viabilidad hasta los 81 días
<i>A. lumbricoides</i> <sup>2</sup> <i>Ascaris y Trichuris</i> <sup>1</sup>	32.5 33-34 40-50	16.5 30 20-30	Sin desarrollo después de los 17 días Sin desarrollo después de los 4 días Destruídos después de los 4 días
<i>A. lumbricoides</i> <sup>2</sup> <i>Ascaris y Trichuris</i> <sup>1</sup>	75.5 76 77	30 16.5 22	Colapso después de los 7 días Sin desarrollo después de los 51 días Destruídos a los 4 días
<i>Ascaris spp.</i> <sup>1</sup>	80-95 95	31 27-29	Huevos desarrollados hasta mórula Huevos viables

<sup>1</sup> Tomado de WHO, 2004; <sup>2</sup> Wharton, 1979.

El efecto del óxido de calcio es fundamental en la viabilidad de los huevos ya que debilita las capas que lo conforman por medio de la presión osmótica que se ejerce al cambiar drásticamente el pH del medio, tal y como se lleva a cabo en la estabilización alcalina (Méndez, 2003). Dependiendo del % de CaO utilizado, y del % de ST del lodo, se puede mantener el pH por arriba de 12, el cual ayuda a que la inactivación de los huevos aumente, llegando en algunos casos hasta un 100%, como sucedió con los géneros *Hymenolepis* y *Trichuris* a un tiempo de 2 meses (Mendoza, 1998; Jiménez *et al.*, 2008); mientras que para otros géneros (*Toxocara* y *Taenia*) bajo las mismas condiciones no se logró la inactivación total, en especial la del género *Ascaris* (Jiménez *et al.*, 2008) (Tabla 3.3).

**Tabla 3.3 Efecto de la CaO, tiempo y humedad sobre la viabilidad de los huevos de helmintos**

Género/especie	Humedad inicial (%)	CaO (%)	Tiempo	Viabilidad de los huevos de helmintos
----------------	---------------------	---------	--------	---------------------------------------

Sin distinción de especie. <sup>1</sup>	61	20 30 40	30 min	Se detectaron 42 HV de 160 huevos Se detectaron 31 HV “ Se detectaron 18 HV “
Sin distinción de especie. <sup>2</sup>	50	15 21 27	24 h	Viabilidad de 2.4 huevos de 28.4 HV Viabilidad de 0.8 huevos “ Viabilidad no detectada “
<i>Ascaris</i> spp. <sup>3</sup> <i>Trichuris</i> spp. <i>Hymenolepis</i> spp. <i>Toxocara</i> spp.		5, 10, 15, 20,30 y 40	2 h	Viabilidad reducida gradualmente en cada dosis pero no en su totalidad Pérdida de viabilidad después de agregar CaO al 15%
<i>A. lumbricoides</i> <sup>4</sup> <i>A. suum</i> <i>T. canis</i> <i>T. solium</i> <i>H. nana</i> <i>T. trichiura</i>	90.3	15	1, 2, 3, 4, 5 y 6 meses	La pérdida de viabilidad de 35 HV fue gradual respecto al tiempo de exposición registrando de 1 a 2 HV a los 6 meses  Pérdida de viabilidad total a los 6 meses
<i>A. lumbricoides</i> <sup>4</sup> <i>A. suum</i> <i>T. canis</i> <i>T. solium</i> <i>T. trichiura</i> <i>H. nana</i>	90.3	20	1, 2, 3, 4, 5 y 6 meses	La pérdida de viabilidad de 35 HV respecto al tiempo fue de manera gradual pero no total ya que registraron al 5 mes de 2 a 3 HV y 1 HV en el 6 mes Pérdida de viabilidad total de los 35 HV desde los 2 meses

<sup>1</sup> Hernández (1998); <sup>2</sup> Mendoza (1998); <sup>3</sup> Méndez (2003); <sup>4</sup> Jiménez *et al.* (2008). HV: Huevos Viables

Debido a que los factores de humedad óxido de calcio y temperatura son capaces, de forma individual, inhibir el desarrollo del huevo dependiendo del tiempo de exposición al que son sometidos, el presente trabajo de tesis evaluó el efecto sinérgico de estos factores sobre la inactivación de diferentes especies de huevos de helmintos, y con base en ello determinar qué especie (s) es la(s) que presenta(n) mayor resistencia a dicho tratamiento, proponerla (s) como posible(s) indicador(es) de contaminación biológica.

## 2. HIPÓTESIS

El efecto sinérgico de la temperatura, óxido de calcio (CaO), y humedad a diferentes tiempos de contacto ocasiona la inactivación de diferentes especies de huevos de helmintos de importancia médica.

## 3. OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar el efecto sinérgico que la temperatura, CaO, y humedad tienen sobre la inactivación de los huevos de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum*, *Toxocara canis*, *Trichuris trichiura* (nematodos), *Hymenolepis nana* y *Taenia solium* (céstodos).

### Objetivos particulares

- Comparar la eficiencia de los procesos de incubación a 26 °C y tinción con azul tripán para determinar la viabilidad de las diferentes especies de huevos de helmintos.
- Determinar cuál (es) de las 6 diferentes especies de huevos de helmintos seleccionada (s) presenta (n) la mayor resistencia a la inactivación.
- Establecer cuál (es) especie (s) puede ser considerada (s) como indicador (as) de contaminación, debido a su resistencia.

## 4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 4.1 Origen de la matriz (sustratos).

En el presente trabajo se define “matriz” como el sustrato o medio donde se llevó a cabo la fase experimental, ya que para fines prácticos se simularon condiciones húmedas y secas, utilizando para ello dos matrices diferentes:

a) La primera matriz utilizada correspondió a un lodo fisicoquímico proveniente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de San Andrés Mixquic, ubicado en la Delegación de Tláhuac D.F. Dicha planta funciona mediante un tratamiento primario avanzado (coagulación, floculación química con filtración y desinfección), tiene una capacidad instalada y gasto de operación de 30 L/s, anualmente trata un volumen de 946 m<sup>3</sup>, la cual se usa para riego agrícola (CNA, 2007). El lodo se recolectó de la purga de los sedimentadores primarios, en recipientes de plástico de 5 L, previamente desinfectados con cloro (DOF, 2003).

b) La segunda matriz correspondió a una mezcla de diferentes muestras de suelo de la región del Valle de Tula, Hidalgo; que fueron recolectadas por personal del grupo de “Tratamiento y Reúso” del Instituto de Ingeniería, UNAM. Las muestras se expusieron al sol para reducir la humedad de las mismas, después se almacenaron en el cuarto frío a 4°C al igual que el lodo recolectado.

Inicialmente, a los dos sustratos se les determinó el % ST (sólidos totales) por el método Gravimétrico, 2540 B (APHA, AWWA, WEF, 1998), después se esterilizaron en un autoclave a 15 libras de presión y 105 °C durante 1 h, para eliminar la viabilidad de los huevos de helmintos que la matriz pudiese tener, y nuevamente se determinó el % ST de cada sustrato. En el caso del lodo, y con el objeto de reducir el % ST a 11.3, se sometió a 3000 rpm durante 1 min en una centrifuga marca IEC HN-SII. Finalmente, el suelo presentó un contenido de 88.7 % de ST.

Las matrices así obtenidas fueron identificadas como: matriz húmeda al lodo que contenía 88.7 % de humedad y matriz seca al suelo que presentó una humedad de 11.2 %.

## 4.2 Origen de los huevos de helmintos.

Los concentrados de las 6 diferentes especies de huevos de helmintos que se utilizaron en el presente trabajo fueron comprados y/o donados por diferentes entidades. En la tabla 4.1 se muestra el origen de cada una de ellas. Antes y durante la experimentación los concentrados se conservaron en solución salina a 4 °C en el cuarto frío.

Tabla 4.1 Origen del concentrado de los huevos de Helmintos

Helminto	Especie	Clave
Nématodos	<i>Ascaris lumbricoides</i>	CP, HPM
	<i>Ascaris suum</i>	RCM
	<i>Toxocara canis</i>	CP
	<i>Trichuris trichiura</i>	CP
Céstodos	<i>Hymenolepis nana</i>	CP
	<i>Taenia solium</i>	RCM

HPM=Muestras humanas del Hospital Pediátrico de la Ciudad de México; RCM=Rastros de la ciudad de México y CP=Comprados en la empresa PACAL.

Con base en su procedencia y al certificado de compra (Anexo III), los huevos adquiridos eran fértiles, es decir, potencialmente capaces de formar una larva infectiva; sin embargo, se realizaron pruebas alternas para confirmar tal aseveración por medio de la técnica de incubación a 26 °C.

## 4.3 Acondicionamiento de la matriz para evaluar el efecto sinérgico

El desarrollo de la fase experimental se llevó a cabo en el área de Parasitología del Laboratorio de Bioprocesos e Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería, UNAM. En la figura 4.1 se muestra la metodología que se siguió para evaluar el efecto sinérgico de los factores de humedad, temperatura y CaO al 20% sobre la viabilidad de los huevos de 6 especies de helmintos en diferentes tiempos de exposición que a continuación se explica.

Una vez, y contando ya con las dos matrices de experimentación, se procedió a adicionar a tubos de 50 mL de capacidad con tapa de rosca (para simular un sistema cerrado; Méndez, 2003) por separado 2.25 g de la matriz seca (suelo) y 8.85 g de la matriz húmeda (lodo).

Posteriormente, a cada uno de estos tubos se les inoculó en un total 210 HV (35 huevos viables de cada una de las seis especies: *A. lumbricoides*, *A. suum*, *Toxocara canis*, *Trichuris trichiura*, *Taenia solium* e *Hymenolepis nana*). Para lograr una

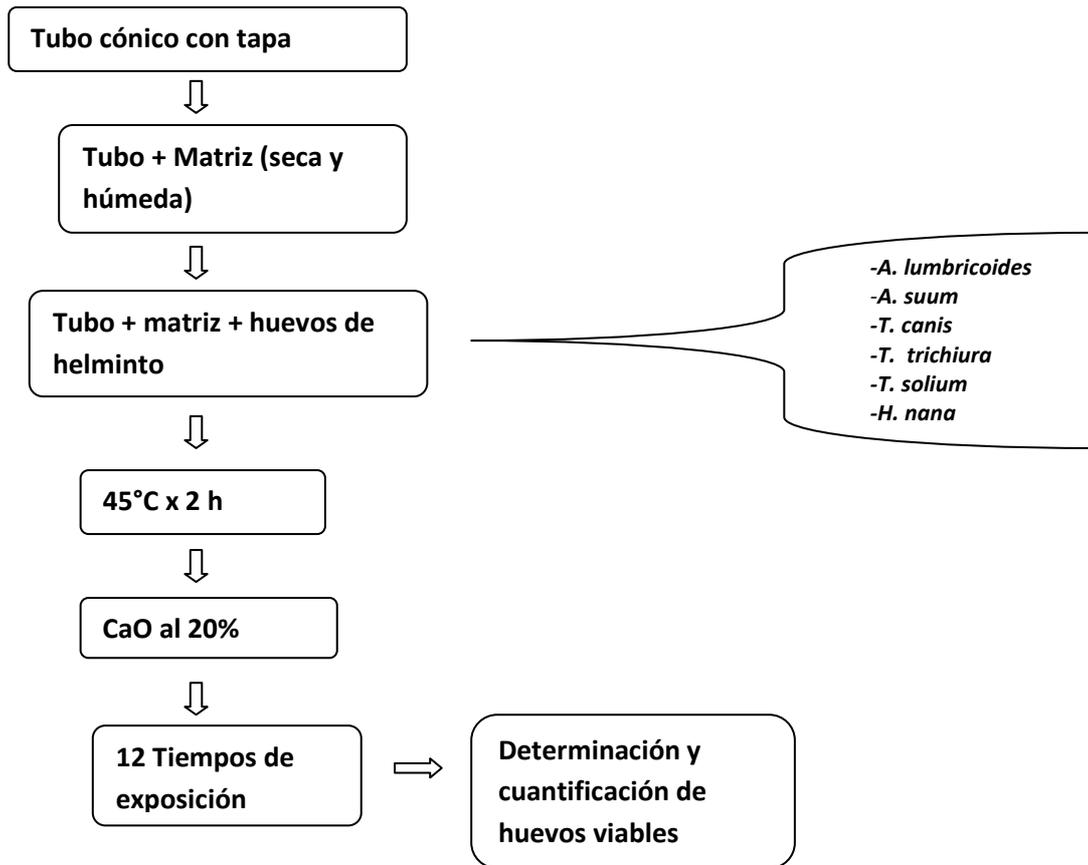
adecuada distribución de los huevos en la matriz, cada tubo se agitó en un vortex durante 1 min.

El número total de huevos inoculados se debió a que se han reportado entre 180 y 200 huevos /g ST, además las especies utilizadas son las más frecuentemente encontradas en los lodos de México (Jiménez *et al.*, 2001 -Tabla 2.4). Con el fin de evaluar que especie o especies son las más resistentes, se decidió colocar a cada una de las especies en las mismas condiciones de experimentación (cantidad y condiciones de experimentación).

Posteriormente, cada uno de los tubos con matriz y huevos de helmintos, se sometieron al tratamiento térmico, es decir, a una temperatura de 45 °C por dos horas en una incubadora digital marca BOEMEX modelo 133730. Posteriormente, se aplicó una dosis de 20% de CaO, 0.25 y 0.5 g de CaO para la matriz húmeda y seca, respectivamente. La mezcla: cal y matriz, se homogeneizó con un agitador orbital marca AROS 160 Thermolyne, de manera constante durante 30 min.

Por cada matriz, se prepararon tubos, por triplicado, correspondientes a los siguientes tiempos de exposición de: 30 min, 1 h, 1, 2, 4, 15 y 45 d (día), 1, 2, 3, 4 y 5 m (mes); los cuales fueron elegidos de acuerdo con la información reportada en la literatura, donde el primer tiempo es uno de los más utilizados en estudios de inactivación y el resto fueron designados para monitorear el comportamiento de inactivación, ya que hasta los 6 meses se ha reportado una mínima presencia de viabilidad en algunas especies de helmintos (Jiménez *et al.*, 2008)

Finalmente, todos los tubos se colocaron en una caja acondicionada (forrada con plástico), que se instaló en el remolque ubicado a un lado del edificio 5 del Instituto de Ingeniería, en el cual se monitoreó la temperatura (termómetro de vidrio) y humedad (reloj con hidrómetro) durante cada uno de los períodos de exposición. También se corrieron controles, sin ningún tipo de tratamiento para determinar así la posible existencia de interferencias de cada una de las matrices sobre las diferentes especies de huevos de helmintos en estudio.



**Figura 4.1 Metodología para el acondicionamiento de la matriz.**

#### **4.4 Monitoreo del porcentaje de sólidos totales y pH en la matriz**

Por cada humedad y tiempo de contacto se prepararon, por triplicado, tubos a los que solo se les agregó la matriz y cal para verificar el %ST y pH, (potenciómetro Eutech Instrument Oakton, 4500-H+ B).

#### **4.5 Método para la cuantificación de huevos de helmintos**

Para recuperar y cuantificar los huevos de helmintos inoculados en las muestras se empleó la técnica indicada en el anexo V de la NOM-004-SEMARNAT 2002 (DOF, 2003), la cual consiste en las siguientes etapas:

##### **4.5.1 Sedimentación**

En esta etapa se toma en cuenta que la velocidad de sedimentación de los huevos de helmintos es de 1 m/h (metro cada hora).

- Cada muestra se traspasó a un vaso de licuadora con ayuda de 400 mL de solución Tween al 0.1 %, y posteriormente se licuó durante dos minutos.
- La muestra diluida y licuada se vació en un recipiente de aproximadamente de 3 L de capacidad, realizando enjuagues de la tapa y el vaso de la licuadora con 600 mL de solución Tween al 0.1 % y agua potable, finalmente la muestra se dejó sedimentar durante 24 h.

Los tubos cónicos de 50 mL, vaso y tapa de licuadora se esterilizaron durante 15 min en un esterilizador (marca Evenflo), el cual se utilizó durante las cuatro etapas de este método. La descripción de la preparación de las soluciones se muestra en el anexo I.

#### **4.5.2 Tamizado de las muestras**

Para el tamizado de las muestras se utilizó un tamiz de entre 150 a 170  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro, de esta forma todas las estructuras menores, entre ellas los huevos de helmintos cuyo tamaño oscila entre 20 y 95  $\mu\text{m}$ , son recuperadas. Para ello se realizó lo siguiente:

- Se aspiró el sobrenadante hasta  $\frac{3}{4}$  partes del recipiente, con ayuda de un matraz Kitazato de 4 L, conectado a un sistema de vacío. El sedimento o pastilla se trasvasó a un vaso de precipitados de plástico de 1 L con ayuda de enjuagues con agua potable.
- Con ayuda de un embudo y un tamiz de 170  $\mu\text{m}$  de apertura, la pastilla o sedimento recuperado se filtró realizando enjuagues de 1 a 2 L con agua potable; recuperando el filtrado en el mismo recipiente y dejándolo sedimentar durante 24 h.

El tamiz se esterilizó junto con el residuo de cada muestra durante 10 min.

#### **4.5.3 Flotación**

La flotación se llevó a cabo utilizando una solución saturada de sulfato de zinc de 1.3 g.e., de esta forma todas las estructuras menores a esta densidad, fueron recuperadas por flotación, de la siguiente manera:

- Se aspiró hasta  $\frac{3}{4}$  partes del recipiente, el sobrenadante se transfirió a tubos de centrífuga de 700 mL y se centrifugo <sup>1</sup>. El sobrenadante se aspiró hasta 100 mL y la pastilla se resuspendió en tubos de centrífuga de 200 mL y se centrifugo <sup>2</sup>.
- El sobrenadante se aspiró totalmente, la pastilla se resuspendió con 150 mL de ZnSO<sub>4</sub> de 1.3 de densidad <sup>2</sup>. Después el sobrenadante se recuperó en el recipiente de 3 L, rompiendo la densidad del ZnSO<sub>4</sub> con 1 L de agua destilada; finalmente, la muestra se dejó sedimentar durante toda la noche.

Se denota con <sup>1</sup> cuando se utilizó la centrífuga marca Mistral 3000i a 2500 rpm por 20 min y con <sup>2</sup> a 3000 rpm por 10 min con la centrífuga marca IEC HN-SII. La resuspensión o traspaso de la pastilla y/o sedimento al tubo de centrífuga se efectuó con enjuagues de agua potable. Cada tubo de centrífuga se esterilizó y lavó entre cada muestra. El sedimento o pastilla final se recuperó en un recipiente.

#### 4.5.4 Separación bifásica

Mediante la combinación de reactivos no miscibles entre sí y orientación de las partículas en función del balance hidrofílico.

- Se aspiró hasta  $\frac{3}{4}$  partes del recipiente, el sobrenadante se transfirió a tubos de centrífuga de 700 mL y se centrifugo <sup>1</sup>. El sobrenadante se aspiró hasta 100 mL y la pastilla se resuspendió en tubos de centrífuga de 200 mL y se centrifugo <sup>2</sup>.
- Nuevamente el sobrenadante se aspiró y la pastilla se centrifugó hasta llegar a tubos de un volumen de 50 mL<sup>1</sup>, los cuales después de ser centrifugados <sup>1</sup>, se les aspiró el sobrenadante hasta 5 mL y la pastilla se agitó durante 30 seg. para agregarles 15 mL de solución ácido- alcohol.
- Enseguida, y en la campana de extracción, a cada uno de los tubos se les adicionó 10 mL de acetato de etilo, cerrados herméticamente, se agitaron en repetidas ocasiones abriendo y cerrando en cada ocasión. Los tubos se centrifugaron <sup>1</sup> y el sobrenadante se aspiró hasta la marca del cono, finalmente los tubos se dejaron en la campana de extracción hasta que los residuos del acetato de etilo se evaporaron.

La resuspensión de la pastilla se realizó con enjuagues de agua destilada.

#### **4.5.5 Separación de los huevos de helmintos.**

La pastilla de cada tubo se filtró sobre un tamiz de 35 µm que se colocó encima de otro tamiz de 20 µm con el fin de separar los huevos de nemátodos y céstodos. El sedimento retenido en cada tamiz se recuperó con agua potable en tubos de 50 mL <sup>1</sup> por separado, se aspiró el sobrenadante hasta 5 mL realizando las siguientes etapas:

- Nemátodos: se agregó 15 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 N después se incubaron a 26 °C durante 20 días, al finalizar este tiempo se le adicionó 40 mL de agua destilada <sup>1</sup>, se aspiró el sobrenadante hasta la marca del cono del tubo.
- Céstodos: se agregó 15 mL de hipoclorito de sodio, se agitó durante 2 min, posteriormente se agregó 25 mL de agua destilada <sup>1</sup>, para finalmente aspirar el sobrenadante hasta la marca del cono.

#### **4.5.6 Determinación de la viabilidad de los huevos de helmintos**

La identificación y cuantificación de los porcentos de inactivación de las diferentes especies de huevos de helmintos, con base en el desarrollo de la larva para nemátodos y eclosión del hexacanto para céstodos, se realizó con ayuda del microscopio óptico marca LABOMEX, las fotografías se tomaron con una cámara fotográfica digital Nikon, Coolpix 990 adaptada al microscopio:

De la pastilla obtenida y con la ayuda de una pipeta Pasteur, se tomó una alícuota, misma que se distribuyó en un disco Doncaster y se observó con el objetivo 10x. Para la identificación de cada especie se apoyó con láminas de la OMS y algunas fotografías obtenidas por el grupo de Tratamiento y Reúso del Instituto de Ingeniería, UNAM. Para distinguir cuál de los huevos eran viables se utilizó el siguiente criterio de acuerdo a Guzmán y Campos, (2004):

Nemátodos:

- I. Huevo viable: presentó una larva en su interior, sea móvil o no.
- II. Huevo no viable: presentó cambios morfológicos como fracturas en la capa externa, desintegración de las membranas que rodean al huevo, carencia de homogeneidad citoplasmática, pérdida de su color normal, formación de grandes gránulos refráctiles dentro de la célula, fragmentos de huevos y formas degeneradas, y ausencia de larva.

Céstodos:

- I. Huevo viable: ruptura de las membranas del huevo sin presencia del hexacanto
- II. Huevo no viable: presentó el hexacanto en su interior.

Se utilizó el método de tinción con el colorante vital azul tripán para determinar la viabilidad de los huevos de las especies de nemátodos; que establece como criterio, que posterior a la tinción se cuantifican huevos no teñidos (viables) y huevos teñidos (no viables).

#### 4.6 Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico se utilizó un modelo de parcelas divididas con tres factores (ecuación 1), considerando como parcela grande al tubo cónico, como parcela pequeña a los huevos de los helmintos y a los factores como: 1) tiempo de exposición, 2) especie de huevo de helminto y 3) humedad de la matriz. Se trabajó con una significancia de  $\alpha=0.05$ .

$$Y_{ijklm} = \mu + H_i + B_{j(i)} + E_k + T_l + (ET)_{kl} + (HE)_{ik} + (HT)_{il} + (HET)_{ikl} + \epsilon_{ijklm} \text{ (ecuación 1)}$$

Donde:

$Y_{ijklm}$  es la m-ésima observación de la i-ésima humedad, del j-ésimo tubo de la k-ésima especie al l-ésimo tiempo.

$\mu$ , es la media general.

$H_i$ , es el efecto de la i-ésima humedad de la matriz;  $i = 1, 2$ .

$B_{j(i)}$ , es el efecto del j-ésimo tubo anidando la i-ésima humedad;  $j = 1, 2, 3, \dots, 71, 72$ ; error de la parcela grande

$E_k$ , es el efecto de k-ésima especie de huevo de helminto;  $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6$ .

$T_l$ , es el efecto del l-ésimo tiempo de exposición;  $l = 1, 2, 3, \dots, 11, 12$ .

$(ET)_{kl}$ , es efecto de la interacción de la k-ésima especie y el l-ésimo tiempo.

$(HE)_{ik}$ , es el efecto de la interacción.

$(HT)_{il}$ , es el efecto de la interacción de la i-ésima humedad y el l-ésimo tiempo.

$(HET)_{ikl}$ , es el efecto de la interacción de la i-ésima humedad, k-ésima especie y el l-ésimo tiempo.

$\epsilon_{ijklm}$ , es el error experimental de la unidad m humedad i Del tubo j de la especie k al tiempo l.

El análisis se realizó con el paquete estadístico JMP versión 7.0.

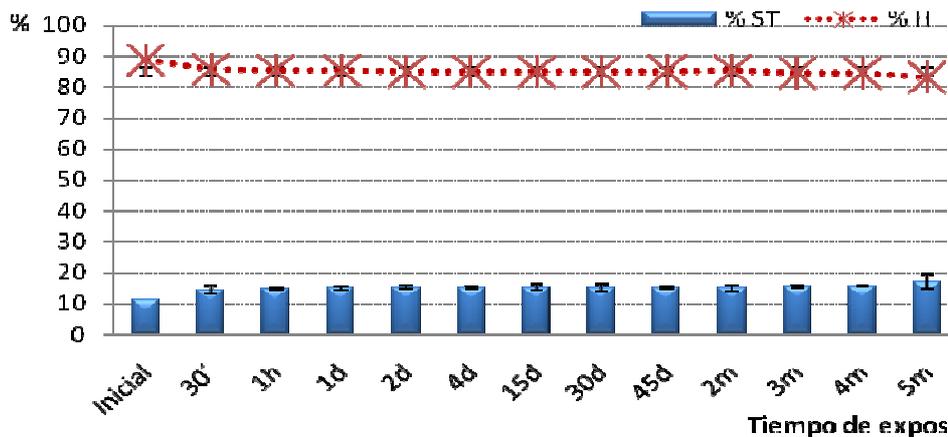
## 5. RESULTADOS

### 5.1 Cantidad de sólidos totales y del porcentaje de humedad

En las siguientes figuras se muestra el % de ST de la matriz en cada tiempo de exposición, después de haberlos sometido a 45° C por 2 h, seguido de la aplicación de CaO al 20%; también se observa el porcentaje de humedad relativa (%H) el cual está directamente relacionado con el contenido de ST mediante la siguiente ecuación:

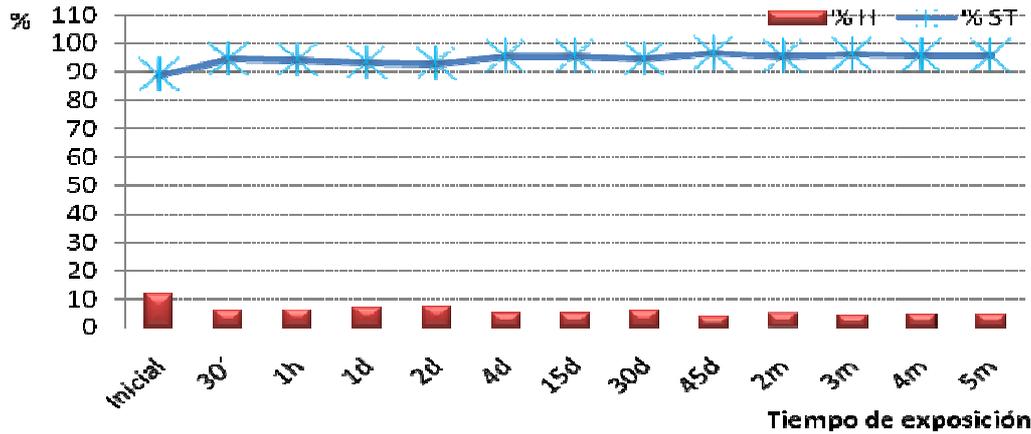
$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ ST}$$

El % de ST en la matriz húmeda (Figura 5.1) aumentó en un rango de 14.45 a 16.97 % respecto al inicial de 11.3 %, es decir, tuvo un aumento de 3 unidades porcentuales (u.p.) en los tiempos de 30', 1 h, 1, 30 d, 45 d y 2 m, un aumento de 4 u.p. al tiempo 2 d, 4 d, 15 d, 3 meses y 4 meses; un aumento de 5 u.p. en el tiempo de 5 m. El contenido de humedad disminuyó las mismas u.p. que aumentó el contenido de ST en cada tiempo de exposición, en un rango de 83.03 a 85.58 % respecto al valor inicial de 88.7 %.



**Figura 5.1 Variación del porcentaje de sólidos totales y humedad en cada tiempo de exposición en la matriz húmeda**

La variación del % de ST en la matriz seca se muestra en la figura 5.2, el cual tuvo un aumento en un rango de 92.84 a 95.99 %, respecto al 88.75 % que inicialmente tenía la matriz, presentando un aumento en 4 u.p. al tiempo de 2 d y 1 d, de 5 u.p al tiempo de 1 h, de 6 u.p. al tiempo de 30', 30 d, de 7 u.p. al tiempo de 4 d, 15 d, 45 d, 2 m, 3 m, 4 m y 5 m; el contenido de humedad disminuyó en un rango de 4.01 a 7.16 %, respecto al 11.25 % que inicialmente presentó la matriz, en cada tiempo de exposición disminuyeron proporcionalmente las mismas u.p. que aumentaron en él % de ST.



**Figura 5.2 Variación del porcentaje de sólidos totales y humedad en cada tiempo de exposición en la matriz seca**

### 5.2 Inactivación de las seis especies (sp) de huevos de helmintos.

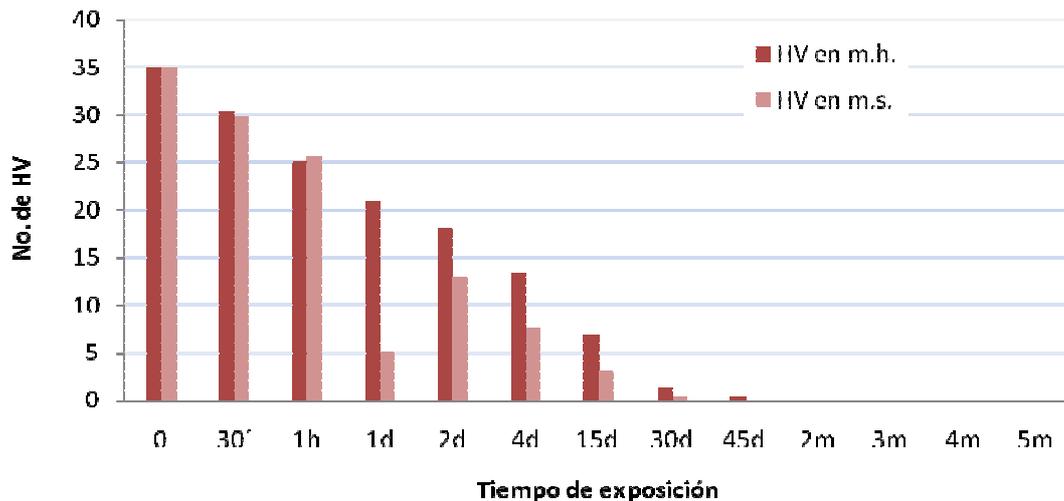
En las siguientes figuras se observan los valores de inactivación de los huevos de *A. lumbricoides*, *A. suum*, *T. canis*, *T. trichiura*, *H. nana* y *T. solium*, en cada tiempo de exposición en la matriz húmeda (m. h.) y matriz seca (m. s.); los valores que se presentan son el promedio del conteo final observado en el microscopio, los cuales se muestran en el anexo II.

La inactivación se determinó en función de la disminución de los huevos viables (HV) que se detectaron después de haber inoculado una concentración inicial de 35 huevos fértiles de cada una de las especies en cada matriz respecto al tiempo de contacto. La cantidad de huevos viables, más que la cantidad total de huevos (viables + no viables), es esencial para determinar el riesgo de contaminación por parásitos, ya que la fase infectiva y el desarrollo de la enfermedad se relaciona directamente con la fase viable.

#### 5.2.1 *Ascaris lumbricoides*

En la figura 5.3 se observa la inactivación de los huevos de *A. lumbricoides* en la matriz seca en el primer tiempo de exposición el valor fue de de 29.7 HV, cantidad que fue descendiendo de forma gradual, hasta el tiempo de 1 d donde se registraron 5.1 HV, para luego incrementarse a 13 HV en el siguiente tiempo. Sin embargo, en los siguientes tiempos se observó una disminución gradual hasta de 0.3 HV a los 30 d y del 100 3% a los los 45 d.

En la matriz húmeda, la inactivación fue de manera gradual, en el primer tiempo presentó un valor de 30.3 HV hasta de 0.3 HV a los 45 d ya que después de este tiempo se obtuvo la inactivación total, a los 2 m.

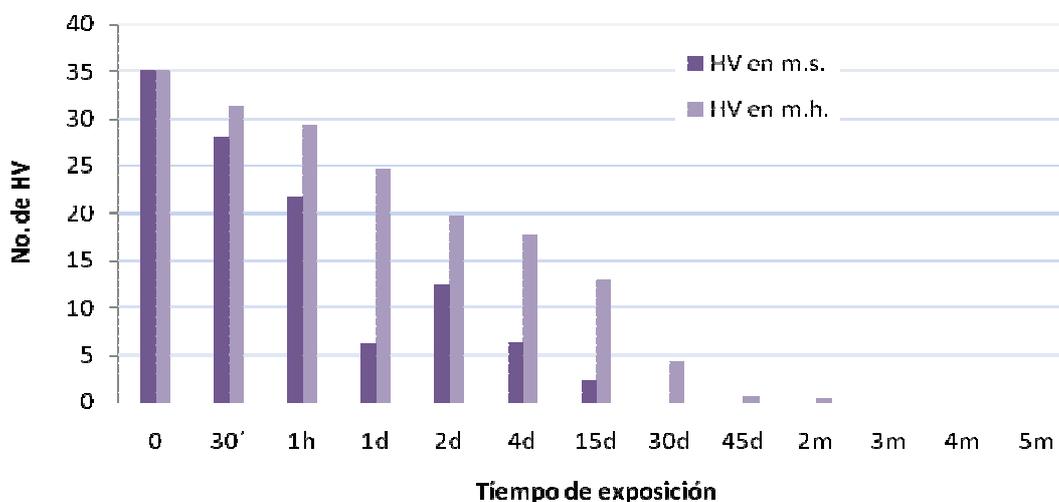


**Figura 5.3 Inactivación de los huevos *A. lumbricoides***

### 5.2.2 *Ascaris suum*

En la figura 5.4 se muestra la inactivación de los huevos de *A. suum* en la matriz seca, el valor inicial fue de 28 HV, para decrecer en los siguientes tiempos; sin embargo, en el tiempo de 1 d se registro 6.2 HV, luego aumentó a 12.3 HV en el siguiente tiempo. Posteriormente, la disminución fue de forma gradual hasta de 2.3 HV a los 15 d y del 100 % a los 30 d.

En el caso de la matriz húmeda la inactivación también fue de manera gradual, en el primer tiempo presentó un valor de 31.3 HV hasta de 0.3 HV a los 2 m, siendo a los 3 meses que se logra la inactivación total.



**Figura 5.4 Inactivación de los huevos *A. suum***

### 5.2.3 *Toxocara canis*

En la figura 5.5 se observa la inactivación de los huevos de *T. canis* en la matriz seca, en el primer tiempo de exposición el valor de HV se inicio con un valor de 26.5 , valor que fue en decremento hasta el tiempo de 1 d, donde se registró 3.7 HV, para luego incrementar a 8.7 HV. Posteriormente, el comportamiento decreciente continuó observándose un valor de 0.7 HV a los 15 d y el 100 % de inactivación a los 30 d de contacto.

En la matriz húmeda, la inactivación fue de manera gradual, en el primer tiempo presentó un valor de 31 HV hasta de 0.7 HV a los 2 m, y el 100 % de inactivación a los 3 m de contacto.

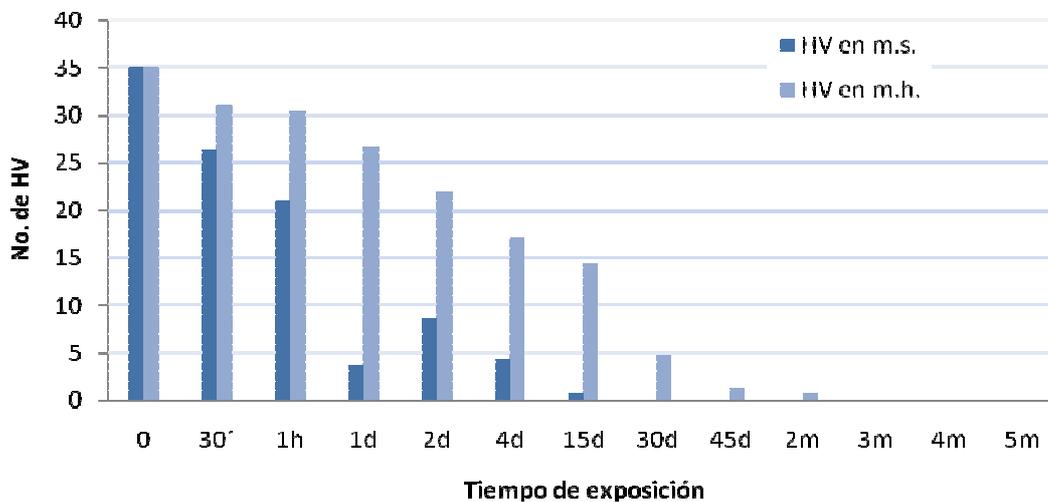
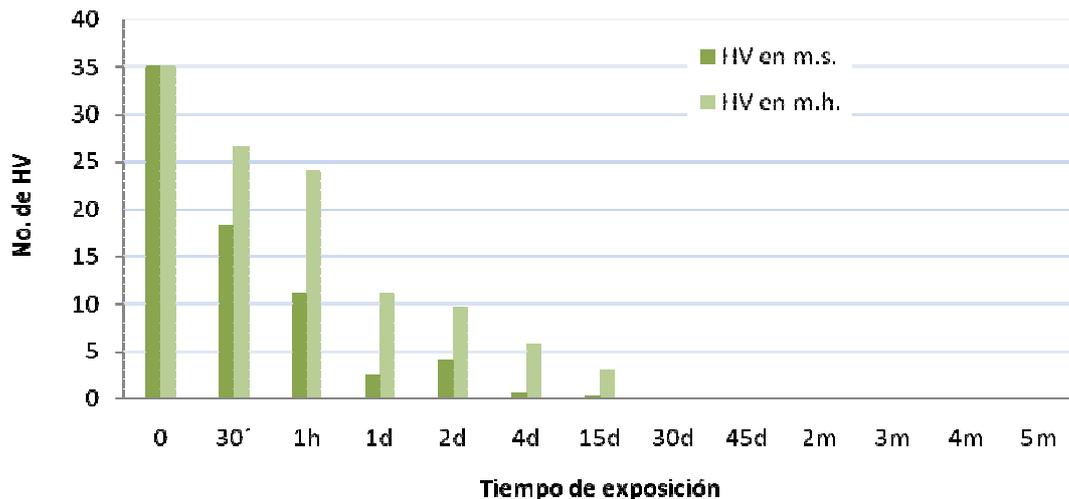


Figura 5.5 Inactivación de los huevos *T. canis*

### 5.2.4 *Trichuris trichiura*

En la figura 5.6 se muestra la inactivación de los huevos de *T. trichiura* en la matriz seca, el primer tiempo de exposición comenzó con un valor de 18.3 HV, posteriormente la cantidad de HV decreció en los siguientes tiempos; sin embargo, en el tiempo de 1 d se registro 2.6 HV, para luego aumentar a 4 HV en el siguiente tiempo, después de este tiempo se present una disminución gradual de 0.3 HV a los 15 d, y una inactivación del 100% a partir de los 30 d.

En la matriz húmeda, la inactivación fue de manera gradual, en el primer tiempo presentó un valor de 26.7 HV hasta de 3 HV a los 15 d, y a los 30 d la cantidad de HV fue del 100%.

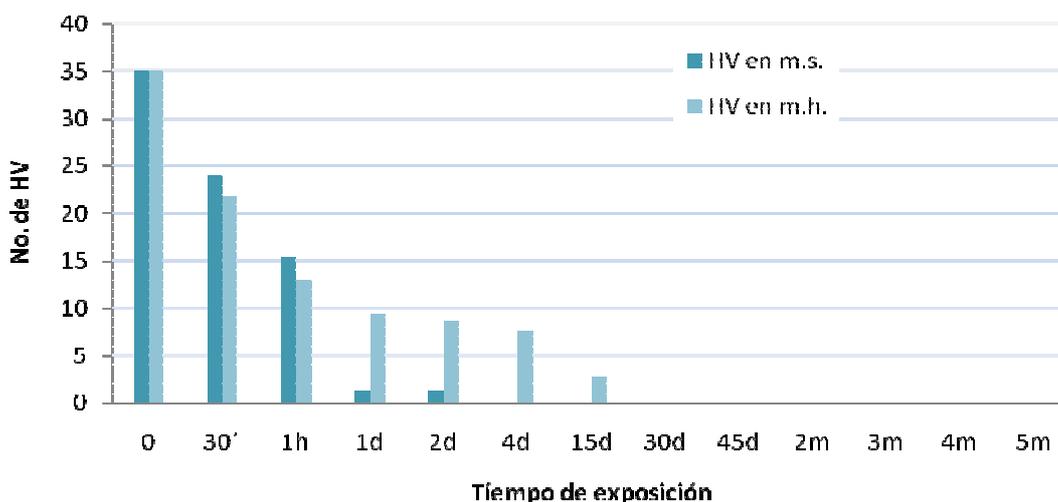


**Figura 5.6 Inactivación de los huevos *T. trichiura***

### 5.2.5 *Hymenolepis nana*

En la figura 5.7 se observa la inactivación de los huevos de *H. nana* en la matriz seca, en el primer tiempo de exposición el valor de HV fue de 24, para posteriormente descender a las cantidades de 15.3, 1.2 y 1.3 HV en los tiempos de 1 h, 1 d y 2 d, respectivamente, logrando la inactivación del 100 % a los 4 d.

En la matriz húmeda, en el primer tiempo de exposición se observó 21.7 HV, para disminuir de forma gradual hasta alcanzar 7.7, 2.7 y 0.0 HV a los 4 d, 15 d y 30 d, respectivamente.



**Figura 5.7 Inactivación de los huevos *H. nana***

### 5.2.6 *Taenia solium*

En la figura 5.8 se muestra la inactivación de los huevos de *T. solium* en la matriz seca, iniciando en el primer tiempo de exposición con un valor de 30 HV, para decrecer en los siguientes tiempos; sin embargo, en el tiempo de 1 d se registro 3.6 HV, para posteriormente aumentar a 6.3 HV. Después de este tiempo la disminución fue de forma gradual hasta de 0.3 HV a los 30 d, y logrando la inactivación total a los 45 d.

En la matriz húmeda, al inicio presentó un valor de 30 HV, posteriormente la cantidad de HV descendió en los siguientes tiempos; sin embargo, en el tiempo de 1 d se registró 19.3 HV, y luego aumentó a 21.7 HV en el siguiente tiempo, después de este tiempo la disminución fue gradual hasta un valor de 0.3 HV a los 45 d, y de 0.0 a los 2 m.

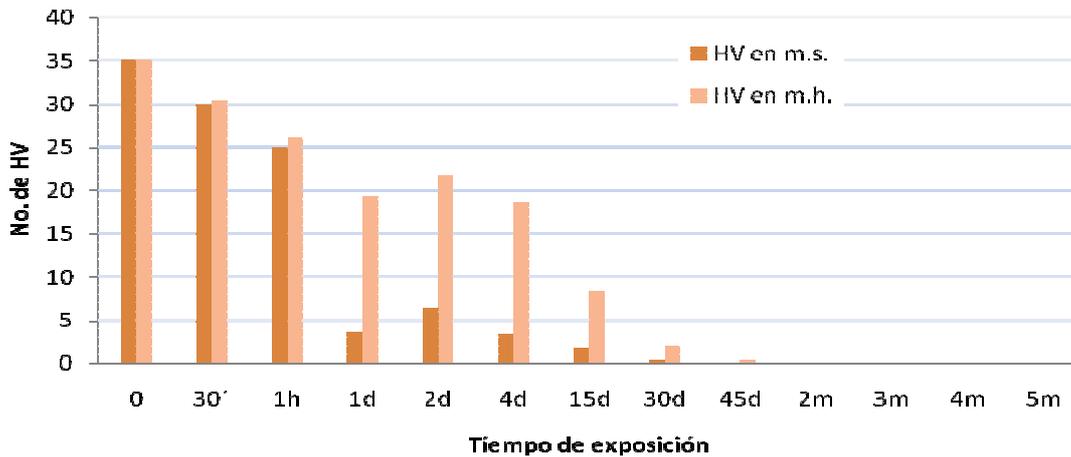


Figura 5.8 Inactivación de los huevos *T. solium*

### 5.2.7 Contenido de huevos no viables de los helmintos

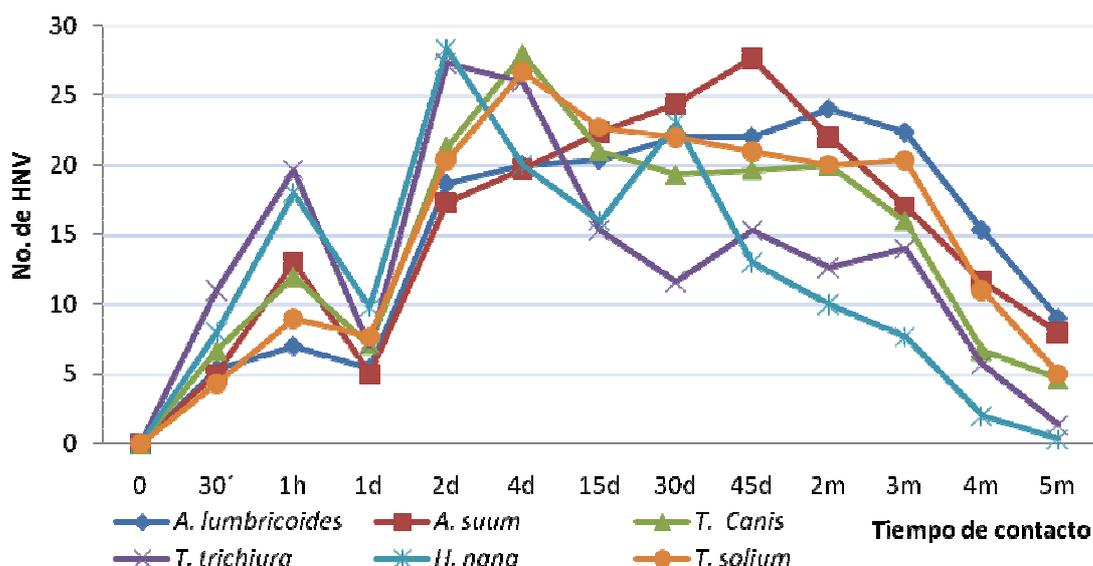
La cantidad de huevos no viables (HNV) de cada especie está relacionada con la pérdida de los huevos viables (HV) ya que al ir disminuyendo la cantidad de HV estos se consideran como HNV, de esta manera desde el primer tiempo de contacto (30') se detectó un aumento de HNV, cuya cantidad al ir incrementándose los tiempos de exposición, ascendió hasta alcanzar un máximo de 35 huevos para cada una de las especies. Cantidad que a su vez fue disminuyendo al incrementar aún más los tiempos de contacto, lo cual indica que los HNV comenzaron a ser destruidos como consecuencia de las condiciones y tiempos a los que fueron sometidos.

### 5.2.7.1 Cantidad de huevos no viables en la matriz seca

En la tabla 5.1 y figura 5.9 se muestra como osciló la cantidad de HNV en la matriz seca en los diferentes tiempos de exposición, siendo diferente para cada especie y tiempo de exposición, como se pudo observar el aumento y disminución antes y después de la cantidad máxima no es de manera gradual:

**Tabla 5.1 Cantidad inicial, máxima y final de huevos no viables (HNV) en la matriz seca.**

	Cantidad inicial de HNV a los 30´:	Cantidad máxima de HNV:	Cantidad final de HNV a los 5 m :
<i>A. lumbricoides</i>	5.3	24 a los 2 m	9
<i>A. suum</i>	5	27.7 a los 45 d	8
<i>T. canis</i>	6.7	28 a los 4 d	4.7
<i>T. trichiura</i>	11	27.3 a los 2 d	1.3
<i>H. nana</i>	8	28 a los 2 d	0.3
<i>T. solium</i>	4.3	26.7 a los 4 d	5



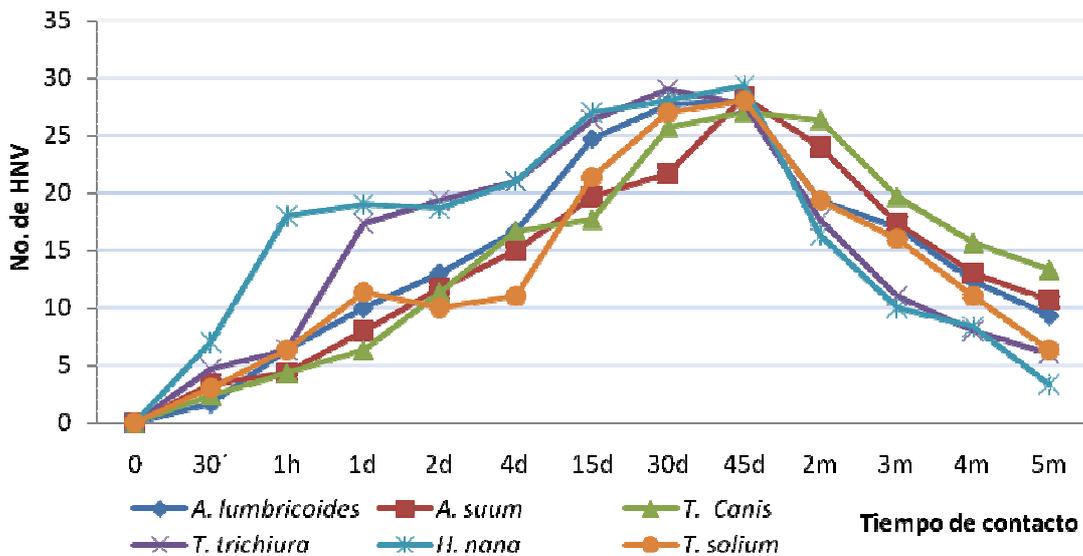
**Figura 5.9 Cantidad de huevos no viables (HNV) de cada especie en la matriz seca**

### 5.2.7.2 Cantidad de huevos no viables en la matriz húmeda

En la tabla 5.2 y figura 5.10 se observa como osciló la cantidad de HNV en la matriz húmeda en los diferentes tiempos de exposición, siendo diferente para cada especie y en cada tiempo de exposición.

**Tabla 5.2 Cantidad inicial, máxima y final de huevos no viables (HNV) en la matriz húmeda**

	Cantidad de HNV a los 30´:	Cantidad máxima de HNV:	Cantidad final de HNV a los 5 m :
<i>A. lumbricoides</i>	1.7	28 a los 45d	9.3
<i>A. suum</i>	3.3	28.3 a los 45d	10.7
<i>T. canis</i>	2.3	27 a los 45d	13.3
<i>T. trichiura</i>	4.7	29 a los 30d	6
<i>H. nana</i>	7	29.3 a los 45d	3.3
<i>T. solium</i>	3	28 a los 45d	6.3



**Figura 5.10 Cantidad de huevos no viables (HNV) de cada especie en la matriz húmeda**

### 5.3 Eficiencia de inactivación de los huevos de helmintos.

Con la finalidad de determinar cuál de las especies fue la más resistente a los diferentes tratamientos de sinérgismo, se calculó el porcentaje de eficiencia de inactivación (% E) de cada especie de huevo de helminto en cada tiempo de exposición en la matriz húmeda y seca, respectivamente, aplicando la siguiente ecuación:

$$E = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} \times 100$$

Donde:

E = Eficiencia de inactivación o remoción

Co = Concentración inicial de huevos viables

Cf = Concentración final de huevos viables.

### 5.3.1 Eficiencia de inactivación en matriz seca

En la tabla 5.3 se muestra la eficiencia de inactivación de los huevos de helmintos que se registraron en la matriz seca; a un tiempo de 30 min, el porcentaje de eficiencia más bajo, lo presentaron *A. lumbricoides* y *T. solium* con valores de 15.2 y 14.3 %E, respectivamente, mientras que *A. suum*, *T. canis* cuenta con 20, 24.8 %E, respectivamente, presentando los valores más altos *T. trichiura* e *H. nana*.

Para el tiempo de 1 h el %E fue aumentando para cada especie, en el caso *H.nana* presentó 96 %E en 1 d y 2 d, registrando a partir de los 4 d el 100 % E, mientras que a los 4 d *A. lumbricoides*, *A. suum* *T. canis* *T. solium* *T. trichiura* registran valores de 78.1, 81.9, 87.6, 90.5 y 98.1 % E, respectivamente.

Las 5 especies de huevos restantes, muestran arriba del 90% E a los 15 d; posteriormente *A. suum*, *T. canis* y *T. trichiura* obtienen el 100 % E a los 30 d; sin embargo, *A. lumbricoides* *T. solium* registran el 99 % en este tiempo, posteriormente a los 45 d todas las especies logran el 100 % E.

**Tabla 5.3 Eficiencia\* de inactivación de los huevos de helmintos en la matriz seca**

Tiempo de exposición	Especie de huevo de helmintos					
	<i>A. suum</i>	<i>A. lumbricoides</i>	<i>T. canis</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>H. nana</i>	<i>T. solium</i>
0	0	0	0	0	0	0
30min	20	15.2	24.8	47.6	31.4	14.3
1h	38.1	26.7	40	68.6	56.2	28.6
1d	82.2	85.4	89.5	92.7	96.5	89.8
2d	64.8	62.9	75.2	88.6	96.2	81.9
4d	81.9	78.1	87.6	98.1	100	90.5
15d	93.3	91.4	98.1	99	100	95.2
30d	100	99	100	100	100	99
45d	100	100	100	100	100	100
2m	100	100	100	100	100	100
3m	100	100	100	100	100	100
4m	100	100	100	100	100	100
5m	100	100	100	100	100	100

\*valores en % de eficiencia

### 5.3.2 Eficiencia de inactivación en matriz húmeda

La eficiencia de inactivación de los huevos de helmintos en la matriz húmeda se observa en la tabla 5.4, donde comienza a notarse un aumento en el % E desde el primer tiempo de exposición por lo que *A. suum*, *T. canis*, *T. trichiura* e *H. nana* presenta 10.5, 11.4, 23.8 y 38 % E, respectivamente, mientras que *A. lumbricoides* y *T. solium* muestran 13.3 %.

En el segundo tiempo el % E aumenta casi al doble (62.9) para *Trichuris trichiura* e *Hymenolepis nana*, mientras que las demás especies registran valores en un rango de 13.3 a 31.4 % E. Para el tiempo de 1 h *T. trichiura* e *Hymenolepis nana* presentan 68.6 y 73.3 % E, respectivamente, siendo los valores más altos de eficiencia. Este comportamiento continúa hasta el tiempo de 15 d con 91.4 y 92.4 %E, respectivamente, a partir de los 30 d se observa el 100% E.

Para el tiempo anterior *T. solium* y *A. lumbricoides* muestran 94.3 y 96.2 % E, respectivamente, aumentando a 99% E a los 45 d para que finalmente a partir de los 2 m registrar el 100 %E. Mientras que a los 2 m *A. suum* muestra el 99 %E, siendo que a los 3 m todas las especies obtiene el 100 %E.

**Tabla 5.4 Eficiencia\* de inactivación de los huevos de helmintos en la matriz húmeda**

Tiempo de exposición	Especie de huevo de helmintos					
	<i>A. suum</i>	<i>A. lumbricoides</i>	<i>T. canis</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>H. nana</i>	<i>T. solium</i>
0	0	0	0	0	0	0
30min	10.5	13.3	11.4	23.8	38.1	13.3
1h	16.2	28.6	13.3	31.4	62.9	25.7
1d	29.5	40	23.8	68.6	73.3	44.8
2d	43.8	48.6	37.1	72.4	75.2	38.1
4d	49.5	61.9	59	83.8	78.1	46.7
15d	62.9	81	86.7	91.4	92.4	76.2
30d	87.6	96.2	96.2	100	100	94.3
45d	98.1	99	98.1	100	100	99
2m	99	100	100	100	100	100
3m	100	100	100	100	100	100
4m	100	100	100	100	100	100
5m	100	100	100	100	100	100

\*valores en % de eficiencia

## 5.4 Análisis estadístico

El análisis de ANOVA factorial del modelo de parcelas divididas, se muestra en la tabla 5.5, donde el p-value ( $<0.0001$ ) de la interacción tiempo\*especie\*humedad es muy pequeño, es decir, hay efecto significativo ( $\alpha=0.05$ ) de la humedad, especie y tiempo en la inactivación de los huevos de helmintos.

Para estudiar el efecto que tienen los tres factores sobre la viabilidad de los huevos, se apoyó con los datos obtenidos de similitud y/o diferencia de la prueba de comparaciones múltiples Tukey; por lo que se fijó un nivel de uno de los factores y se analizó el comportamiento de los otros dos.

**Tabla 5.5 Análisis de varianza factorial (ANOVA)**

Factor	G.L	G.L denominador	F	Prob > F
Humedad	1	72	153,5154	<,0001
Tiempo	2	72	332,4912	<,0001
Especie	5	72	103,6441	<,0001
Humedad*tiempo	2	72	13,4604	<,0001
Humedad*especie	5	72	7,9031	<,0001
Tiempo*especie	10	72	4,6269	<,0001
Humedad*tiempo*especie	10	72	5,0762	<,0001

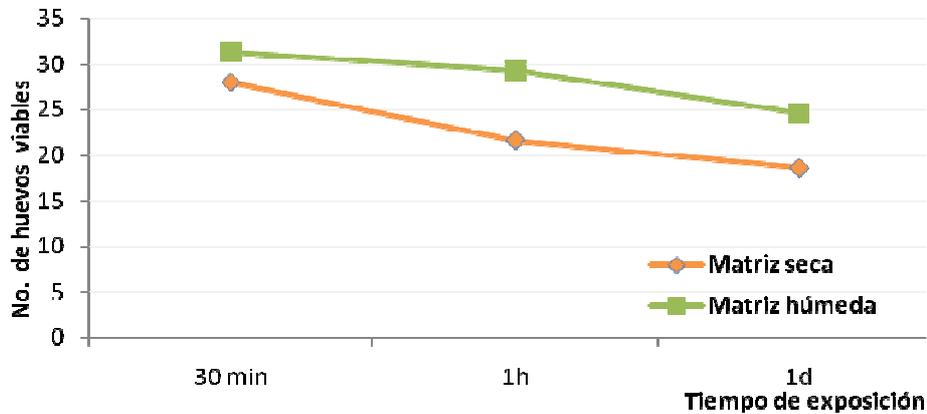
\* interacción ente los factores

Cabe mencionar que sólo se tomaron en cuenta los tres primeros tiempos de exposición (30 min, 1 h y 1 d), debido a que en el cuarto tiempo comenzaron a registrarse conteos nulos (para el caso de *H. nana*) por lo que no podían compararse estadísticamente los tres factores. Las siguientes figuras muestran el comportamiento de inactivación de los huevos de helmintos para referir los tiempos que se tomaron en cuenta ya que la descripción de dichas figuras corresponden a los valores de igualdad o diferencia estadística obtenidos de la prueba de Tukey.

### 5.4.1 Factor especie fija

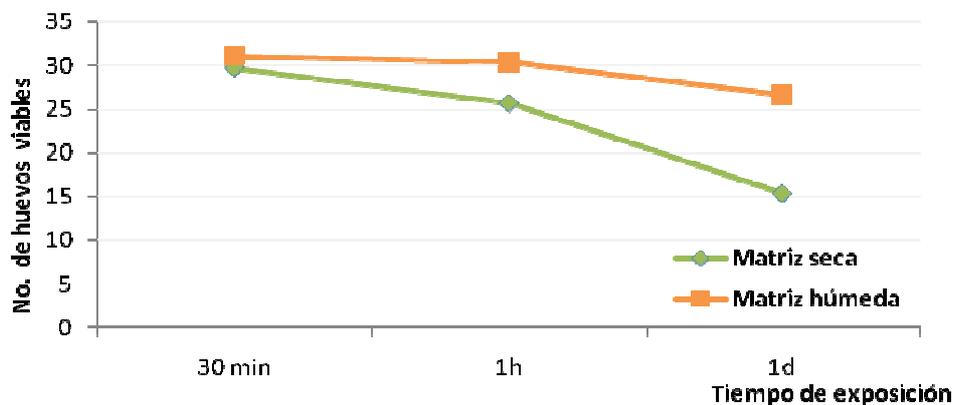
En las siguientes figuras se muestra como se comportó estadísticamente (igual o diferente) la inactivación de los huevos de cada una de las especies respecto al tiempo y la matriz.

En la figura 5.11 se observa que la inactivación de los huevos de *A. suum*; en la matriz húmeda en los tres tiempos fue igual, mientras que en la matriz seca al primer tiempo fue diferente, con respecto al segundo y tercer tiempo de exposición. Por otro lado, la inactivación de los huevos fue igual en el primer y tercer tiempo, en ambas humedades presentando diferencias en el segundo tiempo.



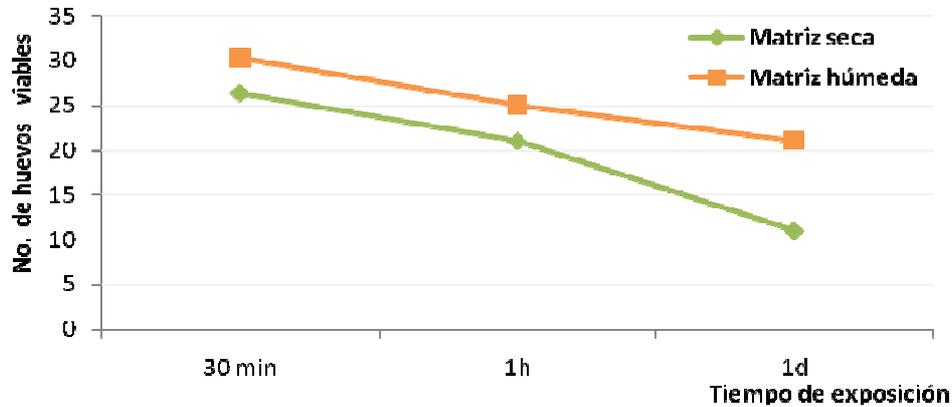
**Figura 5.11 Inactivación de los huevos de *A. suum* en la matriz seca y húmeda**

La inactivación de los huevos de *A. lumbricoides* se muestra en la figura 5.12, en la matriz seca fue igual para el primer y segundo tiempo, mientras que para el tercer tiempo fueron diferentes. Con respecto a la matriz húmeda la inactivación fue la misma para los tres tiempos. Sin embargo, la inactivación de los huevos en ambas humedades resultó que en el primer y segundo tiempo fue igual, pero con diferencias en el tercer tiempo.



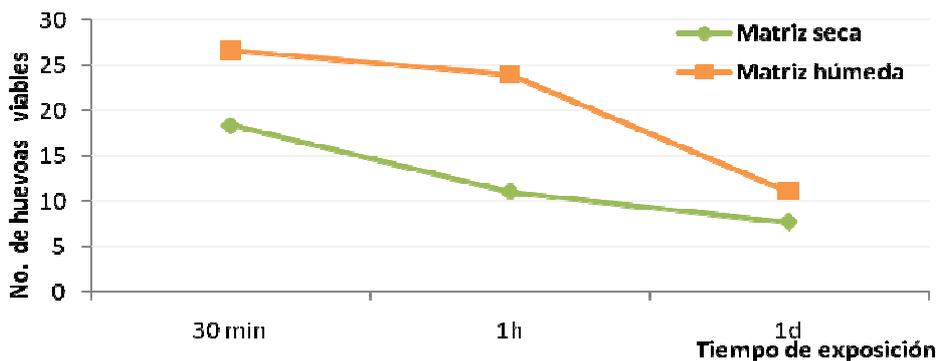
**Figura 5.12 Inactivación de los huevos de *A. lumbricoides* en la matriz seca y húmeda**

En la figura 5.13 la inactivación de los huevos de *T. canis* en la matriz seca fue igual en el primer y segundo tiempo, pero diferente en el tercer tiempo, observándose el mismo comportamiento en la matriz húmeda. Comparando la inactivación de los huevos en ambas humedades resultó que para el primer y segundo tiempo fueron iguales presentando diferencias hasta el tercer tiempo.



**Figura 5.13 Inactivación de los huevos de *T. canis* en la matriz seca y húmeda**

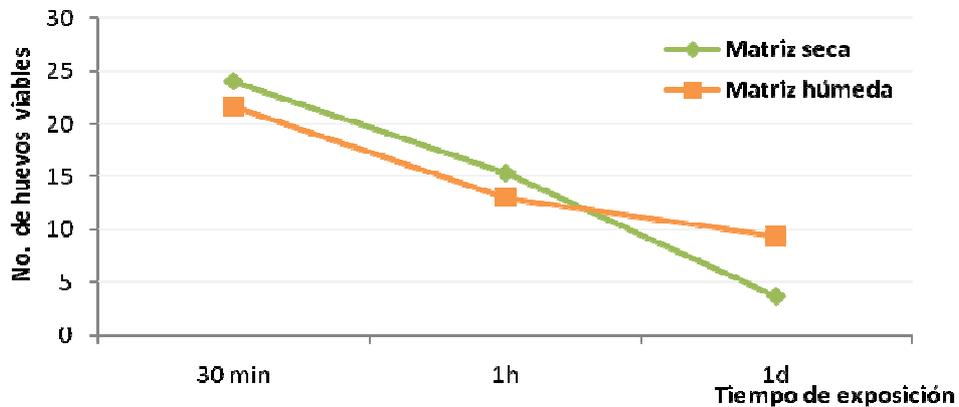
En la figura 5.14 se muestra que la inactivación de los huevos de *T. trichiura*, en la matriz seca se mantuvo igual en el segundo y tercer tiempo; sin embargo, la matriz húmeda presentó diferencias en el tercer tiempo con respecto al primero y segundo. En ambas humedades en el primer tiempo la inactivación de los huevos fue estadísticamente igual, pero diferente en el segundo y tercer tiempo, los cuales fueron similares entre sí.



**Figura 5.14 Inactivación de los huevos de *T. trichiura* en la matriz seca y húmeda**

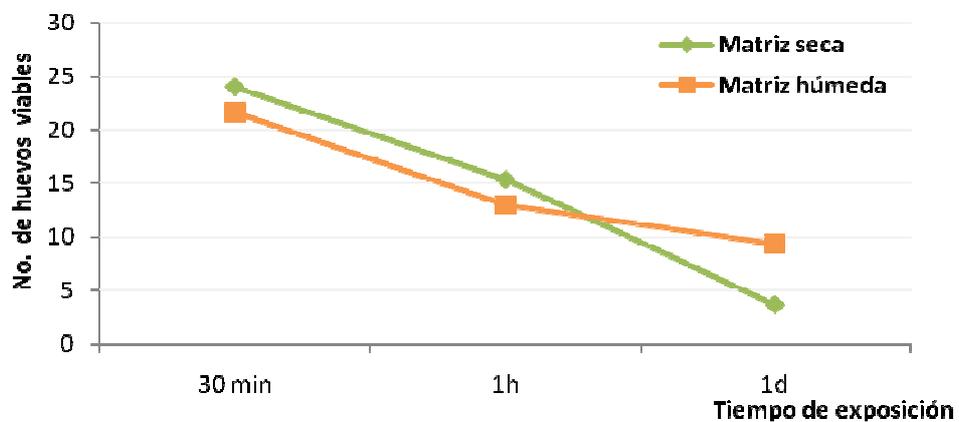
En la figura 5.15 se muestra que la inactivación de los huevos de *H. nana* fue estadísticamente diferente en los tres tiempos en la matriz seca, mientras que en la

matriz húmeda se mantuvo igual en el segundo y tercer tiempo pero con diferencias respecto al primer tiempo. La inactivación de los huevos, en ambas humedades, no mostró diferencias significativas en los tres tiempos.



**Figura 5.15 Inactivación de los huevos de *H. nana* en la matriz seca y húmeda**

En la figura 5.16 se puede observar la inactivación de los huevos de *T. solium*, en la matriz seca fue igual en el primer y segundo tiempo, pero diferente al tercero. El mismo comportamiento se observó en el caso de la matriz húmeda.



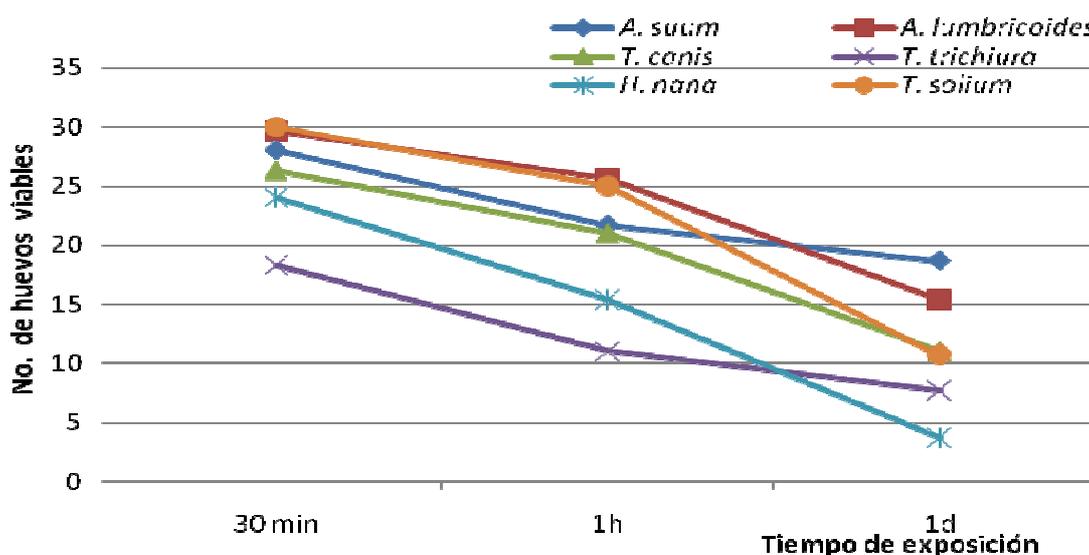
**Figura 5.16 Inactivación de los huevos de *T. solium* en la matriz seca y húmeda**

#### 5.4.2 Factor humedad fijo

En las siguientes figuras se observa cómo se comportó estadísticamente (igual o diferente) la inactivación de los huevos de helmintos con respecto al tiempo y especie estudiada en cada matriz.

La inactivación de *A. suum*, *A. lumbricoides*, *T. canis*, *H. nana* y *T. solium* en la matriz seca (Figura 5.17) fue estadísticamente igual pero presentó diferencias con *T. trichiura* a los 30 min; para el siguiente tiempo, la inactivación fue estadísticamente igual para *A. suum*, *A. lumbricoides*, *T. canis* y *T. solium*, pero con diferencias respecto a *T. trichiura* e *H. nana*, las cuales se comportaron de manera similar. En el tiempo de exposición de 1 d, la inactivación aumentó para cada especie, en el que la inactivación de *A. suum* y *A. lumbricoides* fue igual, pero con diferencias significativas respecto a *T. canis*, *T. solium* y *T. trichiura*, las cuales a su vez fueron diferentes con respecto a *H. nana*.

Por otro lado, se comparó la inactivación de los huevos de cada especie respecto a cada tiempo de exposición, observándose que *A. lumbricoides*, *T. canis* y *T. solium* son estadísticamente iguales en 30 min y 1 h, pero con diferencias para el tercer tiempo; sin embargo, la inactivación de *T. trichiura* y *A. suum* fue igual al tiempo de 1 h y 1 d, pero con diferencias en 30 min. Mientras la inactivación de *H. nana* fue diferente en los tres tiempos.



**Figura 5.17 Inactivación de los huevos de helmintos en la matriz seca.**

En la figura 5.18, se observa que en la matriz húmeda, la inactivación de *A. suum*, *A. lumbricoides*, *T. canis*, *T. trichiura* y *T. solium* fue igual, pero diferente con *H. nana* a los 30 min; para el tiempo de 1 h se mantuvo el mismo comportamiento de inactivación de cada especie; sin embargo, para el tiempo de 1 d la inactivación de *A. lumbricoides* y *A. suum* (significativamente iguales), mostró diferencias con *T. canis* y *T. solium* (significativamente iguales), que también presentó diferencias respecto a *T. trichiura* e *H. nana* (significativamente iguales).

La inactivación de cada especie respecto al tiempo de exposición fue igual para *A. lumbricoides* y *A. suum* en los tres tiempos; sin embargo, la inactivación de *T. trichiura* y *T. solium* fue igual a los 30 min y 1 h, pero con diferencias para 1 d; mientras que la inactivación de *T. canis* e *H. nana* fue en 1 h y 1 d siendo diferente a los 30 min.

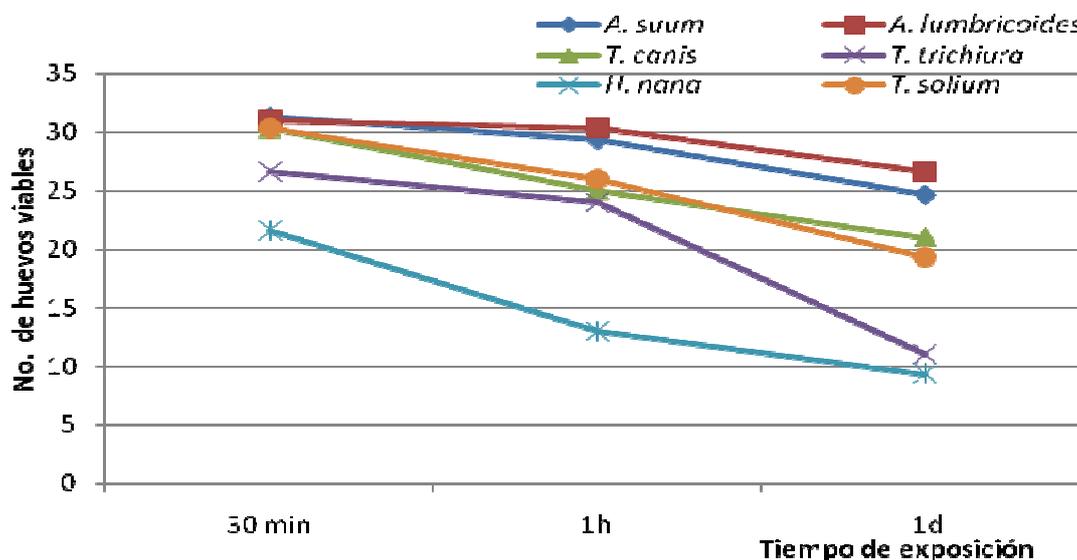


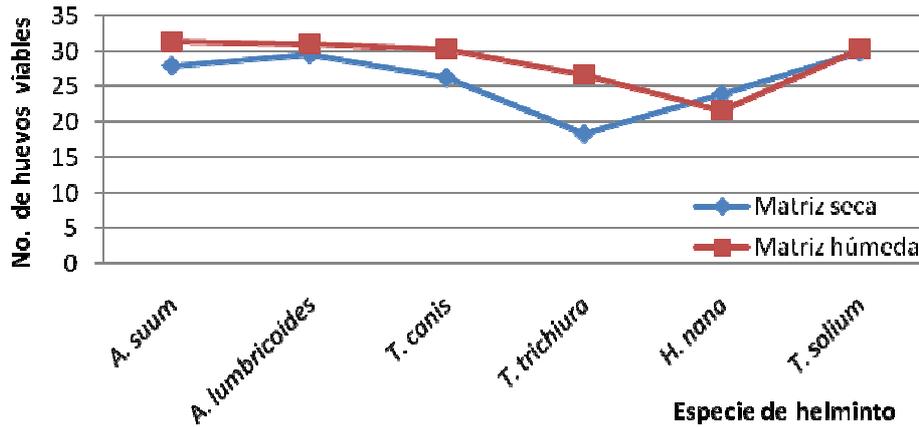
Figura 5.18 Inactivación de los huevos de helmintos en la matriz húmeda.

#### 5.4.3 Factor tiempo fijo

En las siguientes figuras se muestra, como se comportó estadísticamente, la inactivación de las especies de huevos de helmintos con respecto a la matriz.

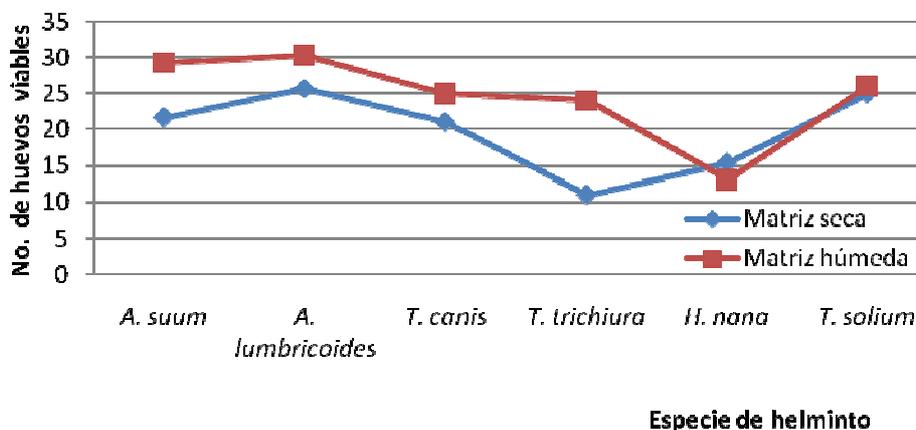
En la figura 5.19 se muestra la inactivación de los huevos a los 30 min, donde estadísticamente *A. suum*, *A. lumbricoides*, *T. canis*, *H. nana* y *T. solium* presentan la misma inactivación en ambas condiciones, caso contrario el de *T. trichiura* que mostró diferencias significativas en ambas humedades.

Por otro lado, en la matriz seca, la inactivación de *T. trichiura* presentó diferencias significativas respecto a las demás especies que fueron iguales entre sí. Mientras en la matriz húmeda *H. nana* fue la que mostró diferencias significativas respecto a las especies restantes, las cuales también fueron estadísticamente iguales entre sí.



**Figura 5.19 Inactivación de los huevos de helmintos en 30 min.**

En la figura 5.20 se muestra la inactivación de los huevos al tiempo de 1 h en el que estadísticamente *A. lumbricoides*, *Toxocara canis*, *Hymenolepis nana* y *Taenia solium* presentaron la misma inactivación, caso contrario el de *T. trichiura* y *A. suum*. Por otro lado, en la matriz seca la inactivación de *T. trichiura* e *H. nana* presentó diferencias significativas respecto a las demás especies que fueron iguales entre ellas. Mientras que en la matriz húmeda la inactivación de *H. nana* mostró diferencias significativas con las demás especies que fueron estadísticamente iguales entre sí.



**Figura 5.20 Inactivación de los huevos de helmintos en 1 h**

En la figura 5.21 se observa la inactivación de los huevos de helmintos al tiempo de 1 día donde *A. suum*, *Trichuris trichiura* e *Hymenolepis nana* mostraron la misma inactivación, mientras que *A. lumbricoides*, *Toxocara canis* y *Taenia solium* presentaron diferencias significativas en ambas condiciones.

Por otro lado, en la matriz seca, la inactivación de *A. suum* y *A. lumbricoides* fue igual mientras que la de *Toxocara canis*, *Taenia solium* y *Trichuris trichiura* presentaron diferencias, las cuales a su vez fueron diferentes a *H. nana*. Mientras que en la matriz húmeda la inactivación de *A. suum* y *A. lumbricoides* fue igual, pero diferente a la de *T. solium* y *T. canis* que fueron estadísticamente iguales, las cuales a su vez presentaron diferencias con *T. trichiura* e *H. nana* que también mostraron ser iguales entre sí.

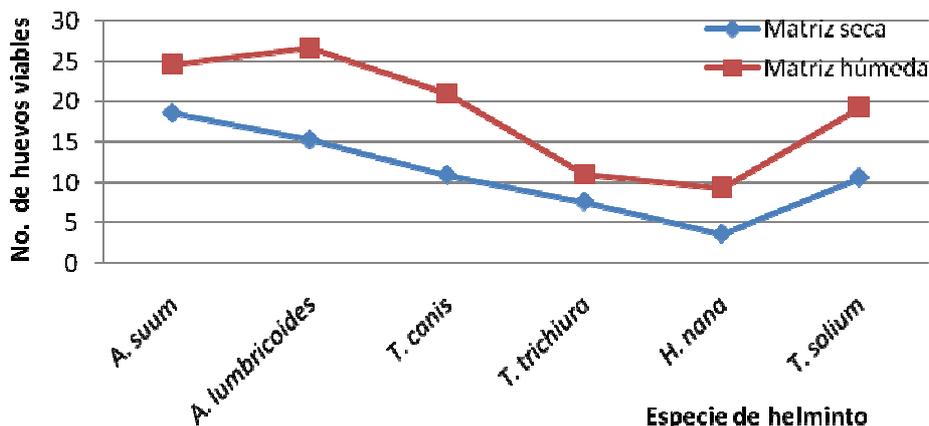


Figura 5.21 Inactivación de los huevos de helmintos en 1 día.

## 5.5 Monitoreo del pH, temperatura y viabilidad de huevos de helmintos con azul tripán

### 5.5.1. pH

En la siguiente tabla se muestra que el valor inicial del pH para la matriz húmeda y seca es de 5.8 y 7, respectivamente, y después de agregarle la cal al 20 % el pH aumentó a 12.76 y 12.95, respectivamente en cada humedad, permaneciendo no menor a 12.5 en la matriz húmeda. En el caso de la matriz seca se observó el valor de 12.91 en el 1 mes descendiendo hasta 12.76 en el tercer mes.

Tabla 5.6 Variación del pH durante el tiempo de exposición total

Tiempo	Matriz húmeda	Matriz seca
Inicial	5.8	7
30 min	12.76	12.95
1 m	12.75	12.91
2 m	12.76	12.81
3 m	12.51	12.76

m: mes

### 5.5.2. Temperatura

En la tabla 5.7 se observa la temperatura monitoreada del remolque, lugar donde se almacenaron las unidades experimentales en cada tiempo de exposición; registrando valores promedio de 12.73 a 19.73 °C durante un periodo de 5 meses; siendo el mes de Diciembre el más frío y Marzo el mes más caluroso. En el mes de Enero no se registraron valores de %H debido a que no se contaba con el equipo, la humedad más alta se registro en el mes de Octubre con valores > de 60 %, registrándose valores de 50 a 60 %H en el mes de Noviembre, Diciembre y Febrero.

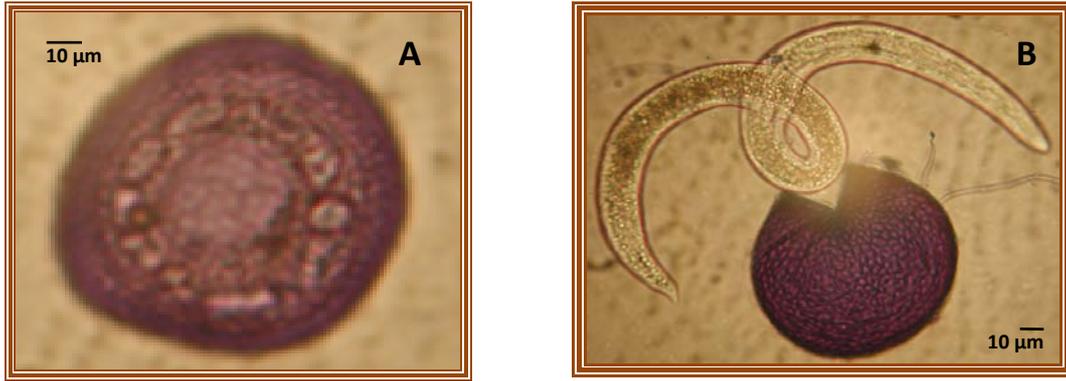
**Tabla 5.7 Monitoreo de temperatura y humedad en el área de almacenamiento de las unidades experimentales**

Mes	Semana	T (°C)	H (%)	Mes	Semana	T (°C)	H (%)
Octubre	1	18,00	68,40	Enero	1	14,60	s. d
	2	17,60	65,60		2	12,73	s. d
	3	16,27	65,40		3	13,93	s. d
	4	15,80	59,20		4	16,13	s. d
Noviembre	1	16,53	57,20	Febrero	1	13,58	s. d
	2	17,80	57,60		2	16,00	54,20
	3	14,13	53,80		3	18,73	57,20
	4	14,67	58,00		4	14,93	54,00
Diciembre	1	14,00	52,80	Marzo	1	15,13	42,40
	2	13,80	52,40		2	19,07	43,20
	3	13,67	50,00		3	18,20	54,80
	4	Vacaciones			4	19,73	50,20

s.d: sin datos

### 5.5.3. Viabilidad con azul tripán

La determinación de la viabilidad de los huevos de nemátodos con el proceso de tinción de azul tripán decidió no usarse ya que resultó ser poco confiable con respecto al proceso de incubación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0.1N, (Jiménez *et al.*, 2008; Maya *et al.*, 2008). La técnica de tinción mostró lecturas con falsos positivos, es decir, cuando los huevos teñidos (no viables) fueron sometidos al proceso de incubación desarrollaron larva en su interior (Figura 5.22) o de manera contraria cuando los huevos no teñidos (viables) no desarrollaban larva después de su incubación.

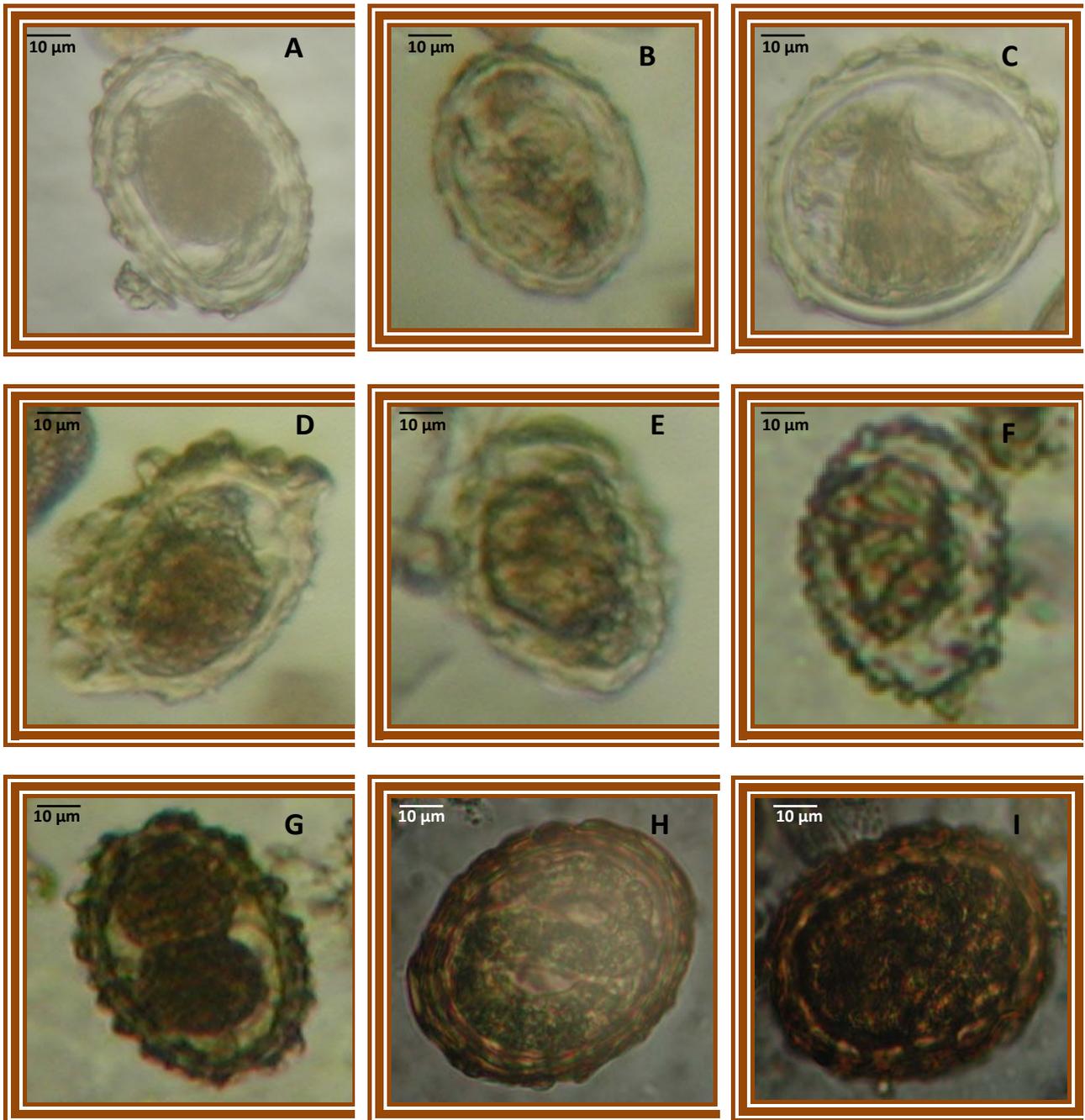


**Figura 5.22** Huevo de *T. canis* teñido con azul tripán. Huevo “no viable” con larva (A), eclosión de larva en huevo teñido (B). Fuente: Jiménez *et al.*, 2008. Aumento 400x, campo claro de Microscopio Óptico.

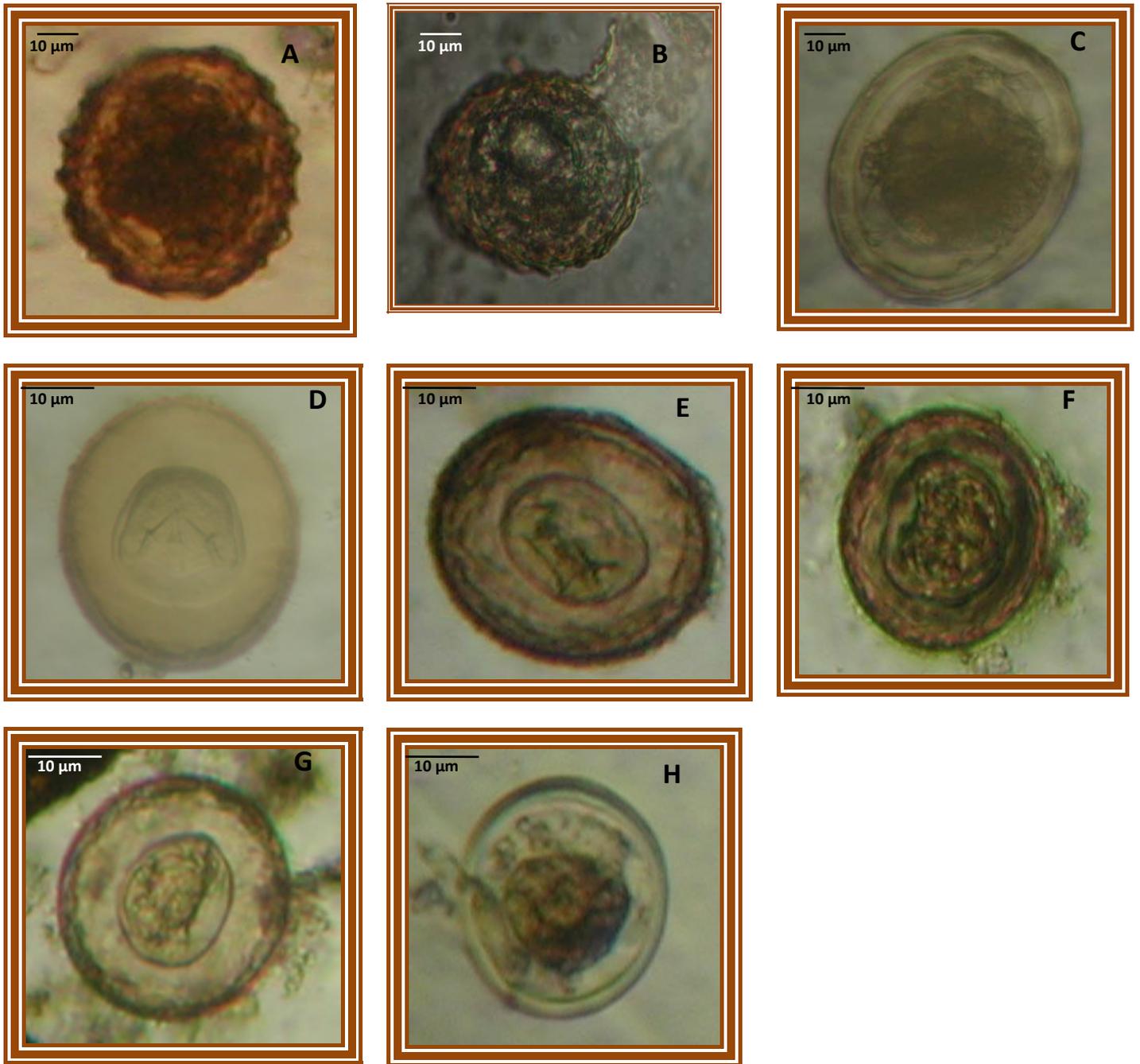
### 5.6 Daños ocasionados en la morfología los huevos de los helmintos

En las siguientes figuras se muestran los daños ocasionados a la estructura de los huevos de helmintos después del tratamiento térmico - alcalino, en algunos casos se observa la deformación parcial o total de alguna de las capas del huevo e inclusive del embrión o larva que se encontraba en proceso de desarrollo, en otras imágenes se muestra cómo algunos huevos quedaron totalmente deshidratados.

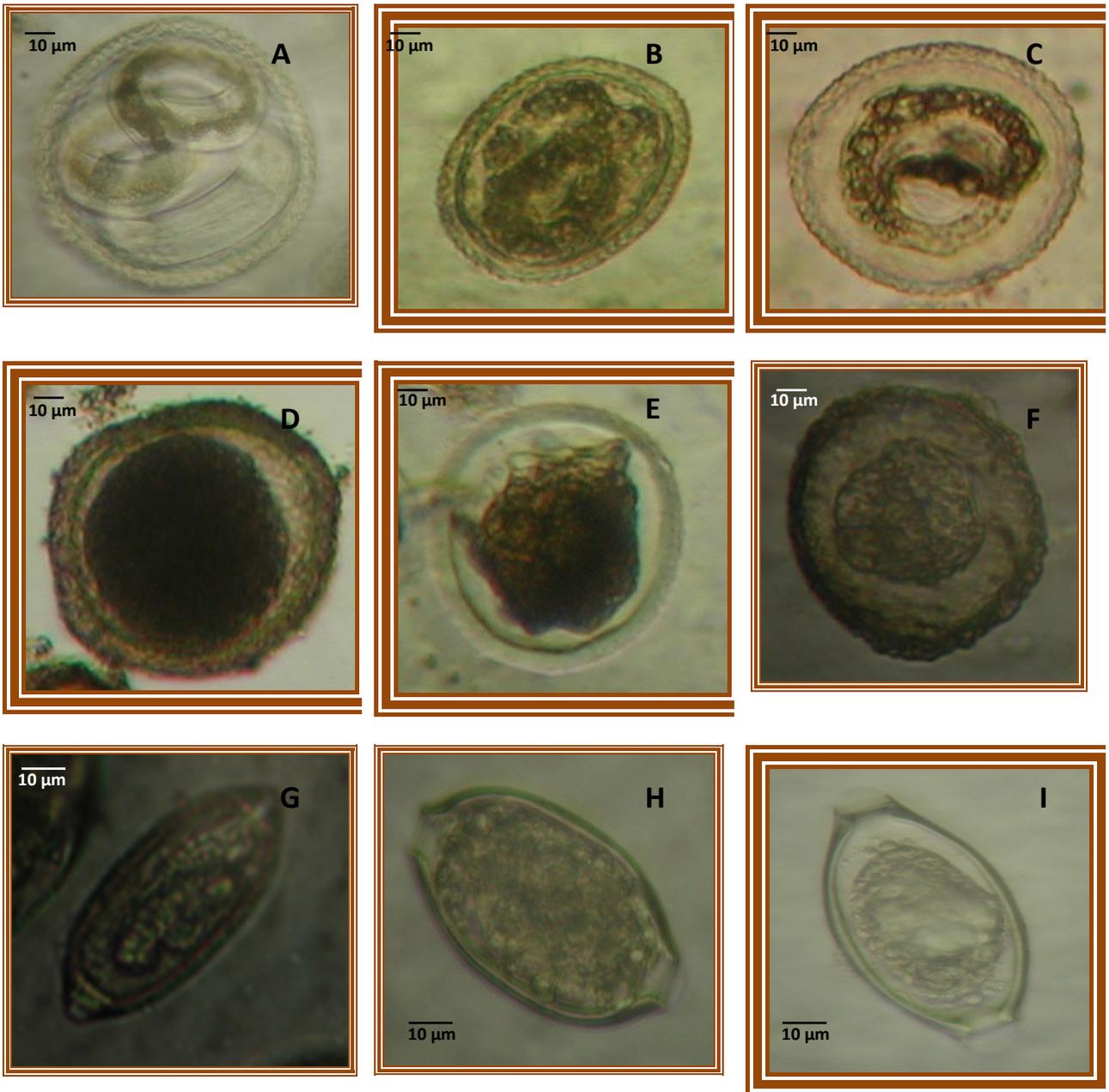
En la figura 5.23 y 5.24 se observan daños ocasionados a los huevos de *Ascaris*, así como algunas deformaciones que tuvieron los huevos de *Ascaris* e *H. nana*. En la figura 5.25 se distinguen los daños ocasionados a los huevos de *T. canis* y *T. trichiura*.



**Figura 5.23 Huevos de *Ascaris* con cambios morfológicos en su estructura.** A. *suum* con desprendimiento de la membrana mamelonada (A), *A. suum* con destrucción total del embrión o larva (B), *A. suum* con deformación de membrana externa y núcleo (C), huevos de *Ascaris* en proceso de desecación con su estructura deforme (D, E y F), *A. lumbricoides* en proceso de embriogénesis (G), *A. lumbricoides* larvado (H e I). Aumento 400x, campo claro de Microscopio Óptico.



**Figura 5.24 Huevos de Ascaris e *H. nana* con cambios en su estructura.** Huevo de *A. lumbricoides* con larva destruida (A), *Ascaris* con salida de material citoplasmático (B), *A. summ* con embrión o larva destruida (C), huevo de *H. nana* sin daño aparente (D y E), *H. nana* con hexacanto deforme (F), *H. nana* con interior deshidratado (G), *H. nana* con interior disperso (H). Aumento 400x, campo claro de Microscopio Óptico.



**Figura 5.25 Huevos de de *Toxocara canis* y *Trichuris trichiura* con algunos cambios en su morfología.** Huevo de *T. canis* larvado (A), huevo de *T. canis* larvado sin movimiento (B), huevo con larva en proceso de destrucción (C), *T. canis* fértil (D), *T. canis* con interior deforme y adelgazamiento de capa externa (E), *T. canis* casis deshidratado (F), *T. trichiura* larvado (G), *T. trichiura* con interior disperso (H), larva de *T. trichiura* en proceso de destrucción (I). Aumento 400x, campo claro de Microscopio Optico.

## **6. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

### **6.1 Variación de porcentaje de Sólidos Totales (%ST)**

El uso de la estabilización alcalina incrementa la masa seca respecto al valor inicial (EPA, 1994) esto se corroboró con los valores obtenidos en la matriz húmeda (Fig.5.1) y seca (Fig.5.2), donde el aumento varió en un rango de 4 a 6 unidades más que al inicio, también Hernández (1998) obtiene un aumento de 32.8 y 38.7 %ST a 37.7 y 44.5 %ST, respectivamente, al igual que Jiménez *et al.* (2008) quienes reportan un aumento 5 a 8 % ST, a partir de los 30 minutos al sexto mes.

El % H se ve afectado directamente por el contenido de sólidos totales, por lo que la disminución de la humedad durante el tiempo de exposición en la matriz húmeda y seca es proporcional al aumento del %ST (Fig. 5.1 y 5.2), esta baja del % H en la matriz ayudó a que la pérdida de viabilidad del huevo fuera más eficiente, siendo la humedad es uno de los factores principales que inhiben el desarrollo de los huevos de helmintos (Santos, 1998).

### **6.2 Efecto de la temperatura de 45°C**

El efecto de la temperatura sobre la eliminación y/o pérdida de viabilidad de los huevos de helmintos es por medio del incremento o decremento de la velocidad de las reacciones químicas y enzimáticas (desnaturalización) de los procesos celulares, alterando y afectando el mecanismo de los distintos organelos celulares y por lo tanto del metabolismo, hasta llegar a un punto crítico de inactivación de las reacciones (Madigan *et al.*, 2004).

La eficiencia en la destrucción de los huevos de helmintos depende del tiempo y la temperatura aplicada, ya que los cambios en la membrana se han observado desde temperaturas de 44 °C, el cual provocó un aumento repentino en la permeabilidad de la misma (WHO, 2004), por otro lado Maya *et al.* (2008) reportaron que las deformaciones observadas en las membranas de los huevos fueron menores a temperaturas de 40 y 50 °C, comparada con temperaturas de 70 y 80 °C.

### **6.3 Efecto del pH alcalino con CaO al 20 %**

Cuando se considera el requerimiento de un pH específico para el crecimiento de un organismo en particular hay que tomar en cuenta que el pH óptimo representa sólo el pH del medio extracelular; el pH intracelular debe permanecer próximo a la neutralidad

para evitar la destrucción de las macromoléculas que son sensibles al ácido o al álcali (Madigan *et al.*, 2004).

En la estabilización alcalina un factor muy importante es la elevación del pH, por lo que es considerado un parámetro de control en los procesos de tratamiento de lodos. Las reacciones que ocurrieron dentro de la estabilización de un lodo con CaO no están del todo comprendidas. Ello debido a que estas van a depender del tipo de lodo, así como de sus componentes y sus concentraciones o proporciones (Méndez, 2003).

La influencia del pH sobre los huevos ocurrió de manera similar a como afecta la temperatura; debido a que la mayoría de los ambientes naturales tienen un valor de pH entre 5 y 9, los organismos con pH óptimo de este orden son los más comunes y en el caso de los huevos de helmintos logran formar la fase infectiva a este rango, mientras que la eclosión del huevo y crecimiento de la larva normalmente se da en condiciones ácidas (Tay *et al.*, 2002; Madigan *et al.*, 2004).

El efecto de la cal al 20 % sobre la cantidad de huevos viables en lodos tratados, han alcanzado reducir de 160 a 42 HV en lodos fisicoquímicos y 332 a 80 HV en lodos secundarios (Hernández, 1998), pero Méndez (2003) obtuvo la inactivación total de *Trichuris* spp., *Hymenolepis* spp. y *Toxocara* spp. a partir de concentraciones iniciales de 4, 3 y 1 HH/g ST, respectivamente, en un tiempo de contacto de 2 horas.

Sin embargo, Jiménez *et al.* (2008) utilizó una concentración inicial de 35 HV de seis especies diferentes, consiguiendo una reducción de 10 HV de *A. lumbricoides*, 7 HV de *A. suum*, 8 HV de *T. canis*, 4 HV de *T. trichiura* e *H. nana* y 3 HV de *Taenia* spp.; en un tiempo de contacto de 30 min.

#### **6.4 Efecto de la humedad.**

La pérdida de humedad afectó la viabilidad de los parásitos, ya que estos necesitan un ambiente adecuado para prolongar su supervivencia. Debido a que las células de los microorganismos son en un 70 a 90 % agua, en peso, y todas las reacciones químicas ocurren en el citoplasma que es un ambiente acuoso (Madigan *et al.*, 2004).

Cuando los huevos son expuestos a la desecación, la tasa de agua y la tasa del colapso dependen de la humedad relativa y temperatura a la cual estos son expuestos (Maya *et al.*, 2008), ya que Brown en 1928 (citado por WHO, 2004), reportó que la inactivación de los huevos de *A. suum* fue a los 37 días de secado a temperatura ambiente.

## **6.5 Efecto sinérgico de temperatura (45°C), pH (CaO) y humedad (11.2 y 88.7%) en diferentes tiempo de exposición.**

Como se ha mencionado anteriormente el efecto de la temperatura a 45 °C y la cal al 20 %, de forma individual, no tienden a inactivar al 100 % todas las especies de huevos de helmintos presentes, sobre todo con las altas cargas reportadas en los lodos residuales, y si lo logran se requiere de tiempos de contacto de hasta seis meses (Jiménez *et al.*, 2008). Sin embargo, en este estudio se logró obtener la inactivación total de 210 HV de las seis especies de helmintos en 45 días y 3 meses de tratamiento con 45 °C de temperatura y cal al 20 % en el lodo seco y húmedo, respectivamente.

Se ha demostrado que la estabilización alcalina logra incrementar el pH por arriba de 12 por 2 horas y 5 meses (EPA, 2002; Méndez, 2003; Jiménez *et al.*, 2008), coincidiendo con los valores obtenidos de 12.69 y 12.73 en la matriz húmeda y seca respectivamente (ver Tabla 5.2).

Al llevar a cabo la combinación del óxido de calcio con el agua y componentes del lodo, se produce amoníaco (NH<sub>3</sub>) y calor, los cuales ayudan a una inactivación más efectiva de los huevos de helmintos, ocasionando la pérdida de la viabilidad. Debido a que el amoníaco es un gas tóxico para los microorganismos patógenos y el calor generado de las reacciones exotérmicas, incrementa la temperatura, induciendo la destrucción de los lípidos de la membrana externa por medio de la desnaturalización de las enzimas del huevo (Méndez, 2003; Jiménez *et al.*, 2008).

Se ha comprobado que el amoníaco logra inactivar o destruir los huevos de *A. suum.*, *A. lumbricoides* y *Trichuris* (Ghiglietti *et al.*, 1997), el cual no presentó pérdidas durante el proceso, ya que el estudio se realizó simulando un sistema cerrado (Méndez, 2003), ayudando a que la inactivación de los huevos sea más eficiente.

Aunque los huevos logran sobrevivir por varias semanas en condiciones anaerobias su metabolismo se ve afectado por las bajas concentraciones de oxígeno hasta inhibir el desarrollo del huevo (Gaasenbeek y Borgsteede, 1998; WHO, 2004) por lo que los huevos fertilizados tienen un metabolismo aerobio durante el desarrollo de la larva (Takamiya *et al.*, 1993).

En la matriz seca (Tabla 5.3) se muestra que la eficiencia de inactivación de las seis especies de huevos de helmintos fue de 100 % a los 45 d, esto se debe a que los huevos fueron expuesto a una desecación extrema; en primera estancia la matriz

contaba con 11.3 % H, exponiéndola a 45 °C por 2 horas, junto con el aumento de temperatura generado, después de la adición de la cal, la humedad disminuyó de 7.16 hasta 4.01 a %H. Además de que se trabajó simulando un sistema cerrado, el cual permitió que su incremento se conservara por más tiempo. La temperatura dentro del remolque osciló entre 13.5 y 19.7 °C, sin ocasionar cambios reales de la temperatura en el interior del tubo; dichas condiciones favorecieron a que los huevos se colapsaran hasta provocar la muerte del embrión, ya que en ausencia de humedad, el desarrollo se inhibe y la extrema sequedad puede en última instancia destruir la viabilidad de los huevos (WHO, 2004; Guzmán y Campos, 2004).

Sin embargo, en la matriz húmeda (Tabla 5.4) se debe tomar en cuenta la relación másica agua: CaO que presenta el lodo desaguado (10:1 o mayor), la cual induce que el calor liberado durante la reacción sea adsorbido por el exceso de humedad, produciendo así a) un límite de temperatura máximo e insuficiente de la mezcla, b) una disminución de la velocidad a la que ésta se alcanza (Santos, 1998) y c) una menor reducción de huevos viables respecto al tiempo de exposición y a la matriz seca, hasta lograr la inactivación total de las seis especies de huevos de helmintos a los 3 meses de contacto.

Cabe mencionar que el comportamiento de los huevos no viables de cada especie durante todos los tiempos de exposición en ambas humedades fue muy similar, presentando en primera instancia un aumento desde el primer tiempo hasta llegar a una cantidad máxima en un tiempo determinado, manteniéndose durante un período muy corto de tiempo casi sin cambios, para posteriormente reiniciar su reducción hasta una importante reducción. Esto nos indica que el tratamiento combinado de temperatura-cal-%humedad no solo inhibe la viabilidad de los huevos sino también provoca la destrucción de los huevos cuando persisten condiciones hostiles para su sobrevivencia.

Durante los primeros tiempos de exposición en cada humedad (Fig. 5.3 hasta la 5.8), se observa que: al efecto de la cal combinado con la humedad, la resistencia de los huevos viables es mayor, ya que son estructuras de gran resistencia, soportando condiciones ambientales adversas y manteniendo su estado infeccioso durante meses (Tay *et al.*, 2002).

Los resultados observados sobre la inactivación de los huevos viables al estar sometidos a condiciones ambientales desfavorables (aumento de temperatura, un pH arriba de 12, y liberación de amoníaco), concuerdan con los reportados por Eriksen *et al.* (1995) quien obtiene un lodo totalmente libre de huevos viables en 10 semanas,

para el caso de la matriz de húmeda; coincidiendo aun más con los resultados de Manrique *et al.* (2006) quien logró sanear el lodo en 21 días de tratamiento con una dosis de 25 % de CaO en el caso de la matriz seca.

Con respecto a la resistencia de las seis diferentes especies de huevos de helmintos se observó que los huevos de las especies *Trichuris trichiura* e *Hymenolepis nana* (Fig. 5.6 y 5.7, respectivamente) son los menos resistentes al tratamiento al presentar el 100% de eficiencia de inactivación a los 15 días, este comportamiento es similar al reportado por Jiménez *et al.* (2008) ya que su inactivación se obtuvo a los 2 meses de tratamiento con óxido de calcio al 20 %, respecto a *A. suum* (Fig. 5.4), *Toxocaris canis* (Fig. 5.5) y *Taenia solium* (Fig. 5.8) que lograron su inactivación total a los 5 meses de tratamiento con cal al 20%.

Esto se debe a que los huevos de *H. nana* son susceptibles a la desecación a temperaturas superiores a los 45°C y generalmente no son capaces de sobrevivir por más de 10 días en el ambiente (Feachem *et al.*, 1983). De manera contraria los huevos de *A. suum* y *A. lumbricoides* fueron los más resistentes al presente tratamiento.

La mayor resistencia de los huevos de *Ascaris* respecto a los de *Trichuris* se puede deber al tamaño comparativo, ya que los primeros son mayores y tienen mucho mayor superficie en la membrana uterina, por lo que la difusión de los gases es mejor que en *Trichuris*. (Eriksen, 1995; WHO, 2004).

## **6.6 Cambios en la morfología de los huevos de helmintos**

Los cambios en la estructura de los huevos de los helmintos (coloración oscura, granulación, deformación de capas del huevo y/o embrión o larva) que se muestran en las figs. 5.23, 5.24 y 5.25, se debió a que el tratamiento afectó la composición química de las capas del huevo que a su vez provocó la muerte de la larva.

Los cambios y eliminación del contenido total de 41.4 % de proteínas, 36-29.7 % de lípidos (ascarosides, fosfolípidos y triglicéridos) y 14.3-24.9 % de carbohidratos (glucógeno y trehalosa) del huevo (Quilés *et al.*, 2006), posiblemente se iniciaron desde la aplicación de la temperatura a 45 °C, afectando y desorganizando inicialmente los ascarosides (Barret,1976 citado por WHO, 2004) de la membrana lipídica, la cual está compuesta por 25 % de proteínas y 75 % de lípidos (Maya *et al.*, 2008).

Después de adicionar cal al 20 % se provocó un cambio brusco de pH (de 5 a > 12), el cual incrementó la presión osmótica y causó hipertensión en la pared celular; que junto con la temperatura, que aumentó por la reacción exotérmica del óxido de calcio (Méndez 2003), provocaron un cambio en la permeabilidad de la cubierta del huevo.

Este cambio permite la fusión de los ascarosides ya alterados (WHO, 2004), la desnaturalización de las enzimas y proteínas superficiales de la capa lipídica (Maya *et al.*, 2008); induciendo así la salida de la trehalosa fuera del huevo (la cual junto con los iones  $\text{Ca}^{2+}$  que se entrecruzan y llevan a cabo la estabilización de la membrana); exponiendo al huevo a la pérdida de agua y desecación porque la trehalosa reemplaza normalmente el agua asociada con las membranas biológicas (Clarke y Perry, 1980; González, 2006).

Esto reduce la presión osmótica de la membrana vitelina, y la larva no eclosionada o embrión son expuestos a un nuevo ambiente donde la pérdida de agua y la actividad metabólica son alterados (González, 2006); lo cual provoca que el huevo pierda sus propiedades originales e incluso modifique su estructura molecular, provocando con ello daños irreversibles en la morfología del huevo (Maya *et al.*, 2008). Causando así la pérdida del material citoplasmático, desnaturalización de ácidos nucleicos y rompimiento de los puentes de hidrógeno (Méndez, 2003; Madigan *et al.*; 2004), estos últimos encargados de unir al complejo quitina-proteína (González *et al.*, 2002), comienzan a perder su arreglo helicoidal, que permanecía en la membrana intermedia (Bird y Bird, 1991), dando lugar a la pérdida de la capa más resistente del huevo.

De esta manera se bloquea la respiración, la transferencia de materiales, energía y electrones en el interior del huevo (Takamiya *et al.*, 1993; Aguilar, 2006); permitiendo el paso de moléculas eléctricamente neutras como el amoníaco, el ión  $\text{Ca}^{2+}$  (producidos por la estabilización alcalina) y sustancias solventes de lípidos, los cuales alteran las funciones enzimáticas y generan la muerte del microorganismo (Méndez, 2003; WHO, 2004).

## **6.7 Indicador de contaminación en lodos**

De acuerdo con la eficiencia de inactivación (Figs. 5.9 y 5.10) y al análisis estadístico (Figs.5.11 hasta 5.16), se propone como indicador ideal de contaminación fecal, para evaluar el proceso de tratamiento de lodos a los géneros: *A. lumbricoides*, *A. suum* y *Taenia solium*.

Debido a la morfología, tamaño del huevo y al mayor porcentaje reportado en lodos residuales de México se recomienda utilizar al género *Ascaris*.

*Taenia solium* también puede ser utilizada como indicador ideal de contaminación, siempre y cuando *Ascaris* esté ausente.

Lo anterior concuerda con lo reportado por Sidhu y Toze (2008) y WHO (2004), ya que *A. lumbricoides* a nivel mundial presenta uno de los mayores índices de parasitismo, sólo es necesaria una dosis infectiva mínima de un huevo (para la cual el humano no presenta ningún tipo de inmunidad -Tay *et al.*, 2002), cumple con los criterios mencionados por la Organización Mundial de la salud y logra permanecer en estado latente conservando su viabilidad durante años (EPA, 1992).

## 7. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos al aplicar un sistema sinérgico, en la inactivación de diferentes especies de huevos de helmintos, se concluye que:

- Para determinar la viabilidad de los huevos de los helmintos, la técnica de incubación a 26 °C con ácido sulfúrico es más confiable y eficiente que la técnica de tinción de azul tripán, ya que el colorante logra entrar en las capas del huevo, sin que ello indique que no sea viable.
- La reacción del óxido de calcio con el lodo mantuvo el  $\text{pH} > 12$  durante la inactivación total de los huevos, siendo de 12.76 en la matriz húmeda y 12.81 en la matriz seca hasta los 2 meses.
- El efecto de temperatura a 45 °C, cal (20 %) y humedad (11.2 y 88.7 %) en conjunto ocasionaron la inactivación de las diferentes especies de huevos de helmintos, desde los 30 minutos, siendo de manera gradual, respecto a los demás tiempos y del 100% a los 45 días y 3 meses de exposición.
- El efecto sinérgico es eficiente en la inactivación de los huevos, semejante a la evaluación en forma individual de cada variable, pero en condiciones menos extremas por lo que podría utilizarse para el tratamiento de lodos a escala real.
- El efecto sinérgico logró aumentar la permeabilidad del huevo, permitiendo así la pérdida de la viabilidad y/o eliminación total del huevo.
- Aunque en ambas humedades se observó un incremento en la materia seca (% ST), el efecto sinérgico aplicado, también logró evitar un aumento mayor e innecesario de materia seca al final de la experimentación; el cual podría disminuir los gastos de transporte del biosólido a escala real.
- Los huevos más resistentes en la matriz seca fueron *A. lumbricoides* y *T. solium*; mientras que en la matriz húmeda *A. suum*, hasta los 45 días y 3 meses, respectivamente.
- Los huevos de *Trichuris trichiura* e *Hymenolepis nana* fueron los menos resistentes al tratamiento presentando una inactivación total a los 4 y 15 días en la matriz seca y húmeda, respectivamente.

- Se propone como posibles indicadores de contaminación para evaluar la eficiencia del cualquier proceso de estabilización de lodos residuales:

a) *Ascaris*.

b) *Taenia*.

## 8. BIBLIOGRAFIA

ADL, M.S., Simpson, G.B.A., Farmer, A.M., Andersen, A.R., Anderson, O.R., Barta, R.J., Bowser, S.S., Brugerolle, G., Fensome, A.R., Fredericq, S., James, Y.T., Karvop, S; Kugrens, P., Krung, J., Lane, E.C., Lewis, A.L., Lodge, J., Lynn, H.D., Mann, G.D., Mccourt, M.R., Mendoza, L., Moestrup, J., Mozley-Standridge, E.S., Nerad, A.T., Shearer, A.C., Smirnov, V. A., Spiegel, W.F. y Taylor, F.J.R.M. 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal Eukaryot. Microbiology*, **52**(5): 399–451.

Aguilar, O.P.A. 2006. **La plata como desinfectante de lodos provenientes del tratamiento de aguas residual domésticas mediante un proceso de coagulación-floculación**. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. Instituto de Ingeniería, UNAM. 118 pp.

APHA, AWWA, WEF. 1998. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 20ª ed. 2540 B.

Barrios, P. J. A. 2003. **Estabilización ácida de lodos de plantas de aguas residuales para la producción de biosólidos**. Tesis de doctorado en Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería, UNAM. 187 pp.

Bird, A.F y Bird. J. 1991. **The structure of nematodes**. Second edition. Academy Press Inc. Londo. 250 pp.

Boletín del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiologica (SNVE). 2005. **Información epidemiológica de morbilidad 2005, versión ejecutiva. Secretaria de Salud**. México. 165 pp.

Brusca, C.R y Brusca, J.G. 2003. **Invertebrados**. 2º ed. Mc Graw-Hill Interamericana. España. 310-345, 382-406 pp.

Clarke, A.J y Perry, R.N. 1980. Egg- shell permeability and hatching of *Ascaris suum*. *Parasitology*, **80**: 447-456.

Comisión Nacional del Agua (CNA). 2007. **Inventario nacional de plantas municipales de potabilización y tratamiento de aguas residuales en operación**. Secretaría de medio ambiente y recursos naturales (SEMARNAT). 216 pp.

Crompton, D.W. 1999. How Much Helminthiasis is there in the world. *Journal of Parasitology* **85**: 397–403.

De Silva, N. R., Brooker, S., Hotez, P. J., Montresor, A., Engles, D. y Savioli, L. 2003. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. *Trends in Parasitology* **19**: 47–51.

Diario Oficial de la Federación (DOF). 1998. Norma Oficial Mexicana, NOM-002-ECOL-1996. **Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.** Secretaría del Medio Ambiente y de Recursos Naturales (SEMARNAT). 20pp.

Diario Oficial de la Federación (DOF). 2003. 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.** Secretaría del Medio Ambiente y de Recursos Naturales (SEMARNAT). 60pp.

Díaz, D.C., Fall, C., Quentin, E., Jiménez, M.M.C., Esteller, A.M.V., Garrido, H.S.E., López, V.C.M. y García, P.D. 2007. **Agua potable para comunidades rurales, reúso y tratamientos avanzados de aguas residuales doméstica.** Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del agua. España. 224-229 pp.

Dmitryjuk, M., Zoltowska, K., Kubiak, K y Glowinska, A. 2006. Changes in trehalase activity and trehalose level during *Ascaris suum* (Nematoda) embryogenesis. *Helminthologia*, **43**, 3:130-133.

EPA. 1992. Environmental Regulations and Technology. **Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge.** Including Domestic Septage Under 40 CFR Part 503). U. S. Environmental Agency Office of Research and Development National Risk Management Research Laboratory Center for Environmental Research Information Cincinnati, OH. pp. 152.

EPA. 1994. **Aplain english guide to the EPA part 503 biosolids rule.** U. S. Environmental Agency Office of Wastewater Management Washington, DC. pp. 188.

EPA. 1996. **Clean water needs survey: report to Congress (CWNS).** Assessment of Needs for Publicly Owned Wastewater Treatment Facilities, Correction of Combined Sewer Overflows, and management of Storm Water and Nonpoint Source Pollution in the United States. 122 pp.

EPA. 2002. **National clean water act. recognition.** Awards Ceremony. Water Environment Federation Technical Exposition and Conference. Chicago, Illinois. 17 pp.

- Eriksen, L., Andreasen, P. y Ilsoe, B. 1995. **Inactivation of *Ascaris suum* eggs during storage in lime treated sewage sludge.** *Water Resource* **30**(4): 1026-1029.
- Fleta, J.Z., Rodríguez, G.M.L. y Moreno, A. 2002 Helmintiasis intestinales: infecciones por nematodos poco frecuentes. *Salud Pública XIX* **(8)**:1.
- Flisser, S.A. y Pérez, T.R. 2006. **Aprendizaje de la parasitología basado en problemas.** Editores de Textos Mexicanos, S. A. de C. V. México. pp. 353-379.
- Feachem, R.G., Bradley, D.J., Garelick, H y Mara, D.D. 1983. **Sanitation and disease: Health aspects of excreta and wastewater management.** John Wiley & Sons. Washington, EUA.
- Gaasenbeek, C.P.H. y Borgsteede, F.H.M. 1998. Studies on the survival of *Ascaris suum* eggs under laboratory and simulated field conditions. *Veterinary Parasitology* **75**: 227-234.
- Ghiglietti, R., Gench, C., Mateo, L., Calcaterra, E. y Colombi A. 1997. Survival of *Ascaris suum* in amonia treated wasterwater sludge. *Bioresource Technology*. **59**: 195-198.
- González, G.V.A., Guerrero, S.C.A. y Ortíz M.U. 2002. Estructura química y compatibilidad de poliamidas con quitina y quitosán. *CIENCIA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN* **5**(1).
- González, P.G.E. 2006. **Identificación y caracterización parcial de la actividad proteoólica del fluido perivitelino y de los productos liberados por la larva L 2 de *Toxocara canis*.** Tesis de Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal. UNAM. 77 pp.
- Guzmán, C. y Campos, C. 2004. Indicadores de contaminación fecal en biosólidos aplicados en la agricultura. *Universitas Scientiarum*. **9** (1): 59-67.
- Hayns, B. D. 1976. Potential for parasitic disease transmission with land application of sewage plant and sludge. *Water Research*. **11**: 583-595.
- Hernández, M.C.L. 2007. **Remoción de huevos de helmintos y sólidos suspendidos totales en un tratamiento primario avanzado que emplea una floculación lastrada.** Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería, UNAM. 91 pp.

Hernández, P.Y.E. 1998. **Estabilización térmica-alkalina de lodos químicos y biológicos para la producción de biosólidos**. Tesis de licenciatura en Ingeniería Química. FES Zaragoza, UNAM. 83 pp.

Jiménez, B., Maya C y Salgado G., 2001, The elimination of helminth ova, faecal coliforms, salmonella and protozoan cysts by various physicochemical processes in wastewater and sludge. *Water Science and Technology*. **43**(12):179-182.

Jiménez, B., Maya C., Sánchez, E., Romero, A., Lira, L. y Barrios J.A. 2002. Comparison of the quantity and quality of the microbiological content of sludge in countries with low and high content of pathogens. *IWA Journal Water Science and Technology*. **46** (10): 17-20.

Jiménez, B. y Maya C. 2007. **Helminths and sanitation**. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends. Environmental Microbiology. Ed. A. Méndez-Vilas. 60-71 pp.

Jiménez, B., Maya C., Lucario, E., Galván, M., Gayosso, T y Ortiz M. 2008. **Resistencia y viabilidad de huevos de helmintos bajo diferentes condiciones de humedad, pH y agentes químicos**. Proyecto 49032, Instituto de Ingeniería UNAM; México. 56 pp.

Jiménez B., Maya C., Lucario E., Chávez A., Gayosso, T., Ortiz M. y Hernández E. 2009. **Determinación de la resistencia a diversas condiciones de los diferentes géneros de huevos de helmintos de importancia médica para el país**. Proyecto IN103406, Instituto de Ingeniería, UNAM.México. 220 pp.

Kozan, E., Gonenc, B., Sarimehmetoglu, O. y Aycicek, H. 2005. Prevalence of helminth eggs on raw vegetables used for salads. *Food Control* **16**: 239–242.

Lue-Hing, C; Zens, D.R; Tata, P; Kuchenrither, R; Malina, Jr. J.F. and Sawyer, B. 1998. Water Quality Management Library. En: volumen 4. **Municipal Sludge Management: A reference text on processing, utilization and disposal**. 2ª ed. Technomic Publishing Co; Inc. U.S.A. 790 pp.

Madigan, M; Martinko, J. y Parker, J. 2004. Brock **Biología de los microorganismos**. Editorial Pearson Prentice may. 2ª ed. Madrid.

Mahamud, M., Gutiérrez, A. y Sastre, H. 1996. Biosólidos generados en la depuración de aguas: (II) métodos de tratamiento. *Ingeniería del agua*. **3** (1): 45 55.

Manrique A.M; del Pilar, R.S. y M. Salvador, 2006. **Evaluación de los tratamientos térmico y alcalino en la desinfección del lodo generado en la PTAR (planta de tratamiento de aguas residuales) Salitre**. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. 16 pp.

Maya, C., Lucario, S., Gálvan, M., Gayosso, T. y Naranjo, R. 2008. **Study on the inactivation mechanism of helminth eggs from different genera of medical importance**. Memorias en extenso en el XXXI Congreso interamericano AIDIS. Santiago –Chile. Centro de Eventos Casa Piedra.

Méndez, C.J.M. 2003. **Efecto del amoniaco en la estabilización alcalina de lodos**. Tesis de Doctorado en Ingeniería. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería (Ingeniería Ambiental).UNAM. 203 pp.

Mendoza, S. S. 1998. **Estabilización térmica alcalina con bajas dosis de CaO para lodos provenientes de un tratamiento Primario Avanzado**. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería. División de Posgrado, UNAM. 100 pp.

Montresor, A; Crompton, D.W.T; Gyorkos, T.W. y Savioli, L. 2002. **Helminth control in school-age children. A guide for managers of control programmers**. World Health Organization (WHO). Geneva. pp. 64.

Oropeza, G. N. 2006.Lodos residuales: estabilización y manejo. *Caos Conciencia* **1**: 51-58.

Ocampo, G.G; Salgado, C.R. y Román, B.J. 1992. Ensayo: La Omnipresencia de las helmintiasis. *Salud Publica Mexicana*; **34**:37-360.

Pérez, A.J.L; Andrader, M.A; López, A.J; Carranzab, C. y Muroc, A. (2006). Revisión: Helminthos y aparato respiratorio. *Arch Bronconeumol* **42**(2):81-91.

Pumarula, A; Rodríguez-Torres, A; García, R.J.A. y Piedrola, A.G. 1987. **Microbiología y parasitología médica**. Ediciones Científicas y Técnicas, S. A. Barcelona, España. pp: 850- 880.

Quilès, F. Balandier, J.Y. y Capizzi, B.S. 2006. *In situ* characterisation of a microorganism surface by Raman microspectroscopy: the shell of *Ascaris* eggs. *Anal Bioanal Chem* **386**: 249–255.

Ryan, J. K. y Ray C. G. 2005. **Microbiología médica una introducción a las enfermedades infecciosas**. Mc Graw-hill Interamericana Editores S. A. de C. V. 4° ed. México.

Ruppert, E. E. y Barnes, D. R. 1996. **Zoología de los invertebrados**. Mc Graw-Hill Interamericana. 6° ed. México. 213-253 y 278-288 pp.

Santos, M.S. 1998. **Estabilización térmica alcalina con bajas dosis de CaO para lodos provenientes de un tratamiento primario avanzado**. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería, División de Estudios de Posgrado. UNAM. 114 pp.

Silva, M.A.E. y Martínez, P.P. 2000. **Determinación de huevos de helmintos en las operaciones unitarias de la planta de tratamiento de aguas residuales Chapultepec**. En memoria técnicas del congreso: Ciencia y conciencia compromiso nacional con el medio ambiente. Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias ambientales (FEMISCA). México. 1-13 pp.

Sidhu, J.P.S y Toze S. G. 2008. Human pathogens and their indicators in biosolids: A literature review. *Environment Internationa.l* **35**: 187-201.

Takamiya, S., Kita, K., Wang, H., Weins, P.P., Hiraishi, A., Oya, H. y Aoki, T. 1993. Development changes in the respiratory chain of *Ascaris* mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta* **1141**: 65-74.

Tay, Z.J. y Sánchez, V.J.T. 2002. Monografía: Características de protozoarios y helmintos capaces de causar diarrea aguda en humanos. *Revista Facultad Medicina UNAM* **45** (2): 64-70.

Tay, Z.J., Velasco, C.O., Lara, A.R. y Gutiérrez, Q.M. 2002. **Parasitología medica**. 7<sup>a</sup> ed. Editores, S. A. de C. V. México. 208-315 pp.

Van Nostrand, R. 1990. **Toxicity reduction in industrial rffuentes**. Ed. P.W. Lankford and W. W. Eckenelder JR. 368 pp.

Wharton, D.A. 1979. *Ascaris* sp: Water loss during desiccation of embryonating eggs. *Experimental Parasitology*. **48**: 398-406.

Wharton, D.A. 1983. The production and functional morphology of helminth eggshells. *Parasitology*. **86**: 83-97.

WHO. 2002. **Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis**: Report of a WHO Expert Committee. World Health Organization technical report series; 912. Geneva, Switzerland. 57 pp.

WHO. 2004. **Integrated Guide to Sanitary Parasitology**. World Health Organization, Regional Office for the Eastern Mediterranean Regional Centre for Environmental Health Activities. Amman –Jordan. 113 pp.

# ANEXO I

## PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

### 9.1 Solución Ácida - Alcohol

Homogeneizar 650 mL de ácido sulfúrico 0.1 N con 350 ml de alcohol etílico 100%. Almacenar la solución en un recipiente hermético.

### 9.2 Solución de Sulfato de Zinc (ZnSO<sub>4</sub>)

Disolver 800 g de sulfato de zinc heptahidratado (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) en 1 L de agua destilada, mezclar hasta homogeneizar totalmente; con ayuda de un densímetro, ajustar la densidad a 1.3 g/cm<sup>3</sup>, agregando sulfato de zinc o agua destilada, según se requiera. Almacenar en un recipiente hermético, etiquetar y verificar la densidad cada mes.

### 9.3 Solución de Tween 80 al 0.1%

Añadir 1 mL de Tween 80 en 1 000 mL de agua destilada mezclar en la parrilla de agitación hasta que esté en completa disolución (esta solución se prepara el mismo día de trabajo)

### 9.4 Solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0.1N

Aforar 4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en 1000 ml de agua destilada, posteriormente agitar durante 1 min para homogeneizar la mezcla, realizar la solución en la campana. Guardar la solución en un recipiente hermético color ámbar.

## ANEXO II

### BASE DE DATOS

**Tabla 10.1 Cantidad de sólidos totales y porcentaje de humedad en la matriz seca y húmeda en cada tiempo de exposición**

Tiempo / repetición		MATRIZ SECA		MATRIZ HUMEDA	
		% ST	%H	% ST	%H
30´	A	13.33	86.67	92.10	7.90
	B	15.87	84.23	95.43	4.57
	C	14.15	85.85	95.34	4.66
	x	14.45	85.58	94.29	5.71
		1.30	1.24	1.90	1.90
1h	A	15.08	84.92	90.88	9.12
	B	14.77	85.23	95.70	4.30
	C	14.39	85.61	95.23	4.77
	x	14.75	85.25	93.94	6.06
		0.35	0.35	2.66	2.66
1d	A	15.68	84.32	93.25	6.75
	B	14.35	85.65	92.68	7.32
	C	14.55	85.46	93.51	6.49
	x	14.86	85.14	93.15	6.85
		0.72	0.72	0.43	0.43
2d	A	15.24	84.76	92.53	7.47
	B	15.06	84.94	92.49	7.51
	C	15.30	84.70	93.49	6.51
	x	15.20	84.80	92.84	7.16
		0.12	0.12	0.56	0.56
4d	A	15.10	84.89	95.23	4.77
	B	14.80	85.20	95.23	4.77
	C	15.28	84.72	95.34	4.66
	x	15.06	84.94	95.27	4.73
		0.24	0.24	0.06	0.06
15d	A	14.86	85.14	95.96	4.04
	B	16.26	83.74	94.47	5.53
	C	14.26	85.74	95.50	4.50
	x	15.13	84.87	95.31	4.69
		1.03	1.03	0.76	0.76
30d	A	16.07	83.93	93.97	6.03
	B	13.96	86.04	94.70	5.30
	C	14.94	85.06	94.19	5.81
	x	14.99	85.01	94.29	5.71
		1.06	1.06	0.37	0.37
45d	A	14.44	85.56	96.98	3.02
	B	15.31	84.69	95.63	4.37
	C	14.94	85.06	96.49	3.51
	x	14.90	85.10	96.37	3.63
		0.44	0.44	0.68	0.68
2m	A	14.44	85.56	95.71	4.29
	B	14.18	85.82	95.55	4.45
	C	15.95	84.05	94.83	5.17
	x	14.86	85.14	95.36	4.64
		0.96	0.96	0.47	0.47
3m	A	15.31	84.89	95.96	4.04
	B	15.80	84.20	96.13	3.87

	C	15.35	84.65	95.88	4.12
	x	15.49	84.58	95.99	4.01
		0.27	0.35	0.12	0.12
4m	A	15.52	84.48	95.82	4.18
	B	15.39	84.61	95.66	4.34
	C	15.85	84.15	95.31	4.69
	x	15.59	84.41	95.60	4.40
		0.24	0.24	0.26	0.26
5m	A	15.53	84.47	95.57	4.43
	B	19.58	80.42	95.52	4.48
	C	15.79	84.21	95.41	4.59
	x	16.97	83.03	95.50	4.50
		2.27	2.27	0.08	0.08

x= media aritmetica

**Tabla 10.2** Conteo de huevos viables y no viables en cada tiempo de exposición en la matriz seca y húmeda

Tiempo / especie	Matriz seca						Matriz húmeda					
	A		B		C		A		B		C	
	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV
<b>30min</b>												
<i>Ascaris suum</i>	27	7	27	5	30	3	35	4	29	4	30	2
<i>Toxocara canis</i>	25	6	26	8	28	6	29	3	31	2	33	2
<i>A. lumbricoides</i>	29	5	29	7	31	4	30	2	29	1	32	2
<i>Trichuris trichiura</i>	18	8	20	10	17	15	28	3	27	5	25	6
<i>Hymenolepis nana</i>	26	8	25	7	21	9	19	7	21	8	25	6
<i>Taenia solium</i>	31	3	29	5	30	5	31	3	29	4	31	2
<b>1h</b>												
<i>Ascaris suum</i>	22	13	24	11	19	15	30	4	31	3	27	6
<i>Toxocara canis</i>	18	15	22	10	23	11	31	3	31	4	29	6
<i>A. lumbricoides</i>	25	9	24	7	28	5	27	4	25	7	23	8
<i>Trichuris trichiura</i>	13	18	11	20	9	21	26	6	25	7	21	6
<i>Hymenolepis nana</i>	18	17	15	16	13	21	15	19	11	20	13	15
<i>Taenia solium</i>	27	9	23	10	25	8	24	7	27	6	27	6
<b>1d</b>												
<i>Ascaris suum</i>	18	16	21	12	17	17	27	7	25	9	22	8
<i>Toxocara canis</i>	11	21	9	23	13	20	25	9	29	4	26	6
<i>A. lumbricoides</i>	15	19	12	17	19	13	19	11	21	10	23	9
<i>Trichuris trichiura</i>	9	23	8	21	6	19	11	20	12	17	10	15
<i>Hymenolepis nana</i>	5	27	3	30	3	31	9	20	8	22	11	15
<i>Taenia solium</i>	13	28	9	20	10	21	19	12	18	12	21	10
<b>2d</b>												
<i>Ascaris suum</i>	9	20	15	13	13	19	21	10	19	12	19	13
<i>Toxocara canis</i>	7	23	9	21	10	20	19	15	22	10	25	9
<i>A. lumbricoides</i>	11	21	13	18	15	17	21	13	18	10	15	16
<i>Trichuris trichiura</i>	3	30	5	27	4	25	9	21	10	18	10	19
<i>Hymenolepis nana</i>	2	29	2	30	0	26	10	19	7	23	9	14
<i>Taenia solium</i>	7	22	4	20	8	19	21	9	23	10	21	11

---

**4d**

<i>Ascaris suum</i>	4	18	9	20	6	21	17	14	19	14	17	17
<i>Toxocara canis</i>	2	30	7	25	4	29	17	18	19	14	15	18
<i>A. lumbricoides</i>	5	22	9	19	9	19	16	15	14	16	10	19
<i>Trichuris trichiura</i>	0	25	2	25	0	28	7	20	5	22	5	21
<i>Hymenolepis nana</i>	0	18	0	21	0	21	9	20	7	21	7	22
<i>Taenia solium</i>	4	30	3	29	3	21	17	13	20	9	19	11

---

**15d**

<i>Ascaris suum</i>	1	25	4	20	2	22	11	21	13	18	15	20
<i>Toxocara canis</i>	0	18	2	25	0	20	17	17	14	15	12	21
<i>A. lumbricoides</i>	3	22	3	21	3	18	8	23	5	27	7	24
<i>Trichuris trichiura</i>	0	21	0	7	1	18	2	28	3	25	4	26
<i>Hymenolepis nana</i>	0	16	0	17	0	15	4	23	2	31	2	27
<i>Taenia solium</i>	3	28	1	19	1	21	10	20	8	25	7	19

---

**30d**

<i>Ascaris suum</i>	0	23	0	29	0	21	5	25	4	21	4	19
<i>Toxocara canis</i>	0	19	0	21	0	18	3	27	6	25	5	25
<i>A. lumbricoides</i>	1	25	0	18	0	23	2	28	1	29	1	26
<i>Trichuris trichiura</i>	0	16	0	11	0	8	0	31	0	29	0	27
<i>Hymenolepis nana</i>	0	21	0	21	0	27	0	29	0	28	0	27
<i>Taenia solium</i>	1	19	0	22	0	25	4	28	1	24	1	29

---

**45d**

<i>Ascaris suum</i>	0	30	0	28	0	25	1	29	0	27	1	29
<i>Toxocara canis</i>	0	19	0	22	0	18	2	25	1	29	1	27
<i>A. lumbricoides</i>	0	21	0	22	0	23	0	28	1	29	0	27
<i>Trichuris trichiura</i>	0	18	0	13	0	15	0	27	0	30	0	26
<i>Hymenolepis nana</i>	0	11	0	15	0	13	0	27	0	31	0	30
<i>Taenia solium</i>	0	23	0	21	0	19	1	26	0	29	0	29

---

**2m**

<i>Ascaris suum</i>	0	23	0	25	0	18	1	26	0	24	0	22
<i>Toxocara canis</i>	0	21	0	20	0	19	0	24	1	29	1	26
<i>A. lumbricoides</i>	0	25	0	22	0	25	0	17	0	21	0	20
<i>Trichuris trichiura</i>	0	13	0	11	0	14	0	18	0	19	0	16
<i>Hymenolepis nana</i>	0	10	0	9	0	11	0	18	0	15	0	16
<i>Taenia solium</i>	0	21	0	20	0	19	0	21	0	19	0	18

---

**3m**

<i>Ascaris suum</i>	0	18	0	17	0	16	0	17	0	19	0	16
<i>Toxocara canis</i>	0	19	0	15	0	14	0	19	0	19	0	21
<i>A. lumbricoides</i>	0	21	0	25	0	21	0	15	0	17	0	19
<i>Trichuris trichiura</i>	0	17	0	14	0	11	0	13	0	11	0	9
<i>Hymenolepis nana</i>	0	9	0	7	0	7	0	11	0	10	0	9
<i>Taenia solium</i>	0	22	0	19	0	20	0	16	0	15	0	17

---

**4m**

<i>Ascaris suum</i>	0	11	0	15	0	9	0	15	0	13	0	11
<i>Toxocara canis</i>	0	8	0	6	0	6	0	17	0	15	0	15

<i>A. lumbricoides</i>	0	14	0	17	0	15	0	12	0	11	0	14
<i>Trichuris trichiura</i>	0	7	0	6	0	4	0	9	0	8	0	7
<i>Hymenolepis nana</i>	0	0	0	3	0	3	0	9	0	9	0	7
<i>Taenia solium</i>	0	9	0	14	0	10	0	12	0	10	0	11
<b>5m</b>												
<i>Ascaris suum</i>	0	7	0	9	0	8	0	11	0	9	0	12
<i>Toxocara canis</i>	0	4	0	5	0	5	0	14	0	11	0	15
<i>A. lumbricoides</i>	0	9	0	7	0	11	0	10	0	7	0	11
<i>Trichuris trichiura</i>	0	1	0	3	0	0	0	7	0	5	0	6
<i>Hymenolepis nana</i>	0	0	0	1	0	0	0	4	0	3	0	3
<i>Taenia solium</i>	0	6	0	4	0	5	0	7	0	7	0	5

**Tabla 10.3 Monitoreo de temperatura y humedad en el área de almacenamiento durante el periodo de experimentación**

Mes / Día	Temperatura ( °C)				%H	Mes / Día	Temperatura ( °C)				%H
	9:00	13:00	17:00				9:00	13:00	17:00		
<b>OCTUBRE</b>					<b>ENERO</b>						
6	15	17	20	68	5	10	14	21	s.d		
7	18	19	20	66	6	10	12	17	s.d		
8	15	17	19	70	7	11	15	21	s.d		
9	16	19	20	70	8	10	17	19	s.d		
10	17	18	20	68	9	10	14	18	s.d		
13	17	19	20	68	12	11	16	17	s.d		
14	15	17	20	64	13	10	13	15	s.d		
15	14	18	20	64	14	9	13	14	s.d		
16	16	18	19	66	15	11	13	13	s.d		
17	16	16	19	66	16	11	13	12	s.d		
20	14	16	19	70	19	11	14	17	s.d		
21	13	15	19	69	20	11	14	17	s.d		
22	13	15	19	66	21	11	14	17	s.d		
23	13	16	20	64	22	10	15	18	s.d		
24	14	17	21	58	23	10	14	16	s.d		
27	15	15	17	56	26	11	10	20	s.d		
28	12	14	17	58	27	12	22	25	s.d		
29	12	14	17	62	28	13	17	20	s.d		
30	13	18	21	60	29	14	15	22	s.d		
31	14	18	20	60	30	11	15	15	s.d		
<b>NOVIEMBRE</b>					<b>FEBRERO</b>						
3	13	17	20	60	2	13	16	16	s.d		
4	12	17	20	58	3	10	15	17	s.d		
5	13	16	20	56	4	9	10	18	s.d		
6	13	17	20	56	6	9	11	19	s.d		
7	13	17	20	56	9	10	15	20	48		
10	15	21	22	60	10	10	17	22	55		

11	13	18	22	60	11	11	20	22	56
12	15	17	20	58	12	10	16	20	56
13	13	17	20	56	13	10	16	21	56
14	15	18	21	54	16	16	20	22	54
17	12	14	17	53	17	15	20	22	58
18	10	14	20	54	18	16	19	22	58
19	9	12	19	54	19	15	17	20	56
20	10	15	17	53	20	16	19	22	60
21	12	14	17	55	23	10	11	20	66
24	11	15	18	60	24	10	12	19	60
25	14	15	17	56	25	10	15	20	54
26	11	14	18	59	26	11	17	21	46
27	12	15	17	59	27	12	16	20	44
28	11	15	17	56					

**DICIEMBRE**

1	11	15	18	54
2	12	15	17	56
3	9	15	18	52
4	9	13	19	50
5	9	13	17	52
8	11	15	17	50
9	11	15	17	52
10	10	14	16	56
11	10	14	16	52
12	10	14	17	52
15	10	13	17	52
16	10	13	16	50
17	10	14	20	49
18	10	14	17	49
19	10	14	17	50

**VACACIONES**

**MARZO**

2	11	14	16	48
3	11	14	18	46
4	11	16	20	40
5	13	14	20	40
6	11	15	23	38
9	14	20	25	40
10	15	20	23	40
11	16	20	22	42
12	14	19	22	46
13	14	20	22	48
16	15	20	23	52
17	14	17	20	58
18	14	19	20	58
19	14	19	21	58
20	14	20	23	48
23	15	19	22	46
24	15	21	23	46
25	16	21	22	55
26	17	23	22	56
27	17	20	23	48
30	17	21	24	38
31	17	23	27	34

s.d sin datos

## ANEXO III

### CERTIFICADO DE CONCENTRADO DE LOS HUEVOS DE HELMINTOS.

# PACAL

Alheli No. 78  
Col. Nueva Sta. María  
C.P. 02800 Del. Azcapotzalco  
Tels. 5341 9238 / 5341 3014  
5341 2971 / 5341 1864  
01800 570 9690  
01800 830 3140  
www.pocal.org

México D.F. a 2 de octubre del 2008.

**INSTITUTO DE INGENIERÍA DE LA U.N.A.M.**  
A quién corresponda:

#### CERTIFICADO

Por medio de la presente hago certificar que los viales de 15 ml. corresponden a concentrados de los siguientes parásitos.

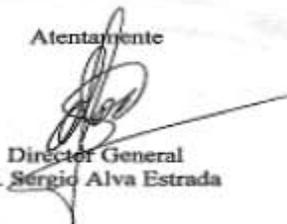
Toxocara canis

Hymenolepis nana

Ascaris lumbricoides

Se extiende la presente constancia para los fines que al interesado convengan, a los dos días del mes de octubre del año 2008.

Atentamente

  
Director General  
Dr. Sergio Alva Estrada