



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

VICERRECTORÍA EJECUTIVA

SISTEMA UNIVERSITARIO DE BIBLIOTECAS

Biblioteca Digital

La presente tesis es publicada a texto completo en virtud de que el autor ha dado su autorización por escrito para la incorporación del documento a la Biblioteca Digital y al Repositorio Institucional de la Universidad de Guadalajara, esto sin sufrir menoscabo sobre sus derechos como autor de la obra y los usos que posteriormente quiera darle a la misma.



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

**Inactivación de Patógenos  
Zoonóticos en Heces de Gato  
Doméstico para su  
Aprovechamiento en Agricultura  
Urbana**

**Tesis  
que para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias en Biosistemática  
y Manejo de Recursos Naturales y  
Agrícolas**

**Presenta  
Gabriela Alejandra Alvarez Ochoa  
Patricia Zarazúa Villaseñor  
DIRECTORA  
Marcos Rafael Crespo González  
CODIRECTOR**

**Zapopan, Jalisco, junio de 2023**



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

## Inactivación de Patógenos Zoonóticos en Heces de Gato Doméstico para su Aprovechamiento en Agricultura Urbana.

Por

**Gabriela Alejandra Alvarez Ochoa**

**Maestría en Ciencias en Biosistemática y Manejo de Recursos  
Naturales y Agrícolas**

Aprobado por:

Dra. Patricia Zarazúa Villaseñor  
Directora de Tesis e integrante del jurado

31 / Mayo / 2023  
Fecha

Dr. Marcos Rafael Crespo González  
Co-Director del Comité Particular e integrante del jurado

31/05/23  
Fecha

Dra. Jeannette Barba León  
Asesora del Comité Particular e integrante del jurado

31/05/23  
Fecha

Dra. Dámaris Leopoldina Ojeda Barrios  
Asesora del Comité Particular e integrante del jurado

31 - MAYO 2023  
Fecha

Dra. Martha Isabel Torres Morán  
Sinodal e integrante del jurado

31 - mayo - 2023  
Fecha



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

## **DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD**

A quien corresponda:

Por este conducto, la abajo firmante, autora del Trabajo Recepcional (Tesis) titulada: “INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS ZOONÓTICOS EN HECES DE GATO DOMÉSTICO PARA SU APROVECHAMIENTO EN AGRICULTURA URBANA”, declaro que el contenido del mismo constituye un documento inédito y original, por lo que cumple con los términos de originalidad a los que se hace mención en el Artículo 73 del Reglamento General de Posgrado y el Artículo 147 fracción I del Reglamento General de Titulación de la Universidad de Guadalajara.

**ATENTAMENTE**

Guadalajara, Jalisco, a 31 de mayo de 2023

---

M.V.Z. Gabriela Alejandra Alvarez Ochoa

Código: 220794674

A mi familia, a mi “bandita” de Sociales y a quienes resisten por una existencia digna.

*“Las mejores y más evolucionadas tecnologías son aquellas que no destruyen la base misma  
sobre la cual vivimos”*

——Vandana Shiva

## Agradecimientos

Primeramente, sin encontrar las palabras justas, agradezco infinitamente a la Dra. Paty Zarazúa y al Dr. Marcos Crespo por haber creído en mí, pese a mi inexperiencia en la vida de investigación, más que una dirección, fueron desde antes de ingresar al programa de maestría, unos mentores y guías. No menos importante, la Dra. Jeanette Barba, que durante todo este recorrido también confió en este proyecto y quien de cerca, también me brindó apoyo más allá de la propia temática por la cual me asesoró. Igualmente, a la Dra. Dámaris, que sin conocernos en persona por la distancia, siempre mostró su incondicional apoyo para la realización de esta investigación.

A la Universidad de Guadalajara y al CONACyT por haber apostado por esta investigación y haber confiado en mi determinación para sacarla adelante.

Agradezco a mi familia, especialmente a mi tía Silvia, mi tío Mario y mi papá, ya que siempre he contado y sigo contando con su apoyo, estuvieron ahí de todas las maneras posibles. A mi mamá, que incluso de lejos, siempre está presente y en comunicación, brindándome el apoyo moral máspreciado cuando el recorrido ha sido más difícil. No puedo dejar fuera de la familia a mi *roomie* Angie, quien vivió de cerca los estragos de la vida cotidiana al invertir las prioridades para realizar la investigación, incluso con participación activa en los volteos de las compostas mientras me encontraba de estancia académica en Xalapa.

A Carolina y Aurora en el LCMP, por su apoyo durante los procedimientos metodológicos con *Salmonella*, a Paty Muñoz Flores, estudiante de Agronomía, quien con su entusiasmo y camaradería, me apoyó en los manejos dentro del invernadero y a la Dra. Martha Isabel Torres, quien apoyó con este espacio.

Agradezco infinitamente la Facultad de Biología de la Universidad Veracruzana, particularmente al Dr. Yadeneiro de la Cruz y todo el equipo del Huerto Agroecológico, quienes amablemente me recibieron y entre aprendizajes académicos, me dejaron una experiencia única.

Finalmente quiero hacer mención de que no habría sido posible ni siquiera la idea de dedicarme a la investigación e involucrarme en las problemáticas reales sin mi compañera Dalia, quien me integró a nuestro clan de Ciencias Sociales, Celene, Renée y Miriam.

## Índice general

Agradecimientos.....	I
Índice de figuras.....	V
Índice de cuadros .....	VI
Abreviaturas.....	VI
Resumen.....	VII
Abstract.....	VII
1. Introducción .....	1
2. Antecedentes.....	3
2.1 Manejo de residuos de mascotas en contexto urbano .....	3
2.2 Patógenos zoonóticos.....	4
2.2.1 <i>Salmonella enterica</i> Typhimurium.....	5
2.2.2 <i>Ancylostoma</i> sp. ....	6
2.2.3 <i>Cystoisospora</i> sp.....	7
2.2.4 <i>Giardia</i> sp. ....	7
2.2.5 <i>Toxoplasma gondii</i> .....	8
2.3 Técnicas de inactivación de patógenos en residuos fecales.....	9
2.3.1 Solarización .....	9
2.3.2 Alcalinización .....	11
2.3.3 Compostaje .....	12
2.4 Cultivo de lechuga como bioensayo .....	13
3. Planteamiento del problema y justificación .....	14
4. Hipótesis.....	16
5. Objetivos .....	16
5.1 Objetivo general .....	16
5.2 Objetivos específicos .....	16
6. Materiales y métodos .....	17
6.1 Descripción de área de estudio .....	17
6.2 Patógenos zoonóticos en heces de gato doméstico .....	18
6.2.1 Dinámica de <i>Salmonella</i> inoculada en muestras de heces de gato doméstico.....	18
6.2.2 Presencia de agentes parasitarios zoonóticos en heces de gato doméstico.....	20
6.3 Evaluación de tratamientos de inactivación de patógenos .....	22
6.3.1 Inactivación por alcalinización .....	22
6.3.2 Inactivación por solarización.....	24



6.3.3 Inactivación por compostaje .....	29
<b>6.4 Evaluación de la inocuidad y el efecto del sustrato obtenido de mezcla de composta con heces fecales de gato tratadas, en cultivo de lechuga .....</b>	<b>32</b>
6.4.1 Caracterización de suelo .....	32
6.4.2. Diseño experimental .....	32
6.4.3 Siembra de lechuga.....	33
6.4.4 Desarrollo de lechuga .....	33
6.4.5 Recuperación de <i>Salmonella</i> en hojas de lechuga .....	34
6.4.6 Recuperación de parásitos <i>Cytoisospora</i> , <i>Giardia</i> y <i>Ancylostoma</i> en hojas de lechuga.....	36
6.4.7 Análisis estadístico .....	36
<b>7. Resultados y discusión .....</b>	<b>37</b>
<b>7.1 Presencia de patógenos zoonóticos en heces de gato doméstico .....</b>	<b>37</b>
7.1.1 Seguimiento a dinámica de <i>Salmonella</i> inoculada en muestras de heces de gato doméstico.....	37
7.1.2 Presencia de agentes parasitarios zoonóticos .....	37
<b>7.2 Evaluación de tratamientos de inactivación de patógenos zoonóticos .....</b>	<b>38</b>
7.2.1 Evaluación de tratamientos de inactivación en <i>Salmonella</i> .....	38
7.2.2 Evaluación de tratamientos de inactivación en parásitos .....	47
<b>7.3 Evaluación de la inocuidad y el efecto del sustrato obtenido de mezcla de composta con heces fecales de gato tratadas, en cultivo de lechuga .....</b>	<b>50</b>
7.3.1 Caracterización de compostas y suelo .....	51
7.3.2 Desarrollo de lechuga .....	51
7.3.3 Recuperación de <i>Salmonella</i> superficial.....	52
7.3.4 Recuperación de <i>Salmonella</i> internalizada.....	53
<b>8. Conclusiones .....</b>	<b>54</b>
<b>1. Referencias .....</b>	<b>56</b>
<b>A. Análisis fisicoquímico de suelo .....</b>	<b>64</b>

## Índice de figuras

- Figura 1. Siembra de diluciones seriadas en placas de AST con kanamicina.
- Figura 2. Microscopía de homogeneizado de muestra de heces dentro de cámara de Mc Master.
- Figura 3. Muestras de heces bajo técnicas de alcalinización.
- Figura 4. Diseño de horno solar donde se muestran sus componentes.
- Figura 5. Muestras de heces en horno con láminas de refracción concéntricas.
- Figura 6. Muestras de heces en horno sin láminas de refracción concéntricas.
- Figura 7. Muestras de heces dispuestas en horno solar.
- Figura 8. Lectura de un termómetro digital dispuesto dentro de un horno solar.
- Figura 9. Lector HI 98129 de Hanna Instruments para monitoreo de pH y temperatura.
- Figura 10. Composteros experimentales al inicio del tratamiento, previo al primer volteo.
- Figura 11. Diseño experimental completamente al azar de cultivo de lechuga en invernadero
- Figura 12. Cultivo de lechuga en la última etapa de desarrollo.
- Figura 13. Muestras de hojas internas de lechugas correspondientes al bioensayo.
- Figura 14. pH de heces tras Alcalinización.
- Figura 15. *Salmonella* en heces tras Alcalinización.
- Figura 16. pH de heces tras Solarización.
- Figura 17. *Salmonella* en heces tras Solarización.
- Figura 18. Comparativo de tratamientos.
- Figura 19. *Salmonella* tras proceso de compostaje.
- Figura 20. pH en heces tras Solarización en inactivación de parásitos.
- Figura 21. Cuentas parasitarias en heces.
- Figura 22. Parásitos tras compostaje.
- Figura 23. Desarrollo de lechuga.
- Figura 24. *Salmonella* superficial.
- Figura 25. *Salmonella* internalizada.

## Índice de cuadros

Cuadro 1. Temperaturas máximas registradas en hornos durante marzo de 2021 (primavera)

Cuadro 2. Temperaturas máximas registradas en hornos durante septiembre de 2021 (otoño)

Cuadro 3. Parámetros fisicoquímicos de compostas

## Abreviaturas

°C	Grados Celsius
Ca(OH) <sub>2</sub>	Hidróxido de Calcio/ Cal de construcción
CE	Conductividad eléctrica
C	Carbono
N	Nitrógeno
Cl	Cloro
dl	Decilitro
dS	Decisiemens
g	Gramos
h	Horas
L	Litro
μl	Microlitro
ml	Mililitro
min	Minutos
pH	Potencial de hidrógeno
rpm	Revoluciones por minuto
UFC	Unidades formadoras de colonia
ZnSO <sub>4</sub>	Sulfato de Zinc

## Resumen

La disposición de heces de animales como enmienda de uso agrícola representa un riesgo para la salud pública. El objetivo del estudio fue evaluar la efectividad de solarización, alcalinización y compostaje como procesos de inactivación de patógenos en heces de gato para su aprovechamiento en agricultura urbana. Se inocularon muestras fecales con una cepa de *Salmonella enterica* Typhimurium SL144  $\Delta$ hiD no patógena, resistente a kanamicina y se caracterizaron parásitos presentes por extendido directo y técnica de Mc Master. Se trataron las muestras con alcalinización por adición de  $\text{Ca(OH)}_2$  al 25% en seco y al mismo porcentual con adición de agua. En el tratamiento de solarización se evaluaron hornos solares con láminas de refracción concéntrica y sin láminas con las muestras en alcalinización con humedad. Se compostaron muestras positivas tratadas con alcalinización húmeda, posteriormente se sembró lechuga (*Lactuca sativa*) para evaluación microbiológica de compostas. Cada tratamiento de inactivación se efectuó por triplicado con grupo control, para evaluación en cultivo, se seleccionaron 6 plantas por unidad experimental. La reducción de cuentas viables en alcalinización y solarización fue de 3 y 4 Log<sub>10</sub> UFC/g respectivamente, mismas que se mantuvieron durante el compostaje, hubo reducción post tratamiento de *Cytoisospora*, *Giardia* y *Ancylostoma* (70.84%, 94.44% y 100% respectivamente) sin diferencia significativa entre los mismos. En hojas de lechuga no hubo recuperación de parásitos; se contó superficialmente un promedio 1.4 Log<sub>10</sub> UFC/ml y de 17 UFC/hoja de *Salmonella* internalizada de unidades con composta de heces tratadas. El compostaje de bajo volumen tiene efecto de inactivación independiente a la termogénesis.

**Palabras clave:** Compostaje, solarización, alcalinización, lechuga, internalización.

## Abstract

The disposal of animal feces as an amendment for agricultural use represents a risk to public health. The objective of the study was to evaluate the effectiveness of two pathogen inactivation processes in cat feces for their use in urban agriculture. Faecal samples were inoculated with a nonpathogenic strain of *Salmonella enterica* Typhimurium SL144  $\Delta$ hiD, resistant to kanamycin, and the parasites present were characterized by direct smearing and the Mc Master technique. The samples were treated with alkalization by adding  $\text{Ca(OH)}_2$  at 25% dry and at the same percentage with the addition of water. In the solarization treatment, solar ovens with concentric refraction sheets and without sheets were evaluated with the samples in

alkalinization with humidity. Positive samples treated with wet alkalinization were composted, followed by sowing of lettuce (*Lactuca sativa*) for microbiological evaluation of composts. Each inactivation treatment was carried out in triplicate with a control group, for evaluation in culture, 6 plants were selected per experimental unit. The reduction of viable counts in alkalinization and solarization was 3 and 4 Log<sub>10</sub> CFU/g respectively, which were maintained during composting, there was a post-treatment reduction of *Cytoisospora*, *Giardia* and *Ancylostoma* (70.84%, 94.44% and 100% respectively) without significant difference between them. In lettuce leaves there was no recovery of parasites; an average of 1.4 Log<sub>10</sub> CFU/ml and 17 CFU/leaf of internalized *Salmonella* from units with composted treated feces were counted superficially. Low volume composting has an inactivation effect independent of thermogenesis.

**Keywords:** Composting, solarization, alkalinization, lettuce, internalization

## 1. Introducción

La tenencia de animales de compañía en los hogares, es una práctica común que se desarrolla a partir de su domesticación con distintas funciones zootécnicas. Han evolucionado las dinámicas de interacción entre seres humanos y animales de compañía. Hasta que hoy en día, se estima que México cuenta con una población de aproximadamente 23 millones de perros y gatos en hogares, representando del 50 al 70% de hogares con mascota; 89% correspondiente a perros (*Canis familiaris*) y un 11% a gatos (*Felis catus*) observándose una tendencia a la alza en la tenencia de felinos, en función a la practicidad de su manejo y cuidado dentro del contexto urbano actual que implica la reducción de espacios habitacionales, así como menor disponibilidad de tiempo por parte de propietarios para su atención (INEGI, 2014).

Es importante considerar que a la par del impacto medioambiental que generan los humanos en los nichos urbanos, se suma aquello inherente a los residuos de los animales de compañía, de acuerdo con Sedesol (NOM-083-SEMARNAT-2003), el 53% de los residuos sólidos urbanos, corresponde a materia orgánica. En este contexto, los objetivos del desarrollo sustentable de las naciones unidas a nivel global, representan un reto tanto para los gobiernos, organismos no gubernamentales y la sociedad en general (Cantú, 2016), retomando las acciones por un futuro, por ello la importancia de la incorporación de acciones sustentables desde la individualidad, como la responsabilidad del manejo de residuos orgánicos desde su generación.

En concordancia con la creciente concientización social en cuanto al cuidado del medio ambiente y el intercambio de información por medio de las redes sociales, en nichos urbanos y periurbanos, se tiene mayor interés y conocimiento de las prácticas agrícolas aplicables en estos espacios como alternativas tanto para la soberanía alimentaria como la sustentabilidad, estas prácticas se conocen como Agricultura Urbana y Periurbana (Ávila, 2018). Estos espacios integran el aprendizaje de prácticas agroecológicas y permacultura donde se procura la reutilización y el reciclaje de materiales, siendo elemental el compostaje de residuos orgánicos.

El compostaje y aprovechamiento de residuos en explotaciones pecuarias es ya utilizado en la agricultura, lo que demarca un punto de partida para la consideración de aprovechar así mismo, los residuos fecales de las mascotas bajo una práctica similar a escala doméstica. El problema

consiste en que el bajo volumen de residuos fecales para compostar, no genera suficiente calor para la eliminación de los patógenos (Van Herk et al., 2004); enterobacterias como *Salmonella* y *Escherichia coli*, helmintos, principalmente *Toxocara sp.*, *Ancylostoma, sp.* y protozoarios como *Cystoisospora sp.*, son patógenos zoonóticos comúnmente encontrados en las heces de perros y gatos (Godínez et al., 2019), así como *Toxoplasma gondii* en éstos últimos, siendo consideradas como un problema de salud pública mundial, especialmente las zonas tropicales y sub tropicales (Sarmiento et al., 2018).

Bajo las anteriores consideraciones, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la efectividad de dos procesos de inactivación de *Giardia*, *Cytoisospora* y *Ancylostoma*, parásitos previamente caracterizados y *Salmonella enterica* Typhimurium SL144  $\Delta$ hilD la cual no es patógena y se encuentra marcada con la resistencia a Kanamicina, inoculada en heces de gato; alcalinización, implementada en lodos residuales y solarización, utilizada en producciones pecuarias aplicables a escala doméstica para su posterior compostaje y aprovechamiento en horticultura urbana (Lopes et al., 2020; Ozdemir et al., 2020), llevando a cabo esta última evaluación en un cultivo hortícola de amplio consumo y alta sensibilidad como lo es la lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Loumerem et al., 2019).

## **2. Antecedentes**

### **2.1 Manejo de residuos de mascotas en contexto urbano**

Con respecto a la disposición sustentable de heces de mascotas se cuenta con poca información, se han realizado experimentos de biodigestores que pueden incluso encontrarse de manera comercial donde la finalidad es la biodegradación de la materia fecal sin un enfoque en la sanitización de la misma, implicando con ello, el riesgo sanitario de un manejo inadecuado de este material (Labastida et al., 2015).

En lo que concierne a la tenencia de gatos en los hogares, se debe tomar en cuenta la práctica sanitaria del uso de cajas o areneros que se implementan como sitio de depósito para excretas y orina de dichos animales. Comercialmente, los productos mayormente utilizados como sustratos sanitarios comerciales son elaborados a base de polisilicato, material inorgánico de composición sintética cuya finalidad es la absorción y aglomeración de residuos líquidos, así como el revestimiento y mitigación de olores en caso de las heces fecales (Celestino y Marchetti, 2015).

Estos desechos *per se* son de difícil separación secundaria, considerando que se llevará a la práctica su separación primaria, aquella que se efectúa en los espacios de generación de los residuos, como el hogar, dentro de los desechos sanitarios. Aunado a esto, hemos de considerar que una vez que estos desechos son recolectados, son dispuestos sin separación en los rellenos municipales (SEMADET, 2018).

En los últimos años han surgido proyectos privados que buscan trabajar en conjunto con el gobierno para recolectar en puntos determinados los residuos de las mascotas para su posterior transporte a las instalaciones en que se aprovechan para la generación de biogás. Un modelo similar de biodigestor con implementación de un ecocatalizador fue recientemente estudiado en Bogotá con dicho objetivo. Si bien, son buenas prácticas que comienzan a proliferar y sumarse al objetivo conjunto de reducir el impacto medioambiental por manejo inadecuado de los residuos fecales, es necesario inactivar los patógenos zoonóticos para un aprovechamiento integral posterior (Díaz, 2020).



## 2.2 Patógenos zoonóticos

Las zoonosis, de acuerdo con la OMS, son aquellas enfermedades e infecciones que son transmitidas mediante condiciones naturales entre los animales y el ser humano; representan cerca del 70% de las enfermedades infecciosas. Las enfermedades zoonóticas pueden clasificarse con base en su epidemiología en: emergentes y re emergentes, exóticas, de transmisión directa o transmisión indirecta (Vargas y Galindo, 2013).

Habremos de considerar que las dinámicas de consumo y desecho influyen en la vulnerabilidad de los seres humanos a esta problemática, ya sea por la disposición de desechos controlada, como la utilización de estiércoles en la fertilización de suelos o en el inadecuado manejo de residuos sólidos urbanos, donde se encuentran presentes vectores de patógenos y generación de lixiviados (Shepherd et al., 2010; Bernache, 2012).

En lo referente a las infecciones gastroentéricas en humanos, la problemática suele deberse a una transmisión indirecta; los patógenos fecales pueden sobrevivir en el estiércol, residuo comúnmente utilizado como fertilizante orgánico que, al ser aplicado al suelo, puede contaminar la superficie de los vegetales en los cultivos; *Salmonella*, como *E.colli* O157 H:7 y *Campylobacter* sp., se tienen identificados como los causales más prominentes de intoxicación alimentaria y el 25% de las éstas, en los Estados Unidos, son provenientes de vegetales y frutos contaminados (Wu et al., 2009; Schikora et al., 2011).

Así mismo, los parásitos intestinales más comúnmente encontrados en la población mundial están asociados a patologías gastrointestinales tanto en personas sanas como inmunológicamente comprometidas, siendo las giardiasis y las amebiasis las principales causas de diarrea asociada a parásitos (Sarmiento et al., 2018). La transmisión de estos agentes se ha ligado a la contaminación por el uso de aguas residuales de manera directa en el riego para cultivos ya que menos del 10% reciben tratamiento (Verbyla et al., 2016).

Referente a la tenencia de mascotas y su potencial zoonótico, se ha demostrado que los protocolos preventivos de desparasitación son efectivos en el control de parásitos, mediante un estudio comparativo en grupos de perros y gatos, con distintas condiciones de actividad y habitación (Roussel et al., 2019).

Bajo estas consideraciones, se han tomado como referentes los parásitos evaluados, presentes en las muestras de heces de gato utilizadas en este estudio, en concordancia con la incidencia reportada por Rabbani et al., en 2020 y *Salmonella* como bacteria enteropatógena de referencia.

### **2.2.1 *Salmonella enterica* Typhimurium**

*Salmonella* es una bacteria, un bacilo gram negativo cuyo género se divide en *S. enterica* y *S. bongori*, el primero, subdividido en seis grupos: I, II, IIIa, IIIb, IV y VI. En el grupo I, se encuentra *S. enterica* subespecie *enterica*. (Ha et al., 2019).

*Salmonella enterica* se encuentra asociada a infecciones gastrointestinales y septicemia en el hospedero humano, gracias a su capacidad de invasión celular y sobrevivencia intrafagocítica (Velasco et al., 2019).

La promoción del consumo de vegetales crudos debido a los beneficios que esto aporta a la salud, puede representar una amenaza puesto que la enfermedad se desarrolla tras la ingesta de alimentos contaminados, en los Estados Unidos, 25% de las intoxicaciones alimentarias se asocian particularmente a vegetales contaminados, de manera directa o indirecta, se vincula al uso de desperdicios animales en la agricultura (Ha et al., 2019; Shepherd et al., 2010).

De un estimado 93.8 millones de casos y 155,000 muertes causadas por este patógeno, cada año en todo el mundo, solo 1% se asocia con contacto directo, sin embargo, habrá de considerarse que los animales sanos igualmente excretan *Salmonella* en las heces implicando su diseminación en el medio ambiente, es de suma importancia tener en cuenta este factor, para un adecuado manejo de estos desechos (Wei et al., 2020).

La severidad de los síntomas se correlaciona con la capacidad de *Salmonella* de entrar a los enterocitos. Generalmente se presenta una gastroenteritis autolimitante, mientras que hospederos susceptibles pueden llegar a padecer una infección sistémica por invasión del bazo, el hígado y otros órganos (Schikora et al., 2011).

La virulencia de *Salmonella* en animales depende de efectores (proteínas que el patógeno segrega en el huésped) provenientes de Sistemas de Secreción tipo III (T3SSs), (Cabañas y Huertas, 2014). En el reporte de Shikora et al., (2011) se demuestra que mutantes de *Salmonella*

que son incapaces de entregar efectores, están comprometidos en la infección de plantas del género *Arabidopsis thaliana*. El análisis de transcriptoma reveló que, en contraste con bacterias silvestres, los mutantes T3SS de *Salmonella*, están comprometidos en la supresión de genes de *Arabidopsis* altamente conservados que juegan un rol prominente durante la infección por *Salmonella* en animales. Incluso se encontró que *Salmonella* originaria de plantas infectadas, es equitativamente virulenta para células humanas y de ratones. Estos resultados indican un alto grado de conservación en la defensa y mecanismo de infección de huéspedes animales y vegetales durante la infección por dicho agente (Shikora et al., 2011).

Aunado a esto, se ha estudiado la capacidad de éste y otros patógenos de modificar su fisiología como mecanismo de adaptación, logrando adoptar un estado viable no cultivable, en el que la célula puede permanecer inactiva en cuanto a crecimiento e infectividad, pero presente para reactivarse bajo un medio propicio, mecanismo por el cual se complica aún más su control (Oliver, 2010).

Otro factor importante a resaltar sobre *Salmonella* y en estrecha relación con la contaminación de vegetales para consumo humano, es su capacidad de internalización, mecanismo por el cual, la bacteria se desplaza por medio de flagelos, hacia los estomas u otros orificios naturales de las hojas, mediada por proteínas de estrés universales, lo que pone en desventaja al efecto de los tratamientos desinfectantes que comúnmente se utilizan en los alimentos (Kroupitsky et al., 2019).

### **2.2.2 *Ancylostoma* sp.**

De acuerdo al estudio de Sarmiento et al. en 2018, *Ancylostoma* sp fue el segundo nemátodo de mayor frecuencia, encontrándose en las heces de 3.4% de los perros y 4.4% de los gatos, quienes fungen como reservorios.

El contagio en estas especies puede darse por vía percutánea, por ingesta de heces contaminadas o vía lactogénica en cachorros. Por la vía cutánea, la larva avanza por los tejidos hasta alcanzar el sistema hemolinfático para posteriormente viajar a corazón y pulmones; es de los pulmones la vía por la que asciende a bronquios, faringe, esófago e inicia nuevamente el ciclo. El parásito es causante de problemas pulmonares e intestinales que puede llevar a la anemia por deficiencia de hierro en animales y humanos (Castro et al., 2019).

Por la vía percutánea en humanos, provoca una dermatitis pruriginosa, con un trayecto sinuoso, eritematoso y vesiculoso, también se pueden presentar signos digestivos, neumonitis eosinofílica, eritema multiforme, opacidad corneal, larvas en tejido muscular y neuroretinitis subaguda unilateral difusa (Coello et al., 2017).

La detección de este parásito se lleva a cabo por la identificación morfológica con microscopía, previa técnica de concentración por flotación con solución salina concentrada (Sarmiento et al., 2018).

### **2.2.3 *Cystoisospora* sp.**

Anteriormente conocido como *Isoospora* sp, es un coccidio de la familia *Sarcocystidae*, cuyas diversas especies parasitan el intestino de los animales. La vía de transmisión es fecal-oral por ingesta de oocistos esporulados y se asocia con cuadros gastroentéricos, es el protozooario encontrado con mayor frecuencia en heces de gato (Ferreira et al., 2019; Sarmiento et al., 2018).

En Florencia-Caquetá, Colombia, se llevó a cabo el estudio para la determinación de la prevalencia de parásitos intestinales y factores de riesgos en niños de asentamientos irregulares, donde el 90% de ellos, se encontraron parasitados, en el 8% de ellos fue detectada *Cystoisospora* sp (Lucero et al., 2018).

La identificación de este patógeno se lleva a cabo por medio de la técnica de concentración por flotación con sulfato de Zinc y su cuantificación por la técnica de Mc Master (Tzannes et al., 2008).

### **2.2.4 *Giardia* sp.**

Este agente, es un protozooario causante de trastornos gastrointestinales, especialmente diarrea, en mamíferos, ese considera uno de los parásitos con alta prevalencia en la población de gatos, a la par de *Cystoisospora* y en ciertas regiones, *Cryptosporidium*, como lo revela un estudio llevado a cabo en el Reino Unido (Tzannes et al., 2008).

Las especies de *Giardia duodenalis* se dividen en al menos ocho ensambles genéticos; los ensambles A y B se consideran zoonóticos, no específicos, C y D mayormente detectados en cánidos, y el ensamble H, en gatos; dichos genotipos se logran diferenciar únicamente por técnicas de identificación molecular (Iijima et al., 2018).

La identificación de *Giardia duodenalis* en la práctica clínica suele llevarse a cabo por medio de ELISA o microscopía con la técnica de concentración por flotación, por medio de la cual se lleva a cabo la cuantificación de trofozoítos por gramo de heces con la técnica de Mc Master (Sandoval et al., 2011).

### **2.2.5 *Toxoplasma gondii***

*Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular obligado con la capacidad de infectar a cualquier animal de sangre caliente. Los felinos son los únicos hospederos definitivos pudiendo excretar millones de oocistos, que son la forma infectante presente en sus heces fecales y pudiendo sobrevivir estos, hasta 18 meses en superficies contaminadas (Dubey et al., 2011).

La transmisión horizontal, vía fecal oral, es la de mayor incidencia con respecto a la transmisión vertical, transplacentaria en madres gestantes y causal de abortos o alteraciones fetales. La mayoría de los casos son asintomáticos, pero se tiene registro de una seroprevalencia de entre el 20 y el 70% en la población adulta, relacionada con este agente, que pueden relacionarse con ingesta de carne contaminada o por contacto (Grandía et al., 2016).

La prevalencia de este agente es mayor en regiones con precipitación abundante en comparación con regiones áridas y se asocia con la población de gatos. En un estudio efectuado en Colombia, donde se menciona una prevalencia de un 30% hasta un 60% en humanos, se llevó a cabo muestreo de heces fecales de gato, en la ciudad de Armenia, donde se demostró que esta asociación efectivamente influye de manera significativa. Otro aspecto importante de este estudio, es que la presencia de *Toxoplasma* no se logró demostrar por medio de microscopía, sino por PCR, factor a considerarse para la correcta identificación (Zamora et al., 2020).

## **2.3 Técnicas de inactivación de patógenos en residuos fecales**

Existen numerosos estudios y desarrollo de técnicas ecológicas para la disposición de heces humanas, lo que comúnmente se conoce como baños secos donde se busca reutilizar la materia orgánica y minimizar el impacto medioambiental y técnicas ya estudiadas, como la alcalinización, para el tratamiento de lodos residuales (Lopes et al., 2018).

Para el caso del manejo de estiércoles cuyo destino es la fertilización de suelos de cultivo, se ha buscado aprovechar la energía solar, desde la orientación de naves en granjas, donde se expongan al sol las superficies de hacinamiento techadas, hasta dinámicas de solarización bajo la metodología utilizada en suelos agrícolas (Berry y Wells, 2011).

Aunque la composición del material tratado y las condiciones son distintas, sirven como referente para propuestas de experimentación con las que se marque un precedente de su efectividad en los residuos fecales de otras especies domésticas que conviven con los humanos, no de menor importancia por la alta prevalencia de agentes zoonóticos que de manera directa o indirecta, afectan a la salud pública (Tzannes, 2008).

Es importante tomar en cuenta, para la implementación de técnicas de inactivación, que, como se ha demostrado en el caso de enterobacterias, no solo influye la temperatura, sino la variedad de condiciones en el ambiente, siendo el valor del pH, uno de gran impacto en el crecimiento bacteriano (Leguérinel et al., 2017).

### **2.3.1 Solarización**

Stapleton en el año 2000, definió la técnica de solarización como “un proceso hidrotérmico natural de desinfección del suelo” que se integra por mecanismos físicos, químicos y biológicos, pudiendo utilizarse de manera integral con otros métodos de control de plagas. La utilización de esta técnica para suelos de establecimientos pecuarios y pilas de estiércol, ha sido recientemente estudiado.

En las prácticas agrícolas, donde es común la aplicación de desechos pecuarios frescos al suelo, se dio seguimiento a inóculos de *Salmonella*, *Escherichia coli* O157, *Campylobacter* y *Listeria* para evaluar su comportamiento al ser esparcidos en suelo de manera inmediata y tras una

semana, aunque los resultados muestran que ésta práctica disminuye la cuenta bacteriana, esta sigue representando un riesgo y es conveniente la implementación de otras técnicas para la inactivación y para la disposición de estos desechos (Hutchison et al. 2004).

Según Berry y Wells (2011), el suelo de los corrales de engorda, es una fuente de transmisión de *Escherichia coli* O157:H7 y, por tanto, un blanco para el establecimiento de estrategias pre cosecha de ganado para la reducción de dicho patógeno. Se seleccionó una superficie de corrales de engorda, previa identificación de prevalencia de *E. coli* O157:H7, ésta se zonificó para aplicación de tratamiento de solarización con sábanas de polietileno y testigos sin solarización. El experimento fue efectuado en un período de julio a septiembre donde se llevó a cabo la recolección de muestras durante cada semana del experimento para su procesamiento laboratorial por cultivo bacteriológico e identificación por medio de PCR. Las temperaturas logradas sobre las muestras bajo tratamiento, fueron superiores a aquellas alcanzadas por las muestras testigo (hasta 49°C bajo solarización, contrastando una máxima de 36.9° sin tratamiento) y dicho impacto térmico se refleja asimismo en la disminución de la prevalencia del patógeno en correlación con dichos picos de temperatura. Se observa también el efecto de la temperatura ambiental cuyo descenso por estacionalidad es asimismo reflejado en el alcance de las temperaturas tanto de superficies solarizadas como testigos. Los resultados del estudio demuestran que la técnica de solarización puede utilizarse para la reducción de la presencia de *E. coli* O157:H7 en el suelo de corrales de engorda, sin embargo, es necesario dar continuidad a estudios específicos para el control del patógeno en el ganado.

Vázquez et al., en 2015, trabajaron el efecto de solarización en el suelo para evaluar la presencia de *Salmonella* mediante técnicas de PCR, determinando que un proceso de solarización de materia fecal añadido con 50% más de humedad, por un período de 51 días que alcanzó temperaturas entre 58° y 61° C, resultando libre del patógeno.

Finalmente cabe agregar que, en el caso de compostaje de lodos residuales, esta técnica mostró también resultados positivos en la inactivación de varias bacterias patógenas, caracterizadas en la composta, atribuyéndose al efecto térmico aplicado (Ozdemir et al., 2020).

Una modelo de horno solar, cuyo fundamento es la concentración de radiación solar dentro de un espacio de pequeñas dimensiones, diseñado para preparación de alimentos, fue evaluado con la finalidad de registrar las temperaturas de alcance al interior del mismo en agua,

obteniendo temperaturas mayores a los 70 °C, siendo una alternativa a experimentar para inactivación de patógenos a pequeña escala (Terrés et al., 2013).

### 2.3.2 Alcalinización

La alcalinización, por otra parte, es un método previamente conocido y estudiado para tratamiento de lodos residuales, así como práctica de uso común en baños secos. Al elevar el pH de la materia tratada a 12, manifiesta inactivación de bacterias enteropatógenas y huevos de helmintos en un lapso de 48 horas, no teniendo un referente teórico para el caso de protozoarios, tales como *Giardia*, *Cytoisospora* o *Toxoplasma gondii*, comúnmente encontrados en el material a tratar que es necesario investigar (Lopes et al., 2018; López et al., 2006).

Un estudio realizado en Brasil, evalúa el efecto de un tratamiento alcalino a lodos residuales en los patógenos presentes, tanto parasitarios como bacterianos, de acuerdo a las regulaciones sanitarias, asimismo, la presencia de genes de resistencia a los antimicrobianos (ARG, por sus siglas en inglés). El tratamiento alcalino se lleva a cabo con la adición de 25% de  $\text{Ca(OH)}_2$  a las muestras para elevar el pH a un valor mayor a 12. Este sistema se ha implementado contra otros tratamientos físico-químicos por su simplicidad, efectividad y bajo costo. Los resultados obtenidos demostraron la efectividad del tratamiento en cuanto a la inactivación de patógenos, no así en el caso de los ARG que continuaron presentes, por otro lado, un estudio llevado a cabo en los Estados Unidos mostró persistencia de huevos de *Ascaris lumbricoides* y ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, referentes que hay que considerar, se encontraron presentes en lodos residuales (Lopes et al., 2018; Bean et al., 2007).

La determinación de ovocitos y ooquistes puede realizarse mediante métodos directos como los análisis mediante la técnica por flotación que pueden ser efectivos, métodos indirectos como el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), aunque no detecta títulos por debajo de 1:16, y actualmente se tienen técnicas moleculares que han resultado ser rápidas y muy efectivas (Moreno, 2018).

En Brasil se estudió el efecto de la presencia de materia orgánica en la resistencia de *Salmonella* en agua de escaldado, en un rastro de cerdos, concluyendo que la presencia de la misma, es poco significativa, pero mostrando un efecto positivo con la alcalinización en combinación con



la elevación de temperatura del agua, reduciendo 3.19 log UFC/ml en dicha agua, situación que indica que ambos tratamientos optimizan la inactivación del patógeno (Minor et al., 2018).

### 2.3.3 Compostaje

Las prácticas de compostaje se desarrollan durante el siglo XX con la expansión de espacios urbanos sobre áreas agrícolas; comienza el surgimiento de presiones ambientales y con ello, las propuestas científicas de la implementación del proceso de compostaje para mantener la fertilidad de los suelos (Roman et al., 2013).

El compostaje es un proceso biooxidativo en el que substratos sólidos heterogéneos son transformados en material rico en materia orgánica relativamente estable, siendo útil como enmienda de suelo; dicho proceso recae en la actividad producida por la sucesión de un complejo de comunidades microbianas que colonizan y emergen en la materia orgánica (Kästner y Miltner, 2016).

Este proceso comprende cuatro fases: Mesofílica, termofílica, de enfriamiento y maduración. Durante las primeras dos fases, hay un alto consumo de oxígeno y liberación de dióxido de carbono logrando un incremento en la temperatura de 50 a 60 °C incluso 70 a 80 °C en pilas de varios metros cúbicos. Durante la fase de enfriamiento disminuye la actividad bacteriana y emerge el desarrollo fúngico, posterior maduración con la proliferación de macroorganismos (Tendero, M. y Guyot, C., 2019).

Además de los atributos en materia de fertilización, al compostaje se le considera un tratamiento efectivo para la reducción en la población de patógenos en estiércoles, siendo el calor el factor más importante para este efecto, no obstante, se han estudiado factores no térmicos como el pH y ácidos volátiles, así como la producción de amoníaco, en caso de compostajes anaeróbicos, sin embargo, un factor clave dentro del compostaje, para evitar un crecimiento de bacterias patógenas, es la estabilidad del mismo (Erickson et al., 2014; Sunar et al., 2009).

En Canadá se realizó un estudio en el que se evaluó el efecto de compostaje de estiércol en la viabilidad de quistes de *Giardia* y oocistos de *Cryptosporidium*, donde se concluye que el

impacto en la viabilidad de dichos parásitos, se relaciona con la etapa termofílica del compostaje, siendo recomendable para el tratamiento del estiércol (Van Herk et al., 2004).

Con base en este resurgimiento, el compostaje doméstico es ya una práctica habitual y creciente en los espacios urbanos, sin embargo, por las dimensiones de los espacios habitacionales, se llegan a improvisar composteros de bajo volumen, menores a 50 litros, no siendo factible alcanzar temperaturas necesarias para la eliminación de patógenos, representando una limitante en el uso del compost obtenido con materia fecal añadida y por tanto, siendo necesario aplicar técnicas de saneamiento previo (Román et al., 2003).

El compostaje doméstico, es ya una tecnología bien establecida en países desarrollados para el manejo de residuos orgánicos, como ventaja respecto al compostaje industrial, además de la ausencia de políticas públicas que promuevan un manejo sustentable de residuos orgánicos en países en desarrollo, los ahorros en gasto de energía que pudiese requerir la logística de la recolección de materiales, favorecen a esta opción (Margaritis et al., 2017)

En un estudio realizado al sur de Brasil, se evaluó la dinámica del compostaje a pequeña escala con diferentes proporciones de material de carga, en tanto que suele ser el principal problema en el manejo, llegando a la conclusión de que el control del ratio o proporción de la materia orgánica respecto al material de carga, incide tanto la calidad como la generación de olores desagradables y lixiviados (Guidoni et al., 2018).

En Barcelona se llevó a cabo otro estudio comparativo entre compostaje industrial y compostaje doméstico con un mayor enfoque en la aireación y estabilidad final de la composta, concluyendo que los compostajes domésticos cuya aereación se maneja adecuadamente, resultan en un producto estable, apto para su aprovechamiento como enmienda (Barrena et al., 2014).

## **2.4 Cultivo de lechuga como bioensayo**

*Lactuca sativa* L. pertenece al género *Lactuca* del orden de las *Asterales* y a la familia *Asteraceae*, se le considera un cultivo de temporadas frías ampliamente distribuido,

especialmente en regiones templadas y subtropicales (Loumerem et al., 2019). Se trata de un cultivo de ciclo corto con suma importancia económica, de manejo sencillo y baja demanda tecnológica para el mismo (Souza et al., 2020).

Para lograr exitosamente el cultivo de lechuga, se requiere del aporte nutrimental adecuado durante su desarrollo; los fertilizantes orgánicos como composta y vermicomposta pueden aportar materia orgánica al suelo, obteniendo cosechas de buena calidad evitando el uso de fertilizantes comerciales (Hernández et al., 2010), para ello es importante que el proceso de compostaje se lleve a cabo de manera adecuada, puesto que en caso contrario, éste puede llegar a ser fitotóxico. De acuerdo con Selim et al. (2012), la fitotoxicidad es uno de los principales aspectos a evaluar en las compostas por sus implicaciones en el índice de germinación (GI, por sus siglas en inglés) y su efecto en el suelo; una composta inmadura, reduce la concentración de oxígeno y la disponibilidad de nitrógeno en el mismo, por la actividad microbiológica implícita en el proceso cuando éste no ha sido finalizado.

En materia de inocuidad, las enfermedades asociadas con el consumo de productos frescos han incrementado, especialmente aquellos de hoja por contaminación con *Salmonella* spp., ésta puede ocurrir por medio del suelo durante el desarrollo de la planta, los diferentes procesos de colonización previos a la cosecha continúan en estudios. Se han encontrado indicios de que el suelo puede actuar como reservorio para este patógeno a largo plazo, desde 21 días con cerdaza y hasta un año con pollinaza (Jechalke et al., 2019) y se ha asociado la colonización de la lechuga por vía radicular, encontrándose evidencia que asocia la internalización de la bacteria con los genes de estrés universales (Kroupitsky et al., 2019).

### **3. Planteamiento del problema y justificación**

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas (ONU), en América Latina se ha completado el proceso de urbanización, lo que en materia de sustentabilidad implica la necesidad de re dirigir los modelos de desarrollo de áreas urbanas y periurbanas de acuerdo con los Objetivos para el Desarrollo Sustentable (ODS) en concordancia con la Estrategia de Ciudades más Verdes promovida por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) donde se pretende el combate a

la inseguridad alimentaria y la pobreza mediante el aprovechamiento de uso de suelo para producciones locales (Olvera y Zavaleta, 2019).

La viabilidad de este tipo de proyectos a escala gubernamental continúa en estudios, no obstante, es evidente la tendencia de las poblaciones urbanas por llevar a cabo prácticas de producción agrícola, tanto en colectividades mediante la apropiación de territorio, como desde la individualidad de los hogares, visibilizándose mayormente tras la emergencia del SARS-COV2, cuyo efecto pandémico genera aún incertidumbre en la población (Altieri y Nicholls, 2020).

En la Ciudad de Guadalajara, México, en convivencia con colectivos vecinales, quienes, desde esta perspectiva de sustentabilidad, llevan a cabo prácticas de horticultura urbana, refieren la tenencia mascotas y que, en este contexto, se cuestionan la disposición de sus residuos sanitarios, especialmente aquellos generados por los felinos, en tanto que su manejo implica el uso de sustratos sanitarios que comúnmente se suman a la recolección general de basura. Surge entonces esta inquietud por llevar a cabo una disposición adecuada de dichos residuos, teniendo en cuenta que habitamos una ciudad donde se estima una generación de 1,020 g de basura por persona al día y de la suma de esas recolecciones, un 91% tiene como destino los rellenos sanitarios que presentan deficiencias en su infraestructura y el restante 9% queda sin recolección, en espacios abiertos, incrementando las vías de exposición de estos materiales, mismos que pueden ser transmisores de patógenos zoonóticos (Bernache, 2012).

#### **4. Hipótesis**

Los tratamientos de solarización, alcalinización y compostaje, generarán las condiciones necesarias para la inactivación de patógenos zoonóticos en heces de gato doméstico para su aprovechamiento en agricultura urbana.

#### **5. Objetivos**

##### **5.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de los tratamientos de solarización, alcalinización y compostaje en la inactivación de patógenos zoonóticos en heces fecales de gato doméstico (*Felis catus*), para su uso en agricultura urbana.

##### **5.2 Objetivos específicos**

- Cuantificar la presencia de los principales agentes parasitarios zoonóticos presentes en las muestras de heces de gato doméstico: *Cytoisospora*, *Giardia* y *Ancylostoma* e inocular una cepa de *Salmonella enterica* Typhimurium para estudio de enterobacterias.
- Evaluar el efecto de los tratamientos de alcalinización, solarización y compostaje en la dinámica de agentes parasitarios zoonóticos previamente identificados, así como de *Salmonella enterica* Typhimurium.
- Evaluar la inocuidad y el efecto del sustrato obtenido de mezcla de composta con heces fecales de gato tratadas, en cultivo de lechuga.

## **6. Materiales y métodos**

El estudio se llevó a cabo en el área Metropolitana de la ciudad de Guadalajara en el estado de Jalisco para la toma de muestras de heces fecales de gatos domésticos y en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, para el desarrollo experimental.

### **6.1 Descripción de área de estudio**

La Zona Metropolitana de Guadalajara se ubica en la parte central del estado de Jalisco entre las coordenadas Latitud norte 20°46'00'', Latitud sur 20°32'08'', Longitud oriental 103°12'30'', Longitud occidental 103°29'00'' aproximadamente y a una altitud promedio de 1,540 metros sobre nivel del mar (Ulloa et al., 2011). Actualmente comprende los municipios de Guadalajara, Acatlán de Juárez, San Pedro Tlaquepaque, Tonalá, Zapopan, Tlajomulco de Zúñiga, El Salto, Zapotlanejo, Juanacatlán e Ixtlahuacán de los Membrillos, siendo los dos últimos considerados como externos ya que no forman parte del continuo de la mancha urbana. Dicha mancha urbana cuenta con una superficie aproximada de 2,278.06 km<sup>2</sup> (Gobierno de Jalisco, 2020). En cuanto a las condiciones climáticas Ulloa et al (2011), indican que es una región con clima cálido durante la mayor parte del año, con temperaturas mayores a los 18° C, con una acumulación de lluvias promedio entre 700 y 900 mm por año.

El Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (C.U.C.B.A.) se encuentra localizado dentro del municipio de Zapopan con coordenadas 20°44'53.6'' Latitud Norte, 103°30'52.2'' de Longitud Oeste y una altitud de 1 659 msnm. Los suelos predominantes son de tipo Regosol eútrico, los cuales se caracterizan por su pobre contenido en materia orgánica y una textura arenosa (Ibarra et al., 2007). El clima es semicálido subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura media anual es de 20.6 °C, la temperatura mínima y máxima promedio corresponden a los meses de enero y mayo con 8.2 °C y 33.4 °C respectivamente. La precipitación promedio anual es de 999.3 mm, estos datos fueron tomados de la estación climática de la Comisión Nacional del Agua de Zapopan, Jalisco (Ruiz et al., 2012).

## **6.2 Patógenos zoonóticos en heces de gato doméstico**

Para el cumplimiento del primer objetivo, se llevaron a cabo dos trabajos; en el primero, la inoculación de una cepa de *Salmonella enterica* Typhimurium, para evaluación de enterobacterias y en el segundo, la caracterización de parásitos presentes en las muestras de heces de gato doméstico.

### **6.2.1 Dinámica de *Salmonella* inoculada en muestras de heces de gato doméstico**

Para conocimiento de la dinámica de enterobacterias como patógenos zoonóticos de importancia en salud pública, fue inoculada una cepa *Salmonella enterica* Typhimurium en muestras de heces de gato doméstico.

#### **6.2.1.1 Obtención de muestras para inoculación de *Salmonella***

Las muestras fueron provistas por clínicas veterinarias dentro del Área Metropolitana de Guadalajara y de propietarios de gatos de manera voluntaria, aleatoria y sin contacto con los animales en cuestión sin criterios de exclusión. Las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Caracterización Molecular de Patógenos (LCMP) del CUCBA para los experimentos correspondientes a *Salmonella*.

#### **6.2.1.2 Cepa de trabajo para evaluación de enterobacterias**

Se activó una cepa de *Salmonella entérica* Typhimurium SL1344  $\Delta$ hilD marcada con resistencia a kanamicina provista por el Laboratorio de Caracterización Molecular de Patógenos del CUCBA conservada en glicerol al 20% con agar soya tripticaseína (AST) y 1 µg/ml de kanamicina preparada a 25 g/ml.

#### **6.2.1.3 Preparación de inóculos de *Salmonella***

La activación para obtención de una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/ml se efectuó en 3 ml de caldo soya (TSB) con 1 µg/ml de kanamicina bajo incubación a 37 °C/ 24 h (ECOSHEL), posteriormente se inocularon en tubos con 3 ml de caldo LB con 1 µg/ml de kanamicina a 37 °C/ 24 h tomando 670 µl para transferencia a tubos de 10 ml de caldo soya (TSB) con kanamicina dosificada de acuerdo al procedimiento anterior.

Tras cuatro horas en incubación, se efectuó la reproducción de los inóculos en tubos de 35 ml de caldo soya (TSB) con la misma concentración de kanamicina a 37 °C/ 24 h. Al término del proceso, se hicieron diluciones seriadas y siembra en placas de AST con 1 µg/ml de kanamicina, incubación a 37 °C /24 horas y conteo de UFC de los inóculos. Por último, se centrifugaron durante seis minutos a 6,000 rpm a 12 °C (Hermile Z323 K) en tubos cónicos de 50 ml (Falcon®) para después re suspender en SSF e inocular las muestras fecales (NOM 210-NOM1-2014).

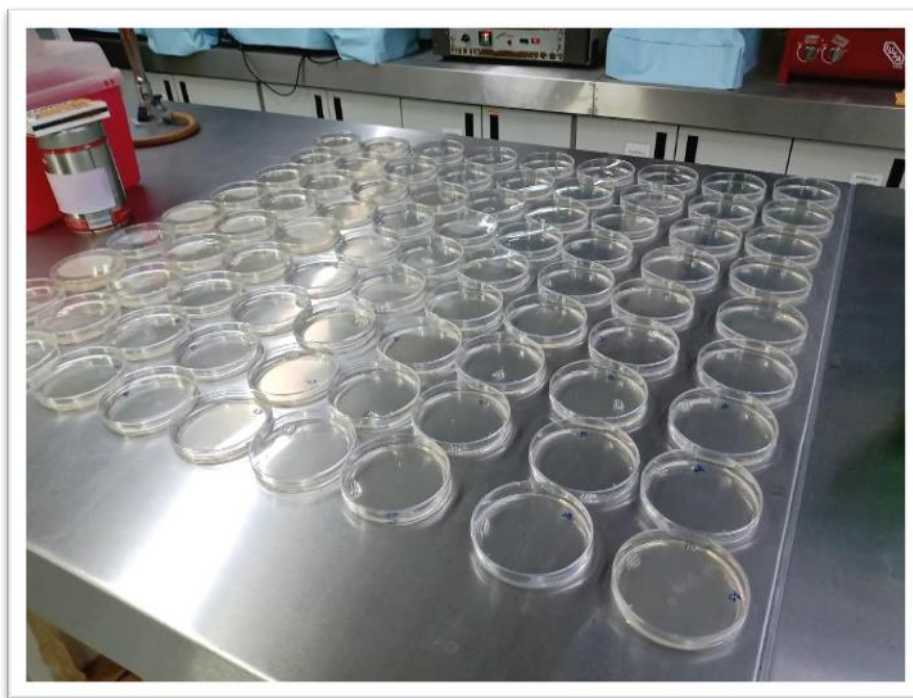
#### **6.2.1.4 Inoculación de *Salmonella***

Se hizo inoculación por inmersión de muestras fecales de gato de 25 g en caldo nutritivo (TSB) con *S. Typhimurium* SL1344  $\Delta$ *hilD* marcada con resistencia a kanamicina, a una concentración teórica de  $10^8$  UFC/g de heces posterior homogeneización manual en bolsa plástica (ZipLoc®) (Hutchison et al., 2004).

#### **6.2.1.5 Recuperación de *Salmonella***

A los cinco minutos de la inmersión, siguió la recuperación de un gramo de cada muestra colocándose en tubos de ensayo con 4 ml de SSF, homogeneizándose con agitador mecánico (Vortex-Ginie2), se pasaron a micro tubos estériles y se centrifugaron durante cinco minutos a 12,000 rpm, dos repeticiones por cada muestra, previa re suspensión de las mismas en SSF. Tras la segunda re suspensión, se hicieron diluciones seriadas para posterior siembra en placas de AST con 1 µg/ml de kanamicina, incubación a 37°C /24 h y conteo de UFC/g iniciales (Fig. 1) en las muestras a tratar (NOM 210-SSA1-2014).





**FIGURA 1** Siembra de diluciones seriadas en placas de AST con kanamicina.

## **6.2.2 Presencia de agentes parasitarios zoonóticos en heces de gato doméstico**

Para integración del primer objetivo, se llevó a cabo la segunda parte, caracterización de parásitos presentes en las muestras de heces fecales obtenidas y descrito a continuación:

### **6.2.2.1 Obtención de muestras y criterios de inclusión**

Para la caracterización parasitaria se hizo una colecta bajo la misma dinámica de recolección especificada con anterioridad, para experimento con *Salmonella*, obedeciendo los siguientes criterios:

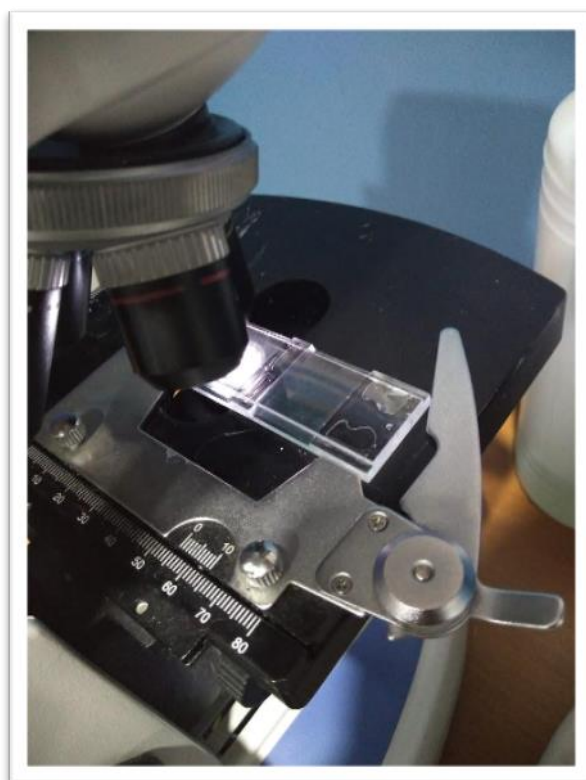
Para cada experimento se recolectaron 27 muestras de heces de gatos con hábitos de caza y alimentación cruda o mixta, con desparasitación no mayor a 90 días provistas por propietarios de ejemplares en el Área Metropolitana de Guadalajara, a manera voluntaria con 24 horas de deposición (Coello et al., 2017), criterios considerados para la caracterización parasitaria. Fueron recolectadas en bolsas plásticas identificadas y transportadas a 4 °C al área de

laboratorio de la Clínica Veterinaria Cannes, ubicada en Av. Jesús Michel González #762-10, Tlaquepaque, Jalisco, para su procesamiento.

### **6.2.2.2 Caracterización parasitológica**

Se llevó a cabo por triplicado por cada una de las 27 muestras, microscopía de extendido fecal directo, técnica de Mc Master modificada para cuantificación (Rabbani et al., 2020).

Por medio de asa bacteriológica, se tomó una asada de cada muestra para inmersión en una gota de agua bidestilada sobre portaobjetos, cubriéndose con cubreobjetos y llevándose a observación microscópica con objetivos 10X y 40X para identificación visual y confirmación de presencia o ausencia de cuerpos parasitarios. Posteriormente, se tomaron 5 g de heces por triplicado en vasos de precipitado para disolución en 40 ml de agua potable y filtrado con gasa estéril a tubos de vidrio, centrifugación a 1500 rpm/3 min, decantado de sobrenadante, adición de  $\text{ZnSO}_4$  al 33% y homogeneización manual. De cada homogeneizado se rellenó la cámara de Mc Master (Fig. 2) para observación al microscopio y cuantificación de parásitos con factor de conversión de 5 parásitos/g (Sandoval et al., 2011).



**FIGURA 2** Microscopía de homogeneizado de muestra de heces dentro de la cámara de Mc Master para cuantificación parasitaria.

### **6.3 Evaluación de tratamientos de inactivación de patógenos**

Para cumplimiento del segundo objetivo, se hizo la evaluación de tres tratamientos de inactivación bajo evaluación sucesiva: alcalinización, solarización y compostaje, mismos que se detallan a continuación:

#### **6.3.1 Inactivación por alcalinización**

Se partió por la evaluación de dos técnicas de alcalinización de las heces fecales para comparación de resultados entre la técnica convencional con aplicación directa de cal de construcción ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) y con humedad añadida.

##### **6.3.1.1 Diseño experimental**

El número de muestras se definió con base en la utilización de tres bolos fecales por unidad experimental en un diseño completamente al azar con tres repeticiones, contando con dos niveles por cada experimento y un grupo control, siendo entonces: Alcalinización con humedad añadida, alcalinización en seco y grupo control, siendo para cada experimento, un total de nueve unidades experimentales.

##### **6.3.1.2 Inactivación por alcalinización con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en forma de cal de construcción**

La materia fecal inoculada y caracterizada fue pesada y separada en nueve bolos fecales de 25 g cada uno, dentro de envases plásticos con capacidad 1 L (Fig. 3).

Como grupo control, tres muestras, con tres repeticiones, se colocaron de manera separada y con una etiqueta de identificación en un contenedor plástico con arena comercial a base de silicatos EcoPet® libre de contaminantes externos, donde se simulaban las condiciones de almacenaje en hogar; se mantuvieron a temperatura ambiente, a la sombra y sin cobertura.

Se evaluaron tres muestras, con tres repeticiones y se colocaron de manera separada en los envases de plástico posterior adición de 25% de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  correspondiente a 7.25 g en proporción al peso de la muestra, disuelto en 200 ml de agua desionizada, cantidad suficiente para cubrir el bolo fecal a tratar, como experimento de alcalinización con humedad añadida.

La alcalinización en seco se hizo con tres muestras se colocaron de la manera anteriormente descrita adicionando 25% de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  espolvoreado, cubriendo la materia fecal (Fig. 3).



**FIGURA 3** Muestras de heces bajo técnicas de alcalinización con humedad añadida y en seco, dispuestas completamente al azar a temperatura ambiente.

Se tomaron lecturas de temperatura y pH de la materia fecal inoculada y caracterizada previa a los tratamientos como referente de inicio y se continuó con la toma de lecturas en cada muestra, tanto testigo como de ambos tratamientos, al inicio de los tratamientos, a las 24, 48, 72 h subsiguientes y al séptimo día del inicio del experimento por medio de un medidor a prueba de agua (HI 98129 de Hanna Instruments) llevando captura de datos para posterior análisis estadístico (Lopes et al., 2018).

#### **6.3.1.3 Recuperación de *Salmonella***

Se hizo inmersión de cada muestra de 25 g recuperada en 225 ml de agua peptonada amortiguada estéril posteriormente homogeneizado mecánicamente (Stomacher 400, Steward) para obtención de un mililitro para diluciones seriadas y siembra en placas de AST con kanamicina 1µg/ml. Las placas se incubaron a 37 °C por 24 h para conteo de UFC/g resultantes.

#### **6.3.1.4 Recuperación de parásitos *Cytoisospora*, *Giardia* y *Ancylostoma***

Se implementó el proceso de recuperación tomando 5 g de heces por triplicado de cada muestra en vasos de precipitado para disolución en 40 ml de agua potable y filtrado con gasa estéril a tubos de vidrio, centrifugación a 1500 rpm/3 min, decantado de sobrenadante, adición de ZnSO<sub>4</sub> al 33% y homogeneización manual. De cada homogeneizado se rellenó la cámara de Mc Master para observación al microscopio y cuantificación de parásitos. Se adecuó el mismo procedimiento para evaluación de compostas, utilizando así mismo, 5 g de composta por muestra (Sandoval et al., 2011).

#### **6.3.1.5 Análisis estadístico**

Se hizo ANOVA y *post hoc* de Tuckey, previa prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para evaluación de la significancia de la variabilidad de pH y UFC/g, en la evaluación de *Salmonella*, y de parásitos con factor de conversión a 50/g en cada tratamiento de inactivación. Con el programa estadístico Graph Pad Prism 8.0.1.

### **6.3.2 Inactivación por solarización**

La materia fecal inoculada y caracterizada fue pesada y separada en nueve bolos fecales con 25 g cada uno, al igual que para los tratamientos de alcalinización. La preparación de las unidades experimentales fue desde las 8:00 h para comienzo de monitoreo de temperatura a partir de las 10:00 h y hasta las 15:00 h durante tres días en el mes de marzo, correspondientes a las recolecciones de 24, 48 y 72 h post tratamiento (Shepherd et al., 2010).

#### **6.3.2.1 Hornos solares**

La construcción de los hornos solares propuestos se llevó a cabo de la siguiente manera: Se utilizaron contenedores de plástico rectangulares en color negro, para mayor captación de radiación solar, de dimensiones 60x40x30 cm, se colocaron láminas de aluminio cubriendo en su totalidad la superficie interna en disposición concéntrica con 45 ° de inclinación aproximada (Terrés et al., 2008) Dentro, pocillos de aluminio con capacidad de un litro, cubiertos. Los hornos se cubrieron con polipropileno, permitiendo el paso de la radiación solar para su refracción concéntrica al contenedor de residuos aportando un efecto invernadero (Fig. 4). Estos se colocaron a la intemperie en el campo experimental del CUCBA con disposición de oriente a poniente.



**FIGURA 4** Diseño de horno solar donde se muestran sus componentes, en este modelo se observan las láminas de refracción de aluminio.

### 6.3.2.2 Diseño experimental

Al igual que para el experimento de alcalinización, el número de muestras se definió con base en la utilización de tres bolos fecales por unidad experimental en un diseño completamente al azar con tres repeticiones, contando con dos niveles por cada experimento: con humedad añadida, en seco y grupo control para cada experimento, un total de nueve unidades experimentales, organizándose entonces de la siguiente manera: Solarización con láminas de refracción internas, solarización sin láminas de refracción y grupo control.

### 6.3.2.3 Tratamientos de solarización

Se prepararon muestras testigo descritas en el apartado de la metodología para tratamientos de alcalinización.



Con base en los resultados obtenidos previamente en los experimentos de alcalinización y con la finalidad de buscar homogeneidad en la distribución de calor en las muestras para los experimentos de solarización, se decidió integrar la técnica de alcalinización con humedad añadida dentro de los hornos solares.

Tres muestras, con tres repeticiones de material inoculado y caracterizado por cada unidad experimental, fueron colocadas en pocillos de aluminio de un litro de capacidad sobre una base de ladrillo al centro del horno, con adición de 100% más de humedad con agua destilada con 7.25 g de cal, estos se colocaron dentro de tres hornos. Se evaluaron las muestras en tres modelos con láminas de refracción concéntrica (Fig. 5) y en tres modelos sin láminas de refracción (Fig. 6) y cubiertas con láminas de polipropileno (Fig. 7).



**FIGURA 5** Muestras de heces en horno con láminas de refracción concéntricas.



**FIGURA 6** Muestras de heces en horno sin láminas de refracción concéntricas.

La temperatura se midió con termómetro digital LCD para refrigerador (Fig. 8) con capacidad de lectura hasta 110 °C y posteriormente cubierto con polipropileno. La misma metodología se llevó a cabo para el experimento de solarización sin refracción, dentro de modelos libres de láminas de aluminio.



**FIGURA 7** Muestras de heces dispuestas en horno con láminas de refracción concéntricas con cubierta de polipropileno.





**FIGURA 8** Lectura de un termómetro digital dispuesto dentro de un horno solar.

Se tomaron lecturas de temperatura, pH con medidor a prueba de agua (HI 98129 de Hanna Instruments) de la materia fecal inoculada previa a los tratamientos como referente de inicio y en las respectivas recolecciones (Fig. 9).



**FIGURA 9** Lector HI 98129 de Hanna Instruments para monitoreo de pH y temperatura.

#### **6.3.2.4 Recuperación de *Salmonella***

Se llevó a cabo el mismo procedimiento para recuperación en heces anteriormente descrito para inactivación por alcalinización.

#### **6.3.2.5 Recuperación de parásitos**

Para las cuentas parasitarias, se siguió el procedimiento especificado en la inactivación por alcalinización.

#### **6.3.2.6 Análisis estadístico**

Al igual que para los resultados de la inactivación por alcalinización, se hizo ANOVA y *post hoc* de Tuckey, previa prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para evaluación de la significancia de la variabilidad de pH y UFC/g, en la evaluación de *Salmonella*, y de parásitos con factor de conversión a 50/g en cada tratamiento de inactivación. Con el programa estadístico Graph Pad Prism 8.0.1.

### **6.3.3 Inactivación por compostaje**

Para integrar los procesos de inactivación y proceder al bioensayo de un producto hortícola para consumo humano en crudo, se llevó a cabo el compostaje de las muestras de heces.

#### **6.3.3.1 Diseño experimental**

Para el proceso de compostaje, se emplearon tres bolos fecales por compostero, siendo tres composteros por unidad experimental distribuidos completamente al azar. Las unidades experimentales fueron las siguientes:

- Control negativo: Compostaje con heces fecales libres de parásitos sin inoculación de *Salmonella* sin tratamiento de inactivación previo.
- Control positivo: Compostaje con heces fecales caracterizadas con parásitos e inoculadas con *Salmonella* sin tratamiento de inactivación previo.
- *Salmonella*: Compostaje con heces fecales libres de parásitos e inoculadas con *Salmonella* y con tratamiento previo de alcalinización húmeda.

- Parásitos: Compostaje con heces fecales caracterizadas con parásitos sin inoculación bacteriana y con tratamiento previo de alcalinización húmeda.

### 6.3.3.2 Proceso de compostaje

Se adecuaron botes de plástico con tapa y capacidad de 50 L con perforaciones laterales y al fondo, a manera de criba para facilitar la aireación al interior (Fig. 10).

Se inició el compostaje con 1 L de composta madura para cada compostero y posteriormente se agregaron tres bolos de materia fecal por cada compostero de acuerdo al diseño experimental anteriormente descrito. Como material verde, se recolectaron residuos de frutas y vegetales de un expendio local de jugos naturales, residuos de cocina y de jardinería; como material café, se utilizó hojarasca de árboles locales. La distribución inicial se manejó por capas intercaladas de material verde y material café hasta completar el volumen de cada compostero en el mismo orden en una relación de 1:1 (Guidoni et al., 2018).

El tiempo de compostaje fue de tres meses, se hizo volteo diario, desde la fase termofílica hasta la segunda fase, mesofílica y cada tercer día, durante la fase de maduración.



**FIGURA 10** Composteros experimentales al inicio del tratamiento, previo al primer volteo.

### **6.3.3.3 Recuperación de *Salmonella***

Para la recuperación en composta, se llevó repitió el procedimiento descrito en la inactivación por alcalinización, posteriormente, partiendo de 25 g de muestra por triplicado de cada compostero, de cada una de las unidades experimentales se hizo la siembra en placas de AVB con kanamicina 1µg/ml como medio selectivo debido a la diversidad microbiológica propia de las compostas (NOM 210-SSA1-2014).

### **6.3.3.4 Recuperación de parásitos**

Se implementó el proceso de recuperación tomando 5 g de heces por triplicado en vasos de precipitado para disolución en 40 ml de agua potable y filtrado con gasa estéril a tubos de vidrio, centrifugación a 1500 rpm/3 min, decantado de sobrenadante, adición de ZnSO<sub>4</sub> al 33% y homogeneización manual. De cada homogeneizado se rellenó la cámara de Mc Master para observación al microscopio y cuantificación de parásitos. Se adecuó el mismo procedimiento para evaluación de compostas, utilizando así mismo, 5 g de composta por muestra (Sandoval et al., 2011).

### **6.3.3.5 Caracterización de compostas**

Las evaluaciones se hicieron conforme al procedimiento señalado por el Consejo de Compostaje de EE.UU. en Métodos de Prueba para la Examinación de Compostaje y Composta (TMECC, por sus siglas en inglés), mismas que fueron la obtención de humedad, contenido de materia orgánica, nitrógeno por método Kjeldahl y relación C/N (USDA, 2002) fueron llevadas a cabo en el Laboratorio de Bromatología del CUCBA. El pH y CE se obtuvieron directamente de las muestras con el equipo HI 98129 de Hanna Instruments en el Laboratorio de Suelos del mismo Centro Universitario.

### **6.3.3.6 Análisis estadístico**

Se hizo ANOVA y *post hoc* de Tuckey tras la prueba de Shapiro-Wilk, para evaluación de la significancia de la variabilidad de pH y UFC/g, en la evaluación de *Salmonella*, y de parásitos con factor de conversión a 50/g en cada tratamiento de inactivación. con el programa estadístico Graph Pad Prism 8.0.1.

## **6.4 Evaluación de la inocuidad y el efecto del sustrato obtenido de mezcla de composta con heces fecales de gato tratadas, en cultivo de lechuga**

Para el cumplimiento del tercer objetivo, se seleccionó lechuga como bioensayo (*Lactuca sativa* L.), al ser un cultivo hortícola de ciclo corto y consumo humano de hoja en crudo (Niguma et al., 2017).

### **6.4.1 Caracterización de suelo**

El suelo comercial fue enviado al laboratorio del Consejo Regulador del Tequila A.C. para su análisis (Anexo A). Las mencionadas evaluaciones se efectuaron con la finalidad de conocer la viabilidad del suelo y las compostas obtenidas para el cultivo de lechuga.

### **6.4.2. Diseño experimental**

El experimento se efectuó con seis plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) por unidad experimental completamente al azar con tres repeticiones cada experimento; seguimiento a dinámica de parásitos y de *Salmonella*, con los respectivos controles, positivo y negativo de acuerdo a la siguiente descripción:

- Control positivo, de composta con heces inoculadas y caracterizadas con parásitos no tratada.
- Control negativo, de composta con heces no inoculadas, libres de parásitos.
- *Salmonella*, de composta con heces inoculadas con *Salmonella* tratadas con alcalinización húmeda y libres de parásitos.
- Parásitos, con heces caracterizadas con parásitos y tratadas con alcalinización húmeda.



**FIGURA 11** Diseño experimental completamente al azar de cultivo de lechuga en invernadero donde C+ corresponde a Control positivo, C- corresponde a Control negativo, S a *Salmonella* y P a parásitos.

### 6.4.3 Siembra de lechuga

Se sembraron tres semillas por alveolo en charolas de poliestireno bajo condiciones de invernadero, asignando 20 alveolos por unidad experimental para evaluación de compostas de acuerdo al diseño experimental anteriormente descrito.

Fueron sembradas también, una unidad experimental como testigo sin uso de composta y otra con fertilizante comercial para comparación del desarrollo contra las compostas experimentales.

El índice de germinación (GI%) para evaluación de fitotoxicidad se calculó tras la emergencia y aclareo a los 6 días de la siembra, considerando el promedio de las plántulas normales con respecto al total de las mismas, no considerando anormales o sin germinación (Turpiano et al., 2017).

### 6.4.4 Desarrollo de lechuga

Al haber presentado cuatro hojas verdaderas y un promedio de 15 cm, las plántulas más vigorosas fueron trasplantadas a macetas con capacidad de 4 L en cantidad de seis por unidad



experimental, considerando los cuatro experimentos, con la composición de suelo anteriormente descrita para germinación, de acuerdo al volumen (Hernández et al., 2010).

Las macetas se colocaron sobre mesa de cultivo con una distribución completamente al azar. Se hizo riego cada 48 h con agua potable de la cisterna del invernadero durante todo el ciclo, que fue de 75 días desde la siembra (Fig. 11), punto en que se decidió la recolección de muestras para evaluación de inocuidad en tanto que se manifestaron síntomas de enfermedad compatibles con LMV (Virus del mosaico de la lechuga, por sus siglas en inglés) y probable deficiencia de N y Mg (Maisonneuve et al., 2018).



**FIGURA 12** Cultivo de lechuga en la última etapa de desarrollo previa al muestreo para estudios bacteriológicos y parasitológicos.

#### **6.4.5 Recuperación de *Salmonella* en hojas de lechuga**

De cada unidad experimental, se muestrearon tres plantas al azar, para el primer experimento y las tres restantes para la réplica, tomando dos hojas centrales (23 y 24; 25 y 26, respectivamente) con pinzas quirúrgicas sanitizadas, posterior almacenaje en bolsa estéril con identificación.

Para recuperación de *Salmonella* en superficie de hoja se agregaron 10 ml de SSF y se hizo lavado manual dentro de la bolsa estéril para posteriormente obtener 1 ml, se hicieron diluciones seriales para posterior siembra en placas de AST con 1µg/ml de kanamicina, incubación a 37°C /24 h y conteo de UFC/ml.

Para recuperación de *Salmonella* internalizada se procedió a higienizar las hojas por inmersión en 20 ml de NaClO a 200 ppm durante 7 min en vasos de precipitado (Niguma et al., 2017; Chahar et al., 2021). Posterior a la higienización, las muestras se colocaron nuevamente en bolsas estériles con 10 ml de SSF para ser sometidas a baño ultrasónico en equipo CS-UB32 *Scientific Multifunctional Ultrasonic Cleaner* durante 6 min (Fig. 12); se tomó 1 ml por muestra para siembra directa en AST con 1µg/ml de kanamicina. Finalmente, las muestras se colocaron en tubos cónicos estériles con capacidad de 50 ml, se adicionaron 10 ml de SSF para homogeneización con un procesador de tejidos (Tissue Master TM125-115); del homogeneizado de cada muestra, se tomó 1 ml para siembra en placas de AST con 1µg/ml de kanamicina.



**FIGURA 13** Muestras de hojas internas de lechugas correspondientes al bioensayo para evaluación de dinámica de parásitos y *Salmonella*.



#### **6.4.6 Recuperación de parásitos *Cytoisospora*, *Giardia* y *Ancylostoma* en hojas de lechuga**

Se hizo el muestreo de la misma forma que para recuperación de *Salmonella*, tomando también dos hojas centrales (27 y 28; 29 y 30, respectivamente para primer experimento y réplica) con pinzas quirúrgicas sanitizadas, posterior almacenaje en bolsa estéril con identificación. Posteriormente se procedió a colocar las muestras en bolsas estériles para lavado con 10 ml de agua destilada estéril, posteriormente cada muestra compuesta se lavó con ayuda de una brocha en vaso de precipitado con 0.5 ml de detergente neutro diluidos en 50 ml de agua destilada. La solución se filtró con filtro de papel desechable a tubos cónicos de 50 ml y se dejó sedimentar 24 h. El sedimento se extrajo con pipeta desechable para colocación en portaobjetos con una gota de Lugol y observación bajo microscopio óptico con los objetivos 10X y 40X (Rodrigues et al., 2020).

#### **6.4.7 Análisis estadístico**

Habiendo cumplido supuesto de normalidad por medio de la prueba de Shapiro-Wilk se hizo ANOVA y *post hoc* de Tuckey para evaluación de la significancia de la variabilidad UFC/ml para *Salmonella* superficial. Para resultados de evaluación de *Salmonella* internalizada en lechuga que no cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se aplicó Kruskal-Wallis, en ambos casos, con el programa estadístico Graph Pad Prism 8.0.1.

## **7. Resultados y discusión**

### **7.1 Presencia de patógenos zoonóticos en heces de gato doméstico**

Para el cumplimiento del primer objetivo, se obtuvieron los datos preliminares tanto de cuentas de *Salmonella* post inoculación, como la caracterización parasitológica de las muestras, como valores iniciales en los análisis comparativos post tratamiento.

#### **7.1.1 Seguimiento a dinámica de *Salmonella* inoculada en muestras de heces de gato doméstico**

En lo que se refiere a la inoculación de *Salmonella*, se trabajó con un proceso estandarizado en el que se obtuvieron las medias con un intervalo de confianza de 95% de Log<sub>10</sub> UFC/g de heces como valor de referencia tras el proceso de inoculación y previo a los tratamientos, siendo de 9.6 Log<sub>10</sub> UFC/g, con un intervalo entre 8.41 y 10.63 Log<sub>10</sub> UFC/g. Este valor es ligeramente menor al reportado por Hutchinson et al. (2004), quienes llevaron a cabo un experimento en campo con estiércol de ganado lechero inoculado con una concentración teórica de 10 Log<sub>10</sub> UFC/g para *Salmonella entérica* Typhimurium DT104, para uso en suelos agrícolas. En dicho experimento, debido a los volúmenes de heces utilizados, la inoculación se hizo en mezcladora de concreto durante cinco minutos, también, lo cual indica que pese a la diferencia en volúmenes de heces, la concentración teórica inicial en ambos experimentos es similar. Por otro lado, el utilizar un inóculo con una cepa de fácil detección, permite asegurar la presencia de la enterobacteria ya que como Burboa Herrera (2018) reporta en su investigación, llevada a cabo en la ciudad de Santiago de Chile, de 342 gatos muestreados, no se tuvo presencia de *Salmonella entérica* de origen natural, lo que no permite el seguimiento adecuado de tratamientos de inactivación.

#### **7.1.2 Presencia de agentes parasitarios zoonóticos**

Fueron identificados los siguientes parásitos por medio de microscopía extendido fecal directo, *Cytoisospora* spp., *Giardia* spp. y *Ancylostoma* spp., lo que concuerda con lo referido por en 2006 por López et al., quienes trabajaron con muestras obtenidas en clínicas veterinarias de

Santiago de Chile dentro del periodo comprendido entre 1996 y 2003. De un total de 230 gatos, encontraron protozoarios en 66.5% y helmintos, en 45.2% de los mismos, específicamente, para el caso de helmintos, reportando una incidencia de 12% de *Cytoisospora* y de *Giardia* en un 19%, para el caso de ese estudio, la incidencia de *Ancylostoma* fue persistente en los caninos, por otro lado, en el trabajo publicado por Sarmiento et al., en 2018, se reporta este helminto en 4.8% de las muestras de heces de gatos analizadas entre 2014 y 2015. En el presente trabajo se llevó a cabo el recuento parasitario por cada muestra fecal con factor de conversión a 50 parásitos por gramo de heces (Sandoval et al., 2011) y obteniendo la media para cada agente con los siguientes valores: *Cytoisospora*, 33.33; *Giardia* 83.33 y *Ancylostoma*, 16.66 parásitos/g .

## **7.2 Evaluación de tratamientos de inactivación de patógenos zoonóticos**

A fin de lograr el segundo objetivo del trabajo, se efectuaron los experimentos de inactivación tanto para evaluación de la dinámica de *Salmonella* como modelo de enterobacterias, así como de los parásitos previamente caracterizados en las muestras.

Debido a que en la práctica sería conveniente utilizar un mismo tratamiento de inactivación que sea efectivo tanto para enterobacterias como para parásitos, se consideró iniciar con la inactivación de *Salmonella* para posteriormente evaluar estos tratamientos en los parásitos zoonóticos.

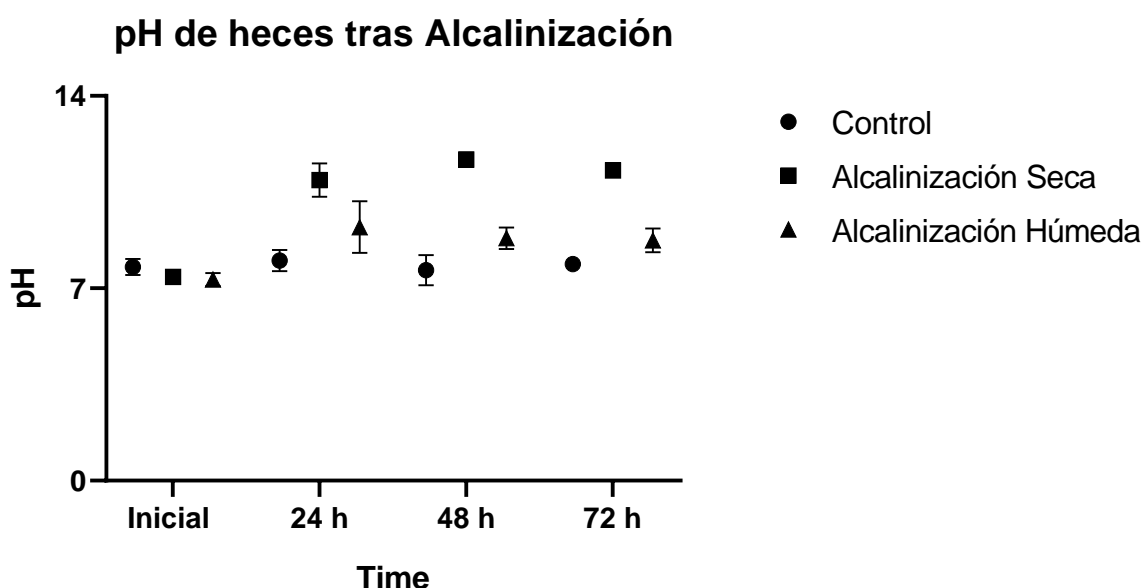
### **7.2.1 Evaluación de tratamientos de inactivación en *Salmonella***

A continuación, se muestran los valores de pH en las muestras pre y post tratamiento para conocimiento de los valores alcanzados tras los procesos de alcalinización de las heces y efecto de inactivación de acuerdo a las cuentas viables en Log<sub>10</sub> de UFC/g.

#### **7.2.1.1 Análisis del tratamiento de inactivación por alcalinización de *Salmonella***

**Análisis del pH.** Partiendo desde un promedio de pH de 7.3 de control inicial, hasta 11.30 para alcalinización seca y 8.92 para alcalinización húmeda, las medias de pH de las muestras sometidas a tratamiento de alcalinización (Fig. 14), muestran diferencias significativas en cuanto a los tiempos experimentales y la interacción con los dos tratamientos, de alcalinización seca y alcalinización con humedad añadida ( $P < 0.05$ ). Entre ambos tratamientos, la diferencia

de medias de pH registradas para cada uno de ellos, mostraron diferencia significativa ( $P<0.01$ ). De acuerdo con el análisis de comparaciones múltiples de Tukey, las muestras con mayor diferencia de pH son las que fueron sometidas a alcalinización seca a las 48h y 72h respecto al grupo control ( $P<0.001$ ).

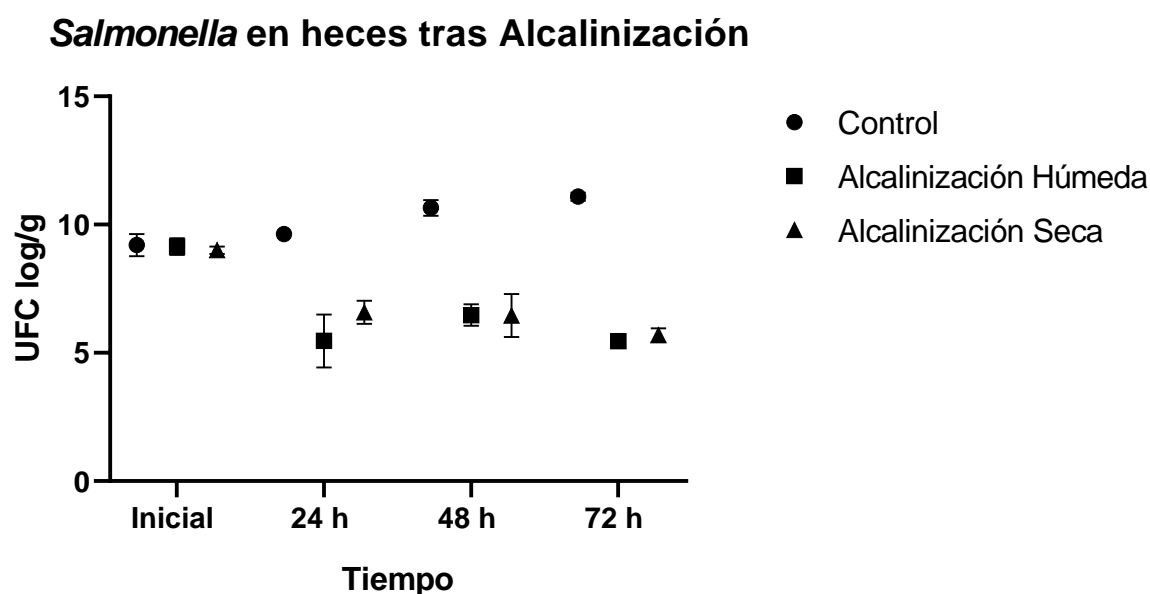


**FIGURA 14** Se muestra el comparativo de medias de pH antes y después de los tratamientos de alcalinización/réplica. Se hizo ANOVA de 2 vías con corrección de épsilon de Geisser-Greenhouse para esfericidad y análisis post-Hoc de Tukey. Las barras muestran el error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P<0.05$ )

**Recuperación de *Salmonella* en inactivación por alcalinización.** La recuperación de muestras se realizó a las 24, 48 y 72 h para la obtención de cuentas viables por diluciones seriales y siembra en placas para todos los tratamientos.

Para el tratamiento de alcalinización (Fig. 15), considerando el conteo inicial de una concentración promedio de  $9.11 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  en las muestras tras 5 min de inoculación por inmersión, se encontró una varianza significativa ( $P<0.05$ ) presentando una disminución promedio de  $3.42 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  para muestras tratadas con alcalinización seca y de  $3.65 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  para aquellas tratadas con humedad añadida con respecto a las cuentas viables iniciales. De acuerdo con el test de comparaciones múltiples de Tukey, las diferencias significativas ( $P<0.001$ ), se encontraron a las 48 h en las muestras sometidas a alcalinización seca y a las 72

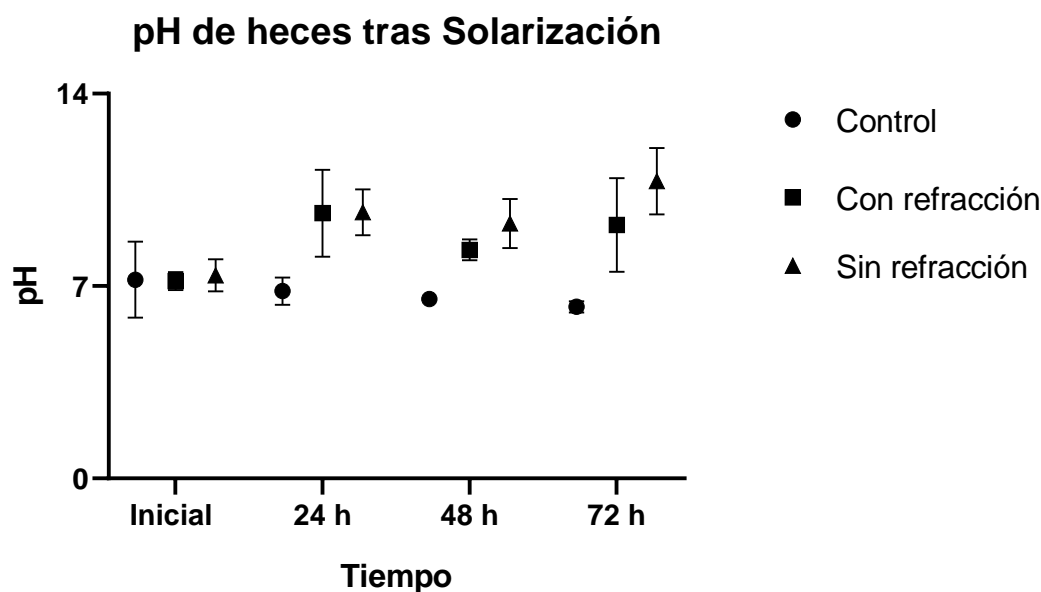
h bajo el tratamiento de alcalinización con humedad, seguidas por una diferencia significativa ( $P < 0.01$ ) entre las muestras tratadas con alcalinización húmeda a las 24 h post tratamiento, esto respecto al grupo control, que mostró incremento conforme a los tiempos experimentales. Estos resultados se asemejan a los tiempos de inactivación reportados en 2020 por Lopes et al., en su trabajo con lodos residuales donde a las 48 horas tras la alcalinización, no detectaron coliformes y para el caso de *Salmonella* fue indetectable posterior a las 72 horas con valores de pH sobre 12, cabe mencionar también que en dicho trabajo, se hizo detección molecular de estos agentes.



**FIGURA 15** Medias de  $\text{Log}_{10}$  de las UFC/g *Salmonella* antes y después del tratamiento de alcalinización en tres distintos tiempos de recuperación/réplica. Se hizo ANOVA de 2 vías con corrección de  $\epsilon$  de Geisser-Greenhouse para esfericidad y análisis post-Hoc de Tuckey. El error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $p < .05$ ) se muestra en las barras de error.

### 7.2.1.2 Análisis del tratamiento de inactivación por solarización de *Salmonella*

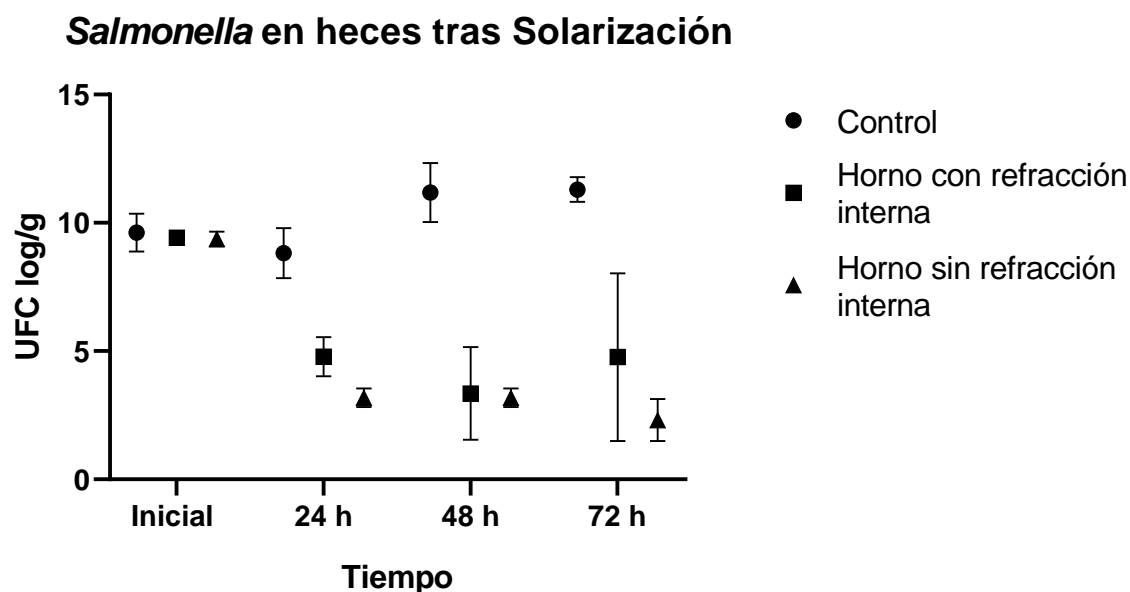
**Análisis del pH.** En el tratamiento de solarización que se hizo de forma mixta tomando en cuenta los resultados del experimento previo donde la homogeneidad de la distribución del álcali sobre el bolo fecal fue mejor con la alcalinización húmeda y teniendo en cuenta esta homogeneidad en la distribución de calor dentro de los hornos solares (Fig. 16), las medias de pH sometidas a alcalinización con humedad añadida, solamente mostraron diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) las muestras entre los distintos tratamientos, no siendo así para los tiempos experimentales y la interacción entre tiempo y tratamiento ( $P > 0.05$ ).



**FIGURA 16.** Se muestra el comparativo de medias de pH antes y después de los tratamientos de solarización con alcalinización húmeda/réplica. Se hizo ANOVA de 2 vías con corrección de épsilon de Geisser-Greenhouse para esfericidad y análisis post-Hoc de Tuckey. Las barras muestran el error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P < .05$ )

**Recuperación de *Salmonella* en inactivación por solarización.** Para el experimento de solarización con alcalinización húmeda (Fig. 17) se encontró una varianza significativa ( $P < 0.001$ ) entre las cuentas viables tras los tratamientos, con láminas de refracción interna y sin láminas, así como para los tiempos experimentales de muestreo.

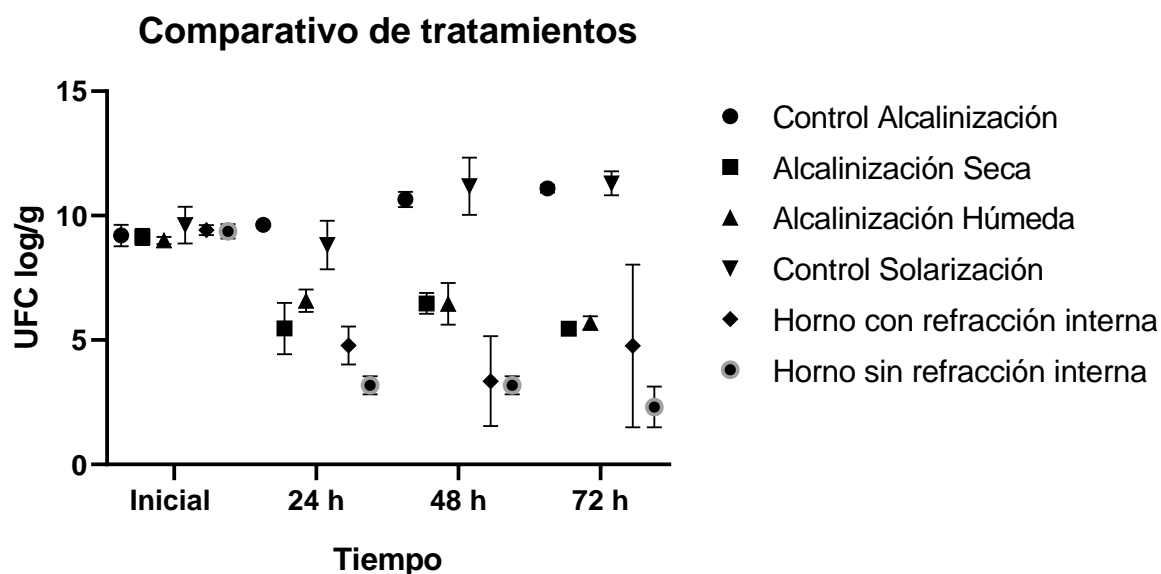
De acuerdo a los resultados del test de comparaciones múltiples de Tuckey, las diferencias mayores se encontraron en cuentas viables de las muestras tratadas en hornos sin láminas de refracción, con respecto al grupo control ( $P < 0.01$ ), obteniendo tras este tratamiento una disminución de 4.77  $\text{Log}_{10}$  UFC/g a diferencia de la disminución resultante del experimento con láminas de 3.96  $\text{Log}_{10}$  UFC/g respecto al promedio de inicial de 9.46  $\text{Log}_{10}$  UFC/g, reflejándose también, una mayor dispersión de datos en las cuentas resultantes de muestras tratadas en hornos con láminas con incremento a la par del transcurso de los tiempos experimentales.



**FIGURA 17** Medias de  $\text{Log}_{10}$  de las UFC/g *Salmonella* antes y después del tratamiento de solarización con alcalinización húmeda en tres distintos tiempos de recuperación/réplica. Se hizo ANOVA de 2 vías con corrección de épsilon de Geisser-Greenhouse para esfericidad y análisis post-Hoc de Tuckey. El error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $p < .05$ ) se muestra en las barras de error.

### 7.2.1.3 Análisis comparativo de inactivación por alcalinización y solarización en la dinámica de *Salmonella*

Tanto en los tratamientos de alcalinización como de solarización (Fig. 18), la variable del tiempo mostró una varianza significativa ( $P < 0.001$ ) cuyo efecto muestra que los conteos más bajos de *Salmonella* se registran tras la recuperación a las 24 h post tratamiento. Referente a los cambios en los valores de pH registrados de 7.53 hasta 11.98 que se observaron en muestras alcalinizadas en seco, a diferencia de aquellas alcalinizadas con humedad añadida, con valores de 7.03 a 9.93 se puede considerar que en las primeras, la consistencia del bolo fecal original, pudo retener mayor cantidad de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en su superficie, a diferencia de las muestras humedecidas con base en los métodos evaluados con lodos residuales (Lopes et al., 2018) donde la distribución del álcali es más homogénea al sumarse la disolución del bolo fecal. Esto puede observarse nuevamente con las lecturas de pH en el tratamiento de solarización que se hizo de forma mixta, donde los valores iniciales y las lecturas post tratamiento, tampoco mostraron una diferencia significativa.



**FIGURA 18** Medias de  $\text{Log}_{10}$  de las UFC/g *Salmonella* antes y después de los tratamientos de inactivación en tres distintos tiempos de recuperación/réplica. Se hizo ANOVA de 2 vías con corrección de  $\epsilon$  de Geisser-Greenhouse para esfericidad y análisis post-Hoc de Tuckey. El error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $p < .05$ ) se muestra en las barras de error.

Dentro de este experimento, tomando en cuenta que se hicieron recuperaciones a las 24, 48 y 72 h de la inoculación (Lopes et al., 2018; Bean et al., 2007) se encontró que las diferencias entre las lecturas de pH para los tres tiempos experimentales no fueron significativas, pudiendo atribuirse a la uniformidad en la variable de temperatura, que se mantuvo en un promedio de 26 °C y pH anteriormente revisado.

Considerando el efecto combinado de cambio de pH y elevación de temperatura, con base en el estudio de Leguérinel et al. (2009) donde se estudió la cinética bajo los efectos de dichas variables en *Salmonella*, los resultados obtenidos respecto a las cuentas viables tras los tratamientos de solarización con alcalinización, mostraron una disminución de 3.96  $\text{Log}_{10}$  UFC/g para muestras recuperadas de hornos con láminas de refracción interna y de 4.77  $\text{Log}_{10}$  UFC/g en aquellas tratadas en los modelos sin láminas, tenemos que, respecto al conteo de inoculación, hay una disminución significativa, favorable para las últimas, se encuentran similitudes en el efecto de inactivación con el estudio efectuado con lodos residuales por Lopes et al., en 2018,. en cuanto al tiempo de inactivación, en tanto que a las 24 horas, sus cuentas viables resultantes entran en la norma norteamericana para presencia de *Salmonella* y en el mismo estudio, a las 48 y 72 horas de alcalinización, los resultados fueron negativos.



Distinto a lo esperado con los modelos adaptados al horno estudiado por Terrés, et al. (2013), las temperaturas más altas registradas durante el experimento, se lograron en los modelos que se implementaron sin las láminas de refracción interna (Cuadro 1) pudiendo deberse al efecto invernadero y la captación de radiación solar por el material color negro de los hornos.

Registro de temperaturas (°C)		
Ambiente	Hornos con láminas	Hornos sin láminas
27	84.7	84.6
31	85.6	94.7
29	83.6	88.4

**CUADRO 1** Temperaturas máximas registradas durante el experimento mixto de alcalinización en marzo de 2021 bajo solarización con láminas y sin láminas de refracción. Los datos referentes a los hornos son el promedio de las temperaturas más altas registradas al inicio, a 24, 48 y 72 horas de iniciado el tratamiento.

Para el entender la dinámica de *Salmonella* resultante bajo el estrés térmico y acido-básico, se puede contrastar con lo obtenido con el estudio de Fernandes et al., en 2018, donde se evaluó la resistencia *Salmonella typhimurium* al pH elevado en agua de escaldado para canales de cerdo con temperatura de 62 °C y alcanzando un pH de 11 obteniendo una reducción de 3.19 Log<sub>10</sub> UFC/ml, es concordante la disminución de acuerdo al aumento de pH, no obstante, una diferencia a considerar, es la temperatura constante controlada; a la luz de lo que estudiaron Juenja et al., en 2003 respecto a la cinética del crecimiento y resistencia al calor en *Salmonella*, mostraron cómo se incrementa el crecimiento a 37 °C en el transcurso de 8 h, habiendo un decremento a los 60 °C, lo que da sustento a la dinámica que se obtuvo en este estudio con las curvas de temperatura a que fueron sometidas a solarización con alcalinización húmeda, donde tras alcanzar el pico de temperaturas máximas, superiores a los 80 °C, pudiendo alcanzar una inactivación completa, es también posible el estado viable no cultivable (VBNC, por sus siglas en inglés), un estado de resistencia donde puede darse posteriormente una “resurrección” gracias al sistema de detección-quorum (AI3) y a la presencia de proteínas promotoras de resurrección. Tras este mecanismo, con las condiciones favorables provistas por la materia fecal y una curva de temperatura descendente hasta temperatura ambiente alrededor de 26°C por alrededor de 6 a 8 horas, permiten un neo crecimiento celular resistente (Oliver, 2009).

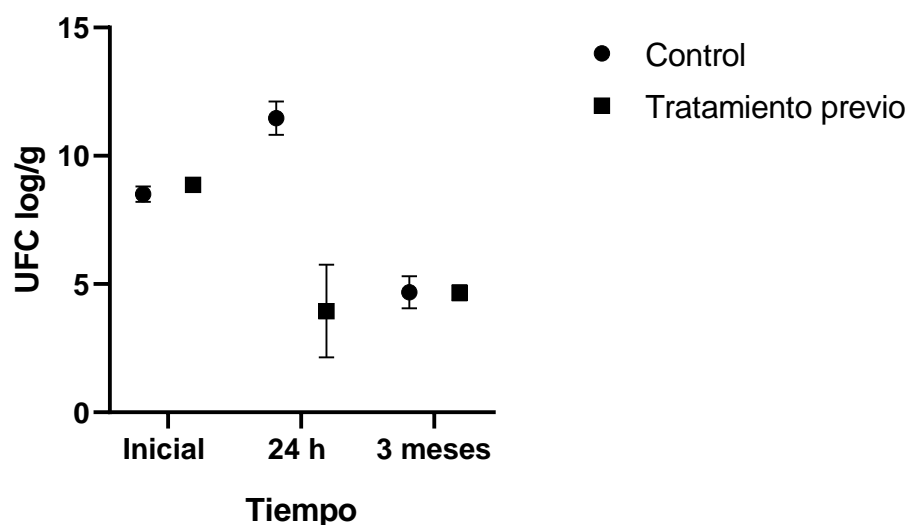
En lo que se refiere al efecto de los tratamientos de inactivación, la variable del tiempo tuvo una injerencia importante en el tratamiento mixto, donde, además de alcalinizar las muestras,

se expusieron a la solarización para someter la materia fecal a altas temperaturas (Berry y Wells, 2011). Los resultados obtenidos demuestran que se logra una disminución significativa de cuentas viables, pero, considerando la capacidad de resistencia al calor que puede desarrollar *Salmonella*, como lo estudiaron Juenja et al. (2003), pese a las altas temperaturas registradas, las células que logran la supervivencia tras alcanzar los 60 °C, al encontrarse nuevamente el medio a temperatura ambiente, tienen la capacidad de replicación y, por tanto, potencializar su crecimiento posterior. En estos resultados, se observa que la recuperación de muestras a las 48 y 72 h, refleja un incremento en las cuentas viables de UFC respecto a las muestras recuperadas a las 24 horas. Con base en esto, puede considerarse que *Salmonella* en la materia fecal, siendo un sustrato idóneo, puede mostrar crecimiento al no intervenir con una técnica de inactivación, lo cual es riesgoso para la incorporación de estos residuos a las enmiendas orgánicas utilizadas como fertilizantes para cultivos. Así mismo, muestra cómo la aplicación de calor hasta temperaturas letales para este enteropatógeno, pierde efectividad al disminuir éstas, permitiendo de nuevo el crecimiento de los mismos.

#### **7.2.1.4 Análisis del tratamiento de inactivación de *Salmonella* por compostaje**

**Recuperación de *Salmonella* en inactivación por compostaje.** Las heces inoculadas previamente al tratamiento de inactivación, ingresaron con un promedio de 8.68 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella* inoculada, las heces inoculadas tras ser tratadas con alcalinización húmeda durante 24 h, lograron una reducción de 4.74 Log<sub>10</sub> UFC/g y el grupo control que se mantuvo a temperatura ambiente durante 24 h, un incremento de 2.78 Log<sub>10</sub> UFC/g (Fig. La diferencia entre los tiempos de muestreo es significativa (P<0.01) al igual que entre el grupo control y las heces tratadas tras 24 h del experimento. Tras tres meses del proceso de compostaje y haber iniciado con una concentración promedio de 11.46 y 3.94 Log<sub>10</sub> UFC/g para el grupo control y de heces tratadas con alcalinización, como concentración inicial, se encontró que grupo control tuvo una disminución de 6.79 Log<sub>10</sub> UFC/g habiendo una diferencia significativa (P<0.05) y en el caso de heces tratadas con alcalinización previamente al compostaje, no se encontró diferencia estadística en las cuentas viables (Fig. 19).

### Salmonella tras proceso de Compostaje



**FIGURA 19** Se muestra comparativo de medias de  $\text{Log}_{10}$  de las UFC/g *Salmonella* tras inoculación como parámetro inicial y a las 24 h post tratamiento de alcalinización húmeda y tras inoculación proceso de compostaje de 3 meses, las cuentas viables como parámetro Inicial fueron obtenidas de las cuentas resultantes en la recuperación previa al compostaje. Se hizo ANOVA de 2 vías con análisis post-Hoc de Tuckey. El error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P < .05$ ) se muestra en las barras de error.

La reducción de cuentas viables de *Salmonella* tras el compostaje, sin recibir tratamiento de inactivación previo, como en el caso del control positivo, es similar a lo mostrado por Sossou et al., en 2014, donde se siguió la dinámica de esta enterobacteria durante el compostaje de baño seco, logrando su inactivación a los 30 días, efecto atribuido más que a la temperatura, desecación y cambio de pH. Por otra parte, se puede comprender el mantenimiento de cuentas viables de *Salmonella* correspondiente a las muestras que recibieron tratamiento previo de inactivación, con los mecanismos de resistencia celulares generados por estrés (Oliver, 2009), así como la resistencia cruzada a la desecación, como sugieren Shepherd et al. (2010). Es importante, para comprensión de la efectividad del compostaje en el proceso de inactivación, la complejidad del mismo, Erickson et al, en 2014 evaluaron los factores térmicos y no térmicos de este proceso y su efecto de inactivación sobre *Salmonella* y *Listeria monocytogenes*; en la composta procesada con cerdaza, se obtuvo un efecto de inactivación a los tres días, antes de que el proceso de compostaje alcanzara su fase termogénica y uno de los parámetros distintivos en este resultado es que se encontró un nivel elevado de ácidos volátiles.

### 7.2.2 Evaluación de tratamientos de inactivación en parásitos

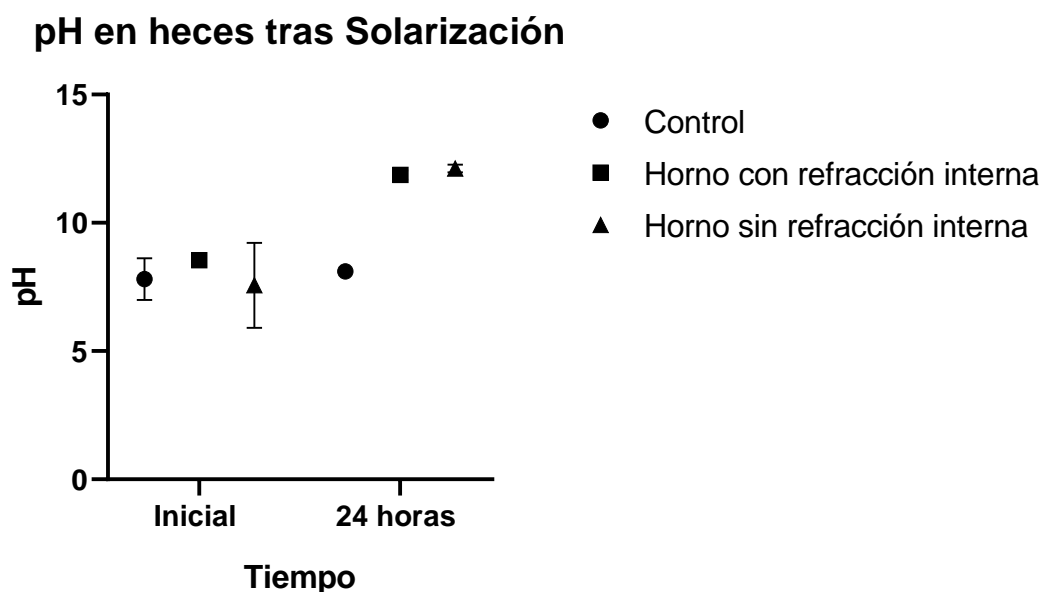
Se tomaron en cuenta los resultados y observaciones previas, durante los tratamientos de inactivación de *Salmonella* que se llevaron a cabo durante la primavera. En el caso de la inactivación de parásitos, durante el otoño, se llevó a cabo el experimento de solarización con la finalidad de obtener las temperaturas alcanzadas durante esta estación, con los hornos solares, siendo la máxima, de 59 °C como se muestra en el Cuadro 2. Con base en esto y bajo la premisa anteriormente expuesta en cuanto a la homogeneidad de la distribución del álcali en las muestras, se recurrió igualmente a un tratamiento mixto de solarización con alcalinización húmeda.

Registro de temperaturas (°C)		
Ambiente	Hornos con láminas	Hornos sin láminas
18	29	26
24	59	58
22	31	35

**CUADRO 2** Temperaturas máximas registradas durante el experimento mixto de alcalinización en septiembre de 2021 bajo solarización con láminas y sin láminas de refracción. Los datos referentes a los hornos son el promedio de las temperaturas más altas registradas al inicio, a 24, 48 y 72 horas de iniciado el tratamiento.

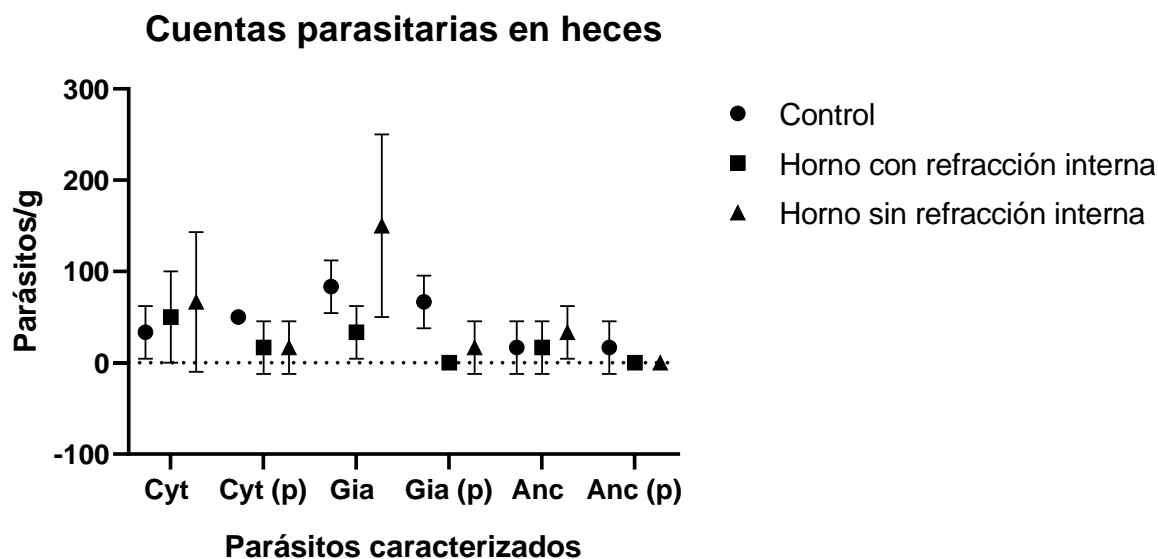
#### 7.2.2.1 Análisis del tratamiento de inactivación por solarización de parásitos

**Análisis del pH.** Con base en la referencia de las lecturas de pH obtenidas y considerando el tiempo de recolección de muestras más favorable en cuanto a inactivación de enterobacterias, se hizo muestreo a las 24 h post tratamiento. Se mostró una diferencia significativa ( $P<0.05$ ) en las lecturas de pH respecto a los tratamientos y diferencia significativa ( $P<0.01$ ) en cuanto al tiempo transcurrido, en tanto que la lectura inicial, se corresponde con el grupo control con un pH promedio de 7.97 y lecturas promedio de 11.86 tras el experimento en hornos con láminas y de 12.11 en el correspondiente sin láminas de refracción (Fig. 20). Las temperaturas máximas registradas se presentan en el Cuadro 2.



**FIGURA 20** Se muestra el comparativo de medias de pH antes y después de los tratamientos de solarización con alcalinización húmeda/réplica tras 24 h con base en los registros experimentales previos. Se hizo ANOVA de 2 vías con corrección de  $\epsilon$  de Geisser-Greenhouse para esfericidad y análisis post-Hoc de Tukey. Las barras muestran el error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P < .05$ ).

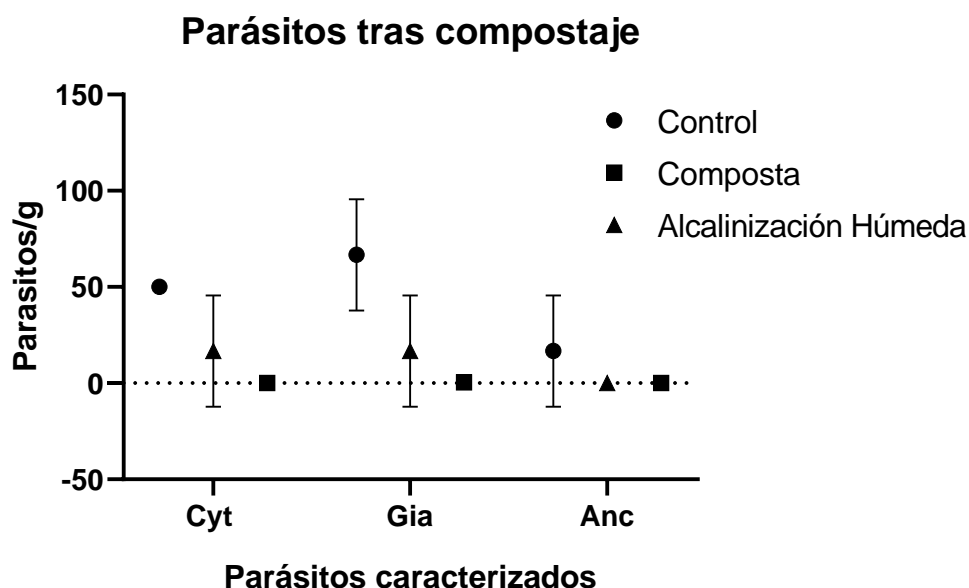
**Recuperación de parásitos en inactivación por solarización.** Se encontró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en cuanto a la incidencia de parásitos caracterizados antes y después de los tratamientos (Fig. 21), mayormente en lo que se refiere a las cuentas de *Giardia*, respecto a la incidencia de *Cytospora* y *Ancylostoma*, resultando en una disminución de 94, 70 y 100%, respectivamente. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambos tratamientos ( $P > 0.05$ ). El estudio efectuado por Bean et al. en 2007, comparte resultados similares, trabajaron la alcalinización con cal de lodos residuales, siguiendo la inactivación de diversos parásitos, entre ellos, *Giardia*; reportan una inactivación completa de quistes de *Giardia* a las 72 horas. Habrá que considerar la homogeneidad que se da en la alcalinización de lodos residuales, a diferencia de este experimento, en el cual se buscó trabajar de la forma más compatible con la alcalinización que se pudiera practicar en un hogar, pese a ello, el alcance de inactivación de parásitos es alto.



**FIGURA 21** Medias de cuentas parasitarias en número de parásitos cuantificados con factor de conversión 50/g antes y después de los tratamientos de inactivación en tres distintos tiempos de recuperación/réplica (Cyt=Cytoisospora, Gia=Giardia y Anc=Ancylostoma, p=post tratamiento)/réplica. Se hizo ANOVA de 2 vías con análisis post-Hoc de Tuckey. El error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P < .05$ ) se muestra en las barras de error.

#### 7.2.2.2 Recuperación parasitológica en compostas

Se encontró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre las medias de cuentas parasitarias correspondientes al grupo control, respecto a las heces tratadas y a la composta. No se encontró diferencia estadística entre la cantidad de parásitos/g en heces tratadas con alcalinización húmeda y la cantidad de parásitos/g en composta terminada, en tanto que en ésta no se encontraron cuerpos parasitarios, tal como se puede observar en la gráfica (Fig. 22).



**FIGURA 22** Medias de cuentas parasitarias en número de parásitos cuantificados con factor de conversión 50/g de las muestras (Cyt=Cytoisospora, Gia=Giardia y Anc=Ancylostoma) caracterizadas en heces de grupo control, post tratamiento de alcalinización húmeda por 24 h y en composta terminada. Se hizo ANOVA de 2 vías con análisis post-Hoc de Tuckey. El error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P < .05$ ) se muestra en las barras de error.

La reducción de cuentas parasitarias resultante, es concordante con un estudio llevado a cabo compostaje de estiércol bovino, donde se registró una temperatura mayor a los 55 °C durante 15 días, se alcanzó una inactivación efectiva de *Giardia* y *Cryptosporidium*. (Van Herk et al., 2004). Como referencia de lo anteriormente observado con helmintos, para el caso de *Ancylostoma*, nemátodo caracterizado y seguido en este estudio, se observó que el efecto del proceso de compostaje de baño seco, donde después de 30 días, no se encontró presencia de huevecillos de *Ascaris Lumbricoides*, considerando una carga parasitaria de 204/g a diferencia de los 50/g en promedio de *Ancylostoma*, aquí tratados (Sossou et al., 2014).

### **7.3 Evaluación de la inocuidad y el efecto del sustrato obtenido de mezcla de composta con heces fecales de gato tratadas, en cultivo de lechuga**

Con este proceso experimental se cumple el tercer objetivo: Evaluar la inocuidad y el efecto del sustrato obtenido de mezcla de composta con heces fecales de gato tratadas, en cultivo de lechuga.

### 7.3.1 Caracterización de compostas y suelo

Todas las muestras de composta terminada, de cada unidad experimental, resultaron dentro de rango de acuerdo a los estándares del TMECC (USDA, 2002) con un pH promedio de 8.31, CE de 2.73 dS/m, 23.29% de carbono, 1.31% de nitrógeno y una relación C/N de 17.72 (Cuadro 3). En suelo compuesto para siembra, se obtuvo en promedio un pH de 6.03 y una CE de 1.78 dS/m, los resultados de los análisis efectuados en el Laboratorio del Consejo Regulador del Tequila A.C, se encuentran en el Anexo B.

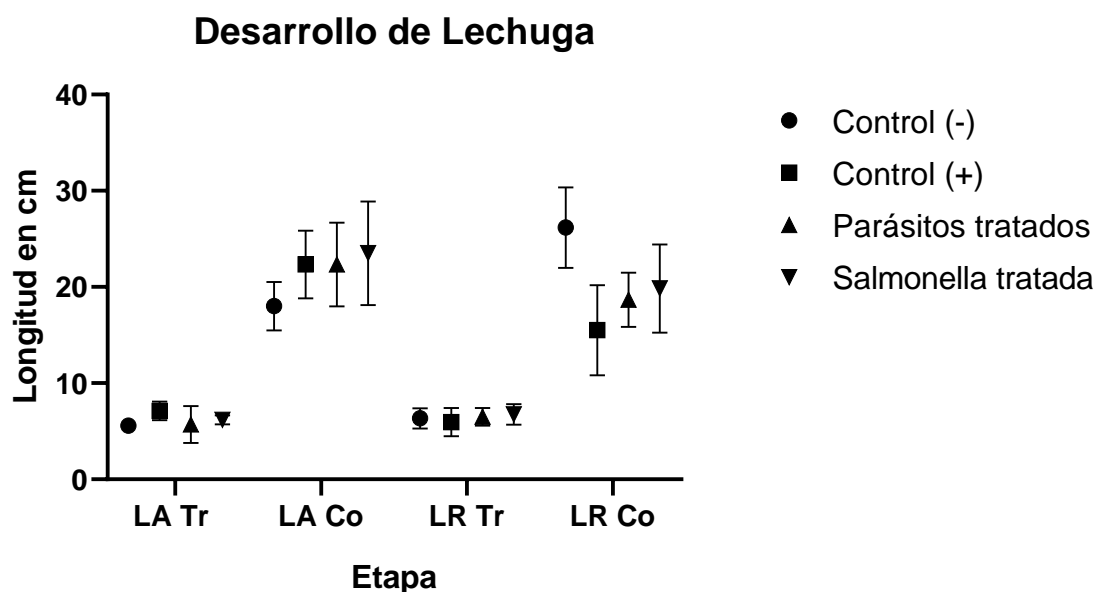
**CUADRO 3** Parámetros fisicoquímicos de compostas terminadas correspondientes a los 2 grupos control, el grupo con heces inoculadas con *Salmonella* tratadas y el grupo con heces caracterizadas con parásitos.

	pH	CE (dS/m)	C (%)	N (%)	C/N
Mínimo	7.16	2.08	18.69	1.08	16.25
Máximo	9.62	3.6	29.53	1.57	19.69
Rango	2.46	1.52	10.84	0.49	3.44
Intervalo de confianza de 95%					
Nivel de confianza	97.87%	97.87%	97.87%	97.87%	97.87%
Límite inferior	7.71	2.22	20.22	1.15	17.33
Límite superior	8.76	2.96	26.41	1.5	18.46
Mean	8.311	2.731	23.3	1.313	17.73
Desviación estándar	0.7236	0.4621	3.292	0.1553	0.8515
Error estándar de la media	0.1809	0.1155	0.8231	0.03883	0.2129

### 7.3.2 Desarrollo de lechuga

Se logró un 95% de germinación a los seis días de la siembra. No se encontraron diferencias estadísticas entre el efecto de las diferentes compostas experimentales en el desarrollo de las plantas de lechuga, se encontró diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) únicamente entre las etapas de desarrollo, del trasplante y post cosecha, como se observa en la Figura 23.



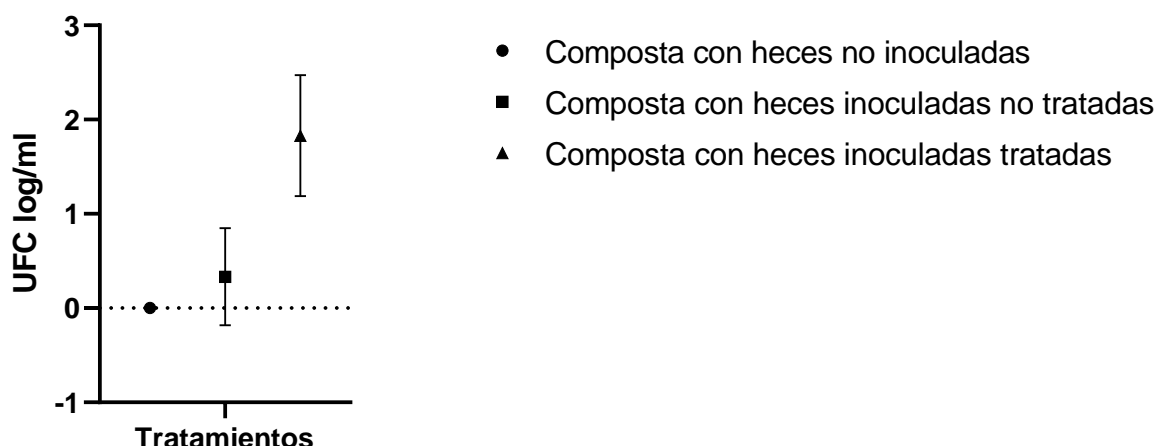


**FIGURA 23** Se muestra el comparativo de medias de longitud en lechugas de cada unidad experimental al trasplante y post cosecha (LA Tr=Longitud área al trasplante, LA Co=Longitud aérea post cosecha, LR Tr=Longitud radicular al trasplante y LR Co=Longitud radicular post cosecha). Se hizo ANOVA de 2 vías con corrección de épsilon de Geisser-Greenhouse para esfericidad y análisis post-Hoc de Tuckey. Las barras muestran el error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P < .05$ ).

### 7.3.3 Recuperación de *Salmonella* superficial

En cuanto a la recuperación superficial, se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) entre las cuentas viables de ambos grupos control y el grupo de lechugas desarrolladas en suelo con composta de heces tratadas con *Salmonella*, reflejándose un promedio de 1.82  $\text{Log}_{10}$  UFC/ml de lavado, a diferencia de 0.33  $\text{Log}_{10}$  UFC/ml en el grupo control positivo y no encontrándose en el grupo control negativo (Fig. 24).

### ***Salmonella* superficial**



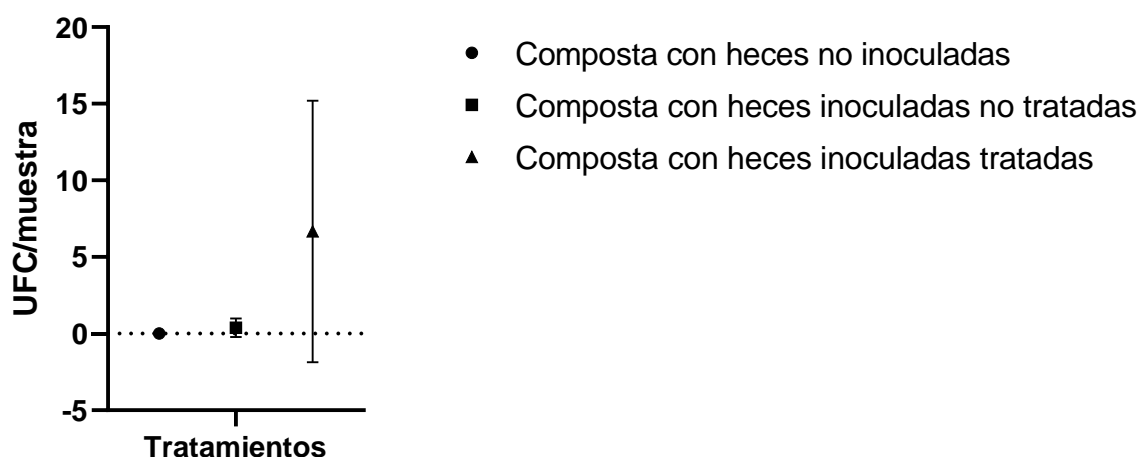
**FIGURA 24** Se muestra comparativo de medias de Log<sub>10</sub> de las UFC/ml *Salmonella* en lavado de hojas de lechuga. Se hizo ANOVA de 1 vía con análisis post-Hoc de Tuckey. El error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P < .05$ ) se muestra en las barras de error.

#### **7.3.4 Recuperación de *Salmonella* internalizada**

Respecto a la internalización, se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) así mismo, entre las cuentas viables del grupo de lechugas desarrolladas en suelo con composta de heces tratadas con *Salmonella* al presentar un promedio de 6.66 UFC/muestra, con respecto a los grupos control; el control positivo presentó un promedio de 0.38 y en el control no hubo recuperación (Fig. 25).

En el estudio sobre internalización en lechugas bajo hidroponía, publicado por Xylia et al. (2022), muestran que las plantas de lechuga más jóvenes fueron más susceptibles a la internalización de *Salmonella* mediante la solución hidropónica bajo la dinámica de penetración por medio de orificios naturales en las hojas, Korupitsky et al. (2019) evaluaron la intervención de proteínas de estrés universales en el mecanismo de internalización, investigando los genes de estrés universales que al ser bloqueados, reflejaron una reducción en la internalización. Con estos precedentes y considerando que las cuentas viables más elevadas en superficie, fueron aquellas de *Salmonella* tratada, misma que se encontró internalizada, puede considerarse esta vía de ingreso a la planta y su vulnerabilidad a causa de estrés nutricional o de fitopatógenos pudiera comprometer dicho mecanismo, pero se requieren estudios posteriores para evaluar dichas condiciones.

### Salmonella internalizada



**FIGURA 25** Se muestra comparativo de medias de las UFC/muestra de *Salmonella* en macerado de hojas de lechuga. Se hizo test de Kruskal-Wallis con análisis post-Hoc de Dunn. El error estándar de tres réplicas con un intervalo de confianza del 95% ( $P < .05$ ) se muestra en las barras de error.

## 8. Conclusiones

La presencia de parásitos como lo son *Giardia*, *Cytoisospora* e *Ancylostoma* es persistente en los gatos domésticos con hábitos de caza y/o alimentación cruda o mixta con alimentos balanceados, sin embargo, su incidencia es baja al tratarse de ejemplares que se encuentran bajo cuidado en hogares y con vigilancia veterinaria regular. La inoculación de *Salmonella* permitió la aproximación al conocimiento del comportamiento de enterobacterias acorde a los resultados previamente conocidos en procesos de experimentación similares.

La conjugación de técnicas de alcalinización y solarización podría ser una alternativa viable en las estaciones de primavera y verano en sitios cálidos, particularmente para parásitos, siendo importante estudiar el efecto de inactivación de *Salmonella* en la materia fecal sometida, antes de que la temperatura alcanzada descienda de los 60 °C para su inmediata incorporación al tratamiento de compostaje, dinámica de interés para considerarse en posteriores estudios. El compostaje juega un rol importante en materia de inactivación de patógenos, incluso a pequeña escala, donde las temperaturas no se elevan sobre los 45 °C, lo que evidencia que la termogénesis de los compostajes no es la única ruta de inactivación, sino que intervienen todas las interacciones bióticas y abióticas dentro del mismo proceso en la supervivencia de estos microorganismos.

Referente a la inocuidad por la implementación de la composta obtenida con materia fecal de gato y su utilización para el cultivo de lechuga y evaluación de la misma, en materia de inocuidad para su consumo, se debe tener en cuenta que el sometimiento de las heces a procesos de inactivación cuyas condiciones no sean letales para las bacterias patógenas, generan resistencia en éstas. Estas condiciones o factores estresores, tales como las curvas de temperatura o variaciones de pH, de dichos procesos en las bacterias, pudieron permitir que tras alcanzar un estado viable no cultivable durante el compostaje, lograran internalización en el cultivo, a diferencia de aquellas que únicamente fueron sometidas al propio compostaje sin tratamientos de inactivación.

Hay que considerar las variaciones que pudieran resultar con mayores proporciones de heces y volúmenes de compostaje, no limitados al volumen de material o al ciclo de maduración determinado para este estudio para lograr emitir las mejores recomendaciones en torno a esta práctica de gestión de residuos, que de antemano muestra la viabilidad de ser una práctica segura.

## 1. Referencias

- Altieri, M. y Nicholls, C. (2020) La Agroecología en tiempos de COVID 19. *Última CELIA Agroecología*, (1). [https://www.clacso.org/La agroecología en tiempos del COVID-19](https://www.clacso.org/La%20agroecologia%20en%20tiempos%20del%20COVID-19) - CLACSO
- Ávila-Sánchez, H. (2019). Agricultura urbana y periurbana: Reconfiguraciones territoriales y potencialidades en torno a los sistemas alimentarios urbanos. *Investigaciones geográficas*, (98).
- Barrena, R., Font, X., Gabarrell, X., Sánchez, A. (2014). Home composting versus industrial composting: Influence of composting system on quality with focus on compost stability. *Waste Management*, 34, 1109-1116. <https://www.sciencedirect.com/journal/waste-management/vol/34/issue/7>.
- Bean, C. L., Hansen, J. J., Margolin, A. B., Balkin, H., Batzer, G., & Widmer, G. (2007). Class B alkaline stabilization to achieve pathogen inactivation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 4(1), 53–60. <https://doi.org/10.3390/ijerph2007010009>
- Bernache, G. (2012). Riesgo de contaminación por disposición final de residuos. *CIESAS*, 1, 97–105. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v28s1/v28s1a14.pdf>
- Berry, E. D., & Wells, J. E. (2012). Soil solarization reduces escherichia coli o157:h7 and total *Escherichia coli* on cattle feedlot pen surfaces. *Journal of Food Protection*, 75(1), 7–13. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-283>
- Burboa Herrera. (2018). Detección de *Salmonella* en muestras de heces de gatos domésticos. Universidad de Chile. Tesis de Licenciatura. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/159257>
- Cabañas-Romero, P. V., & Huerta-Saquero, A. (2014). Nanomáquinas biológicas: los sistemas de secreción bacterianos. Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología, 7(13), 28-36.
- Cantú-Martínez, P. C. (2014). Ética y sustentabilidad. *Revista Latinoamericana de Bioética*, 15(28–1), 130. <https://doi.org/10.18359/rlbi.529>
- Castro, P. D. J., Howell, S. B., Schaefer, J. J., Avramenko, R. W., Gilleard, J. S., & Kaplan, R. M. (2019). Multiple drug resistance in the canine hookworm *Ancylostoma caninum*: An emerging threat? *Parasites and Vectors*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3828-6>
- Celestino, T., & Marchetti, F. (2015). The Chemistry of Cat Litter: Activities for High School Students To Evaluate a Commercial Product's Properties and Claims Using the Tools of Chemistry. *Journal of Chemical Education*, 92(8), 1359–1363. <https://doi.org/10.1021/ed500505j>

- Chahar, M., Kroupitski, Y., Gollop, R., Belausov, E., Melotto, M., & Sela-Saldinger, S. (2021). Determination of Salmonella enterica Leaf Internalization Varies Substantially According to the Method and Conditions Used to Assess Bacterial Localization. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.622068>
- Coello-Peralta, R., Pazmiño Gómez, B., Salazar Mazamba, M., Cedeño Reyes, P., & Rodríguez Burnham, E. (2017). Ancylostoma caninum in domestic dogs in Limoncito, Chongón and Guayas. *Revista Espamciencia*, 8(1), 39–43.
- de Sousa-Antunes, L. F., de Souza, R. G., de Sousa Vaz, A. F., dos Santos Ferreira, T., & Correia, M. E. F. (2021). Evaluation of millicomposts from different vegetable residues and production systems in the lettuce seedling development. *Organic Agriculture*, 11(3), 367–378. <https://doi.org/10.1007/s13165-020-00342-y>
- Diario Oficial de la Federación (DOF). Norma Oficial Mexicana. NOM-083-SEMARNAT-2003, Especificaciones de protección ambiental para la selección del sitio, diseño, construcción, operación, monitoreo, clausura y obras complementarias de un sitio de disposición final de residuos sólidos urbanos y de manejo especial.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). Norma Oficial Mexicana. NOM 210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.
- Díaz-Roa, C. A. (2020). Implementación de un biodigestor para la generación de biogás y biol en Bogotá a partir de heces caninas usando un ecocatalizador como acelerante biológico. *Ciencia Unisalle*. [http://www.ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_ambiental:sanitaria/1203](http://www.ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental:sanitaria/1203)
- Dubey, J. P., & Schares, G. (2011). Neosporosis in animals-The last five years. *Veterinary Parasitology*, 180(1–2), 90–108. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.031>
- Erickson, M. C., Liao, J., Ma, L., Jiang, X., & Doyle, M. P. (2009). Inactivation of Salmonella spp. in cow manure composts formulated to different initial C:N ratios. *Bioresource Technology*, 100(23), 5898–5903. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2009.06.083>
- Erickson, M. C., Liao, J., Payton, A. S., Webb, C. C., Ma, L., Zhang, G., Flitcroft, I., Doyle, M. P., & Beuchat, L. R. (2013). Fate of Escherichia coli O157: H7 and Salmonella in soil and lettuce roots as affected by potential home gardening practices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(15), 3841–3849. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6321>
- Erickson, M. C., Liao, J., Ma, L., Jiang, X., & Doyle, M. P. (2014). Thermal and nonthermal factors affecting survival of salmonella and listeria monocytogenes in animal manure-based compost mixtures. *Journal of Food Protection*, 77(9), 1512–1518. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-111>
- Erickson, M. C., Smith, C., Jiang, X., Flitcroft, I. D., & Doyle, M. P. (2015). Survival of salmonella or escherichia coli O157:H7 during holding of manure-based compost mixtures at sublethal temperatures as influenced by the carbon amendment. *Journal of Food Protection*, 78(2), 248–255. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-289>

- Erickson, M. C., Liao, J.-Y., Payton, A. S., Cook, P. W., den Bakker, H. C., Bautista, J., & Carlos Díaz Pérez, J. (2018). *Pre-harvest internalization and surface survival of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 sprayed onto different lettuce cultivars under field and growth chamber conditions*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.001>
- Ferreira, R., Borges-Silva, W., de Jesus, R. F., & Gondim, L. F. P. (2019). Development of *Cystoisospora felis* in Cell Culture and in vitro Formation of Monozoic Tissue Cysts. *Frontiers in Veterinary Science*, 6(October), 4–8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00361>
- Gobierno del Estado de Jalisco. 2020. Área Metropolitana de Guadalajara. Consultado el 14 de julio de 2022. <https://www.jalisco.gob.mx/es/jalisco/guadalajara>
- Godínez-Oviedo, A., Sampedro Parra, F., Machuca Vergara, J. J., Gutiérrez González, P., & Hernández Iturriaga, M. (2019). Food Consumer Behavior and Salmonella Exposure Self-Perception in the Central Region of Mexico. *Journal of Food Science*, 84(10), 2907–2915. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14792>
- Grandía, G. R., Entrena, G.A., & Cruz, H. J. (2013). Toxoplasmosis in *Felis catus*: Etiology, epidemiology and disease. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 24(2), 131–149.
- Guidoni, L. L. C., Marques, R. V., Moncks, R. B., Botelho, F. T., da Paz, M. F., Corrêa, L. B., & Corrêa, É. K. (2018). Home composting using different ratios of bulking agent to food waste. *Journal of Environmental Management*, 207, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.031>
- Guidoni, L. L. C., Martins, G. A., Guevara, M. F., Brandalise, J. N., Lucia, T., Gerber, M. D., Corrêa, L. B., & Corrêa, É. K. (2021). Full-Scale Composting of Different Mixtures with Meal from Dead Pigs: Process Monitoring, Compost Quality and Toxicity. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01422-0>
- Ha, J., Park, E., Kim, J. S., Lee, S., Kim, S., Lee, J., Choi, Y., Yoon, Y., Oh, H., Kim, Y., Lee, Y., Seo, Y., & Kang, J. (2020). Prevalence of *Salmonella* in cucumbers, antibiotic and acid resistances and description of the kinetic behavior with dynamic model during storage. *Journal of Food Safety*, 40(2). <https://doi.org/10.1111/jfs.12760>
- Hernandez, A., Castillo, H., Leopoldina Ojeda-Barrios, D., María, A., & Arras-Vota, G. (2010). Effect of vermicompost and compost on lettuce production Microgravity effects on microbial growth and gene expression. View project. In *Article in Chilean Journal of Agricultural Research*. <https://www.researchgate.net/publication/289417578>
- Hutchison, M. L., Walters, L. D., Moore, A., Crookes, K. M., & Avery, S. M. (2004). Effect of length of time before incorporation on survival of pathogenic bacteria present in livestock wastes applied to agricultural soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(9), 5111–5118. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5111-5118.2004>

- Iijima, Y., Itoh, N., Ito, Y., & Kimura, Y. (2018). *Multilocus genotyping of Giardia duodenalis isolates from household cats and pet shop kittens*. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.06.022>
- Instituto Nacional de Geografía y Estadística (2014) Información sobre la generación, composición y gestión de los residuos sólidos que se originan en las actividades domésticas y comerciales de las localidades. <http://www.inegi.org.mx/temas/residuos/default.html#Tabulados>
- Javier-López, D., Katia Abarca, V., Patricio Paredes, M., & Elisa Inzunza, T. (2006). Parasites intestinales en caninos y felinos con cuadros digestivos en Santiago, Chile. Consideraciones en Salud Pública. *Revista Médica de Chile*, 134(2), 193–200. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872006000200009>
- Jechalke, S., Schierstaedt, J., Becker, M., Flemer, B., Grosch, R., Smalla, K., & Schikora, A. (2019). Salmonella establishment in agricultural soil and colonization of crop plants depend on soil type and plant species. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00967>
- Juneja, V., Marks, H., & Huang, L. (2003). Growth and heat resistance kinetic variation among various isolates of Salmonella and its application to risk assessment. *Risk Analysis*, 23(1), 199–213. <https://doi.org/10.1111/1539-6924.00300>
- Kästner, M., & Miltner, A. (2016). Application of compost for effective bioremediation of organic contaminants and pollutants in soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 3433–3449. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7378-y>
- Kroupitski, Y., Gollop, R., Belausov, E., Pinto, R., & Sela, S. (2019). Salmonella enterica growth conditions influence lettuce leaf internalization. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00639>
- Labastida, X., Zamora, M. (2015) Diseño de un digestor para generar humus fertilizante a partir de residuos fecales caninos. [http://cmas.siu.buap.mx/portal\\_pprd/work/sites/rlac/resources/LocalContent/77/2/6\(14\)-6.pdf](http://cmas.siu.buap.mx/portal_pprd/work/sites/rlac/resources/LocalContent/77/2/6(14)-6.pdf)
- Leguérinel, I., Spegagne, I., Couvert, O., Coroller, L., & Mafart, P., (2007). Quantifying the effects of heating temperature, and combined effects of heating medium pH and recovery medium pH on the heat resistance of Salmonella typhimurium. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 88-95. <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-33947717662&origin=inward&txGid=50ea24c6347b70f4313a190c8288a88a>
- Lopes, B. C., Machado, E. C., Rodrigues, H. F., Leal, C. D., Araújo, J. C. de, & Teixeira de Matos, A. (2020). Effect of alkaline treatment on pathogens, bacterial community and antibiotic resistance genes in different sewage sludges for potential agriculture use. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 41(4), 529–538. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1505960>



- López, J., Abarca, K., Paredes, P., & Inzunza, E. (2006). Parásitos intestinales en caninos y felinos con cuadros digestivos en Santiago, Chile. Consideraciones en Salud Pública. *Revista Médica de Chile*, 134(2), 193–200. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872006000200009>
- Loumerem, M., Abed Abdelkader, A., & Tlahig, S. (2019). Morphological characterization of cultivars collection of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) from Tunisian oasis. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 6(6). <https://doi.org/10.15761/ifnm.1000272>
- Lucero-Garzón, T. A., Álvarez-Motta, L. A., Chicue-López, J. F., López-Zapata, D., & Mendoza-Bergaño, C. A. (2015). Parasitosis intestinal y factores de riesgo en niños de los asentamientos subnormales, Florencia-Caquetá, Colombia. *Revista Facultad Nacional de salud pública*, 33(2), 171-180.
- Maisonneuve, B., Pitrat, M., Gognalons, P., & Moury, B. (2018). Growth stage-dependent resistance to the potyviruses lettuce Italian necrotic virus and Lettuce mosaic virus displayed by *Lactuca sativa* introgression lines carrying the Mo3 locus from *L. virosa*. *Plant Pathology*, 67(9), 2013–2018. <https://doi.org/10.1111/ppa.12909>
- Margaritis, M., Psarras, K., Panaretou, V., Thanos, A. G., Malamis, D., & Sotiropoulos, A. (2018). Improvement of home composting process of food waste using different minerals. *Waste Management*, 73, 87–100. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.12.009>
- Minor-Fernandes-Inagaki, J., Jagnow Sereno, M., Pegoraro, K., Zanatta Waz, M., Mendonça Soares, V., Gonçalves Pereira, J., & Bersot, L. dos S. (2018). Effect of organic matter and pH on the resistance of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Derby in scalding water from pig slaughter. *Journal of Food Safety*, 38(5), 1–6. <https://doi.org/10.1111/jfs.12504>
- Moreno-Degollado, G. (2019). *Detección molecular de toxoplasma gondii en carne y leche de caprinos del norte de México*. Tesis doctoral Doctorado en Ciencias de los Alimentos de la Universitat Autònoma de Barcelona. 112 p. España.
- Niguma, N. H., Pelayo, J. S., & de Oliveira, T. C. R. M. (2017). Microbiological evaluation of lettuce produced by conventional and organic systems in farms of Londrina, PR. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(1), 175–183. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n1p175>
- Oliver, J. D. (2010). Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(4), 415–425. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x>
- Olivera, G., & Zavaleta, K. (2020). La agricultura urbana y periurbana como segundo mejor uso del suelo en la ciudad. Retos frente a la urbanización y las políticas urbanas: Cuernavaca, México. *Quid 16: Revista del Área de Estudios Urbanos*, (13), 216-242.
- Orozco García, A. G. (2017). *Dinámicas de internalización de Salmonella Newport, Saintpaul y Montevideo en tomates cherry (Solanum lycopersicum var. cerasiforme)*

*higienizados con hipoclorito de sodio* [Tesis de Maestría, Universidad de Guadalajara].  
<http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6058>

- Ozdemir, S., Yetilmezsoy, K., Dede, G., & Sazak, M. (2020). Application of solarization for sanitization of sewage sludge compost. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 443–449. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.07.004>
- Rabbani, I. A. R., Mareta, F. J., Kusnoto, Hastutiek, P., Lastuti, N. D. R., Mufasirin, Suharsono, Wiarsa Sardjana, I. K., Sukmanadi, M., & Suwanti, L. T. (2020). Zoonotic and other gastrointestinal parasites in cats in Lumajang, East Java, Indonesia. *Infectious Disease Reports*, 12. <https://doi.org/10.4081/idr.2020.8747>
- Rodrigues, A. C., da Silva, M. D. C., Pereira, R. Â. S., & Pinto, L. C. (2020). Prevalence of contamination by intestinal parasites in vegetables (*Lactuca sativa* L. and *Coriandrum sativum* L.) sold in markets in Belém, northern Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(7), 2859–2865. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10265>
- Roman, P., Martínez, M. M., & Pantoja, Alberto. (2013). *Manual de compostaje del agricultor : experiencias en América Latina*. FAO.
- Roussel, C., Drake, J., & Ariza, J. M. (2019). French national survey of dog and cat owners on the deworming behaviour and lifestyle of pets associated with the risk of endoparasites. *Parasites and Vectors*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3712-4>.
- Sandoval, E., Morales, G., Ybarra, N., Barrios, M., & Borges, J. (2011). Nota Técnica Comparación entre dos modelos diferentes de cámaras de McMaster empleadas para el conteo coproscópico en el diagnóstico de infecciones por nematodos gastroentéricos en rumiantes Comparison between two McMaster egg counting slide used for the diagnostic of gastrointestinal nematode infection in ruminants. In *Zootecnia Trop* (Vol. 29, Issue 4).
- Sarmiento-Rubiano, L. A., Delgado, L., Ruiz, J. P., Sarmiento, M. C., & Becerra, J. (2018). Parásitos intestinales en perros y gatos con dueño de la ciudad de Barranquilla, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(4), 1403. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15348>
- Schikora, A., Virlogeux-Payant I, Bueso E, Garcia AV, Nilau T, et al. (2011) Conservation of Salmonella Infection Mechanisms in Plants and Animals. *PLoS ONE* 6(9): e24112. doi:10.1371/journal.pone.0024112
- Secretaría de Medio Ambiente y Desarrollo Territorial (2018) Residuos sólidos urbanos. <https://semadet.jalisco.gob.mx/medio-ambiente/residuos/residuos-solidos-urbanos>
- Shepherd, M. W., Singh, R., Kim, J., & Jiang, X. (2010). Effect of heat-shock treatment on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* Typhimurium in dairy manure co-composted with vegetable wastes under field conditions. *Bioresource Technology*, 101(14), 5407–5413. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.147>

- Sunar, N., Stentiford, E., Stewart, D., and Fletcher, L. (2009) The Process and Pathogen Behaviour in Composting: A Review. <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1404/1404.5210.pdf>
- Tendero, M., & Phung, C. G. (2019). The revival of urban agriculture: An opportunity for the composting stream. *Field Actions Science Report*, 2019(Special Issue 20), 40–51.
- Terrés, H., Ortega, A., Gordon, M., Morales, J. y Lizardi, A. (2008) Evaluación de reflectores internos en una estufa solar de tipo caja. *Científica*, Vol. 12. núm. 4. pp. 175-183. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61411609004>
- Trupiano, D., Coccozza, C., Baronti, S., Amendola, C., Vaccari, F. P., Lustrato, G., ... & Scippa, G. S. (2017). The effects of biochar and its combination with compost on lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth, soil properties, and soil microbial activity and abundance. *International Journal of Agronomy*, 2017.
- Tzannes, S., Batchelor, D. J., Graham, P. A., Pinchbeck, G. L., Wastling, J., & German, A. J. (2008). Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Isospora* species infections in pet cats with clinical signs of gastrointestinal disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2007.05.006>
- Ulloa, H., García, M., Pérez, A., Meulenert, A. y Ávila, D. (2011). Clima y radiación solar en las grandes ciudades: Zona Metropolitana de Guadalajara (Estado de Jalisco, México). *Investigaciones Geográficas*. No. 56. Pp 165-175.
- United States Department of Agriculture and the U.S. Composting Council (2002). Test Methods for the Examination of Composting and Compost (TMECC). Edaphos Int. Houston TX.
- Van Herk, F. H., McAllister, T. A., Larney, F. J., Miller, J. J., Cockwill, C. L., Guselle, N., & Olson, M. E. (2004). Inactivation of giardia cysts and cryptosporidium oocysts in beef feedlot manure by thermophilic windrow composting. *Compost Science and Utilization*, 12(3), 235–241. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2004.10702188>
- Vargas, R. y Galindo, M. (2013) Aspectos epidemiológicos de las zoonosis. Departamento de Medicina preventiva y salud pública FMVZ/UNAM. [http://www.zoonosis.unam.mx/contenido/publicacion/archivos/libres/ASPECTOS\\_EPIDEMIOLOGICOS\\_DE\\_LAS\\_ZOONOSIS.pdf](http://www.zoonosis.unam.mx/contenido/publicacion/archivos/libres/ASPECTOS_EPIDEMIOLOGICOS_DE_LAS_ZOONOSIS.pdf)
- Vazquez, C., Gallegos, M., Salazar, E., Orona, I., Garcia, J., Trejo, H. and Mendoza, S. (2015) Manure solarization from cattle, goat and poultry and its effect on survival of *Salmonella* spp. *Journal of pure and applied microbiology*. Vol. 9(1) 151-158.
- Velasco, J., Araque, M., Ayala, J., Dávila, D., Peña, Z., & Mendoza, R. (2019). Patogenia de mutantes de *Salmonella* Typhimurium en dos modelos experimentales in vivo. *VacciMonitor*, 28(1), 1–8. <https://www.medigraphic.com/pdfs/vaccimonitor/vcm-2019/vcm191a.pdf>
- Verbyla, M., Iriarte, M., Mercado Guzmán, A., Coronado, O., Almanza, M., & Mihelcic, J. (2016). Pathogens and fecal indicators in waste stabilization pond systems with direct

reuse for irrigation: Fate and transport in water, soil and crops. *Science of the Total Environment*, 551–552, 429–437. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.159>

- Wei, L., Yang, C., Shao, W., Sun, T., Wang, J., Zhou, Z., Chen, C., Zhu, A., & Pan, Z. (2020). Prevalence and drug resistance of *Salmonella* in dogs and cats in Xuzhou, China. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 64(2), 263–268. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0032>
- Wei, S., Yang, X., Huo, G., Ge, G., Liu, H., Luo, L., Hu, J., Huang, D., & Long, P. (2020). Distinct metabolome changes during seed germination of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in response to thermal stress as revealed by untargeted metabolomics analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/ijms21041481>
- Wu, S., Nishihara, M., Kawasaki, Y., Yokoyama, A., Matsuura, K., Koga, T., Ueno, D., Inoue, K., and Someya, T., (2009). Inactivation of *Escherichia coli* in soil by solarization, *Soil Science and Plant Nutrition*, 55:2, 258-263, DOI: 10.1111/j.1747-0765.2009.00362.x
- Zayed, M. S., Selim, S. M. ;, & Atta, H. M. (2012). Evaluation of phytotoxicity of compost during composting process. *Nature and Science* 10(2), 69-67. Recuperado el 10 de abril de 2023, de <http://www.sciencepub.net/nature>.

## A. Análisis físicoquímico de suelo



### CONSEJO REGULADOR DEL TEQUILA, A.C. LABORATORIO

Avenida Patria No.723 Col. Jardines de Guadalupe, Zapopan Jalisco México C.P.45030  
RFC: CRT931216Q31 Tel. (33)1002-1900

#### INFORME DE ENSAYO

Análisis No..... 368-S  
Propiedad de..... GABRIELA ALEJANDRA ALVAREZ OCHOA  
Domicilio..... JOSÉ GUADALUPE MONTENEGRO # 2472, COLONIA BARRERA, GUADALAJARA, JALISCO CÓDIGO POSTAL 44150  
Referencia No..... PREDIO " EL SUSTRATO " - TAPALPA -  
Fecha de recepción..... 2021-11-02  
Muestreado por..... GABRIELA ALEJANDRA ALVAREZ OCHOA Fecha de muestreo: 2021-11-01  
Identificación..... SUSTRATO ( 368 - MICROBIOLOGIA )  
Condiciones de la muestra..... MUESTRA DE SUELO RECIBIDA EN UNA BOLSA DE PLÁSTICO CON 1.7 Kg

NOTAS	ENSAYO	RESULTADO Y UNIDADES	MÉTODO	FECHA ANÁLISIS
+	pH a 25 °C	5.3	NOM-021-SEMARNAT-2000 AS-02 pH: medido en agua.	2021-11-03
+	Conductividad	0.099 dS/cm	Potenciómetro Hanna Rel: 1:2	2021-11-03
+	Fósforo	13 mg/l (ppm)	Extracción Mehlich	2021-11-04
+	Potasio	294 mg/l (ppm)	Extracción Mehlich	2021-11-04
+	Nitrógeno	16.0 mg/l (ppm)	Extracción Mehlich	2021-11-03
+	Calcio	10.5 meq/100 g	Extracción Mehlich	2021-11-04
+	Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	12.3 meq/100 g	Extracción Mehlich	2021-11-04
+	Materia Orgánica	10.8 g/100 g (%)	NOM-021-SEMARNAT-2000 AS-07 Contenido de materia orgánica.	2021-11-05
+	Arcillas	5.25 %	NOM-021-SEMARNAT-2000 AS-09 Determinación de la textura	2021-11-08
+	Arenas	84.74 %	NOM-021-SEMARNAT-2000 AS-09 Determinación de la textura	2021-11-08
+	Limos	10.00 %	NOM-021-SEMARNAT-2000 AS-09 Determinación de la textura	2021-11-08
+	Clase textural	Franco arenoso	NOM-021-SEMARNAT-2000 AS-09 Determinación de la textura	2021-11-08
+	% de humedad (PW)	80.4 g/100 g (%)	NOM-021-SEMARNAT-2000 AS-05 Contenido de humedad	2021-11-04

NOTA: EL PRESENTE INFORME CORRESPONDE A UNA MUESTRA DE SUELO DE TEXTURA GRUESA, MUNICIPIO DE TAPALPA, JALISCO, PRESENTA UN pH MODERADO ACIDO\*, RANGO NOM: pH 5.1 A 6.5). REQUIERE ENCALAR A RAZON DE 0.5 TON/HA DE CARBONATO DE CALCIO. TIENE UN CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA "MUY ALTO" (RANGO NOM: ARRIBA DE 6.0 %). NIVELES NUTRIMENTALES BAJOS, POTASIO ALTO. INCLUYA ENRAIZADOR COMO PROMOTOR DE RAICES Y UTILICE EN LA MEDIDA QUE PUEDA. MATERIAL ORGÁNICO DE SU ELECCIÓN, CON EL FIN DE ESTIMULAR LA ABSORCIÓN Y GUARDAR HUMEDAD. LOS DATOS QUE IDENTIFICAN A LA MUESTRA FUERON PROPORCIONADOS POR EL PRODUCTOR, MUESTRA ENTREGADA A ESTE LABORATORIO PARA SU ANÁLISIS BÁSICO DE FERTILIDAD.

ZAPOPAN, JALISCO 2021-11-09

Ing. Maricela Membrit Cortés  
Responsable del Laboratorio de Suelos



Dr. Guillermo Ariel Briceño Félix  
Supervisor de Laboratorios CRAT

#### NOTAS:

Este informe no podrá ser reproducido parcial o totalmente sin previa autorización del CRT.  
Los datos contenidos en este documento reflejan los resultados de los ensayos (pruebas) de laboratorio de la muestra analizada tal y como se recibió.  
Cualquier duda, comentario, sugerencia o queja en relación al servicio del laboratorio o al contenido del informe, favor de comunicarse al laboratorio.  
\*Método no acreditado por la Entidad Mexicana de Acreditación (eme).