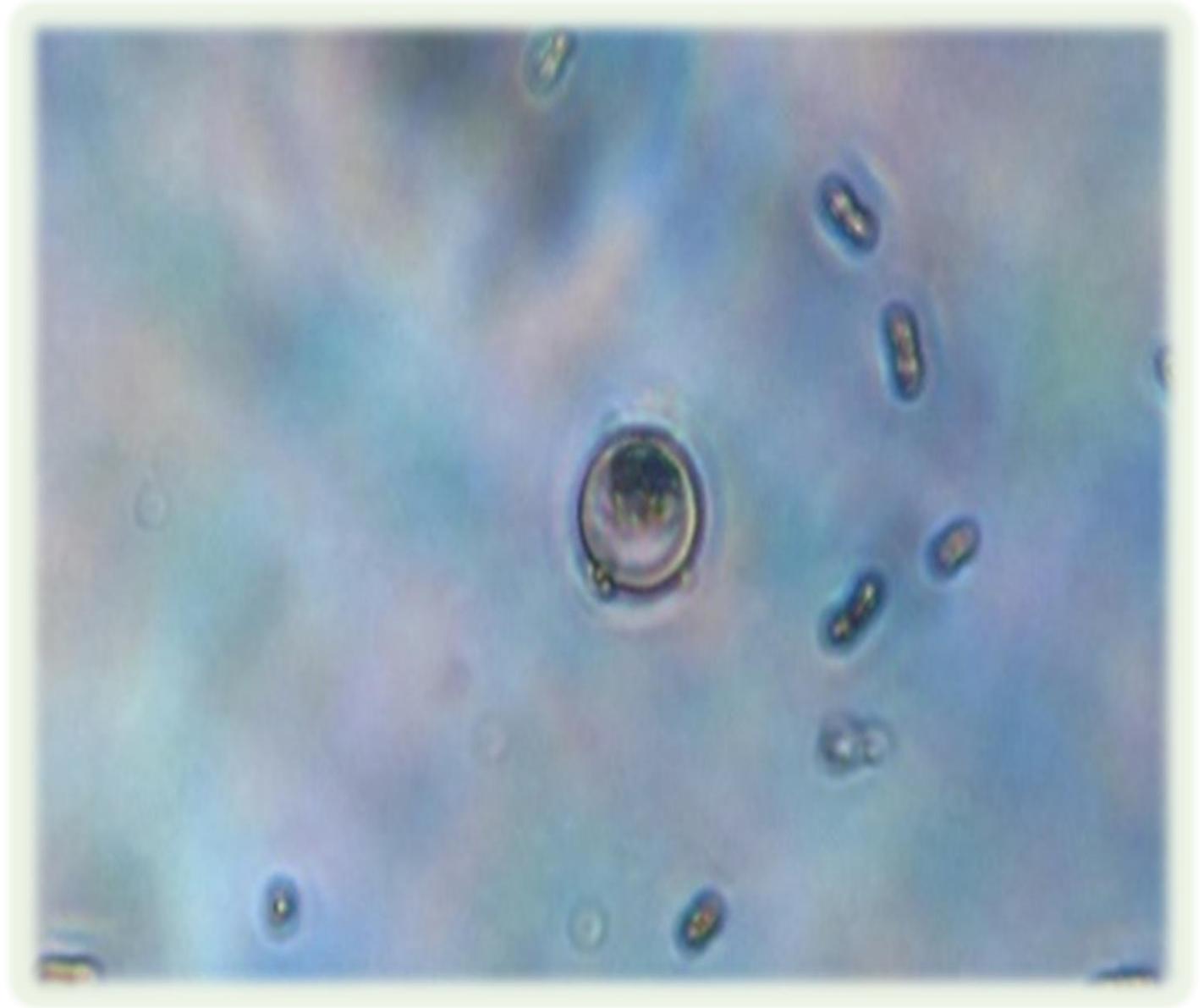


MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTO EN ABONOS ORGANICOS

MARÍA DEL ROSARIO JACOBO SALCEDO, LOURDES LUCIA LÓPEZ ROMERO,
URIEL FIGUEROA VIRAMONTES, JESÚS ARCADIO MUÑOZ VILLALOBOS, SANDRA
PATRICIA MACIEL TORRES



SAGARPA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PESCA Y ALIMENTACIÓN



30 **inifap**
ANIVERSARIO
Líder en ciencia y tecnología para el campo mexicano

CENID RASPA
Gómez Palacio, Durango, Diciembre 2015
Folleto Técnico Núm.40
ISBN: 978-607-37-0493-9

DIRECTORIO INSTITUCIONAL

**SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA DESARROLLO RURAL
PESCA Y
ALIMENTACIÓN**

Lic. José Eduardo Calzada Rovirosa
Secretario

Lic. Jorge Armando Narváez Narzáez
Subsecretario de Agricultura

Lic. Héctor Velasco Manroy
Subsecretario de Desarrollo Rural

Lic. Ricardo Aguilar Castillo
Subsecretario de Alimentación y Competitividad

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES,
AGRÍCOLAS Y
PECUARIAS**

Dr. Luis Fernando Flores Lui
Director General

Dr. Raúl Gerardo Obando Rodríguez
Coordinador de Investigación, Innovación y Vinculación

Dr. Jorge Fajardo Guel
Coordinador de Planeación y Desarrollo

Mtro. Francisco Eduardo Bertrrame Barquín
Coordinador de Administración y Sistemas

**CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN DISCIPLINARIA EN RELACIÓN
AGUA-SUELO-PLANTA-ATMOSFERA**

Dr. Juan Estrada Ávalos
Director

MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTO EN ABONOS ORGANICOS

Maria del Rosario Jacobo Salcedo¹
Lourdes Lucia López Romero¹
Uriel Figueroa Viramontes²
Jesús Arcadio Muñoz Villalobos¹
Sandra Patricia Maciel Torres³

¹ Investigador. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación-Agua-Suelo-Planta-Atmosfera.

² Investigador. Campo Experimental La Laguna, Centro de Investigación Regional Norte Centro.

³ Estudiante de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas.

Diciembre 2015

**Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua Suelo
Planta y Atmosfera**

Diciembre 2015



Av. Progreso No. 5 Barrio de Santa Catarina, Delegación Coyoacán, C.P. 04010
México D.F. Teléfono (55) 3871 8700

<http://www.inifap.gob.mx>

ISBN: 978-607-37-0493-9

Primera Edición 2015; Derechos reservados©

No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito a la institución.

CONTENIDO

FUNDAMENTOS TEÓRICOS	3
<i>Conceptos básicos de Parasitología</i>	3
Técnicas de determinación y cuantificación	8
OBJETIVO	9
MATERIALES Y MÉTODOS	9
MUESTREO, PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS	9
REACTIVOS Y MATERIALES	10
Reactivos	10
Materiales.....	10
Aparatos y/o instrumentos	10
PROCEDIMIENTO	10
Preparación de soluciones.....	10
Seguridad.....	11
Manejo de residuos.....	11
Procedimiento de análisis	11
Expresión de resultados.....	12
Interferencias	12
PROCESO DE COMPARACIÓN	12
Diseño de experimento comparativo	13
RESULTADOS EN LA APLICACIÓN DE LA TÉCNICA PROPUESTA	13
RECOMENDACIONES	18

INTRODUCCIÓN

El uso de abonos orgánicos es una práctica ancestral, que ha sido empleada para conservar y optimizar la disponibilidad de nutrimentos en el suelo, generando una mejora en el rendimiento de los cultivos. Es posible considerar como abonos orgánicos a los abonos verdes, aguas negras, compostas, estiércoles, residuos de las cosechas, residuos orgánicos industriales, sedimentos orgánicos y vermicompostas.

Esta misma diversidad de abonos, nos proporciona una variedad de características físicas y composición química, siendo la principal, la cantidad de nutrientes que serán aprovechados por el suelo, mejorando así las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo.

Sin embargo, uno de los aspectos poco atendidos de estos abonos orgánicos, son las características sanitarias una vez que han sido transferidos al suelo. Siendo las principales la determinación de coliformes totales y fecales, como también la cuantificación de huevos de helminto.

Es un riesgo latente que los abonos orgánicos faciliten la transmisión de enfermedades relacionadas con las excretas. Sin embargo, en las últimas décadas, la Organización Mundial de la Salud, el Banco Mundial y el Centro Internacional de referencia para la evaluación de desechos proporcionaron una serie de estudios y reuniones de expertos para examinar estos riesgos a la salud. Partiendo de un análisis de los datos epidemiológicos disponibles se determinó que los principales riesgos eran los siguientes, la transmisión de infecciones por nematodos intestinales tanto a los trabajadores del campos como a las personas que consumieran verduras contaminadas y la trasmisión a los consumidores de productos agrícolas de enfermedades causadas por bacterias presentes en las heces, tales como la diarrea y la disentería bacteriana, la tifoidea y el cólera.

El desarrollo de la parasitología ha dado lugar a una larga serie de técnicas para la enumeración de los huevos de helminto y de las larvas intestinales en los lodos y los abonos compuestos. La complejidad radica en la gran variedad de especies parasitas humanas y animales, así como de especies independientes, con tamaño, gravedad específica y propiedades de superficie diferentes y en concentraciones mayores en abonos orgánicos en comparación con otras matrices.

En la actualidad en México se carece de una Normativa oficial que regule los contaminantes sanitarios o los procesos de calidad de compostas para uso agrícola. Debido a las características físicas de estos abonos orgánicos se debe emplear una técnica que facilite la evaluación de huevos de helminto de una forma eficiente y de costos accesibles para los laboratorios que realizan este tipo de determinaciones.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Conceptos básicos de Parasitología

Por definición los parásitos son organismos que viven sobre o dentro de otro organismo, usualmente causando daño al huésped. Así mismo, se considera a cualquier organismo que causa enfermedad (García *et. al.*, 1994). En el contexto, helminto hace referencia a una denominación, no taxonómica utilizada para designar a los gusanos parásitos y de vida libre.

En sus inicios las amibas de vida libre eran denominadas como “amibas del suelo”, protozoos no patógenos ubicuos en suelo y agua, empleados como modelos por los biólogos celulares; sin embargo, posteriormente se demostró su potencial patogénico (Fraga,1984).

Existe una gran variedad de denominaciones y/o clasificaciones sin lugar a duda una de las más simples y mayormente empleadas es la derivada de su ciclo biológico:

1. **Parásitos Monoxenos o de Ciclo Directo**; estos demandan un solo tipo de hospedero (definitivo) para que su ciclo biológico llegue a completarse. Algunos de estos parásitos son la *Giardia intestinalis*, *Ancylostoma duodenale* o *Sarcoptes scabiei* (Agrios, 1985).
2. **Parásitos Heteroxenos o de Ciclo Indirecto**, estos requieren una alternancia de hospederos (definitivos e intermediarios). Estos a su vez pueden subdividirse en Diheteroxenos y Poliheteroxenos (Agrios, 1985).
 - a) Se puede considerar **Diheteroxenos** lo cual hace referencia a dos hospedadores diferentes en los cuales los procesos de evolución son diferentes, los ejemplos más comunes son las solitarias, la *Taenia solium* la cual tiene como hospedero intermediario al cerdo, y la *Taenia saginata*

utiliza como intermediario al ganado bovino. En estos animales se ancla el gusano de varios metros de longitud que puede desprender a diario proglotides y hasta unos 100,000 huevos (Agrios, 1985).

- b) **Poliheteroxenos**, son aquellos parásitos que requiere de más de dos hospedadores invertebrados y uno vertebrado para llevar a cabo su ciclo biológico un ejemplo es el *Paragonimus mexicanus* (Agrios, 1985).

Los procesos biológicos de los parásitos se ven influenciados por diversos factores ambientales y humanos, así como en la presencia de focos naturales que favorezcan o limiten su desarrollo. Los factores ambientales que ejercen una influencia más importante pueden dividirse en dos grandes grupos: Abióticos y Bióticos.

Entre los factores abióticos se encuentra el clima (temperatura, humedad, pluviometría, viento y radiación solar) y los edáficos e hídricos son los factores de mayor importancia y que más influyen en la distribución de los focos naturales de los parásitos. La temperatura ejerce una influencia particularmente cuando su ciclo presenta estadios evolutivos de los mismos en el suelo o en el agua. Un ejemplo es *Ascaris lumbricoides*, se ha comprobado que el desarrollo de sus huevos no llega a producirse cuando la temperatura ambiente se mantiene por debajo de los 15°C o por encima de los 40°C (Agrios, 1985).

Los factores bióticos, como lo es la flora, la vegetación y la fauna ejercen una influencia notable, en el mantenimiento, propagación y distribución de un gran número de parásitos o de sus vectores. La fauna, y la existencia de especies que pueden estar parasitadas, pueden ser el factor determinante de que algunos parásitos lleguen a asentarse, directa o indirectamente, en el hospedador humano (Lordello, 1984).

La forma de contacto y penetración más común se presenta por vía oral, la cual tiene lugar cuando, de modo fortuito o accidental, el hospedador ingiere agua, suelo o alimentos vegetales o animales, o bien otros organismos animales en los que se

encuentran las formas infestantes del parásito (quiste y ooquiste, huevos embrionados o larvas de helmintos) (García, 2001).

La peculiaridad de los helmintos es que dependiendo el género y especie su ciclo biológico es diferente, en donde un parasito adulto llega a producir miles de huevos en un solo día.

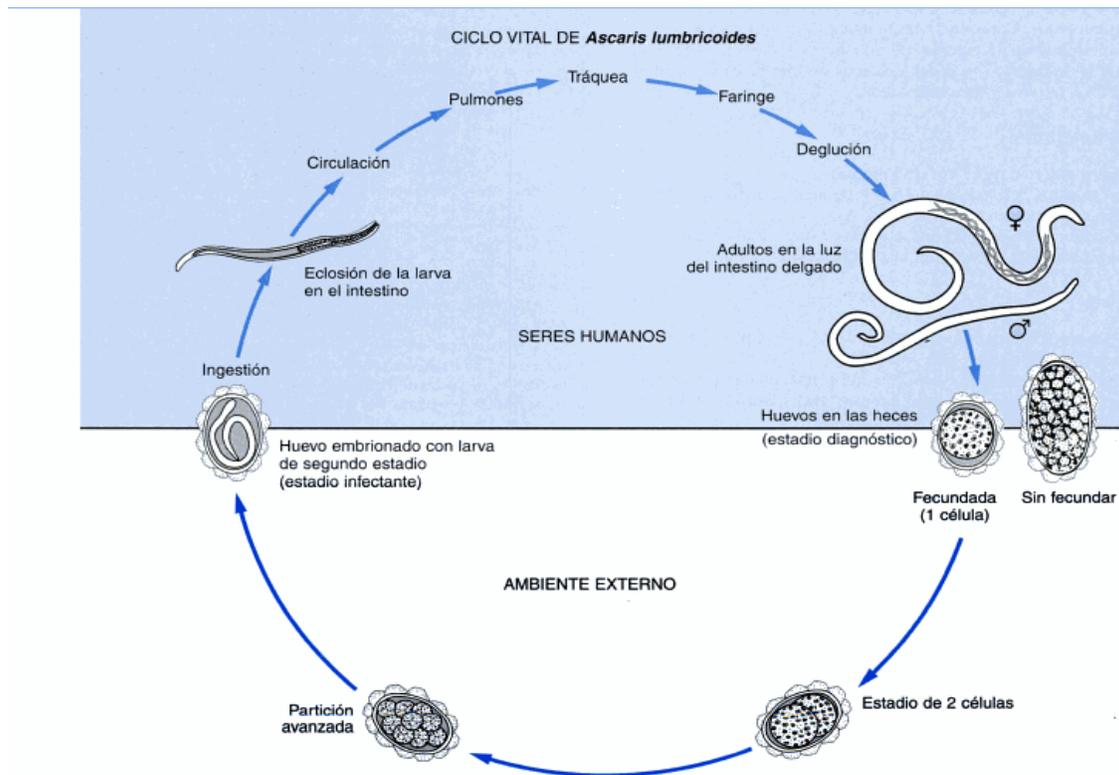


Figura 1. Ciclo biológico de los parásitos (cada especie tiene estadios de evolución particulares) (Taylor *et al.*, 1978).

Existen tres grupos de helmintos de importancia: nematodos (áscaris), cestodos (tenias), y trematodos (diostomas) (Taylor *et al.*, 1978).

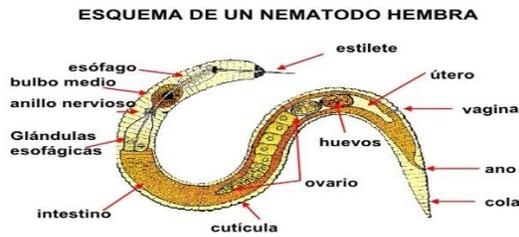


Figura 2. Nematodo (Taylor et al., 1978).

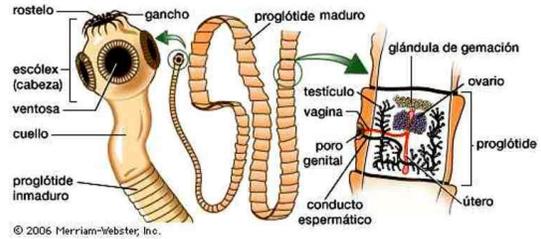


Figura 3. Cestodos (Taylor et al., 1978).

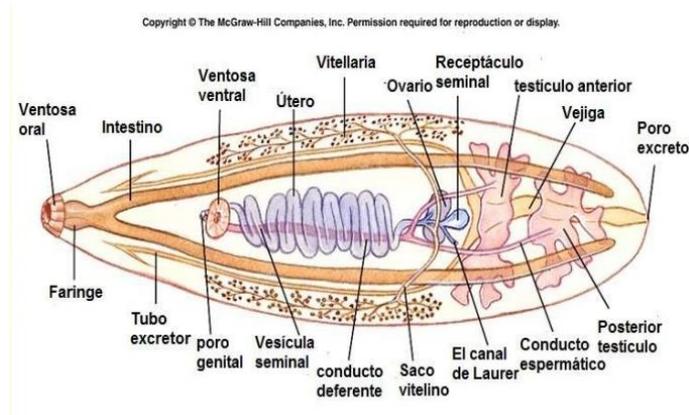


Figura 4. Trematodo (Taylor et al., 1978).

Las fases que normalmente aparecen con las técnicas de diagnóstico son huevos y las larvas. Con menos frecuencia, pueden verse gusanos adultos como en el caso de *Áscaris* o *Enterobius* y el diagnóstico de algunos cestodos se basa en la observación de los segmentos o proglótides. No obstante, en la mayoría de las infecciones por gusanos, la identificación se basa en los huevos (Pajuelo, et al., 2006).

Algunas de las claves de identificación de los huevos son tamaño, la forma, la fase de desarrollo, el grosor, color y características peculiares. En la evaluación del tamaño, se miden la longitud y anchura que se encuentran por lo general dentro de límites específicos para cada género en específico.

La forma, es otro parámetro en donde cada especie tiene una forma particular (Figura 5). La fase o estadio de desarrollo, en algunas especies, los huevos constan

de una sola célula; en otros, pueden tener varias; y en otras especies ya están embrionados (es decir, contienen una larva) cuando se eliminan con las heces.

El grosor de la cubierta del huevo, en algunos tipos de parásitos como *Áscaris* la cual posee una membrana densa; otras, como los anquilostomas, la tiene más fina. El color, algunos huevos son incoloros, mientras que otros son amarillos o marrones. La presencia de ciertas características o estructuras que les confieren peculiaridad como opérculos (tapas), espículas, tapones, ganchos o el número de núcleos que poseen (Dropkin, 1980).

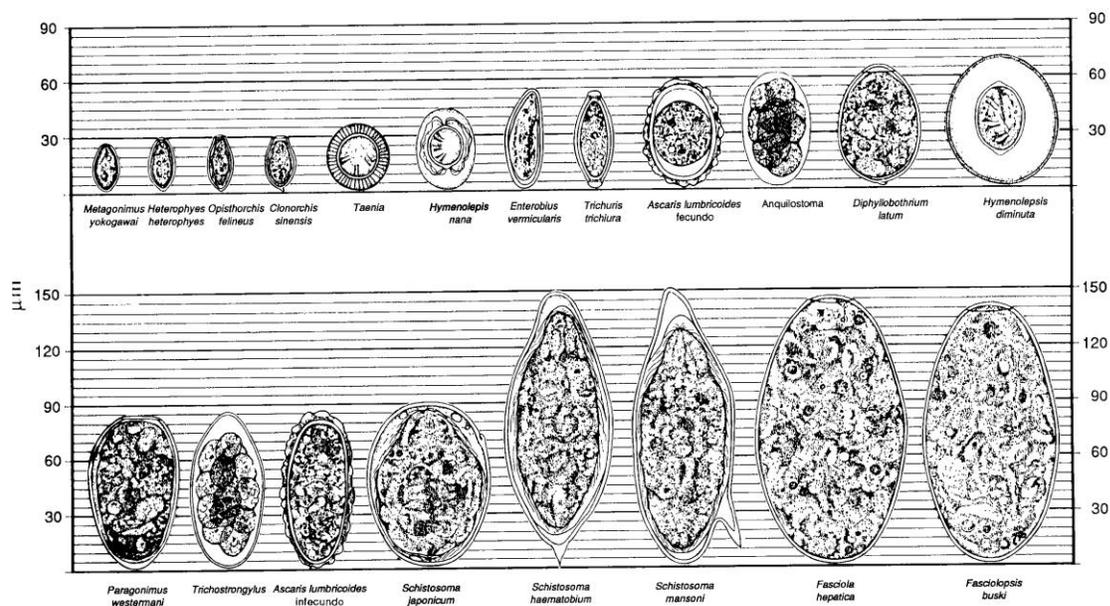


Figura 5. Identificación de parásitos Intestinales (CDC, Villanova, 2000)

Las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Informe de Engelberg para la aplicación de aguas residuales en el suelo, establecen que solamente las aguas que contienen no más de 1 huevo de helminto por litro, pueden emplearse para la irrigación restringida de cosechas. Sin embargo, se ha reportado que estas directrices pueden modificarse aumentando hasta 10 huevos de helminto /L, sin que se registre riesgo a la salud humana (Ayres *et al.*, 1992). En México no solo el agua residual puede ser un factor contaminante, sino que aunado a la

aplicación indiscriminada de estiércoles y/o abonos al suelo la propagación de este tipo de contaminación es extensiva.

La única regulación que se emplea de manera indirecta es la NOM-004-SEMARNAT-2002, la cual establece los límites y especificaciones contaminantes en lodos y biosólidos para su aprovechamiento y disposición final. Sin embargo, esta regulación no incluye abonos orgánicos que por su origen son susceptibles a poseer una carga microbiológica importante que compromete la inocuidad de los cultivos.

Técnicas de determinación y cuantificación

En la actualidad las determinaciones microbiológicas que incluyen los parásitos son además de costosas muy largas aunado a la poca especificidad estas técnicas, las cuales se basan en principios físicos de las larvas y los huevos los cuales bajo condiciones específicas pueden precipitar o flotar a partir de ello se desprende una serie de procedimientos que buscan la identificación y/o cuantificación de parásitos presentes.

Las técnicas de sedimentación, se utilizan para la observación de quistes de protozoos, huevos y larvas de helmintos, pero la desventaja de estas técnicas consiste en que los preparados contienen más residuos que los procesados por flotación. En este caso, el acetato de etilo se usa para extraer los residuos y las grasas de las heces y llevar los parásitos al fondo de la suspensión. Estas técnicas entonces son recomendadas por ser fáciles de realizar, tener baja probabilidad de errores técnicos y recuperar un amplio rango de organismos (García, 2001). Se han descrito una variedad de técnicas especiales para la concentración o sedimentación de parásitos algunos propuestos por Ash, 1987; Beaver, 1984; García, 1999; Isenberg, 1992 y Villanova, 2000.

Las técnicas de flotación permiten la separación de quistes de protozoos y huevos de ciertos helmintos del exceso de residuos mediante el uso de soluciones con elevada gravedad específica. Los elementos parasitarios son recuperados de la capa superficial y los residuos se mantienen en el fondo del tubo. Con estas técnicas

los preparados son más limpios que los obtenidos por sedimentación (Méndez,1998).

OBJETIVO

El presente método tiene por objetivo establecer la técnica para determinar, tipificar y enumerar huevos de helminto presentes en abonos orgánicos, con la finalidad de evaluar la calidad sanitaria del compostaje.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTREO, PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El muestreo constituye una parte integral y fundamental de cualquier programa de evaluación de calidad de abonos orgánicos, por lo cual, se debe efectuar integrando en la muestra todos los estratos de la composta o de la pila de abono. Se debe tomar muestra de la porción superior, media e inferior, con estas porciones se integra generando una muestra compuesta que representa la totalidad de la muestra.

El volumen de muestra depende de la cantidad de material composteado debido a ello es necesario busca el mejor grado de representatividad, por lo cual se sugiere tomar al menos seis sub-muestras que se integren en una muestra compuesta.

Las muestras deben colocarse en un contenedor de plástico, e identificarse con los siguientes datos:

1. Nombre del Sitio,
2. Tipo de Muestra,
3. Fecha de Toma,
4. Responsable de muestreo,
5. Comentarios.

La muestra debe mantenerse a una temperatura de $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta su llegada al laboratorio, a partir de su toma y hasta antes de ser procesada, la muestra debe estar en refrigeración hasta su análisis.

REACTIVOS Y MATERIALES

Reactivos

- ✓ Agua destilada
- ✓ Cloruro de sodio (NaCl)

Materiales

- ✓ Embudo
- ✓ Espátula
- ✓ Gasas
- ✓ Probeta graduada
- ✓ Tubos Falcón
- ✓ Vaso de Precipitado
- ✓ Vidrio de reloj

Aparatos y/o instrumentos

- ✓ Balanza
- ✓ Cámara de Sedgwich-Rafter
- ✓ Centrifuga
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Vortex

PROCEDIMIENTO

Preparación de soluciones

Solución de Cloruro de Sodio al 0.09%, homogenizar 0.9 g de cloruro de sodio y aforar a 1000 ml de agua destilada. Almacenar en un recipiente hermético.

Seguridad

Durante el procesamiento de la muestra se debe utilizar guantes de látex y cubrir boca, para evitar cualquier riesgo de infección.

Se debe lavar y desinfectar el área de trabajo, así como el material utilizado por el analista, antes y después de cada ensayo.

Manejo de residuos

Todos los residuos de la muestra analizada serán esterilizados en autoclave antes de su desecho.

Aquel material que sea reutilizado, pero que no pueda ser esterilizado deberá ser colocado en hipoclorito de sodio (10%) durante un día antes de ser lavado.

Procedimiento de análisis

1. Se realiza la determinación de sólidos totales, y con base en ello se pesan cinco g de muestra y se colocan en un tubo falcón.
2. Se adicionan 20 mL de Solución de Cloruro de Sodio al 0.09%. La mezcla se agita vigorosamente empleando vortex por tres min.
3. La mezcla se filtra colocando gasas sobre un embudo transfiriendo el filtrado a otro tubo.
4. Se le agrega solución de cloruro de sodio hasta obtener un volumen de 50 mL.
5. La mezcla se centrifuga a 1500 rpm por cinco min.
6. Mediante el uso de una pipeta automática se retira el sobrenadante dejando un volumen de 10 mL.
7. Al volumen restante se le agregan unas gotas de Yodo-Lugol.
8. Se toma una alícuota de 1mL y se coloca en una cámara de Sedgewick -Raft.
9. Se procede a realizar la lectura y cuantificación al microscopio. Anexo 7

Expresión de resultados

Los resultados obtenidos se expresan en número de huevos /5g de sólidos totales (volumen de muestra analizada).

$$H/5g \text{ ST}$$

Dónde:

H= Número de huevos leídos en la muestra

gST= Gramos de sólidos totales de la muestra analizada

Interferencias

La sobre posición de estructuras y/o detritus no eliminados en el sedimento puede dar una evaluación errónea al dificultar la lectura. En tal caso, es importante diluir con agua destilada y hacer las alícuotas que se consideren necesarias para que en cada una se realice el conteo.

La falta de experiencia en la identificación de géneros es un elemento común de sobre conteo.

PROCESO DE COMPARACIÓN

La técnica propuesta se contrastó con otras técnicas ya establecidas y empleadas desde hace ya muchos años, aunado a la comparación en eficiencia con la NOM-004-SEMARNAR-2002.

Las técnicas realizadas como métodos de comparación, fueron:

- ✓ Método de Sedimentación de Ritchie (Anexo 2)
- ✓ Método de Charles-Barthelemy (Anexo 3)
- ✓ Método de Concentración por Flotación de Willis (Anexo 4)
- ✓ NOM-004-SEMARNAT-2002 (Anexo 5)

Diseño de experimento comparativo

Se estableció un experimento considerando 15 tratamientos con 10 réplicas, con lo cual se generaron 150 unidades experimentales. El proceso comparativo consistió en probar tres tipos de abonos orgánicos (composta de bovino de engorda, composta de ovino y estiércol crudo). A cada uno de estos abonos se les determinó la concentración de huevos de helminto por cada una de las cinco técnicas propuestas. Se realizó un análisis de varianza de un factor y prueba de Tukey HSD para probar significancia entre los tratamientos con respecto al tiempo de evaluación. Se consideró significancia a un nivel de $P < 0.05$, se empleó en programa SPSS, Versión 18.

A cada una de las unidades experimentales se les realizó la cuantificación de huevos de helminto por medio de observación microscópica empleando la cámara de Sedgewick-Raft.

RESULTADOS EN LA APLICACIÓN DE LA TÉCNICA PROPUESTA

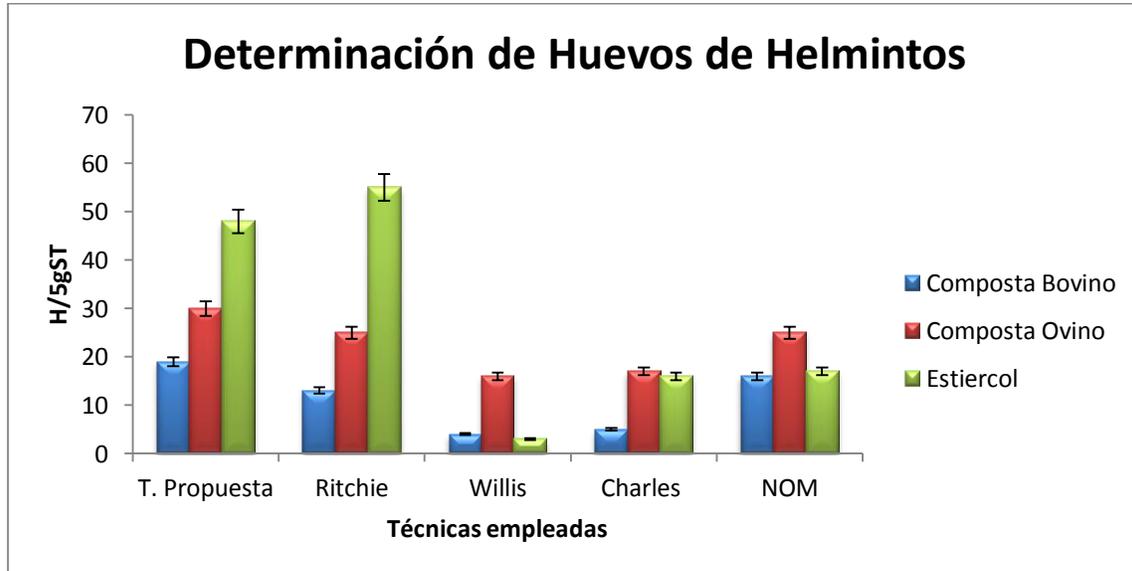


Figura 6. Medias de evaluación de huevos de Helmintos en abonos orgánicos por cinco técnicas analíticas diferentes.

La técnica propuesta mostro un mejor desprendimiento de las estructuras parasitarias de la materia orgánica generando una mejor recolección de los mismos,

aunado a la rapidez diagnóstica que se genera en donde se estima un tiempo de análisis de 30 min por muestra. A diferencia de las técnicas probadas donde se multiplica el tiempo de análisis de varias horas y hasta días.

A excepción de la matriz de estiércol crudo, en donde la técnica de Ritchie presento mayor eficiencia, sin embargo en ambos casos tanto en la composta de bovino como en la composta de ovino se presentó una mayor recuperación de los parásitos.

Cuadro 1. Medias y desviación estándar de las evaluaciones de huevos de Helminthos en abonos orgánicos por cinco técnicas analíticas diferentes. Los superíndices en vertical muestran nivel de significancia (P<0.05)

Técnicas	Composta Bovino	Composta Ovino	Estiércol
T. Propuesta	19 ^a ±2.59	30 ^a ± 3.46	48 ^b ± 3.41
Ritchie	13 ^b ±2.32	25 ^b ± 3.09	55 ^a ±6.17
Willis	4 ^c ± 1.87	16 ^c ± 1.64	3 ^d ± 1.58
Charles	5 ^c ±0.97	17 ^c ± 1.25	16 ^c ± 3.42
NOM	16 ^a ± 3.15	25 ^b ± 1.95	17 ^c ± 1.57

Sin lugar a duda la técnica que presentó menor eficiencia fue la técnica de Flotación de Willis donde las medias fueron considerablemente inferiores al resto de las técnicas evaluadas. La NOM-004-SEMARNAT-2002 presentó un comportamiento similar en el caso de la composta de bovino lo contrario ocurrió con las muestras de estiércol.

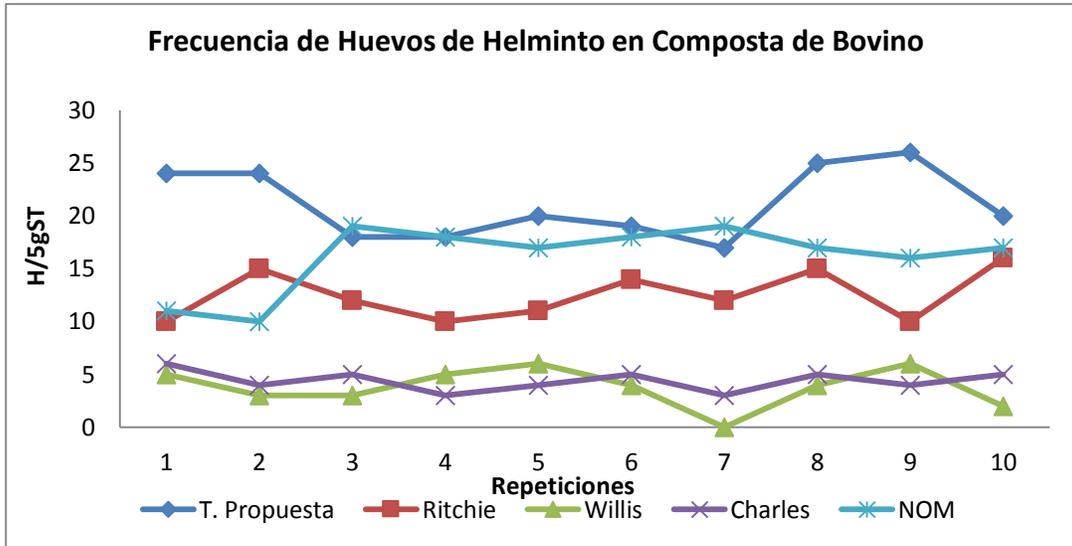


Figura 7. Reproducibilidad de las cinco técnicas para determinación de huevos de helminto en composta de bovino de engorda.

La reproducibilidad de una técnica es determinante en la calidad del resultado obtenido, es posible observar que en el caso de la composta de bovino se mostró una reproducibilidad en la mayoría de las técnicas, en la técnica propuesta por la norma se pueden observar una fluctuación ligeramente mayor que en el resto de los datos presentados.

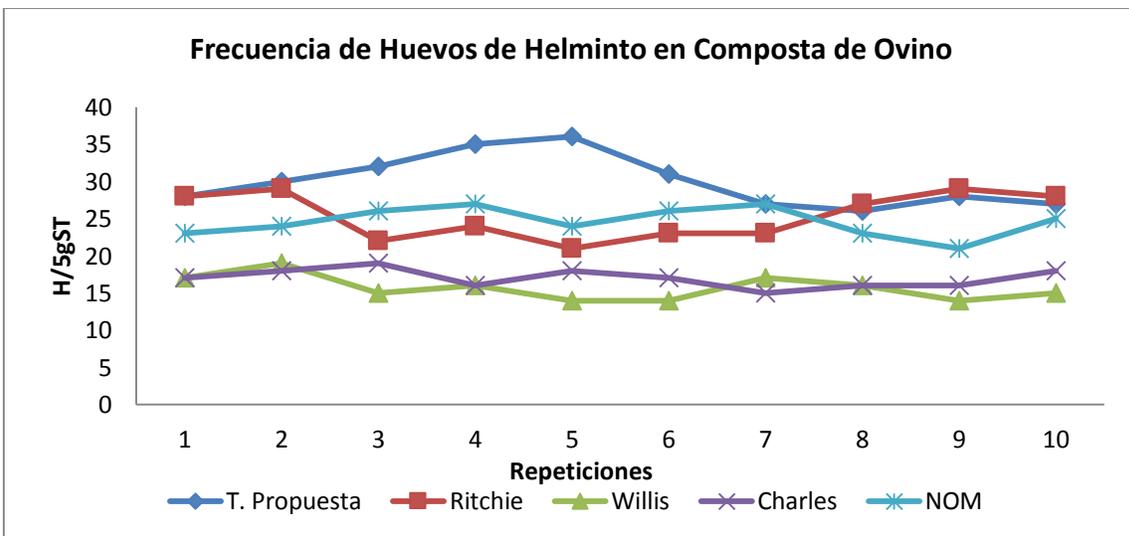


Figura 8. Reproducibilidad de las cinco técnicas para determinación de huevos de helminto en composta de Ovinos.

El caso de la composta de ovino por sus características físicas se pudo observar una mejor reproducibilidad de las metodologías establecidas. Las diferencias del tamaño de partícula a la cual se encontró esta matriz favorecieron el proceso de cuantificación y la reproducibilidad entre sus determinaciones.

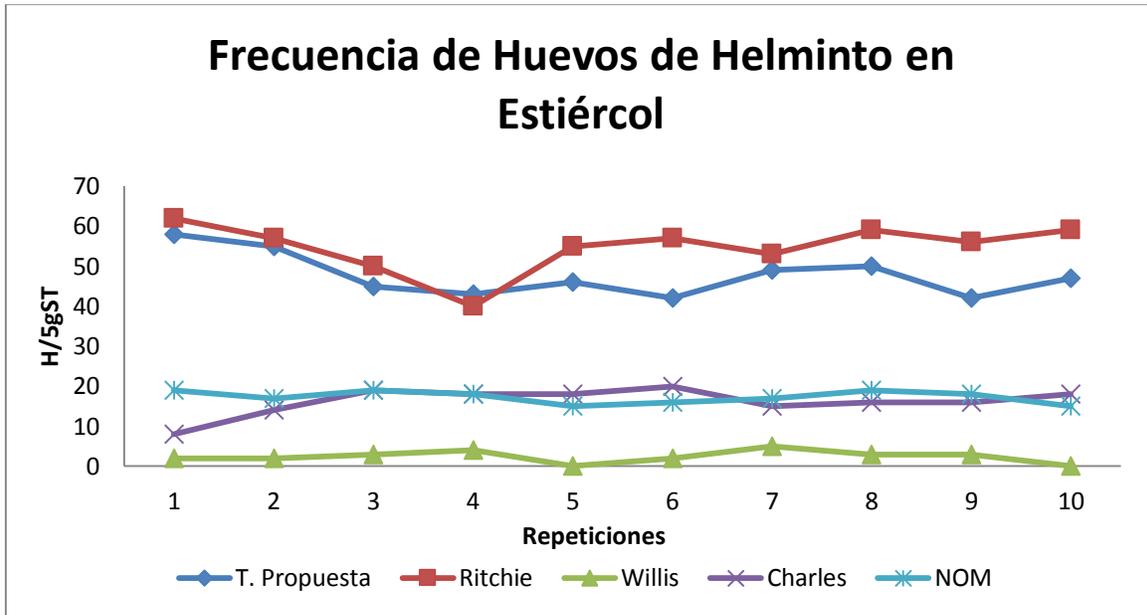


Figura 9. Reproducibilidad de las cinco técnicas para determinación de huevos de helminto en estiércol crudo.

El caso del estiércol se tuvo una coherencia más notable entre los datos obtenidos bajo las técnicas de Ritchie y la técnica propuesta. Donde la baja eficiencia de la técnica de la NOM permite tener una sub-detección.

La eficiencia se calculó basada en la siguiente ecuación:

$$Eficiencia = \frac{HH \text{ detectados}}{\text{Límite máximo de detección}} * 100$$

Cuadro 2. Matriz de evaluación de las técnicas evaluadas para la determinación de huevos de helminto en abonos orgánicos.

Técnica	Reactivos empleados	Ventajas	Desventajas	Eficiencia
Técnica Propuesta	*Cloruro de Sodio	de *Rapidez *tiempo analítico de 30 min *Alta capacidad de Recuperación	*Interferencias visuales por solidos disueltos.	84.76%
Método de Sedimentación de Ritchie	*Solución salina *Formaldehido *Éter *Lugol	*Buena capacidad de recuperación	*Reactivos Tóxicos *Tiempo analítico de 90 min aprox. *Costos superiores por manejo de reactivos	70.33%
Método de Charles-Barthelemy	*Solución Salina *Formaldehido *Ácido cítrico *Éter	*	*Cosos superiores por manejo de reactivos *Baja sensibilidad	30.54%
Método de Concentración por Flotación de Willis	*Cloruro de Sodio *Lugol	*	*Muy baja eficiencia en recuperación.	20.76%
NOM-004-SEMARNAT-2002	*Tween 80 *Sulfato de Zinc *Ácido nítrico *Etanol *Éter *Ácido Sulfúrico	*Aceptable capacidad de recuperación. *Metodología exhaustiva	*Costos elevados por cantidad de reactivos. *Tiempo analítico de aproximadamente 5 días *Mayor limpieza visual al análisis.	53.32%

RECOMENDACIONES

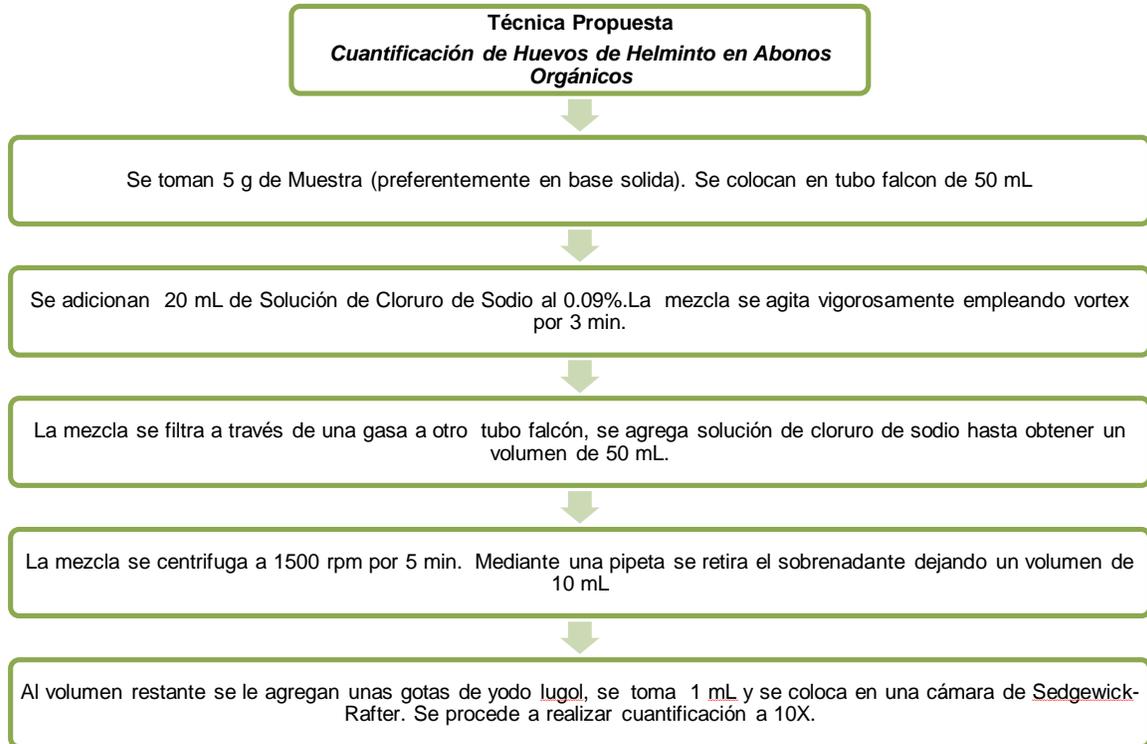
Las metodologías revisadas muestran una eficiencia variable entre el tipo de matriz empleada, en donde se puede observar una coherencia más definida entre los tipos de muestra en la determinación por la técnica propuesta en este documento.

Los abonos orgánicos por sus características biológicas deben ser analizados a detalle para evitar las posibles implicaciones sanitarias. En la búsqueda de generar una conciencia de análisis se está aportando esta opción analítica que favorezca en un análisis eficiente, rápido y de bajos costos.

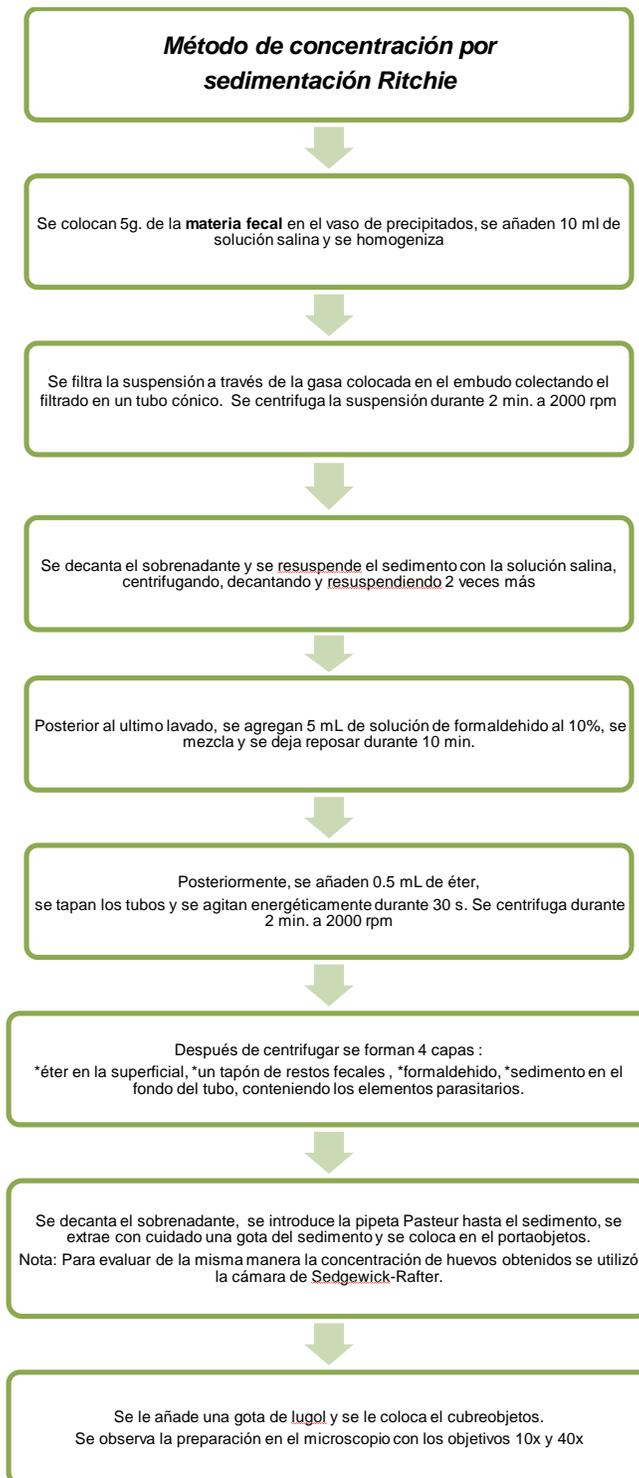
BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G.N. 1985. Fitopatología. 2° ed. Ed. Limusa, México. 756pp.
- Ash LR, Orihel TC. 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. Chicago, ASCP Press.
- Ayres, R.M., Stott, R., Mara, D.D., Lee, D.L. 1992. Wastewater reuse in agriculture and the risk of ontestinal nematode infection, *Parasitology Today* 8(1).
- Beaver PC. Jung RC Cupp EW. 1984. *Clinical Parasitology* 9th ed. Philadelphia Lea & Febiger.
- Dropkin, V.H. 1980. Introduction to plant nematology. John Wiley & Sons, EEUU. 216pp.
- Fraga, C.P. 1984. Introducción a la nematología agrícola. 2° ed. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. 119pp.
- Garcia L S. 2001. Macroscopic and microscopic examination of fecal specimens. In *Diagnostic medical parasitology*. ASM Press, Washington D.C. 741-85.
- Garcia LS. 1999. *Practical Guide to Diagnostic Parasitology*. Washington DC American Society for Microbiology.
- García Martos P., Paredes Salido F, Fernández del Barrio M.T..1994. *Microbiología clínica práctica*. 2ª ed, 1994.
- Isenberg HE.1992. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Vols 1 and 2 Washington DC American Society for Microbiology.
- Lordello, G.E. 1984. *Nematoides das plantas cultivadas*. 8ed. Sao Paulo, Nobel. 314pp.
- Méndez O.C.1998. *Lecciones prácticas sobre enteroparasitosis humanas*. Edit. Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, Argentina 165 p.
- Pajuelo-Camacho G., Lujan-Roca D., Paredes Pérez B., Tello-Casanova R. 2006. Aplicación de la técnica de sedimentación espontanea en tubo en el diagnóstico de parásitos intestinales. *Rev. Biomed* 17:96-101
- Taylor, A.L .; Sasser, J.N. 1978. *Biology, identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne spp.)*. Department Plant Pathology, North Carolina State University, and U.S. Agency for International Development, Raleigh. 111pp.
- Villanova PA. 2000, National Committee for Clinical Laboratory Standards: Laboratory diagnosis of blood borne parasitic diseases approved guideline. NCCLS Document M-15-A

Anexo 1.



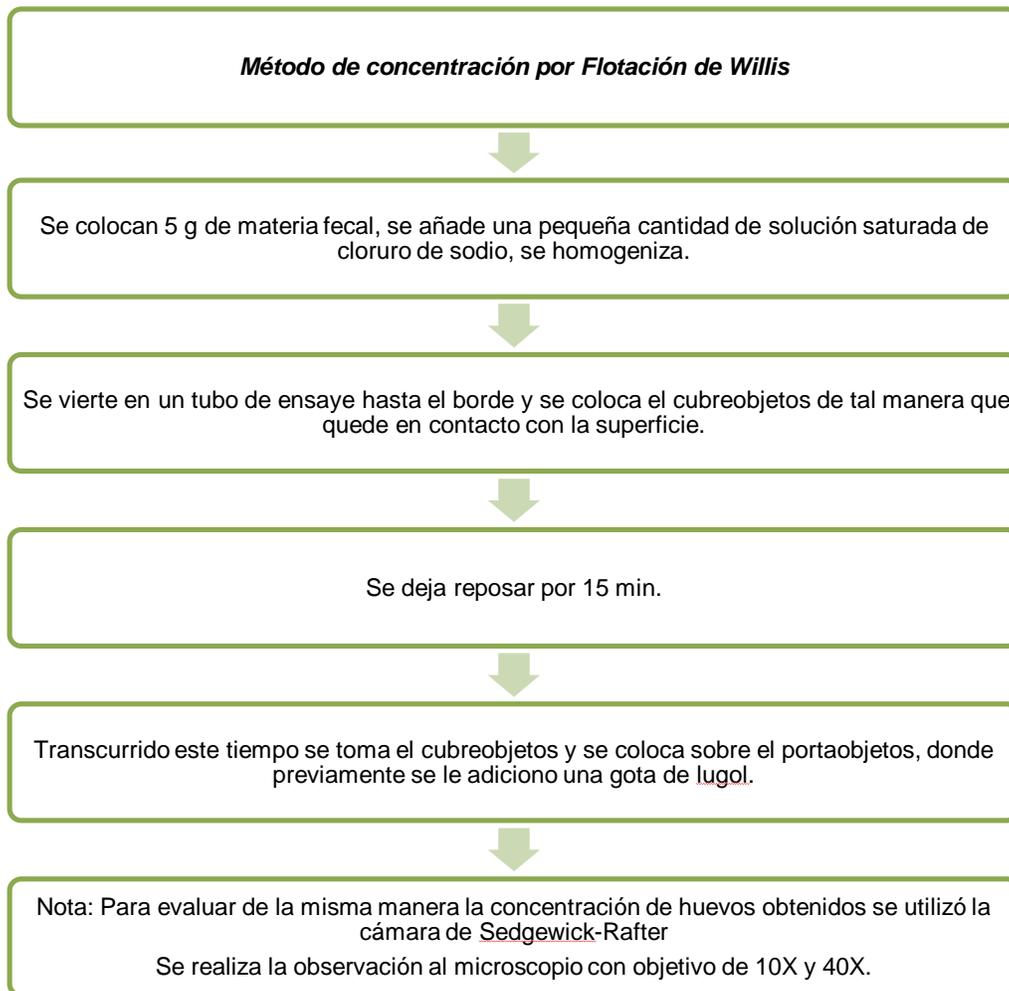
Anexo 2.



Anexo 3



Anexo 4

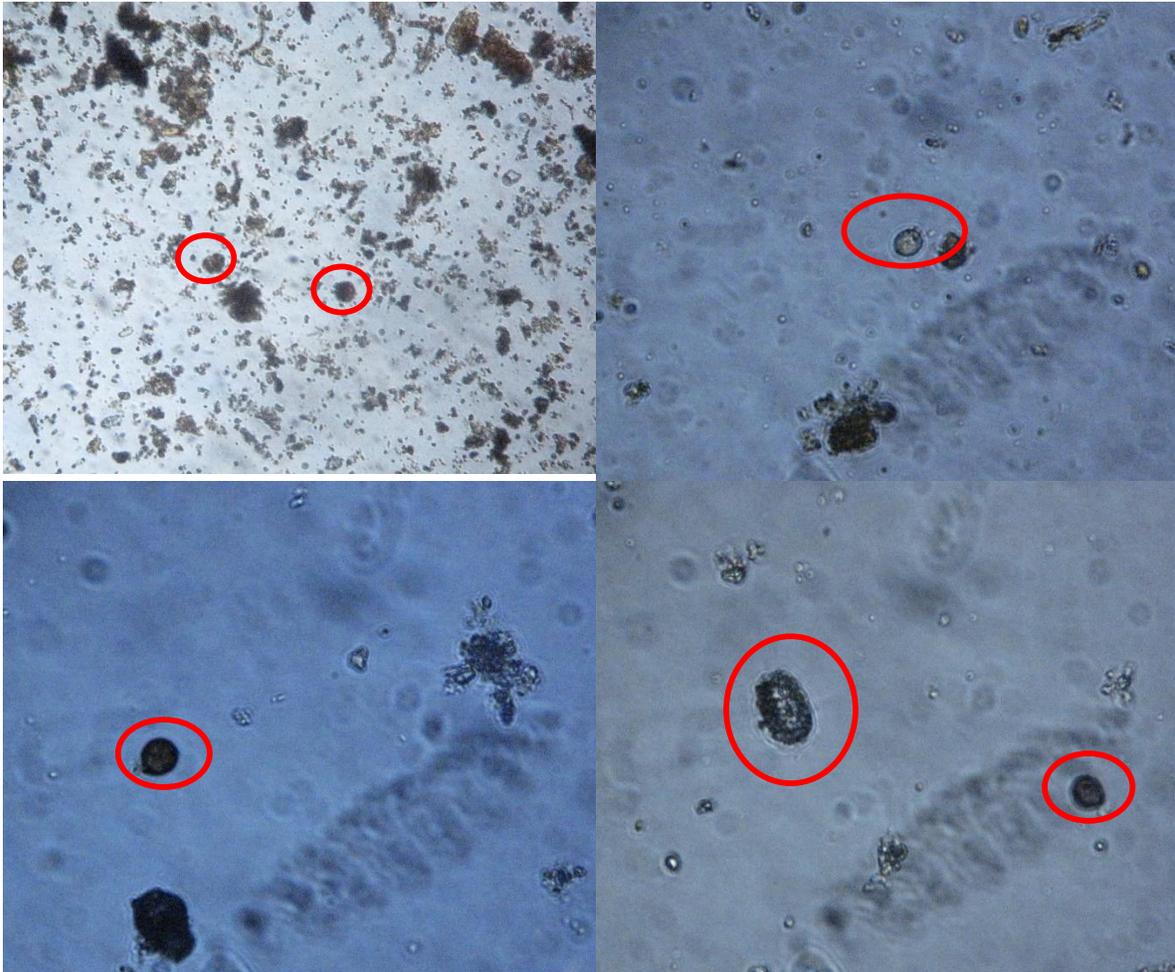


Anexo 5

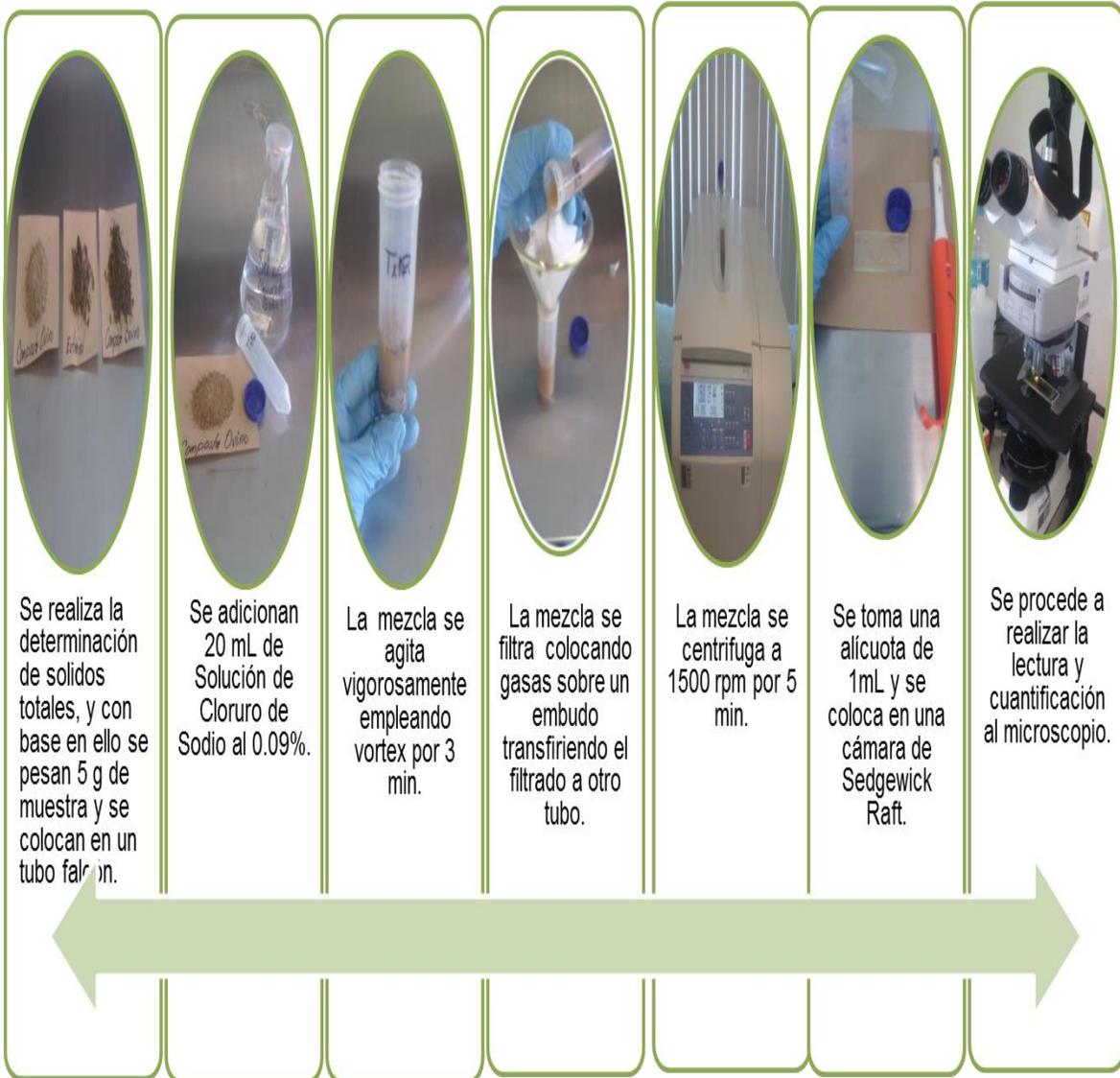


Anexo 6.

Foto galería de observaciones realizadas de los parásitos en las muestras de abonos orgánicos por la técnica propuesta.



Anexo 7



Comité Editorial del CENID RASPA

Presidente: Dr. Ignacio Sánchez Cohen

Secretario: M.C. Miguel Rivera González

Vocal: Dr. Juan Estrada Avalos

Vocal M.C. Gerardo Esquivel Arriaga

Revisión Técnica

Dra. Concepción García Lujan

Esta Publicación se terminó de imprimir
en el mes de Diciembre de 2015 en los
Talleres de Carmona Impresores S.A. de C.V.
Blvd. Paseo del Sol No. 115
Torreón Coahuila México
Su tiraje consta de 500 ejemplares

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN DISCIPLINARIA EN LA RELACIÓN AGUA SUELO PLANTA ATMOSFERA

Dr. Juan Estrada Avalos
Director

Ing. Armando Estrada González
Jefe de Operación

Lic. Flor Carina Espinoza Delgadillo
Jefe Administrativo

Personal Investigador

M.C. Abel Román López
Dr. Ernesto Alonso Catalán Valencia
M.C. Gerardo Delgado Ramírez
M.C. Gerardo Esquivel Arriaga
Dr. Guillermo González Cervantes
M.C. Hilario Macías Rodríguez
Dr. Ignacio Sánchez Cohen
Dr. Jesús Arcadio Muñoz Villalobos
Dr. José Luis González Barrios
Dr. José Villanueva Díaz
M.C. Julián Serano Paredes
M.C. Lourdes Lucia López Romero
Dr. Marco Antonio Inzunza Ibarra
M.C. María del Rosario Jacobo Salcedo
Dr. María Magdalena Castorena
Dr. Miguel Agustín Velázquez Valle
M.C. Miguel Rivera González
M.C. Palmira Bueno Hurtado
M.C. Ramón Trucios Caciono
Ing. Vicenta Constante García

[WWW.INIFAP.GOB.MX](http://www.inifap.gob.mx)

El uso de abonos orgánicos es una práctica ancestral, que ha sido empleada para conservar y optimizar la disponibilidad de nutrimentos en el suelo, generando una mejora en el rendimiento de los cultivos. Es posible considerar como abonos orgánicos a los abonos verdes, aguas negras, compostas, estiércoles, residuos de las cosechas, residuos orgánicos industriales, sedimentos orgánicos y vermicompostas. Sin embargo, uno de los aspectos poco atendidos de estos abonos orgánicos, son las características sanitarias una vez que han sido transferidos al suelo. Siendo una de las principales, la determinación y cuantificación de huevos de helminto. Los métodos establecidos para dichas evaluaciones son costosos además que llevan un largo tiempo de análisis y no son específicos para matrices como lo son las compostas. De esto parte la necesidad de realizar esta determinación basada en un método rápido, confiable y de costos accesibles para sus usuarios.