



INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL EN BIOSÓLIDOS APLICADOS EN AGRICULTURA

Carolina Guzmán, Claudia Campos

Departamento de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana
Carrera 7ª No. 42-27, Bogotá, Colombia.
mailto:campos@javeriana.edu.co

RESUMEN

El tratamiento de aguas residuales genera como subproducto lodos cuyas características dependen del origen del agua y del tratamiento utilizado para su depuración. El uso de este material en campos como la agricultura, recuperación de canteras, reforestación y producción de materiales de construcción, entre otros, son alternativas a su disposición final en rellenos sanitarios, en el océano o por incineración. Su aplicación en agricultura está condicionada a la concentración de microorganismos patógenos, así como a la presencia de sustancias tóxicas y metales pesados. El objetivo de este estudio fue determinar la concentración de coliformes fecales (indicadores de contaminación bacteriana), fagos somáticos y fagos F-específicos (indicadores de contaminación viral) y huevos viables de helminto (indicadores de contaminación parasitaria), en biosólidos producidos en una planta depuradora de aguas residuales domésticas, estabilizados por digestión anaeróbica mesofílica. La media geométrica de las concentraciones de los indicadores bacterianos y virales es de $1,6 \times 10^5$ UFC/g peso seco para coliformes fecales, $5,0 \times 10^3$ PFP/g peso seco para fagos somáticos y $7,9 \times 10^1$ PFP/g peso seco para fagos F-específicos. La concentración promedio de huevos viables de helminto fue 0.14/4 g peso seco. En este último grupo, los huevos de *Ascaris sp.* fueron los que presentaron el mayor porcentaje de viabilidad junto con los huevos de origen no humano (*Capillaria sp.*, *Dicrocoelium sp.* y *Stephanurus sp.*, entre otros). De acuerdo con la norma EPA/625/R-92/013 (1999) que regula el control de patógenos y la atracción de vectores en lodo residual, este lodo se clasifica como B, por presentar concentraciones de coliformes fecales $<2 \times 10^6$ UFC/g sólidos totales. Sin embargo, la concentración de huevos viables de helminto en el biosólido es <1 huevo viable /4 g peso seco, lo cual cumple con la clasificación de un lodo tipo A (autorizado para todos los usos). Aunque la determinación y cuantificación de fagos somáticos y fagos F-específicos no son parámetros propuestos en la norma EPA/625/R-92/013 (1999), las concentraciones de estos microorganismos en el biosólido son indicadores de la posible presencia de virus entéricos en las muestras analizadas. Con base en estos resultados se puede concluir que este producto puede ser aplicado en agricultura teniendo en cuenta el tiempo de restricción previo al cultivo para reducir el riesgo sanitario.

Palabras clave: Biosólido, coliformes fecales, bacteriófagos, huevos de helminto, riesgo sanitario, uso agrícola.

ABSTRACT

Wastewater treatment produce sludge as a by - product. Its characteristics depends of the wastewater origin and the treatment used for its depuration. Disposition of this material in agriculture, soil recuperation, reforestation and building materials are alternatives of biosolids disposal in landfilling, dumping to the sea or incineration. The application of biosolids in agriculture is conditioned not only to indicator microorganisms and pathogen concentrations, but also to the presence of toxic substances and heavy metals. The objective of this study was to determine the concentration of fecal coliforms (indicators of bacterial contamination), somatic phages and F- specific phages (indicators of viral contamination) and

viable helminth eggs (indicators of parasitological contamination) in biosolids produced in a domestic wastewater treatment plant, stabilized by mesophilic anaerobic digestion. The geometric media concentrations of bacterial and viral indicators are $1,6 \times 10^5$ UFC/g dry weight for fecal coliforms, $5,0 \times 10^3$ PFP/g dry weight for somatic phages and $7,9 \times 10^1$ PFP/g dry weight for F-specific phages. The concentration of viable helminth eggs were 0.14/4g peso seco. *Ascaris* sp eggs presented the higher percentage of viability together with no human origin eggs (*Capillaria* sp, *Dicrocoelium* sp and *Stephanurus* sp... etc.). According to EPA/625/R-92/013 (1999) decree, which regulate control of pathogens and vector attraction in sewage sludge, this sludge is classified as type B due to fecal coliforms concentration ($<2 \times 10^6$ UFC/g total solids). However, viable helminth eggs concentration in biosolid is less than 1 viable egg /4 g dry weight, classified as type A sludge (authorized for all uses). Although the determination and quantification of somatic phages and F-specific phages are not proposed in the EPA/625/R-92/013 (1999) decree, concentrations of this microorganisms in biosolids suppose the possible presence of enteric virus in the analyzed samples. According with this results, it can conclude that this product can be applied in agriculture with the restriction time previous to the farming to reduced the sanitary risk.

Key words: Agricultural use, bacteriophages, biosolid, fecal coliforms, helminth eggs, sanitary risk.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de biosólidos provenientes del tratamiento de aguas residuales se ha evaluado desde el punto de vista agrícola y no agrícola. En el campo agrícola han sido exitosamente utilizados en la cosecha de diferentes alimentos, producción de césped, mejoramiento de bosques y revegetalización de áreas disturbadas por minería y construcción, entre otros. Los biosólidos de origen doméstico presentan un alto contenido de nutrientes y materia orgánica los cuales proveen al suelo nitrógeno y fósforo, así como cantidades trazas de micronutrientes (Ni, Zn, Cu, Mg, entre otros). Su reutilización en agricultura es valiosa no sólo porque representa un costo razonable, sino también, porque mejora la fertilidad del suelo y reduce la necesidad de fertilizantes inorgánicos, optimizando así, la calidad de las cosechas. Sin embargo, su aplicación está condicionada al riesgo relacionado con los microorganismos patógenos presentes en este producto, así como a la presencia de sustancias tóxicas y metales pesados. Su disposición final, requiere de tratamientos adicionales con el fin de estabilizarlo y desinfectarlo. En Francia, el decreto No. 97-1133 de enero 8 de 1998, clasifica un biosólido como higienizado, para uso en agricultura, si presenta concentraciones de microorganismos

patógenos como *Salmonella* <8 NMP/10 g peso seco, enterovirus <3 NMP/10 g peso seco y huevos viables de nemátodo <3 huevos/10 g peso seco (ADEME 2001). En Estados Unidos, de acuerdo con la norma EPA/625/R-92/013 (1999), un biosólido clase A (autorizado para todos los usos) debe presentar concentraciones de microorganismos patógenos como *Salmonella* <3 NMP/4 g peso seco o coliformes fecales 1000 NMP/g peso seco, enterovirus <1 UFP/4 g peso seco y huevos viables de helminto <1 huevo viable/4 g peso seco. Un biosólido clase B, presenta una concentración de coliformes fecales hasta 2×10^6 NMP o UFC/g peso seco, el cual puede ser utilizado con ciertas restricciones de tiempo (comprendido entre su aplicación y la siembra del cultivo), lo que permite alcanzar concentraciones de microorganismos que no significan un riesgo sanitario para la salud pública. Debido a que la identificación de virus entéricos es costosa, demanda tiempo y experiencia técnica, se han postulado los fagos somáticos, fagos RNA F-específicos y fagos que infectan *Bacteroides fragilis*, como indicadores de la presencia de estos microorganismos (Sinton *et al.*, 1999). El objetivo de este estudio fue determinar y cuantificar indicadores de contaminación fecal (coliformes fecales, fagos somáticos, fagos F-específicos y huevos de helminto) en

biosólidos producidos en una planta depuradora de aguas residuales domésticas. La determinación de la concentración de dichos indicadores permite clasificar los lodos como A o B (EPA/625/R-92/013 - 1999), lo que establece su uso en agricultura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio

El estudio se realizó en una planta de tratamiento de aguas residuales de origen doméstico provenientes de la zona norte de Bogotá. Esta planta trata un caudal promedio de 4 m³/seg. El sistema cuenta con un pretratamiento del agua (desbaste grueso, desbaste fino, remoción de arenas y grasas) antes de ser enviada a ocho decantadores primarios. El agua decantada se descarga en el canal Salitre, que desemboca en el río Bogotá. El lodo primario que se genera en este proceso se envía a dos espesadores que concentran los lodos antes de ser digeridos o estabilizados anaeróbicamente en condiciones mesofílicas (tiempo de retención: 18 a 22 días, 35°C). Posteriormente es deshidratado mecánicamente por filtro banda, en donde se obtiene una torta de biosólido con un 33% de sequedad. La producción media actual de este biosólido es de 135 ton./d., las cuales son despachadas en su totalidad al relleno sanitario Doña Juana para su aprovechamiento en la cobertura de celdas ya clausuradas.

Cronograma de muestreo

Para definir el número de muestras representativo, se tomó como referencia la norma 40 CFR sección 503 promulgada el 19.02.1993 por la EPA (EPA/625/R92/013) y revisada en 1999, donde se regula el uso y disposición de lodos residuales tratados. El número de muestras necesario para clasificar un biosólido como A o B está rela-

cionado con el volumen generado en la planta de tratamiento (peso seco 100%) por año. La planta de tratamiento El Salitre produce 48.600 toneladas por año, con una población servida de aproximadamente 2.000.000 habitantes. De acuerdo con lo propuesto por la EPA/625/R-92/013 (1999) para este tipo de producción es necesario realizar un evento de muestreo por mes (7 muestras/mes). Sin embargo, basados en la confiabilidad de los procesos de tratamiento se puede justificar una reducción en el monitoreo. Teniendo en cuenta que el sistema de estabilización utilizado en esta planta funciona de manera regular y debido al tiempo necesario para la determinación y recuento de huevos viables de helminto, se decidió recoger 4 muestras de biosólido en vez de 7. Para comprobar si el comportamiento de los indicadores era regular se evaluaron a partir del segundo mes las diferencias significativas de las varianzas y las medias poblacionales. Se determinó que la duración del estudio fuera de cuatro meses, tiempo en el cual se esperaba encontrar diferentes condiciones climáticas para evaluar el comportamiento de los microorganismos en períodos secos (enero - febrero) y períodos lluviosos (marzo - abril). El total de muestras de biosólido recogidas en este período de tiempo fueron 16. En cada mes se muestreó 4 veces, con un intervalo de 1 semana de por medio y un día de por medio entre los muestreos (lunes y miércoles).

MÉTODOS

Los métodos aplicados incluyen la elusión de los microorganismos de las partículas sólidas y su posterior procesamiento como un agua residual. Los métodos utilizados son los siguientes:

- Detección y cuantificación de coliformes fecales: técnica filtración por membrana, de acuerdo con el protocolo de la EPA/625/R-92/013 (1999).

- Detección y cuantificación de fagos somáticos y F-específicos: técnica de doble capa en agar, protocolo descrito por Lasobras *et al.* (1999).
- Detección, enumeración y determinación de la viabilidad de huevos de *Ascaris* en lodos: protocolo EPA/625/R92/013 (1999), modificado por Schwartzbrod (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Coliformes fecales

La media geométrica de la concentración de coliformes fecales en el biosólido expresada por gramo de peso seco con su respectivo valor en unidades logarítmicas fue $1,6 \times 10^5$ UFC/g peso seco (5.2 UL).

En la figura 1 se observan las concentraciones de coliformes fecales en las muestras de biosólido.

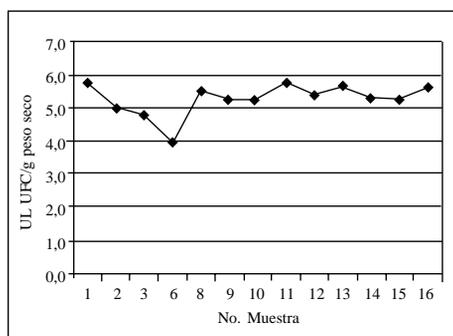


FIGURA 1. Coliformes fecales en biosólidos estabilizados por un sistema anaerobio mesofílico.

Moeller, G. y Ferat, C. (2000), evaluaron la reducción de patógenos en lodos primarios digeridos anaeróbicamente que operaban a temperatura ambiente (18°C) con tiempos de retención de 7, 14, 21 y 28 días. Los resultados de coliformes fecales (expresados como UFC/g) en el lodo de entrada y en los lodos digeridos en los diferentes

tiempos de retención fueron: lodo crudo: $3,14 \times 10^8$, lodo digerido 7, 14, 21 y 28 días: $2,8 \times 10^7$; $1,2 \times 10^7$; $1,48 \times 10^7$; $7,8 \times 10^6$, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en el comportamiento de coliformes fecales. Por otra parte, Bujoczek, G. *et al.*, (2001), encontraron niveles similares de coliformes fecales en muestras de lodos deshidratados digeridos anaeróbicamente a 35°C - 36°C , desde 6.6×10^6 hasta 2.1×10^7 UFC o NMP/g ST.

Fagos somáticos

La media geométrica de la concentración de fagos somáticos expresada por gramo de peso seco con su respectivo valor en unidades logarítmicas en el biosólido fue $5,0 \times 10^3$ PFP/g peso seco (3.7 UL).

En la figura 2 se observan las concentraciones de fagos somáticos en las muestras analizadas. Lasobras, J. *et al.*, (1999) encontraron concentraciones de fagos somáticos de $8,1 \times 10^5$ PFP/100g en lodos digeridos anaeróbicamente bajo condiciones mesofílicas que fueron deshidratados posteriormente.

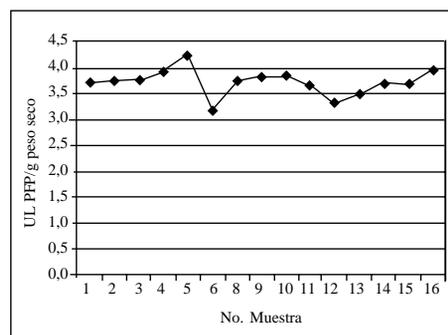


FIGURA 2. Fagos somáticos en biosólidos estabilizados por un sistema anaerobio mesofílico.

Fagos F-específicos

La media geométrica de la concentración de fagos F-específicos expresada por gra-

mo de peso seco con su respectivo valor en unidades logarítmicas en el biosólido fue 7.9×10^1 PFP/ g peso seco (1.9 UL).

En la figura 3 se observan las concentraciones de fagos F-específicos en las muestras analizadas.

Lasobras, J. *et al.*, (1999) encontraron concentraciones de fagos F-específicos de $3,4 \times 10^4$ PFP/100 g en lodos digeridos anaeróbicamente bajo condiciones mesofílicas que fueron deshidratados posteriormente. Según estos autores, la inactivación de los fagos F-específicos difiere claramente del comportamiento de otros grupos de fagos, tanto en cinética como en la reducción numérica. Este grupo de fagos parece inactivarse más eficientemente que los fagos somáticos. En este estudio se observó un comportamiento variable de los fagos F-específicos. Además, las concentraciones de estos fagos fueron inferiores comparadas con los fagos somáticos (figura 3).

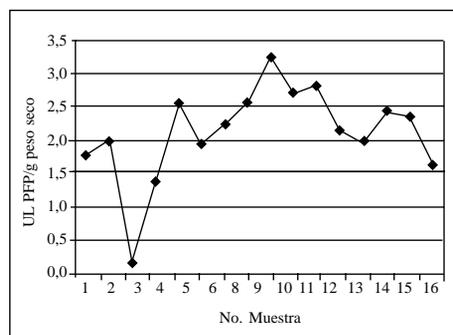


FIGURA 3. Fagos F-específicos en biosólidos estabilizados por un sistema anaerobio mesofílico.

Huevos de helminto

Las concentraciones de huevos de nemátodo y cestodos expresadas por 100 g de sólidos totales se observan en la tabla 1.

TABLA 1. Concentración total de huevos de Nemátodo y Cestodos en Biosólidos estabilizados por un sistema anaerobio mesofílico*

Tipo de lodo	No. muestras	Huevos/100 g ST	
		Nemátodo	Cestodos
Biosólido	16	61	0

* Concentración total: No. huevos viables + No. huevos no viables.

Con relación a la distribución de los huevos de helminto, *Ascaris* sp. y *Uncinaria* sp. contribuyen a los más altos porcentajes de huevos de nemátodo, mientras que la distribución de los huevos de cestodos fue uniforme.

La concentración de huevos viables, más que la concentración de huevos totales (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 relacionan directamente con la fase viable del parásito.

En este estudio se determinaron las concentraciones de huevos viables de helminto (nemátodo y cestodos) y quistes viables de protozoarios, así como el número de larvas presentes. Los valores se expresaron por 4 gramos de peso seco, de acuerdo con la norma EPA/625/R-92/013 (1999).

Las concentraciones de huevos viables de helminto (*Ascaris* sp., *Trichuris* sp., *Uncinaria* sp., *Taenia* sp., *Hymenolepis* sp. y huevos de origen no humano) fueron menores a 1 huevo viable/4 g peso seco. Los quistes de protozoos (*E. histolytica*, *Giardia* sp., *Coccidia* sp., *Eimeria* sp.) fueron menores a 1 quiste viable/4 g peso seco. No se encontraron quistes de *E. histolytica* en las muestras de biosólido. Las concentraciones de larvas viables al igual que los

grupos anteriores fueron menores a la unidad (< 1 larva viable/4 g peso seco).

Para definir un huevo como viable se tuvo en cuenta la absorción del colorante de vitalidad (azul de tripano 0.4%) por el huevo. Sin embargo, el observar huevos completamente azules y la larva completamente móvil hizo descartar este criterio. Un huevo viable se caracteriza por presentar la larva en su interior, sea móvil o no. Cambios morfológicos presentes en los huevos, que incluyen fracturas en la capa externa, fragmentos de huevos, formas degeneradas, desintegración de la membrana que rodea el huevo, así como, la carencia de homogeneidad citoplasmática, la pérdida de su color normal o la formación de grandes gránulos refráctiles dentro de la célula, fueron característicos de un huevo no viable. La viabilidad de las larvas y de los quistes de parásitos se determinó teniendo en cuenta la absorción del colorante de vitalidad azul de tripano (0.4%) y la morfología de cada uno, fragmentos de larvas o larvas que tomaran el colorante en una sola parte del cuerpo, así como, quistes irregulares o membranas retraídas, definieron la no viabilidad. Chauret *et al.* (1999) mencionan la utilización de una coloración vital como 4,6-diamino-2-fenilindol, para la identificación de quistes y ooquistes de *Giardia* sp. y *Cryptosporidium* sp. Sin embargo, no incluyeron este procedimiento debido a la fluorescencia que produjo, especialmente en biosólidos. Las figuras 4 y 5, son ejemplos de huevos considerados como viables y no viables.

Para calcular el porcentaje de viabilidad se tuvo en cuenta el número de huevos totales y el número de huevos viables. % viabilidad: $(\text{No. huevos viables} \times 100) / \text{No. huevos totales}$. Los porcentajes de viabilidad de los huevos de helminto fueron muy variables: 2.7% - 100%. Gantzer *et al.* (2001), encontraron porcentajes de viabilidad entre el 14.2% y el 28.9% en lodos

digeridos anaeróbicamente bajo condiciones mesofílicas.

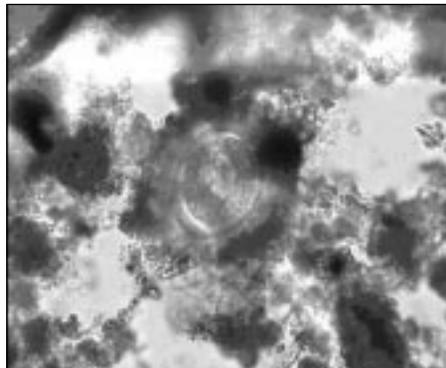


FIGURA 4. Huevo viable *Ascaris* sp., larva móvil en su interior. (40x).

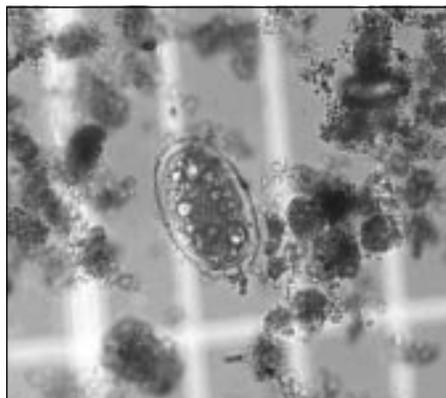


FIGURA 5. Huevo no viable *Ascaris* sp., ausencia de larva y presencia de gránulos refráctiles. (40x).

Los promedios de viabilidad de *Ascaris* sp., huevos de origen no humano y huevos completamente desarrollados (que no fue posible identificarlos) en el biosólido fueron mayores al 50%, indicando la resistencia de estos tres grupos al sistema de tratamiento de lodos. Black *et al.* (1982), encontraron que los huevos de *Ascaris* sp. eran viables en un 77% después del proceso de digestión anaeróbica. Oropeza *et al.* (2001) encontraron un 65% de viabilidad

de huevos de helminto que habían sido sometidos a un proceso de digestión. *T. trichiura* fue citado por Black *et al.* (1982), como un huevo de helminto resistente a la digestión anaeróbica. Sin embargo, en este estudio su porcentaje de viabilidad fue inferior al 50% a la salida del sistema. Es importante resaltar la presencia de huevos de origen no humano en el biosólido, ya que forman parte de las zoonosis emergentes de tipo helmíntico. Helmintos como *Toxocara canis* habitan en estado adulto en el intestino delgado del perro y de varios animales silvestres. Los huevos depositados con la materia fecal son muy resistentes a factores ambientales permaneciendo viables durante muchos meses o años. Estos huevos pueden ser ingeridos por niños entre los 18 meses y los 3 años de edad ocasionando cuadros clínicos de asma, anorexia, náuseas, hepatomegalia y linfadenopatías (Angulo y col., 1987). En este estudio los huevos de helminto encontrados no están relacionados hasta el momento con enfermedades de tipo zoonótico. La dosis mínima infectiva de cada uno de estos parásitos está relacionada con el riesgo que representa un huevo de helminto para las personas que están en contacto con el biosólido. En este estudio, las concentraciones de helmintos (<1 huevo viable/4 g peso seco) representan una baja probabilidad de que ocurra este evento.

Con relación a los protozoos, no se encontraron quistes viables de *E. histolytica* y *Coccidia* sp. en el biosólido. La viabilidad de los quistes de *Giardia* sp. en el biosólido fue 10.3%.

En relación con el índice de parasitismo en la zona norte de Bogotá, se analizaron los datos estadísticos de morbilidad y mortalidad por parasitismo intestinal reportados en la zona norte durante los años 1998 - 2002. A partir de estos datos, podemos concluir que los grupos de edades 1 - 5 y 10 - 14 años son los más afectados por infeccio-

nes parasitarias. Sin embargo, los porcentajes de morbilidad comparados con el resto de enfermedades son muy bajos, lo que nos permitiría inferir que el aporte de parásitos no se da en altas proporciones. Por otra parte, la concentración de parásitos aportada por personas asintomáticas que portan la infección y personas que sufren la infección pero no consultan un centro médico es difícil de cuantificar.

Como se había anotado anteriormente, durante el estudio se esperaba analizar la concentración de indicadores de contaminación bacteriana, viral y parasitaria en un período lluvioso y seco. Sin embargo, durante los cuatro meses de estudio se presentó un período seco, lo cual no permitió analizar el comportamiento de estos microorganismos bajo diferentes condiciones climáticas.

CONCLUSIONES

- El biosólido producido en la planta de tratamiento de aguas residuales domésticas El Salitre presenta una concentración de coliformes fecales de $1,6 \times 10^5$ UFC/g peso seco (5.2 UL), fagos somáticos $5,0 \times 10^3$ PFP/g peso seco (3.7 UL), fagos F-específicos 7.9×10^1 PFP/g peso seco (1.9 UL) y huevos viables de helminto 0.14/4 g peso seco.
- El biosólido producido por la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre puede utilizarse para usos agrícolas o no agrícolas con las debidas restricciones de aplicación, para que no represente un riesgo de salud pública.
- Los huevos de *Ascaris* sp. presentaron el mayor porcentaje de viabilidad (68.8%) junto con los huevos de origen no humano (75%), lo que indica un riesgo potencial no sólo para el ser humano sino para los animales. En relación a los quistes de protozoos,

no se encontraron quistes viables de *E. histolytica* en el biosólido. El porcentaje de viabilidad de los quistes de *Giardia* sp. en el biosólido fue menor al 50%. Por otra parte, la concentración de larvas viables en el biosólido (0.02 larvas viables/4 g peso seco) es baja. Sin embargo, pueden representar un riesgo para las personas que están en contacto directo con este producto.

- El biosólido producido en la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre se clasifica de acuerdo con la norma EPA/625/R-92/013 (1999) como B, por presentar concentraciones de coliformes fecales $<2 \times 10^6$ UFC/g sólidos totales. Sin embargo, la concentración de huevos viables de helminto en el biosólido es <1 huevo viable/4 g peso seco, lo que haría pensar en clasificarlo como A en relación con este parámetro.
- Aunque la identificación de fagos somáticos y fagos F-específicos no son parámetros propuestos en la norma EPA/625/R-92/013 (1999), las concentraciones de estos microorganismos en el biosólido son indicadores de la posible presencia de virus entéricos en las muestras analizadas.

AGRADECIMIENTOS

A Bogotana de Aguas y Saneamiento - BAS por la financiación de este proyecto.

LITERATURA CITADA

ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie). 2001. *Le boues D'épuration municipales*. Los biosólidos del tratamiento de las aguas residuales municipales y su utilización en la agricultura, publicado por la Agencia del Medio Ambiente y de la Energía de Francia, traducción realizada por Bogotana de Aguas y Saneamiento - BAS. 165 págs.

ANGULO, R.; ÁGUILA, C. y GUILLÉN, J. 1987. Contaminación de suelos de parques públicos por *Toxocara canis*. *Rev. Ibér. Parasitol.*, vol. extraordinario, 167-171.

BLACK, M.; SCARPINO, P.; O'DONNELL, C.; MEYER, K.; JONES, J. and KANESHIRO, E. 1982. *Survival rates of parasite eggs in sludge during aerobic and anaerobic digestion*. *Appl. Environ. Microbiol.* 44 (5): 1138-1143 .

BUJOCZEK, G.; REINERS, R.S. and OLASZKIEWICZ, J.A. 2001. *Abiotic factors affecting inactivation of pathogens in sludge*. *Wat. Sci. Tech.* 44 (10): 79-84.

CHAURET, C.; SPRINGTHORPE, S. and SATTAR, S. 1999. *Fate of Cryptosporidium oocysts, Giardia cysts, and microbial indicators during wastewater treatment and anaerobic sludge digestion*. *Canadian Journal of Microbiology.* 45 (3): 257-262.

EPA. 1999. *Environmental Protection Agency. Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge*. EPA/625/R-92/013.

GANTZER, C., GASPARD, P., GALVEZ, L. HUYARD, A. DUMOUTHIER, N. and SCHWARTZBROD, J. 2001. *Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge*. *Water Res.* 35 (16): 3763-3770.

LASOBRAS, J.; DELLUNDE, J.; JOFRE, J. and LUCENA, F. 1999. *Occurrence and levels of phages proposed as surrogate indicators of enteric viruses in different types of sludges*. *Journal of Applied Microbiology.* 86: 723-729.

MOELLER, G., FERAT, C. 2000. Reducción de patógenos en lodos primarios digeridos anaeróbicamente Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales, págs. 1-10. Morelia. México. <http://www.cepis.ops-oms.org>

OROPEZA, M.R.; CABIROL, N.; ORTEGA, S.; CASTRO ORTIZ, L.P. and NOYOLA, A. 2001. *Removal of fecal indicator organisms and parasites (fecal coliforms and helminth eggs) from municipal biologic sludge by anaerobic mesophilic and thermophilic digestion.* Wat. Sci. Tech. 44 (4): 97-101.

SCHWARTZBROD, J. 2000. *EPA modified protocol.* Comunicación Personal.

SINTON, L.; FINLAY, R. and LYNCH, P. 1999. *Sunlight Inactivation of Fecal Bacteriophages and Bacteria in Sewage-Polluted Seawater.* Appl. Environ. Microbiol. 65 (8): 3605-3613.

Recibido: 16-09-2003
Aceptado: 18-03-2004