

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

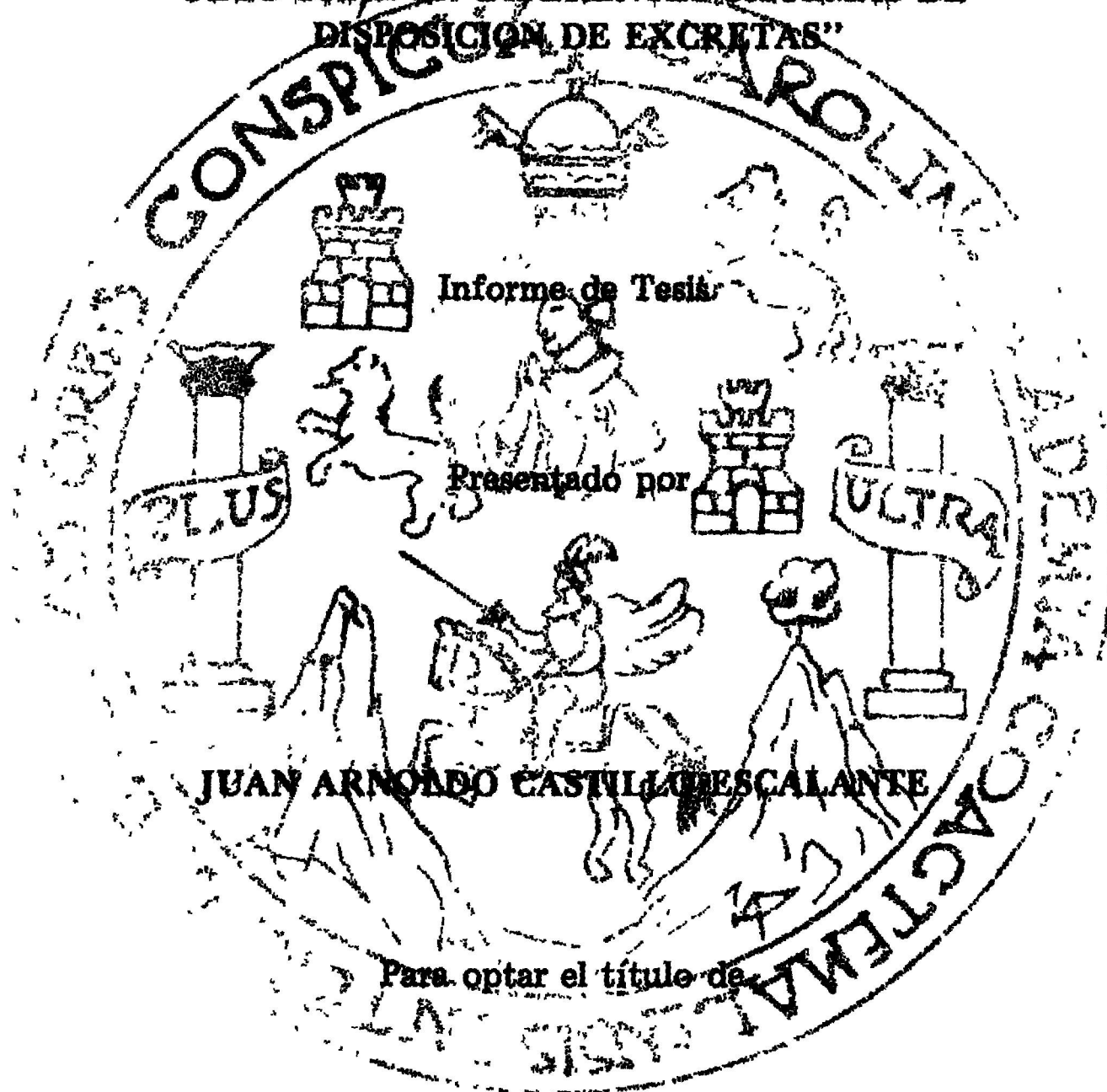
**“AISLAMIENTO DE VIRUS DE TRANSMISION
FECO-ORAL EN DIFERENTES SISTEMAS DE
DISPOSICION DE EXCRETAS”**

JUAN ARNOLDO CASTILLO ESCALANTE

Guatemala, Febrero de 1981

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**"AISLAMIENTO DE VIRUS DE TRANSMISION
FECO-ORAL EN DIFERENTES SISTEMAS DE
DISPOSICION DE EXCRETAS"**



QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, Febrero de 1981

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

Decano:	Lic. LEONEL CARRILLO
Secretario:	Licda. MARIA DEL CARMEN BRAN
Vocal 1o.:	Dr. JOSE HECTOR AGUILAR
Vocal 2o.:	Lic. ENRIQUE BLANCO
Vocal 3o.:	Lic. JUSTO COMAS
Vocal 4o.:	Br. FERNANDO GAMBOA
Vocal 5o.:	Br. JUANA CASTELLANOS

DEDICO ESTE ACTO

A la memoria de mi querida madre:

Sofía Escalante de Castillo

A mi Padre:

Juan Salomón Castillo

A mi Esposa:

Clemencia Alvarez de Castillo

A mis Hijos:

Juan Pablo

Emma Sofía

María Alejandra

A mis Hermanos:

**Coralia, Eduardo, Rudy,
Carlos y Silvia**

A mis Abuelos: especialmente a Salomé Castillo

A mis tíos, primos y sobrinos en general.

**A todas aquellas personas de mi cariño, especialmente a la
Familia Alvarez-Gill**

A la memoria de Clemencia Beteta

DEDICO ESTA TESIS

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Al Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá

Al Centro Mesoamericano de Estudios Sobre Tecnología Apropriada

Al Hospital Nacional de Huehuetenango

MI SINCERO AGRADECIMIENTO

Al Licenciado Armando Cáceres

Al Doctor Ramiro Cruz

Al Doctor Juan José Urrutia

A todas las personas e instituciones que en una u otra forma me brindaron su colaboración en el desarrollo de esta tesis especialmente al Sr. Roberto Rosales y a Gustavo Ramírez,

INDICE

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III ANTECEDENTES	5
A. Consideraciones generales	5
B. Deposition de excretas y contaminación fecal en los países en desarrollo	7
C Alternativas para mejorar el medio ambiente en el área rural	8
D. Microorganismos patógenos al hombre de transmisión feco-oral	16
E. Virus de transmisión feco-oral	16
F Metodologías empleadas para el análisis de efluentes	22
IV. JUSTIFICACIONES	25
V OBJETIVOS	27
VI HIPOTESIS	29
VII ASPECTOS METODOLOGICOS	31
VIII RESULTADOS	37
IX. DISCUSION	39
X. CONCLUSIONES	43
XI. RECOMENDACIONES	45
XII BIBLIOGRAFIA	47
XIII ANEXOS	

I. RESUMEN

La presente investigación, se realizó con el principal objetivo de evaluar el efecto de la biodegradación que se lleva a cabo en diferentes sistemas de disposición de excretas, sobre los virus que se transmiten por la vía feco-oral.

Se estudiaron un total de 66 muestras recolectadas en un período de 12 meses, a partir de aguas negras provenientes de desagües, plantas de tratamiento de aguas negras, letrinas de pozo, letrinas productoras de abono y digestores de bio-gas.

De los nueve enterovirus aislados, seis correspondieron a muestras provenientes de letrinas de pozo (todos poliovirus) y los tres restantes (dos polio y uno no polio), a lodos en proceso de digestión provenientes de tres distintas plantas de tratamiento de aguas negras. Todas las muestras provenientes de letrinas aboneras y de digestores de bio-gas (35 en total), fueron negativas para estos virus. No se logró demostrar la presencia de rotavirus en ningún caso.

De los resultados obtenidos se concluye que las letrinas aboneras y los digestores de bio-gas, son eficaces en inactivar los virus. Las plantas de tratamiento solamente son capaces de retirarlos de las aguas negras que recolectan; al salir estas de los tanques y ser descargadas en otras masas de agua, es probable que estén exentas de virus o que presenten niveles bajos de infecciosidad.

Así mismo, se concluye que la metodología usada para la concentración de virus, es eficaz cuando se utilizan lodos. Para virus diluidos en sistemas que involucran volúmenes grandes de agua, no posee mayor sensibilidad. Obviamente este trabajo no pretendió demostrar la sensibilidad de la metodología, sino encontrar un procedimiento que comparara los resultados obtenidos por otros autores.

II. INTRODUCCION

Guatemala es un país económicamente agrícola-forestal, con serios atrasos en su desarrollo político y socioeconómico. La gran mayoría de sus habitantes viven en un medio humano en el que prevalece la malnutrición, el analfabetismo y la miseria. La salud en general es insatisfactoria debido, principalmente, a un saneamiento ambiental pobre propiciado por malos hábitos higiénicos y por la falta de suministros adecuados de agua y de instalaciones sanitarias para una deposición higiénica de las excretas.

Esto trae en consecuencia que sea la contaminación feco-oral una de las causas principales de enfermedad (cuadro No. 1) que se manifiesta como altos índices de morbi-mortalidad por enfermedades diarreicas y parasitismo intestinal.

Es evidente que cualquier conglomerado humano produce grandes cantidades de excretas que se desperdician y que resultan ser contaminantes.

En la ciudad de Guatemala por ejemplo, se estima una producción promedio de 2.25×10^3 toneladas/día de excretas que son descargadas en los ríos sin tratamiento alguno. Esto conlleva tanto el desperdicio de las mismas, como la consiguiente contaminación de los ríos cuyas aguas son utilizadas en su trayecto por otros conglomerados humanos.

La experiencia de varios países demuestra que las excretas procesadas adecuadamente o digeridas, pueden mejorar considerablemente la calidad del suelo, evitar la contaminación fecal y de paso proveer de gas natural (bio-gas) como el metano para usos domésticos (85).

En base a tales experiencias y, con el propósito de encontrarle solución a este tipo de problemas, existen en Guatemala instituciones que han propuesto y tienen en estudio, sistemas de tratamiento de excretas como letrinas aboneras, digestores de bio-gas y plantas de tratamiento de aguas negras provenientes de desagües.

El presente trabajo se propuso evaluar la calidad de la degradación que como consecuencia de la actividad microbiana (biodegradación) presentan los diferentes sistemas mencionados, en la inactivación de los virus de transmisión feco-oral. Con este propósito, se utilizó como indicador el virus de la poliomielitis, cuya presencia en desagües, lodos y ambientes similares ha sido ampliamente demostrada (7, 11, 33). Así mismo, se investigó la presencia de rotavirus, de los cuales se desconoce su comportamiento en estos ambientes.

III. ANTECEDENTES

A. Consideraciones Generales

La salud y el bienestar de una comunidad o de un individuo en particular, dependen básicamente de su grado de desarrollo socioeconómico, así como de una serie de factores ambientales ya sea naturales o bien artificiales creados por el propio hombre.

Dichos factores que a menudo son interdependientes, se dividen desde el punto de vista epidemiológico en factores físicos, químicos, biológicos y sociales. Los factores más importantes del ambiente físico lo constituyen el agua, suelo, aire, clima, etc. Los factores químicos son todos aquellos componentes orgánicos e inorgánicos que intervienen en el metabolismo de los seres vivos. Los factores biológicos incluyen los virus, bacterias, parásitos y seres vivos. Finalmente, los factores sociales están constituidos por las costumbres, creencias, tradiciones, religión y organización política (5, 68).

Todos estos factores han sido diferentes a través de la historia dado que el hombre los ha ido modificando de acuerdo a sus necesidades. El hecho de que en la antigüedad las principales causas de enfermedad y muerte se debían más que todo a la adversidad de los factores naturales y el afán del hombre en buscar un grado cada vez mayor de bienestar y comodidad materiales, ha contribuido en gran parte a su modificación (5).

En base a las consideraciones anteriores, se puede afirmar que el hombre ha creado su propio ambiente, principalmente en los países desarrollados, cuyos habitantes en su mayoría disfrutaban de una mejor manera ese bienestar y progreso material. Sin embargo tal situación los ha llevado paradójicamente a poner en peligro su existencia, pues al mismo tiempo que han modificado esos factores que les eran adversos, han creado otros nuevos que también van en detrimento de su salud, quizá de un modo más insidioso y complejo que las enfermedades transmisibles y falta de higiene, que en épocas pasadas padecieron y que caracteriza hoy en día a los países en vías de desarrollo.

El progreso logrado por las sociedades avanzadas ha dado como resultado una contaminación ambiental, caracterizada por la presencia de sustancias extrañas y nocivas en el aire, suelo y agua, como consecuencia de la falta de planificación urbana y poco reglamentada industrialización (21).

Los estudios de varios investigadores demuestran como los efectos biológicos de diversas formas de contaminación física y química del medio ambiente, se hacen más evidentes en los países industrializados.

En el caso de la contaminación del aire, sirven de ejemplo los trágicos episodios del valle de Mosa (1938), de la zona de Donora en Pensilvania (1948) y Londres (1952), en los cuales hubo un aumento de mortalidad y de morbilidad debido a contaminación atmosférica. Esto se demostró a expensas de personas con bronquitis y en menor grado con coronariopatías y cardiopatías (5, 21).

La utilización de una vasta gama de productos químicos en la agricultura, la descarga de grandes cantidades de desechos domésticos e industriales ha dado origen a la contaminación del suelo y del agua (21).

Por consiguiente, en los países industrializados son los factores ambientales resultantes del desarrollo los que más influyen directa o indirectamente en la salud. En los países en vías de desarrollo, las principales causas de enfermedad y muerte son factores del medio ambiente

natural. Entre éstos el agua reviste particular importancia. La mayor parte de población en éstos países carece no sólo de un adecuado suministro de agua sino de medios higiénicos aceptables para la eliminación higiénica de las excretas (30).

La importancia de las enfermedades diarreicas y las infecciones respiratorias como causa de mortalidad infantil es evidente en los países en desarrollo (cuadro No. 1).

En Guatemala, 42.5 por ciento de defunciones durante 1977 ocurrió en niños menores de cinco años. Más de la quinta parte de defunciones en 1975 se debió a enteritis y otras enfermedades diarreicas que ocuparon el primer lugar entre las causas de mortalidad (108).

Estas cifras demuestran claramente la influencia que tienen los factores naturales del ambiente sobre la salud de los habitantes de los países en desarrollo. Tal influencia se manifiesta en mayor grado en el área rural cuyos pobladores han estado durante años marginados de todo adelanto técnico-cultural.

Es de suponer que el triunfo sobre este tipo de enfermedades, depende de una multitud de factores ambientales, principalmente de tipo social. Entre ellos cabe mencionar el mejoramiento de la higiene y sobretodo, la instalación de sistemas adecuados para el abastecimiento de agua potable y para la eliminación de excretas. Sin embargo, no debe olvidarse que en los últimos años, Guatemala ha iniciado un período de desarrollo industrial y agrícola, que viene a aumentar los riesgos de enfermedad como causa del mismo desarrollo.

La contaminación ambiental producto del semidesarrollo por el que Guatemala actualmente atraviesa, comienza a manifestarse principalmente en los ríos y otros cuerpos de agua, tal como lo demuestran los estudios de Muñoz (78) quien atribuye la contaminación a tres razones:

- “Una deficiente e incompleta técnica de saneamiento urbano, de disposición de excretas y desechos industriales”.
- “Una intensa explotación agrícola que utiliza para mejorar el rendimiento y la producción, métodos y técnicas de fertilización y control de plagas a base de productos químicos que interfieren con el equilibrio ecológico natural”.
- “Un inadecuado manejo y explotación del suelo, lo cual se traduce en un exagerado desarrollo de la erosión, pérdida del suelo y enturbiamiento de las aguas”.

La contaminación del aire y del suelo también comienza a ser evidente. Una de las causas principales es el uso de insecticidas y plaguicidas en la agricultura. Si bien es cierto que estos son de utilidad para el cultivo de ciertas plantas, también interfieren con el equilibrio ecológico natural, al destruir microorganismos (placton) que son la base de la cadena alimenticia y de la producción de oxígeno. Además, intoxican directamente al hombre como puede observarse en el cuadro No. 2 que demuestra las proporciones alarmantes que este problema adquiere en Centroamérica (108).

Como podrá notarse, en los países desarrollados la atención principal es actualmente hacia aquellos factores creados por el propio hombre, una vez los factores de orden natural han sido controlados en su mayor parte. En los países subdesarrollados la situación resulta ser más compleja dado que, además de que aún persisten los problemas del ambiente natural adverso, la contaminación ambiental originada del semidesarrollo, empieza a mostrar sus efectos.

Las enfermedades nutricionales y carenciales son otro gran problema de salud que

afrontan la mayoría de países en desarrollo. Dicha situación tiene su origen en la pobreza característica de todos aquellos países que aún dependen de la agricultura tradicional utilizando técnicas rudimentarias. Es bien conocido el hecho de que cualquier tierra fértil puede transformarse en tierra desprovista de toda fertilidad como consecuencia de prácticas agrícolas deficientes (80).

Por lo tanto, es necesario darse cuenta que, para aumentar la productividad agrícola y, en consecuencia la disponibilidad de alimentos, deben emplearse métodos perfeccionados que incluyan semillas mejoradas, fertilizantes adecuados, mejor aprovechamiento de las aguas, protección de cultivos, instrumentos perfeccionados y, en general, normas más altas de cultivo como las utilizadas hoy en día en los países desarrollados.

Es lógico pensar que la mayor parte de problemas que se confrontan actualmente en los países subdesarrollados podrían resolverse utilizando la tecnología que algunos países desarrollaron para alcanzar mejores condiciones de vida. Sin embargo, debe reconocerse que todo desarrollo material trae consigo un deterioro ambiental (21). No obstante ya que nuestro desarrollo material no llega aún al nivel de los países industrializados, lo ocurrido en ellos debe servirnos de advertencia, al mismo tiempo que debemos beneficiarnos de los errores y experiencias de éstos y, desarrollar tecnologías apropiadas que eviten el deterioro ecológico que el mismo desarrollo propicia.

B. Deposición de Excretas y Contaminación Fecal en los Países en Desarrollo.

La mayor parte de la población en los países en desarrollo vive en el área rural en un medio humano dominado por la malnutrición, el analfabetismo y la miseria.

Los malos hábitos higiénicos así como la falta de suministros adecuados de agua e instalaciones apropiadas de disposición de excretas, favorece la perpetuación de un ambiente altamente contaminado, en donde los alimentos, el agua y los desechos humanos son los principales factores que intervienen en la propagación de enfermedades entéricas humanas (30, 67).

La publicación de numerosos trabajos realizados en Guatemala, demuestran el alto grado de contaminación fecal que existe en las poblaciones rurales. Esta se manifiesta por la prevalencia e incidencia de parasitismo intestinal y de enfermedades diarreicas, cuyas tasas de morbilidad y mortalidad continúan siendo altas, principalmente en niños menores de cinco años (35, 66, 67).

Beck y colaboradores (4), encontraron durante las primeras encuestas hechas en Guatemala, tasas de prevalencia de Shigella y Salmonella de 7.5 y 0.5 por ciento respectivamente, en niños menores de 10 años del área rural.

Estudios llevados a cabo por Gordon y colaboradores (36), en comunidades del altiplano y de la costa del país indicaron que el mayor potencial de infección por Shigella y Salmonella, ocurría durante los meses de marzo y junio. Así mismo, señalan que la prevalencia promedio de éstos dos agentes era de 6 y 0.2 por ciento respectivamente, en niños menores de nueve años de edad.

Shiffman y Schneider (89), establecieron que el 96 por ciento de personas que viven en el área rural, tenían al menos una o varias especies de helmintos y/o protozoos en sus evacuaciones, mientras que el porcentaje de Shigella y Salmonella aislados de cultivos hechos en niños aparentemente sanos, fue de 10 a 18 por ciento. En el mismo trabajo se demostró la función que desempeña el agua contaminada en la transmisión de enfermedades entéricas. Este hallazgo fue corroborado por los estudios de Cáceres y Torres en el lago de Atitlán (10).

En ambos casos, la presencia de patógenos entéricos en el agua, pudo atribuirse a contaminación por las heces humanas.

El papel que el medio ambiente juega en la prevalencia de enfermedades entéricas, ha sido determinado claramente en varios trabajos realizados en Guatemala por Mata y colaboradores (63, 66, 67, 68).

Uno de estos trabajos (63), demuestra la influencia de dicho ambiente en la colonización intestinal por virus, bacterias y parásitos, en niños recién nacidos y niños de edad preescolar.

Estos autores lograron demostrar como la influencia del medio ambiente se hace más evidente a medida que el niño va siendo mayor. Consideran que el recién nacido rural posee una marcada resistencia proporcionada por la leche materna; sin embargo a medida que el niño deja de ser amamantado y empieza a recibir alimentos suplementarios, se observan tasas más elevadas de enfermedades diarreicas, como consecuencia de la continua exposición a agentes entéricos presentes en los alimentos que le son administrados (63, 66, 67).

El patrón de contaminación fecal que se observa en las áreas marginales o periurbanas, probablemente sea bastante similar al observado en el área rural. Juegan un papel importante el fecalismo indiscriminado en los alrededores de la casa y la inexistencia de sistemas adecuados de drenaje. Generalmente los desagües corren a flor de tierra, lo que representa un peligro para la salud.

Históricamente, las autoridades encargadas de proporcionar servicios de salud y mejorar las condiciones ambientales en los países en desarrollo, han dado preferente atención al saneamiento urbano, en detrimento del área rural que se ve siempre marginada del desarrollo general.

El establecimiento de servicios de agua potable así como de instalaciones para la eliminación de desechos domésticos por medio de alcantarillados ha contribuido en gran parte a mejorar los problemas de salud en las zonas urbanas (5, 21). El hecho de que se cuente con estos servicios, conlleva la utilización de sistemas adecuados para la deposición higiénica de las excretas. Sin embargo, todos los desperdicios domésticos e industriales son generalmente descargados en ríos o lagos sin ningún tratamiento, introduciendo grandes cambios en el ambiente natural así como mayor riesgo de contagio con patógenos entéricos (78).

En base a las consideraciones anteriores, se puede afirmar que el estado de salud de una comunidad, está íntimamente relacionado con una adecuada disposición de excretas. Esta relación se manifiesta por ejemplo, cuando se observa una disminución en la incidencia y prevalencia de enfermedades entéricas si la evacuación de excretas se lleva a cabo en las debidas condiciones (97).

Costa Rica y Panamá por ejemplo, en el año de 1977 contaban con un 85.8 y 78.9 por ciento, respectivamente, de población rural servida con sistemas de alcantarillado y otros medios sanitarios de eliminación de excretas. En estos países las enfermedades diarreicas han dejado de ser la causa principal de defunción y en la actualidad las tasas de mortalidad se atribuyen a otro tipo de padecimientos. En los países restantes del área centroamericana por el contrario un porcentaje muy bajo de la población rural cuenta con servicios adecuados de eliminación de excretas (cuadros No. 3 y No. 4) y las enfermedades diarreicas continúan siendo la causa principal de muerte (108).

C. Alternativas Para Mejorar el Medio Ambiente en el Area Rural

Resulta evidente que la contaminación del ambiente en el área rural se debe

principalmente al fecalismo indiscriminado en el suelo que se lleva a cabo en casi todas las comunidades, por carecer éstas de las instalaciones sanitarias adecuadas. Es recomendable entonces que las principales medidas de salubridad sean enfocadas hacia este factor sanitario ya que los estudios de frecuencia y prevalencia han determinado con bastante claridad las causas principales.

Múltiples y variados son los sistemas que han sido diseñados en diversos países del mundo. En la elección de cualquiera de ellos sin embargo, es necesario considerar varios factores relacionados entre sí, particularmente la cultura, costumbres religiosas condiciones geológicas y climatológicas, nivel económico, organización política y social de las comunidades rurales, educación general y sanitaria, habilidades de la población local, disponibilidad de materiales de construcción y la de personal para la inspección técnica (97).

Existe por consiguiente un amplio rango de alternativas, muchas de ellas con características comunes y otras que difieren en cuanto a la forma como se combinan los diferentes elementos que componen un sistema completo de disposición de excretas. Sin embargo desde el punto de vista puramente técnico según Ehlers y Steel (22) un sistema adecuado debe reunir los siguientes requisitos:

- La capa superficial del suelo no debe contaminarse.
- No deben contaminarse las aguas superficiales.
- No deben contaminarse las aguas subterráneas que puedan entrar en los manantiales o pozos.
- Las excretas no deben ser accesibles a las moscas u otros animales.
- No deben manipularse las excretas recientes y si esto es indispensable, deberán reducirse al mínimo.
- Las instalaciones deben estar exentas de olores y detalles repugnantes.
- El método de construcción debe ser sencillo y de construcción y funcionamiento poco costosos.

1. Elementos que forman un sistema de disposición de excretas:

Un sistema completo de disposición de excretas puede simplificarse en seis etapas básicas que son: Deposición, colección, transporte, tratamiento, dispersión y reutilización.

a) Deposición:

La deposición se refiere al acto de defecación mismo. Tres técnicas son utilizadas comúnmente: sistema simple, sistema de sifón sencillo y sistema de sifón con depósito. Las diferencias más importantes entre ellas son: como son removidas las excretas y como es sellada la letrina para prevenir moscas, malos olores, etc. (26)

El sistema sencillo, como su nombre lo indica, consiste de un simple pozo sobre el cual puede colocarse una plancha o tabla con un hoyo (sistema a la turca) o bien un inodoro común y corriente. En este sistema, las excretas se remueven por gravedad al caer dentro del pozo. Esta debe estar provista de una tapadera para cubrir el hoyo cuando no esté en uso.

Los sistemas de sifón consisten en un tubo en forma de U sobre el cual se puede colocar una plancha a la turca o bien un inodoro de madera, loza, etc. El tubo en U se llena

de agua con lo cual se forma un sello o cierre hidráulico (sifón). Las heces se remueven al vaciar manualmente un volumen de 1-3 litros en el sistema sencillo; un volumen mayor se vacía mecánicamente si se trata del sistema conectado a un depósito.

b) Colección:

Las excretas pueden ser colectadas en pozos, tanques, cámaras ó en otros recipientes adecuados, como las cubetas utilizadas en China (97, 101).

c) Transporte:

En general existen cuatro mecanismos básicos en el manejo de las excretas:

- i) Transportadas sin agua: utilizando cubetas o cualquier otro recipiente.
- ii) Transportadas con agua: Conectadas a desagües y sistemas de alcantarillado.
- iii) No transportadas pero utilizando agua: Conectadas a tanque séptico, pozo anegado, etc.
- iv) No transportadas y no utilizando agua: Letrinas productoras de abono, letrinas de pozo.

d) Tratamiento:

Cuando las excretas se ponen en un lugar durante un período de tiempo, las bacterias se alimentan de ellas y causan su descomposición. Cuando éste proceso se lleva a cabo en presencia de agua, recibe el nombre de digestión. La digestión, puede llevarse a cabo en presencia de oxígeno (aeróbica) o en ausencia de oxígeno (anaeróbica). Cuando el proceso se lleva a cabo sin necesidad de agua se le denomina composting, debiéndose agregar desperdicios agrícolas y ceniza para que se lleve a cabo en forma satisfactoria (101).

El tratamiento de las excretas puede llevarse a cabo de tres maneras: en estanques de estabilización, por digestión y por composting.

En los estanques de estabilización, el tratamiento se lleva a cabo a través de procesos naturales biológicos y físicos que no requieren de equipo o parte mecánica especial. El sistema consiste de varios estanques colocados en serie en donde los desechos fluyen por gravedad de un estanque a otro. El primero es un estanque facultativo que combina los procesos aeróbico y anaeróbico. Los siguientes son estanques de maduración, que proveen un tratamiento aeróbico y reducen grandemente el número de microorganismos patógenos (26).

En el proceso de digestión cuando el tratamiento es anaeróbico, generalmente se produce gas (bio-gas) que consiste principalmente de metano. Este puede ser utilizado como fuente de energía y el sedimento digerido como fertilizante agrícola.

En el proceso de composting, las heces son mezcladas con otros desechos orgánicos para producir el abono natural conocido como compost. Este proceso puede tomar lugar en pozos, en letrinas o bien en el suelo donde se acumula para formar grandes pilas. La temperatura que se alcanza con este tipo de tratamiento es de 50-60°C; para que sea efectivo debe llevarse a cabo en un período de 1-4 meses, quedando destruidos la mayoría de patógenos y produciéndose un material inofensivo, adecuado para utilizarse como abono (26).

e) Dispersión

Existen varios métodos de dispersar los desechos. Entre ellos se mencionan principalmente, la dispersión en zanjas, en pozos de absorción y por descarga en corrientes y ríos. Los pozos de absorción consisten en un hoyo o zanja que se rellena con piedras, formando una cubierta a través de la cual el agua puede filtrarse. Su simpleza facilita que las aguas negras se filtren en la tierra y que se disperse. Por éste método, cierto grado de digestión toma lugar, dado que el lodo microbiológicamente activo que se forma, contribuye a éste proceso. El otro método de dispersión es el de descarga en corrientes, ríos, lagos o en el mar. Esta modalidad presenta una serie de desventajas si los desechos no son tratados antes de su descarga. En los países en desarrollo, muchas corrientes sin tratar son utilizadas como fuente de agua doméstica, lo que representa un grave riesgo para la salud (78).

f) Reutilización:

Los desechos humanos son una fuente natural de mucho valor y pueden ser reutilizados en donde su uso resulte práctico. Existen tres sistemas esenciales de reutilización: fertilizantes, producción de bio-gas y alimentos en cultivo de peces (26).

La producción de bio-gas es una técnica utilizada con mucha frecuencia en China y en la India. En estos países se ha demostrado que una planta de bio-gas alimentada con las excretas de una familia y suplementadas con el estiércol de 2-3 reses, puede proveer combustible necesario para el alumbrado y cocinado de una familia de cinco miembros. Como el material de desecho es diluido dentro del digestor, el residuo resultante del material degradado (efluente), es liberado a través de canales para ser utilizado como fertilizante (26).

La utilización de las heces como fertilizante agrícola, ha sido practicada durante siglos en muchas partes del mundo. Las formas de realizar estas prácticas son varias y puede llevarse a cabo por aplicación directa de las heces o bien de una forma indirecta después de que éstas han sido tratadas. La aplicación directa de las heces sin tratar no es recomendable dado que involucra varias sustancias y patógenos que resultan peligrosos para la salud de los trabajadores agrícolas y para los consumidores del producto cultivado. Así mismo, la irrigación por rociado tampoco es conveniente porque involucra la diseminación de patógenos en el aire (26).

Por lo tanto desde el punto de vista de salud pública, se prefiere la utilización de desechos sometidos a tratamiento previo; si se trata de aplicación directa, ésta deberá utilizarse únicamente para la fertilización de cultivos que no sean para consumo humano, por ejemplo árboles, plantas ornamentales o forrajes para la alimentación de ganado (26).

Los estanques que contienen desechos, son ricos en vida acuática, particularmente de algas, lo cual hace que mantengan una condición aeróbica, propicia para que crezcan cierto tipo de peces, especialmente Tilapia y Carpa. La utilización de las excretas para la alimentación de peces es común en el sudeste de Asia. Los peces cosechados pueden utilizarse para producir harina de alto contenido proteico ideal para la alimentación de cerdos o aves de corral. También pueden ser utilizados en la alimentación humana, caso en el cual deben ser BIEN COCINADOS, para evitar la transmisión de patógenos (26).

2. Principales tipos de Letrinas

Una vez descritos todos los elementos que componen un sistema de disposición de excretas, podrá notarse que existen dos aspectos desde el punto de vista cultural que deben ser tomados en cuenta al implementar campañas de letrización.

Por un lado, están aquellos que consideran las excretas como un producto aprovechable de mucho valor y, por el otro, aquellos que las consideran como un producto desagradable y peligroso. Estos dos aspectos son considerados en la siguiente descripción de los diferentes tipos de letrinas que se agrupan en dos maneras principales: las instalaciones diseñadas con el propósito de aprovechar las excretas, que pueden considerarse alternativas para el área rural y los sistemas convencionales en los cuales las heces son descartadas.

a) Instalaciones diseñadas para aprovechar las excretas

i) Letrinas y Digestores Chinos:

En China existen dos sistemas de letrinas para el tratamiento y aprovechamiento de las excretas. En el primero de ellos las letrinas están diseñadas únicamente con el propósito de recolectar las excretas y de aquí, ser transportadas a los campos de preparación de compost, plantas de bio-gas o estanques de cultivo de peces. En este tipo se incluyen la letrina de "pozo bajo" y la letrina "de cubo movable". La letrina de pozo bajo recibe éste nombre por el hecho de que el receptáculo donde caen las heces es poco profundo (0.1-0.15 mts.); su diseño permite que sean vaciadas y limpiadas diariamente sin ninguna dificultad. La letrina de cubo movable es todavía muy utilizada en China y consiste esencialmente en una cubeta colocada debajo de una plancha a la turca o un inodoro que recolecta las heces. La cubeta es retirada a intervalos frecuentes para su descarga y limpieza y al igual que en las letrinas de pozo bajo las heces se transportan a otro lugar para su tratamiento (26, 97, 101).

En el segundo sistema, las letrinas tienen conexión directa a un digestor. La letrina puede ser de diferentes diseños (sistema a la turca, inodoro de madera, de loza, de cemento, etc.); el digestor incluye varios tipos que varían en forma, estructura, material de construcción, etc.; sin embargo, el principio es el mismo para todos: la digestión anaeróbica.

El digestor más utilizado y el más difundido en muchas partes del mundo es el Diseño circular pequeño y achatado". Este es el prototipo que está en estudio en Guatemala (fig 2) y consiste en:

- Una entrada recta para alimentaciones sin atoros.
- Una salida a la altura media del tanque principal para que los parásitos en sus diversos estados y los sólidos no digeribles se depositen en el fondo.
- Una cubierta removible, sumergida en agua para detectar fugas.
- Un tanque principal, de paredes circulares con techo y fondo cóncavos, que cumple la función de tanque de fermentación y cámara de gas.

Cuando el gas es producido, el nivel del líquido en el tanque es forzado a bajar, mientras que en la salida sube. La diferencia de altura de niveles de líquidos "H" varía con la presión del gas que se lee en un manómetro conectado a la salida del digestor. Todo el digestor está bajo tierra, la que actúa como aislante térmico y como soporte. Esto permite combinar el digestor con letrinas y porquerizas desde la superficie.

Los métodos Chinos de tratamiento de excretas son, desde el punto de vista ecológico, bastante buenos. Algunas reservas existen desde el punto de vista de salud debido al manejo de las excretas desde que son depositadas, como es el caso de las letrinas de pozo bajo y de cubo movable. Sin embargo los Chinos han adquirido una gran experiencia en este sentido y su nivel general de higiene es tal que son capaces de superar los peligros de salud (85).

ii) Letrina Vietnamita:

La letrina Vietnamita utilizada exclusivamente para producir abono, consiste de dos receptáculos, cada uno con un volumen de 300 litros (fig. No. 3). Está construida completamente sobre la tierra con los receptáculos colocados sobre un piso sólido de concreto, ladrillo o barro. Los receptáculos se cubren con una plancha a la turca con dos hoyos cada uno con su tapadera, cuando no están en uso.

En la parte trasera, los receptáculos tienen dos aberturas para remover el abono estabilizado; estas aberturas deben estar bien selladas hasta que uno de los receptáculos va a ser vaciado. Las heces son depositadas en uno de los receptáculos y, después de cada uso, se rocían sobre éstas dos tazas de cenizas o cal, las cuales absorben la humedad, neutralizan los malos olores y previenen contra las moscas. La orina es recolectada aparte para que quede dentro del receptáculo solamente material sólido o medianamente compacto y seco para que el proceso sea completamente anaeróbico. El primer receptáculo puede ser usado aproximadamente por dos meses por una familia de 5 a 10 miembros; cuando se llena hasta un volumen determinado se agrega tierra seca y se sella completamente. Se empieza entonces a utilizar el otro y cuando éste segundo está por llenarse, el primero es abierto y vaciado. La temperatura del receptáculo es normalmente de 2-6°C más alta que la temperatura exterior. Las autoridades sanitarias Vietnamitas afirman que después de 45 días en un receptáculo sellado todos los patógenos entéricos han muerto (26).

Según dichas autoridades, las heces tratadas son inodoras y proveen un excelente fertilizante, que ha incrementado el rendimiento de los cultivos en un 10-25 por ciento en comparación con las heces frescas. Este tipo de letrinas también está siendo estudiado en Guatemala.

iii) Letrinas Indúes:

El sistema más común de disposición de excretas en la India es la defecación indiscriminada en el suelo (101). Con muy pocas excepciones, las heces jamás han sido utilizadas directamente en la agricultura. Varias clases de letrinas han sido desarrolladas, entre ellas se mencionan la de tipo "Gopuri" que es una modificación de la Vietnamita, y la de tipo "Sopa Sandas" que es una variante de la tipo Gopuri (101).

iv) Letrina sueca (Tipo "Multrum")

Este es un tipo de letrina diseñada para preparación de abono, que se adapta a las zonas urbanas. Consiste de un receptáculo con un piso inclinado, conductos de aire para ventilación y en el extremo inferior, una cámara de almacenaje. El receptáculo está conectado por dos tubos; uno que viene de el inodoro y el otro que conecta con la cocina para los desperdicios. El producto final es una sustancia negra aterronada, parecida a un buen compost. El proceso es muy lento y la primera vez puede tomar 4-5 años para la primera remoción, mientras que en las posteriores basta con un año. Una versión modificada de este tipo la "Letrina de doble cámara inclinada" está siendo probada en Tanzania, habiendo sido adaptada a las necesidades locales (101).

v) Letrina Arabe (Letrina "De caída larga")

Este tipo de letrina es ejemplo de un sistema adaptado a las condiciones locales, particularmente de la parte vieja de la ciudad de Sana, donde las casas son angostas y altas, constituidas hasta de nueve pisos para albergar a varias familias; el clima es extremadamente seco y existe escasez de agua así como de madera y leña para hacer fuego.

El sistema consiste de un agujero en una loza de defecación, conectado a un canal

vertical (desagüe) que se extiende desde un receptáculo localizado a nivel de la calle, hasta el inodoro del piso más alto. Las heces caen por el agujero hasta el receptáculo de la calle, de donde son recolectadas a intervalos frecuentes y llevadas a los baños públicos donde son utilizadas como combustible. El proceso consiste en esparcer las heces sobre el techo de los mencionados baños, con el objeto de que sean secadas por el sol. Como la leña es escasa, las heces así secas, son utilizadas como combustible suplementadas con desechos de pieles y huesos obtenidos de los rastros de ganado. Posteriormente la ceniza se vende para ser utilizada como fertilizante (101).

b) Sistemas convencionales de disposición de excretas

i) Letrina de pozo:

Las letrinas de pozo son los sistemas más simples de disposición de excretas y los más utilizados, principalmente en las zonas rurales.

Consisten de un hoyo profundo cavado a mano, cubierto con una loza a la turca o con un piso provisto de inodoro alrededor del cual puede construirse una garita o rancho pequeño. La función del pozo es aislar y almacenar las excretas humanas de tal manera que los microorganismos patógenos no puedan transmitirse desde ellas a un nuevo huésped (97).

ii) Letrina de Pozo anegado ó fosa séptica:

Esta letrina consiste de un depósito lleno de agua en el que penetra un tubo de caída que desciende desde el piso de la letrina. Las heces y la orina caen al depósito por el tubo de caída y ahí sufren la descomposición anaerobia. Lo mismo sucede en una fosa séptica. El lodo digerido, que se reduce a la cuarta parte del volumen de las excretas depositadas, se acumula en el depósito y debe ser retirado periódicamente. La letrina de pozo séptico y la de pozo anegado funcionan exactamente igual y el efluente que proviene de éstas se descarga en pozos de absorción o es enviado lejos por medio de un sistema de desagüe.

iii) Letrina de pozo perforado:

La letrina de pozo perforado es una variante de la letrina de pozo ordinario; difiere de ésta en que el pozo tiene una sección menor en diámetro (40 cm), perforado verticalmente por medio de una barrenadora o perforadora adecuada hasta una profundidad de 4-8 metros.

iv) Plantas de tratamiento de aguas negras:

En general, las plantas de tratamiento se basan en el mismo principio; las diferencias que existen entre la variedad de modelos desarrollados hasta ahora, son la manera de canalizar las aguas negras, la forma de aireación para favorecer la acción de los microorganismos y la forma de separar los sólidos suspendidos (22).

Con el objeto de tener una idea de lo que constituye una planta de tratamiento, se describe la planta localizada en la zona 13 de la ciudad de Guatemala.

La planta consiste en:

- Rejas
- Vertedero con limnógrafo

- Un tanque sedimentador primario
- Un filtro percolador "torre", para el tratamiento biológico, consistente en una torre de 8.5 metros de altura y 1.20 metros de diámetro con un lecho filtrante constituido de toba volcánica. El principio de su funcionamiento es mantener el agua servida en íntimo contacto con el aire. Esto favorece la acción de los microorganismos para remover la materia orgánica presente que utilizan como alimento.
- Un tanque Imhoff (22): donde se realiza la descomposición anaeróbica y se separan las partículas sólidas.

La planta funciona de la siguiente manera:

Del punto de descarga de los desagües, las aguas negras se conducen a las rejas; de aquí, a un vertedero triangular con registro limnógrafo. Las aguas pasan luego al tanque sedimentador y por decantación al filtro percolador para su tratamiento biológico. El cloacal se colecta en el fondo del filtro y se conduce al tanque Imhoff para su sedimentación final. De aquí, el agua negra ya tratada se descarga en el cauce neutral (83).

Una vez se presentaron los diferentes sistemas de disposición de excretas, puede tenerse una idea bastante clara del problema que representa la disposición higiénica de las mismas en el área rural. La forma en que el problema puede ser enfocado depende por lo tanto, del grado de desarrollo económico, tecnológico y cultural de las naciones.

En los países en desarrollo deben buscarse alternativas que sean de construcción fácil y económica, con bajos costos de operación y mantenimiento y eficaces en su rendimiento.

La disposición higiénica de las excretas es la principal medida que muchos países han adoptado dentro de sus campañas de saneamiento tendientes a reducir al máximo la transmisión de enfermedades infecciosas.

Los Chinos son ejemplo clásico, ya que durante siglos han practicado la fertilización de sus cultivos con el compost producido a partir de excretas humanas y de animales. La falta de técnicas apropiadas favoreció durante muchos años la existencia de tasas de morbi-mortalidad tan altas, como las que actualmente padecen los países subdesarrollados. Sin embargo, la necesidad de crear un ambiente sano, la de obtener nuevas fuentes de energía y la de incrementar su producción agrícola, los condujo a crear y estandarizar técnicas adecuadas para el manejo y disposición de las excretas (85).

Dorozynski (1975) por ejemplo, comenta en su trabajo que: "En 1952, un 70 por ciento de todas las excretas humanas producidas en China, fueron recolectadas y utilizadas como fertilizante. En 1956, ésta cifra alcanzó un increíble 90 por ciento que representaba unos 300 millones de toneladas, a la vez que representaba alrededor de una tercera parte de todos los fertilizantes aplicados en el país" (101).

En un informe preparado por la sección de higiene del Comité Revolucionario del distrito de Chién Ann, provincia de Hopei (República Popular de China) y recopilado por McGarry y Stainforth (85), los autores exponen como desde 1964, los Chinos han logrado estandarizar el manejo y disposición de excretas y, como en un período de 8 años, han incrementado la producción de alimentos por acre en un 74 por ciento. Esto en consecuencia de haber obtenido un fertilizante de alta calidad a partir de las excretas humanas y de animales, suplementados con otros desechos orgánicos. Además se logró reducir tanto la morbilidad por patógenos entéricos en un 80 por ciento, como las áreas de proliferación de moscas y mosquitos, mejorando así, el perfil sanitario de sus aldeas (85).

Las autoridades sanitarias de la República Democrática de Vietnam, han adoptado también dentro de sus medidas sanitarias y preventivas, campañas de letrización como prioridad número uno. Después de varios experimentos, lograron desarrollar un tipo de letrina accesible a las necesidades de la población rural y con un rendimiento eficaz (101).

D. Micoorganismos Patógenos al Hombre de Transmisión Feco-Oral

Dado que el hombre es el principal reservorio de las enfermedades que pueden afectarlo, se puede afirmar que es también el principal transmisor a través de sus productos de excreción, en donde las heces juegan un papel preponderante.

Estudios etiológicos y epidemiológicos han demostrado claramente que la mayor fuente de infección son las heces humanas (de portadores sanos y de enfermos), las heces de animales y alimentos contaminados (64, 73, 88, 94).

Tales estudios demuestran que son varios los agentes capaces de causar cierto tipo de enfermedades en el hombre dentro de los cuales se mencionan parásitos, bacterias y virus (cuadros No. 5, No. 6, No. 7).

La transmisión por la vía feco-oral es probablemente el segundo medio más frecuente de diseminación de las enfermedades virales comunes y el tracto gastrointestinal es el segundo gran portal de entrada de la infección. Los virus pueden infectar directamente la orofaringe, pero para inducir la infección intestinal el virus debe ser tragado, sucesivamente resistir el ácido clorhídrico del estómago y los ácidos biliares en el duodeno, para así progresar hasta las células susceptibles en el intestino. Los virus con envoltura no sobreviven normalmente la exposición a esos ácidos, sales y enzimas en el intestino (1, 38). Los principales virus entéricos son: los enterovirus y el virus de la hepatitis infecciosa. Se cree que bajo condiciones de cercano y prolongado contacto la hepatitis B puede ser transmitida por esta vía (13).

La multiplicación y excreción en el tracto intestinal también puede ocurrir con adenovirus y reovirus, pero esta ruta de transmisión no es usualmente de importancia epidemiológica. Recientemente, los rotavirus (un miembro de la familia Reoviridae), ha sido asociado a cierto tipo de diarreas principalmente en lactantes y niños pequeños (1, 38, 104).

Los virus excretados por la vía intestinal pueden infectar a otras personas susceptibles por la vía oral-intestinal a través de manos contaminadas, alimentos, agua, leche, moscas, termómetros y otros vehículos (1, 13, 38). Los virus se diseminan a través de esas rutas, por lo tanto, una buena higiene personal, especialmente lavado de manos después de la defecación, adecuado lavado y cocimiento de los alimentos, pasteurización de la leche, buena disposición de desechos y purificación de los suministros de agua de bebida son buenas medidas preventivas.

E. Virus de Transmisión Feco-Oral

1. Subgrupo de los Enterovirus:

Este subgrupo fue nombrado en 1957 por el Comité sobre Enterovirus de la Fundación Nacional para la Parálisis Infantil, para agrupar junto con los Poliovirus, a los virus Cocksackie y a los virus ECHO, todos agentes virales para los cuales el tracto intestinal es su habitat natural (38).

Los enterovirus así como los rinovirus pertenecen al grupo de los picornavirus, cuya división se basa en la resistencia a los ácidos de los enterovirus y la labilidad de los rinovirus; de tal manera que los primeros son capaces de resistir hasta pH de 3 mientras que los

segundos no lo soportan. Esto tiene un gran significado biológico ya que los enterovirus son capaces de sobrevivir la acidez gástrica y por consiguiente mantienen su infecciosidad para el tracto gastrointestinal bajo.

Los enterovirus entre sí, comparten muchos cuadros clínicos y epidemiológicos, así como propiedades físicas y bioquímicas. Tienen un tamaño de 17-30 mμ, ARN de una sola cadena cubiertos por una cápside de simetría icosaédrica, no son sensibles a solventes lipídicos (no poseen envoltura), y no tienen antigenicidad común. La replicación viral toma lugar en el citoplasma de las células que infectan, produciendo arreglos cristalinos de viriones y un efecto citopático característico (13, 38).

Al igual que los demás miembros de la familia de los picornavirus, son relativamente estables a temperatura ambiente, poseen estabilidad térmica y se replican óptimamente a 36-37°C.

a) Virus de la poliomielitis

Los virus de la poliomielitis, fueron aislados por primera vez en el año de 1908 y su nombre poliovirus fue adjudicado en 1955 (41).

Estos virus son los más importantes del subgrupo de los enterovirus en términos de enfermedad humana, debido a las consecuencias potencialmente catastróficas que dicha enfermedad puede causar. Existe evidencia de que dicha enfermedad, conocida también como parálisis infantil, ocurrió en la antigüedad y sus primeros reconocimientos como entidad clínica fueron hechos por Underwood en 1789 y por Heine en 1940, pero dado que fueron casos completamente aislados, ninguno logró establecer firmemente los cuadros clínicos de la enfermedad. La ocurrencia de un gran brote de poliomielitis epidémica en Suecia y la incrementada prevalencia de poliomielitis en otros países de Europa así como en Norteamérica, condujo a establecer con mayor firmeza las bases clínicas y epidemiológicas de la enfermedad (42).

Desde entonces varios estudios fueron realizados tanto desde el punto de vista de la enfermedad en sí, como desde el aspecto del agente etiológico, de los cuales algunos son sobresalientes ya que marcaron grandes avances en el estudio de los virus de la poliomielitis.

Landsteiner y Popper (61) por ejemplo, dieron un gran paso en la historia de la poliomielitis cuando lograron transmitirla experimentalmente a monos.

Por otro lado, los estudios de Trask y colaboradores demostraron que los poliovirus estaban regularmente presentes en las heces de pacientes infectados (93).

Posteriormente, Armstrong en 1939 (3), pudo adaptar el poliovirus tipo II a las ratas de algodón y ratones, simplificando grandemente el trabajo de laboratorio en muchos aspectos y abriendo el camino para las mediciones cuantitativas del virus y de anticuerpos neutralizantes que había sido difícil en monos.

El descubrimiento de que los poliovirus crecen en cultivos celulares tanto de monos como de origen humano, en los que causan efecto citopático, fue hecho por Enders, Weller y Robbins en 1949. Se encontró entonces que tanto cultivos primarios, como líneas celulares continuas, eran altamente susceptibles a los virus de la poliomielitis (23).

La poliomielitis es endémica en muchas partes del mundo y en los países de clima templado ocurren epidemias en verano y principalmente en otoño, mientras que en los países tropicales ocurre cualquier época del año (38, 42).

La epidemiología de la enfermedad está grandemente influenciada por la naturaleza del ambiente sanitario y de la higiene individual. Los estudios de Paul y colaboradores (82) lo demuestran al observar que en poblaciones que viven bajo condiciones de pobre saneamiento e higiene, el virus se encuentra ampliamente diseminado, las infecciones ocurren en edad temprana y que cerca del 100 por ciento de niños adquieren anticuerpos en los primeros años de vida.

El virus puede ser transmitido de dos maneras, dependiendo de las condiciones sanitarias y ambientales. La ruta oral-oral resulta ser el mecanismo principal en aquellos lugares donde las condiciones sanitarias son relativamente adecuadas, mientras que la ruta feco-oral resulta ser importante en poblaciones que viven bajo condiciones de saneamiento pobre y la contaminación fecal juega un papel importante en la diseminación del virus (13).

El aislamiento del virus de diferentes lugares (desagües, lodos, etc.) sugirió que algunos vectores pudieran ser intermediarios en su transmisión (87). Algunas investigaciones llevadas a cabo con ese propósito demostraron que el virus puede ser aislado de moscas y cucarachas (73); sin embargo, el papel que dichos vectores juegan en su transmisión o diseminación no ha sido plenamente establecido. Aún existen dudas al respecto dado que han ocurrido epidemias en las regiones antárticas donde las condiciones climáticas no permiten la presencia de éstos insectos.

Existen tres tipos antigénicos de virus de la poliomielitis cuya distinción puede hacerse en base a pruebas de neutralización con antisueros específicos. Las cepas que originalmente fueron llamadas "Brunilda", "Lansing", y "León", se designan actualmente como tipos 1, 2, y 3 respectivamente, de los cuales el tipo 1 es la causa más frecuente de poliomielitis paralítica (42).

El único reservorio conocido de la poliomielitis es el hombre. El virus persiste dentro de la población merced de los portadores sanos y suele diseminarse por contacto directo. El virus puede ser aislado de la faringe y de las heces de los pacientes varias semanas después de la fase aguda de la enfermedad; también puede ser aislado en portadores sanos y es relativamente estable en el ambiente externo, lo cual explica que en condiciones de saneamiento defectuoso y hacinamiento, el virus pasa con facilidad de un individuo afectado a otro (38).

b) Virus Coxsackie:

Estos virus fueron primeramente aislados en 1948 por Dalldorf y Sickles (16), de dos pacientes originarios de Coxsackie, New York, con poliomielitis paralítica.

Se comprobó que las suspensiones de muestras fecales de dichos pacientes causaban parálisis en ratones lactantes, con amplia degeneración de la musculatura esquelética. Debido a que los poliovirus no causaban enfermedad en ratones lactantes y como estos nuevos agentes (a diferencia de los poliovirus), no producían enfermedad en el mono, se admitió que se había aislado un nuevo agente diferente de los poliovirus.

Dalldorf (15) propuso en 1949 el término de "Familia de los virus Coxsackie", para nombrar a estos agentes, dado que no se conocían las lesiones anatómicas del hombre ni el conjunto de síntomas que producían las infecciones por dicho agente que justificara un término descriptivo.

El término de virus coxsackie fue adoptado por el Subcomité Internacional de Nomenclatura Viral, en el año de 1962 (47).

Los virus coxsackie se dividen en los grupos A y B según las diferencias de las lesiones

que producen en ratones lactantes. En éstos animales los virus del grupo A originan característicamente parálisis flácida con degeneración difusa de músculos estriados y sin otro tipo de lesión. Los virus del subgrupo B producen lesiones musculares menos graves, causando además necrosis grasosa, pancreatitis, hepatitis y miocarditis; clínicamente los ratones lactantes infectados con grupo B, presentan temblores y parálisis espástica (13, 42).

Actualmente se conocen 23 serotipos del grupo A numerados del A-1 al A-24 (dado que el A-23 fue reclasificado y actualmente se conoce como ECHO-9) y 6 serotipos del grupo B.

El hombre es el único huésped natural. Todos los coxsackie B y algunos serotipos del grupo A se desarrollan bien en cultivos celulares de origen humano o de riñón de mono con efectos citopático similares a los que producen los demás enterovirus. Su aislamiento resulta más fácil en ratones recién nacidos.

La epidemiología de los virus coxsackie es bastante similar a la de los virus de la poliomielitis. La alta incidencia de infección en niños y en comunidades con estandar de higiene muy pobre, enfatiza la importancia de su transmisión por la vía feco-oral. El aislamiento de los virus ha sido posible a partir de heces humanas hisopos faríngeos, desagües, moscas, etc. (11, 16, 41).

En humanos, los virus coxsackie producen un amplio espectro de síndromes clínicos los cuales incluyen: meningitis aséptica, herpangina, mialgia epidémica, pericarditis, miocarditis e infecciones respiratorias (13, 38, 42).

c) Virus ECHO:

Los primeros virus ECHO fueron aislados a principios de la década de 1950, cuando la técnica de cultivo de células para aislamiento de virus comenzó a expandirse (13, 42). Durante estudios efectuados con el objeto de aislar poliovirus en cultivos celulares a partir de muestras fecales, se descubrieron agentes que no sólo eran incapaces de producir enfermedad en ratones lactantes y en monos, sino que tampoco eran neutralizados con antisueros para polio o virus coxsackie.

Estos nuevos agentes fueron denominados posteriormente como virus ECHO (Enteric Cytopathogenic Human Orphan: VIRUS ENTERICOS HUMANOS CITOPATOGENICOS HUERFANOS), por haber sido aislados de la parte baja del tubo digestivo, por causar cambios citopáticos en cultivos de tejidos y porque no se les encontró asociación etiológica con alguna enfermedad. Aunque en la actualidad se les ha asociado con varios síndromes clínicos, el nombre ECHO aún persiste. Se conocen en la actualidad 34 serotipos que no comparten antígeno de grupo, pero se ha encontrado algunas reacciones inmunológicas cruzadas entre ciertos serotipos (13).

Los virus ECHO crecen fácilmente en células de riñón de mono, causando el efecto citopático característico de los otros enterovirus. Las células diploides humanas y células de amnios humano, pueden también ser utilizados, siendo éstas últimas las más adecuadas para su aislamiento (14, 23).

Suficiente evidencia virológica así como epidemiológica, demuestra la asociación de estos virus con ciertos síndromes clínicos entre los que se mencionan meningitis aséptica, erupciones, gastroenteritis e infecciones respiratorias (13, 38, 42).

En los climas templados, los virus ECHO son más prevalentes en verano y otoño siendo recuperados frecuentemente de niños, particularmente en aquellas comunidades en donde la pobreza es responsable de un ambiente higiénicamente bajo. El nombre es el único

huésped natural y el virus se transmite principalmente por la vía feco-oral (13, 42).

Varios serotipos de virus ECHO han sido aislados de aguas residuales y de moscas, más sin embargo no se ha logrado demostrar claramente el papel que juegan algunos vectores en la diseminación del virus (42).

2. Virus de la Hepatitis

Existen dos formas clásicas de hepatitis viral que se denominan "Hepatitis infecciosa" y "Hepatitis sérica". Tradicionalmente se ha aceptado que ambas enfermedades son ocasionadas por virus diferentes. El virus de la hepatitis infecciosa se reconoce como virus de la hepatitis A ó virus HA y el virus de la hepatitis sérica como virus de la hepatitis B o virus HB (13, 42).

Estudios recientes han demostrado que no todos los casos de hepatitis viral pueden atribuirse a estos dos agentes. Sugieren que existe un tercer tipo de virus de la hepatitis que puede ser transmitido por el suero, habiéndose aceptado en general el término de "Hepatitis no A y no B" para reconocer esta forma de hepatitis. Sin embargo, ni la naturaleza infecciosa ni el agente responsable han sido demostrados con claridad (95, 105).

El reconocimiento de que la hepatitis infecciosa es causada por un virus, fue posible gracias a una serie de estudios realizados desde 1930. Sin embargo el virus no ha sido aún plenamente caracterizado debido a lo difícil que ha resultado su transmisión en animales experimentales y porque no ha sido posible su aislamiento en los cultivos celulares tradicionales (69).

La caracterización de la enfermedad y su etiología viral, solo fue posible en base a estudios que involucraron transmisiones experimentales en voluntarios humanos. A estos se les administró filtrados de líquido duodenal, heces y suero de pacientes con hepatitis infecciosa (13, 69).

Algunos estudios reportan su aislamiento utilizando la línea celular Detroit-6, su transmisión experimental en animales utilizando chimpance-marmota y su visualización usando la técnica de microscopía electrónica inmune (13, 38, 69).

El virus de la hepatitis infecciosa no ha podido ser todavía clasificado y las tendencias actuales son agruparlo ya sea dentro de los parvovirus ó bien dentro de los enterovirus (69).

El hombre es el único huésped natural susceptible, en el que la infección subclínica y los casos ictericos y anictéricos proporcionan la fuente de infección. La enfermedad es más común en niños menores de 15 años pero su severidad es menor, llegando a menudo a ser inaparente. El virus se transmite principalmente por la vía feco-oral y los brotes de hepatitis infecciosa ocurren con mayor frecuencia en aquellas comunidades donde las condiciones de salud son deficientes y prevalece el hacinamiento (13, 38, 42).

3. Rotavirus:

Rotavirus es un nombre que se da en la actualidad a un grupo de virus con varias características en común y que ha sido aislados de muchos animales mamíferos y del hombre (29, 92, 102).

Su nombre deriva del latín "Rota" que significa rueda, por su apariencia circular en microscopía electrónica. Estos virus fueron identificados por primera vez en el año de 1968, por Mebus y colaboradores, de las heces de una ternera con diarrea en Nebraska (72). En ese entonces se reconoció como un REOVIRUS por su parecido con los agentes que pertenecen a

dicho grupo. Posteriormente se les llamó Reovirus-like agent por algunos autores y Orbivirus por aquellos a quienes les pareció que su morfología tenía más parecido con el segundo género de la familia Reoviridae (75).

A medida que se aislaron virus de diferentes especies animales, generalmente con diarrea y de corta edad, se utilizaron diferentes nombres para describirlos, dando lugar a confusión ya que algunos lo llamaron "Reovirus-like agent", Reolike-virus", "Orbivirus" y "Duovirus" (19).

En cuanto la información sobre estos virus fue expandiéndose, en base a estudios biofísicos, bioquímicos y características antigénicas, se hizo evidente que no era Reovirus ni Orbivirus. En la actualidad, el ICTV (Comité Internacional de Taxonomía Viral), lo reconoce como un tercer género de la familia Reoviridae por tener algunas de las propiedades que caracterizan a los miembros de dicha familia (cuadro 8); (27).

El nombre de Rotavirus fue propuesto en 1974 (28), para reconocer a éste nuevo grupo de virus que presenta al microscopio electrónico una forma de rueda con eje ancho, rayos cortos y con orilla estrecha.

Se sabe que no existe ninguna relación antigénica entre los rotavirus y los demás miembros de la familia Reoviridae, pero se ha logrado establecer plenamente que presentan un antígeno común o de grupo, el que ha sido puesto de manifiesto por técnicas de fijación de complemento, inmunofluorescencia, inmunodifusión y por microscopía electrónica inmune. Dicho antígeno está asociado con la cápside interna del virus (103).

Otros estudios han establecido que existen diferencias serológicas entre los rotavirus aislados de distintas especies animales. Estas están relacionadas con ciertos segmentos del ARN viral que presentan variaciones en su movilidad electroforética y con los polipéptidos glicosilados de la cápside exterior, la que le confiere el carácter de infecciosidad específico (48).

Los rotavirus humanos no han podido ser aislados en cultivos celulares y en la actualidad se recurre a la microscopía electrónica o pruebas serológicas para su identificación.

Entre las pruebas serológicas que han sido descritas están: fijación de complemento (50), contrainmunolectroforesis (76), inmunofluorescencia (106), radioinmunoensayo (49), y la prueba de ensayo inmunoenzimático (ELISA) (107). De éstas, el método de ELISA ha sido recomendada en vista de su relativa sensibilidad, bajos costos de operación, tiempo de realización relativamente corto y facilidad de realización.

El rotavirus humano está involucrado en enfermedades diarreicas principalmente en lactantes y niños pequeños (18, 51); sin embargo, existe evidencia de que es capaz de causar gastroenteritis en adultos (96).

La existencia de varios serotipos humanos ha sido informada (48). Estudios realizados en Guatemala (104) demuestran que algunos niños presentaron varias infecciones en épocas distintas y a intervalos de tiempo distante. Estos resultados sugieren que en cada oportunidad se aisló un serotipo diferente una vez que la primera infección confiere inmunidad.

Las infecciones con rotavirus, ocurren con mayor frecuencia durante los meses fríos en aquellos países donde las estaciones son bien marcadas (104). En contraste, las infecciones en Guatemala y aquellos países con clima tropical, las infecciones ocurren en cualquier época del año con elevada prevalencia durante los meses fríos cada dos años (104).

Los individuos infectados con rotavirus, son capaces de excretar un gran número de partículas virales (10^9 /gramo de heces) (18), por lo que, en poblaciones donde el saneamiento ambiental es escaso y los hábitos higiénicos son pobres, la diseminación de este agente puede verse favorecida.

F. Metodologías Empleadas Para el Análisis de Efluentes

a. Aislamiento e Identificación:

Los virus entéricos son un grupo de patógenos que han sido aislados del agua (79), aguas negras (55), efluentes, influentes y lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas negras (60), ríos contaminados con aguas de desecho (90), estuarios marinos (91) y, en general, de todos aquellos lugares a los que tienen acceso aguas provenientes de desagües.

Los primeros estudios de este tipo, datan desde 1939 (55). Estudios ambientales al respecto, indican que los enterovirus son estables por varias semanas en los ambientes mencionados anteriormente y por varias horas en otros lugares como ropa, piel, pisos y paredes de los baños, etc. (71),

Simkova y Wallernova (90), demostraron la habilidad de los virus coxsackie A4, para sobrevivir por 45 días a una temperatura de 22°C y por más de 154 días a 4°C en las aguas del río Danubio.

Hermann y colaboradores (40), encontraron que las aguas de algunos ríos y lagos son incapaces de producir inactivación de poliovirus 1 y coxsackie A9.

Estudios realizados en plantas de tratamiento, señalan que la digestión anaeróbica no elimina completamente los virus entéricos, habiendo sido éstos, aislados en los lodos sedimentados de las aguas negras ya tratadas. Sin embargo, si dichos lodos son sometidos a un tratamiento posterior (como el composting), los virus son inactivados y puede obtenerse un fertilizante eficiente y adecuado (33).

Varios autores atribuyen la capacidad de sobrevivencia de los enterovirus, a la particularidad que tienen éstos de adsorberse a las partículas orgánicas e inorgánicas bajo muchas condiciones, lo que les permite mantener su infectividad e incluso resistir la clorinación (39, 100).

Los rotavirus también presentan dicha capacidad adsorptiva, pero en menor grado que los enterovirus (25, 37).

Esta propiedad, ha sido especialmente considerada en las técnicas actuales que se utilizan en el aislamiento e identificación de los enterovirus de los diferentes sistemas mencionados con anterioridad (45, 46).

Las técnicas utilizadas actualmente para la recuperación de enterovirus a partir de diferentes sistemas son varias; entre éstas, se incluyen métodos de concentración utilizando membranas micropore o resinas intercambiadoras y métodos de adsorción utilizando agentes floculantes. Las primeras se utilizan más frecuentemente en aquellos sistemas en que el virus se encuentra más diluido, tales como agua potable, aguas negras, agua de pozos, etc. (6, 24, 98). Las técnicas de adsorción, son utilizadas principalmente en aquellos sistemas que involucran material seco o ligeramente acuoso, como tierra, lodos, heces, etc. (45). En ambos casos, los virus son posteriormente eluidos ya sea de la membrana, resina o del agente floculante o adsorbente utilizado, con el objeto de concentrarlos e identificarlos.

Los primeros estudios para aislar virus a partir de lodos, utilizaron adsorbentes como fosfato de calcio y métodos de concentración en dos fases (45). Posteriormente, fueron desarrollados métodos que utilizan otro tipo de adsorbentes como el hidróxido de aluminio, óxido de hierro, flóculos vegetales y complejos polielectrolíticos (57, 59, 81).

Al mismo tiempo, ha sido investigada la elución del virus a partir de las partículas sólidas a las que se adsorben. Entre los eluyentes ensayados, se mencionan el extracto de carne (6), el medio suplementado con suero bovino (98), soluciones de caseína, lisina, arginina y glicina de pH alto (45). Las técnicas actuales recomiendan la utilización de soluciones tamponadas de glicina de pH alto o el extracto de carne (45, 57, 59, 81).

Ningún trabajo sobre el aislamiento de rotavirus humano a partir de lodos, aguas negras, etc., ha sido informado. Los estudios sobre el comportamiento de éstos en lodos de plantas de tratamiento, fueron hechos de una manera artificial, utilizando un rotavirus aislado de simios (SA-11), único capaz de crecer en cultivo de células con efecto citopático característico. Estas investigaciones demostraron que los rotavirus se adsorben con menos eficiencia que los enterovirus, a las partículas sólidas en suspensión. Esto sugiere según los autores, que los rotavirus se encuentran en concentraciones mayores en las aguas negras ya tratadas y en cantidades menores en los lodos provenientes de plantas de tratamiento (25, 37).

b) Cultivo de Tejidos:

Dado que los virus son parásitos intracelulares obligados, para su estudio es necesario el cultivo de células, en donde ellos llevan a cabo sus procesos de replicación (1).

Diferentes tipos de cultivos celulares han encontrado aplicación en la virología y su uso depende del virus a estudiar y de los objetivos experimentales, conociéndose tres grandes clases de cultivos celulares que son:

1) Cultivos Primarios y Secundarios:

Son células obtenidas directamente de un tejido animal o humano (normal), el cual por fragmentación con tripsina es dispersado en sus constituyentes celulares. Después de remover la tripsina, la suspensión celular restante se coloca en un recipiente adecuado (botellas, tubos, etc.), junto con un medio líquido enriquecido con nutrientes (sales minerales, aminoácidos, vitaminas, etc.). Después de un cierto tiempo (fase lag) las células se adhieren a la pared del recipiente, comenzando así la división mitótica. Esto da lugar a un cultivo primario, el que se caracteriza porque las células mantienen algunas propiedades del tejido original. Las células se multiplican hasta cubrir toda la pared del recipiente, formando un MONOLITO. Las células de los cultivos primarios, pueden ser desprendidas de la pared del recipiente por medio de tripsina o un agente quelante como el ácido etilen-diamin-tetracético (EDTA) y pueden ser utilizadas para dar inicio a un cultivo secundario (1).

11) Cepas Celulares:

Tienen su origen a partir de cultivos primarios, los cuales son transferidos seriadamente un determinado número de veces. Este proceso de transferencia o pasaje continuo, produce generalmente la selección para un tipo de células que se vuelve predominante. El número de pasajes de las cepas celulares es limitado ya que con cultivos de células humanas, la tasa de crecimiento declina después de alrededor de 50 pasajes y las células se degeneran (1).

ii) Líneas Celulares:

Durante la multiplicación de una cepa celular, algunas células se alteran adquiriendo una morfología diferente, mayor crecimiento y a menudo se vuelven neoplásicas. La clona que se deriva a partir de una célula de este tipo, no tiene límite de vida y se designa como línea celular. Las líneas celulares pueden también obtenerse directamente a partir de tejidos neoplásicos o a partir de cultivos primarios o cepas celulares de tejidos normales infectados con virus oncogénicos (1).

c) Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):

El método de ensayo inmunoenzimático (ELISA) encuentra su fundamento de la siguiente manera:

“Las proteínas en condiciones apropiadas de pH, se adhieren a la superficie de polivinilo de bandejas microtiter (Cooke). Sobre la proteína adsorbida se lleva a cabo una reacción antígeno-anticuerpo y a este complejo se añade un reactivo consistente de un conjugado de inmunoglobulinafosfatasa alcalina. El conjugado tiene una gran afinidad por su antígeno homólogo, así como una gran actividad enzimática. Luego de que el conjugado ha reaccionado con su antígeno, se adiciona un sustrato apropiado cuya hidrólisis por la fosfatasa alcalina genera un color fácil de distinguir visualmente y cuantificable espectrofotométricamente (Fig. No. 4).

La sensibilidad de la técnica es equivalente a la del radioinmunoensayo y tiene la ventaja de no requerir reactivos costosos ni aparatos sofisticados para su ejecución (107).

IV. JUSTIFICACIONES

Guatemala como país pobre y en desarrollo, es víctima de una elevada morbilidad y mortalidad infantil por enfermedades que se transmiten por la vía feco-oral que, en sinergismo con enfermedades pluricarenciales, representan un grave problema que afecta a la mayor parte de población.

Para resolver el problema de contaminación fecal que existe en el país, han sido propuestas algunas alternativas para la disposición higiénica de las excretas. Dentro de estas cabe mencionar las letrinas digestoras Chinas productoras de bio-gas y la letrina Vietnamita productora de abono, localizadas en varios lugares del altiplano (descripción en las páginas 12-13). Así mismo, se han propuesto plantas o tanques de tratamiento de aguas negras como las que se describen en las páginas 10 y 15.

Aunque estas últimas resuelven el problema de saneamiento ambiental, su uso queda restringido a aquellas localidades que pueden sufragar su alto costo de adquisición y mantenimiento, situación que no es dable en el área rural y pequeñas urbes guatemaltecas. Las primeras por el contrario, podrían resolver el problema en el área rural (que es donde vive el porcentaje más alto de población y la más afectada), tanto desde el punto de vista económico como en los aspectos sociales, culturales y de salud.

Estas presentan la oportunidad no sólo de saneamiento ambiental si no la de producir abonos orgánicos naturales que incrementarían la producción agrícola y consecuentemente resolverían el problema económico y la falta de alimentos. Así mismo, el problema energético y la deforestación desmedida se resuelven en parte, al producirse bio-gas destinado al consumo doméstico que, en alguna medida, compite con la utilización de leña y otros productos forestales.

Por lo tanto, se hace sumamente necesario evaluar la calidad de biodegradación que se lleva a cabo en los sistemas ya mencionados, principalmente la calidad del fertilizante producido en las letrinas, para estar seguros que se está produciendo un abono a bajo costo que resulte inofensivo para la salud humana.

La literatura existente, demuestra que son escasos los estudios que se han llevado a cabo con respecto a evaluar la calidad del abono producido en las letrinas y, todos coinciden, en estudios bacteriológicos y parasitológicos. Hasta la fecha, no existe ningún trabajo de evaluación respecto a los virus que pueden transmitirse por la vía feco-oral, principalmente los enterovirus cuya capacidad de sobrevivencia en el ambiente ha sido demostrada.

Actualmente, no existe información respecto al comportamiento de el rotavirus humano en el ambiente, por lo que se hace necesario establecer el papel que los diferentes sistemas de disposición de excretas juegan en su diseminación.

V. OBJETIVOS

- 1. Evaluar el efecto de la biodegradación que se lleva a cabo sobre los virus en diferentes sistemas de disposición higiénica de las excretas.**
- 2. Determinar las condiciones óptimas para que los abonos producidos en las letrinas, sean libres de microorganismos patógenos.**
- 3. Proponer otras alternativas para completar los sistemas de biodegradación propuestos.**
- 4. Determinar la presencia de rotavirus en el ambiente, principalmente en las aguas de desecho.**

VI. HIPOTESIS

- 1. Las letrinas digestoras anaerobias y las aboneras secas, destruyen los virus.**
- 2. Los rotavirus pueden ser aislados en desagües y otros ambientes similares.**

VII. ASPECTOS METODOLOGICOS

A. Muestra:

En un período de 12 meses, fueron recolectadas un total de 66 muestras provenientes de cuatro diferentes sistemas de disposición de excretas, los que fueron divididos en dos grupos principales:

1. Sistemas convencionales de disposición de excretas:

En este grupo se analizaron muestras de 20 letrinas de pozo, cinco de desagües de aguas negras sin tratamiento, tres de lodos provenientes de plantas de tratamiento y tres de aguas negras ya tratadas, tomadas a la salida de las plantas de tratamiento. Estas están localizadas una en el área rural (Patzún municipio de Chimaltenango) y dos localizadas en el área urbana (Ciudad San Cristóbal Zona 11 y Colonia Aurora II Zona 13).

2. Alternativas para la disposición higiénica de las excretas:

En este grupo se incluyeron prototipos en experimentación en el proyecto REDE-BIO que el Centro Mesoamericano de Estudios Sobre Tecnología Apropriada (CEMAT), tiene instaladas en diferentes lugares del altiplano de Guatemala. Se analizaron un total de 32 muestras que corresponden a letrinas aboneras secas familiares (LASF), de las cuales 21 provienen de cámaras en uso y 11 corresponden a abonos procesados en las LASF. Se incluyeron también dos digestores de bio-gas, uno de tipo Chino (modelo circular pequeño y achatado) y uno de tipo Guatemala (Batch Compost), de los cuales se analizaron lodos y en este último se investigó además el efluente.

B. Metodología

El aspecto práctico de este trabajo se llevó a cabo en los laboratorios de virología e histocultivos del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP: Programa Nutrición-Infección), en donde han logrado desde 1964, el mantenimiento de varias líneas celulares entre ellas las HEp-2 utilizadas en este trabajo de investigación. Así mismo, han desarrollado y estandarizado métodos adecuados para el aislamiento e identificación de diferentes virus que afectan al hombre.

1 Toma de la Muestra:

Emulsificar las muestras que corresponden a lodos provenientes de las plantas de tratamiento y de digestores de biogás así como los abonos y las heces provenientes de LASF y de letrinas de pozo, en una solución amortiguadora para preservar suspensiones con virus (SAV), haciendo una suspensión de aproximadamente 10-20 por ciento y transportarlas al laboratorio bajo condiciones de refrigeración. Almacenarlas en congelación a -65°C hasta su análisis.

Recolectar las muestras líquidas provenientes de aguas negras tratadas y sin tratar, en recipientes estériles de un galón de capacidad e inmediatamente llevarlas al laboratorio para ser centrifugadas en tubos estériles de 250 ml a 20,000 X g durante 20 minutos a 4°C . Descartar el sobrenadante dado que el mayor porcentaje de enterovirus se adsorbe a las partículas del sedimento (45). Los sólidos concentrados en la centrifugación, se suspenden en solución SAV en una proporción de 10-20 por ciento y se guardan a -65°C hasta su análisis.

2. Métodos de Laboratorio

a) Tratamiento de la muestra:

Descongelar las suspensiones y centrifugar a 1,100 X g durante 20 minutos, luego a 3,000 X g durante 30 minutos a 4°C.

Para asegurar la recuperación de las partículas virales, los sólidos se tratan según el método descrito por Hurst y colaboradores (45) así:

i) Elución de los virus asociados a las partículas sólidas:

Mezclar el sedimento resultante de la centrifugación anterior, con cinco volúmenes de una solución amortiguada de glicina 0.05 M y pH 11.5.

Agitar mecánicamente durante un minuto para ayudar a la liberación de los virus adsorbidos a las partículas sólidas. Las muestras se centrifugan nuevamente a 1400 X g durante cinco minutos a 4°C y el sobrenadante se neutraliza por la adición de una solución tamponada de glicina 0.05 M de pH 2.

ii) Concentración del sobrenadante:

El sobrenadante neutralizado en el paso anterior, se lleva a una concentración final de 0.03 M con la adición de una solución de cloruro de aluminio 1 M, luego de lo cual se neutraliza nuevamente agregando bicarbonato de sodio 1 M. El flóculo de hidróxido de aluminio así formado, se concentra por centrifugación a 4°C y se eluye por pipeteo vigoroso en tres volúmenes de suero bovino fetal 3 por ciento ajustado previamente a glicina 1 M de pH 11.5 para nueva centrifugación en las mismas condiciones anteriores. El sobrenadante que resulta, se neutraliza con glicina 1 M de pH 2 y se ensaya para poliovirus y rotavirus según las técnicas que se describen a continuación.

b) Aislamiento e identificación de virus de la poliomielitis:

i) Cultivo de células:

Para el aislamiento e identificación de los virus de la poliomielitis, se utiliza la línea celular HEp-2 cuyo crecimiento y mantenimiento es posible con el uso de medios de cultivo enriquecidos y siguiendo las normas que han sido estandarizadas de acuerdo a las necesidades locales.

Para iniciar el crecimiento de las células, se utiliza el Medio Esencial Mínimo en sales de Hank's con 5 por ciento de suero bovino fetal inactivado (MEMH 5 por ciento).

Para el mantenimiento de las células se utiliza el Medio Esencial Mínimo en sales de Earle con 2 por ciento de suero bovino fetal inactivado (MEME 2 por ciento).

Ambos medios se suplementan con una solución de antibióticos que contiene penicilina (100 U/ml), estreptomycin (100 ug/100 ml) y Anfotericina B (2.5 ug/ml). Neutralizar con cantidad apropiada de bicarbonato sódico 7.5 por ciento.

Con el objeto de obtener un número adecuado de subcultivos, se procede de la siguiente manera:

- Escoger un cultivo con monostrato confluyente y descartar el medio de

mantenimiento.

- Lavar dos veces con solución amortiguadora de fosfatos (SAF) estéril y cubrir el monostrato con solución de tripsina al 0.25 por ciento en solución de Dulbecco a pH 7.6 y descartar inmediatamente.
- Agregar 10 ml de MEMH 5 por ciento y pipetear vigorosamente con el fin de despegar la capa de células adheridas a la pared de la botella y al mismo tiempo separar los grumos de células para obtener una suspensión homogénea.
- Distribuir los 10 ml de la suspensión celular en tres botellas para cultivo y agregar a cada una 10 ml de MEMH 5 por ciento.
- Incubar a 37°C; en 2-3 días los monostratos celulares son confluentes y pueden ser utilizadas para preparación de tubos o para nuevas botellas.

En caso contrario, se sustituye el MEMH 5 por ciento, por una cantidad igual de MEME 2 por ciento que debe ser cambiado cada 5 días. Para la preparación de tubos se sigue el mismo procedimiento, obteniéndose aproximadamente 40 tubos a partir de una botella. Al cabo de dos días los monostratos celulares son confluentes y pueden ser inoculados con virus.

ii) Aislamiento del virus de la poliomielitis:

Una vez obtenido el número adecuado de tubos de cultivo de células y se ha establecido al microscopio el desarrollo normal de las mismas, se procede de la siguiente manera:

- Descartar el medio de crecimiento o de mantenimiento según el caso, inmediatamente antes de su inoculación.
- Inocular dos tubos por cada sobrenadante (muestra) usando 0.1 ml para cada tubo. Colocar el inóculo sobre el monostrato e incubar los tubos a temperatura ambiente en una posición inclinada (gradillas especiales) durante media hora. Agregar 1.5 ml de MEME 2 por ciento e incubar a 37°C.
- Al mismo tiempo inocular dos tubos con una cepa de virus polio conocida, la que sirve como control positivo y dos tubos sin inocular, como control de células.
- Examinar los cultivos diariamente al microscopio durante 15 días para descubrir el efecto citopático (ECP) característico.
- De aquellos cultivos que no muestren ECP característico durante el período de incubación, hacer dos pasajes en la misma línea celular.
- De los cultivos que muestren un ECP característico (incluyendo los sub-pasajes), hacer un pasaje más y congelar a -65°C hasta que sean sometidos a pruebas de identificación para establecer virus polio o no polio.
- Si hay ECP pero la prueba de neutralización es negativa, asumir que otro tipo de enterovirus (no polio: Coxsackie o ECHO) ó Adenovirus, está presente.

iii) Identificación de Poliovirus:

En la identificación de la cepa viral, pueden utilizarse varias pruebas serológicas entre

las que se incluyen: neutralización, fijación de complemento, hemaglutinación e inhibición de la hemaglutinación (1, 13). De estas, la prueba de neutralización es la más aplicable (aunque no necesariamente la más conveniente). Esta consiste en mezclar el virus aislado con un volumen igual de antisuero específico. En la prueba, tanto el virus como el antisuero, deben poseer títulos estandar.

Titulación del antisuero:

Se titulan antisueros polio I, polio II y polio III, utilizando virus polio cepa Sabin en diluciones que contengan 100 dosis infecciosas para 50 por ciento de cultivo de células (100 DI₅₀CT). La titulación se lleva a cabo de la siguiente manera:

- Preparar diluciones progresivas 2 X del suero, empezando con 1:10 hasta 1: 5,120, utilizando como diluyente medio esencial mínimo sólo con antibióticos o una solución amortiguadora de fosfatos estéril.
- Poner 0.2 ml del virus específico en el fondo de los tubos 13 X 100.
- Colocar 0.2 ml de cada dilución del suero específico sobre el virus.
- Agitar las mezclas e incubar una hora a 37°C en baño de María.
- Inocular 0.2 ml de cada mezcla virus-suero en cada uno de dos tubos de cultivo de células e incubar a temperatura ambiente durante media hora.
- Para control de virus, inocular 0.1 ml con la dilución que contenga 100 DI₅₀ CT en cada uno de dos tubos de cultivo de células.
- Dejar dos tubos sin inocular como control de células.
- Agregar 1.5 ml de MEME 2 por ciento a todos los tubos e incubar a 37°C.
- Observar los tubos a los 2, 4, 6 y 8 días de incubación. Determinar el título por lectura del ECP. La última dilución del suero que demuestre neutralización completa del virus (No ECP), es el punto final del título del suero. (Esta dilución contiene 1 U de anticuerpo neutralizante/ 0.1 ml).

La concentración final de anticuerpos neutralizantes en los sueros antipolio debe ser de 20 U neutralizantes/ 0.1 ml en los sueros individuales. Para hacer agregados de los diferentes antisueros específicos, éstos deben ser diluidos de modo que su concentración final en la mezcla sea de 10 U / 0.1 ml.

Titulación del virus:

- Agregar 0.9 ml de MEMH solo con antibióticos a cada uno de seis tubos 13 X 100.
- Al primer tubo marcado 10⁻¹, agregar 0.1 ml del virus no diluido y descartar la pipeta. Agitar y transferir 0.1 ml del tubo 10⁻¹ al tubo 10⁻², continuar las diluciones progresivas hasta 10⁻⁶.
- Inocular 0.1 ml de cada una de las diluciones a cada uno de dos tubos de cultivo de células e incubar a temperatura ambiente por media hora.
- Dejar dos tubos sin inocular como control.

- Agregar MEME 2 por ciento incubar a 37°C y observar diariamente hasta descubrir ECP característico.

NOTA:

Cuando se montan pruebas de neutralización de posibles polio, se asumirá que el título es de 10⁻⁶. Así, 100 DI₅₀CT estarán contenidos en la dilución 10⁻⁴.

Prueba de Neutralización:

Una vez se ha establecido el título del antisuero y del virus aislado, se procede a la prueba de neutralización. Como el objetivo de la presente investigación fue el de determinar si el enterovirus aislado es virus de la poliomielitis, las cepas aisladas solamente fueron ensayadas con un agregado consistente en una mezcla de los tres tipos de poliovirus en proporciones iguales. El procedimiento es el siguiente:

- Diluir cada muestra de tal manera que se obtengan 100 DI₅₀CT del virus aislado.
- En un tubo 13 X 100 colocar 0.3 ml de dicha dilución y 0.3 ml de la mezcla de los tres poliovirus preparada con anterioridad.
- Agitar los tubos e incubar a 37°C por una hora en baño de María.
- Descartar el medio de los tubos de cultivo de células e inocular 0.2 ml de cada mezcla virus-antisuero en cada uno de dos tubos de cultivo de células.
- Inocular dos tubos con 0.1 ml de la dilución que contiene 1000 DI₅₀CT para cada muestra, los cuales sirven como control de la titulación del virus.
- Dejar dos tubos sin inocular como control de células.
- Agregar 1.5 ml de MEME 2 por ciento a cada tubo, incubar a 37°C y anotar los resultados a los 2, 4 y 7 días.

Los tubos conteniendo el virus y el antisuero homólogo no presentarán ECP, mientras que aquellos que contienen la mezcla heteróloga presentarán ECP. Los controles de células deben ser negativos y los controles de virus con 100 DI 50CT, positivos.

c) Diagnóstico de Rotavirus:

Se utiliza una modificación de la técnica descrita por Yolken y colaboradores (107), usando el ensayo inmunoenzimático (ELISA), según el procedimiento siguiente:

- i) En 30 de las 60 copitas interiores de la placa de polivinilo, depositar 100 ul de suero normal de cabra y en las 30 restantes 100 ul de suero de cabra antirotavirus, ambos antisueros diluidos 1:20,000 en solución amortiguadora de carbonato de pH 9.6; luego incubar a 4°C durante toda la noche. Después de esta incubación y de cada una de las subsiguientes, lavar las copitas 3 veces con solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.4, adicionada de 0.5 ml de Tween 20 por litro de solución (SAF- Tween).

- ii) Añadir a cada una de las 60 copitas 50 ul de SAF0Tween, adicionado de suero bovino fetal y suero normal de cabra ambos al 1 por ciento (SAF-Tween-SBF-1o/o-SNC-1o/o). Agregar luego en cuatro copitas, dos sensibilizadas con suero normal de cabra y dos con suero de cabra antirotavirus 50 ul de las suspensiones obtenidas en las centrifugaciones (página 32). Incluir en cada bandeja un estándar positivo, un estándar negativo y un control salino. Incubar las bandejas a 4°C durante toda la noche.
- iii) Adicionar a cada copita 100 ul de suero de cobayo antirotavirus, diluido 1:800 en SAF-Tween, para formar así el primer "sandwich". La solución SAF-Tween contiene suero bovino fetal (SBF) 1 por ciento y suero normal de cabra (SNC) al 0.5 por ciento (SAF-Tween-SBF-1o/o-SNC-0.5o/o). Incubar las bandejas a 37°C durante una hora.
- iv) Añadir a cada copita 100 ul de suero de cabra anticobayo conjugado a fosfatasa alcalina (Sigma) para producir el doble "sandwich". El conjugado se diluye 1:400 en SAF-Tween-SBF-1o/o-SNC-0.5o/o. Las bandejas se incuban a 37°C durante una hora.
- v) Añadir a cada copita 100 ul de P-nitrofenilfosfato (Sigma) en solución amortiguadora de dietanolamina a pH 9.8; incubar a 37°C durante media hora y luego agregar 50 ul de hidróxido de sodio 3 N a cada copita para detener la reacción.
- vi) Comparar visualmente el color de las copitas contra los estándares positivo y negativo. Las muestras positivas producen un color amarillo intenso en las copitas sensibilizadas con suero antirotavirus.

Algunas muestras producen un color intermedio entre los estándares positivo y negativo por lo que se clasifican como dudosas, requiriéndose en consecuencia una prueba de bloqueo para su diagnóstico definitivo.

VIII. RESULTADOS

Los métodos utilizados en este trabajo, son complejos, con altos costos de operación y tiempo de realización sumamente largo, características que se vieron acrecentadas debido a la particularidad de las muestras estudiadas.

La toxicidad para los cultivos celulares que varias muestras presentaron, así como la capacidad de adsorción que caracteriza a los enterovirus, creó la necesidad de estudiar durante mayor tiempo los métodos investigados, hasta lograr la estandarización de los mismos. Por consiguiente, fue necesario hacer varias veces los análisis de las muestras, para asegurar una reproducibilidad adecuada.

Durante un período de 12 meses, se recolectaron 66 muestras provenientes de diferentes sistemas de disposición de excretas, los cuales se dividieron en dos grupos principales.

El primero incluye aquellos sistemas convencionales, de los que se analizaron 20 muestras provenientes de letrinas de pozo, seis de desagües de aguas negras sin tratamiento y seis de plantas de tratamiento de aguas negras, de las cuales tres correspondieron a los lodos resultantes de la bio-degradación y tres a las aguas negras ya tratadas.

En el segundo grupo, que incluye las alternativas propuestas para la disposición higiénica de excretas, se analizaron 11 abonos procesados y 21 cámaras en uso, para un total de 32 muestras provenientes de letrinas aboneras secas familiares (LASF). Se analizaron también en este grupo, los lodos provenientes de dos digestores productores de bio-gas, uno de tipo Chino (modelo circular pequeño y achatado) y uno de tipo Guatemala (Batch-Compost), en el que además se investigó el efluente.

En el primer grupo se logró aislar enterovirus en nueve muestras. Seis de ellas provenientes de letrinas de pozo y tres de los lodos de plantas de tratamiento. Todas las cepas aisladas de letrinas de pozo, fueron identificadas como poliovirus. De los lodos se aislaron dos poliovirus y un posible ECHO ó coxsackie.

Después de concentrar las muestras, se investigó la presencia de rotavirus por el método de ELISA con resultados negativos.

IX. DISCUSION

Los métodos de laboratorio para el diagnóstico virológico que implican el uso de cultivo de tejidos son, en general, procedimientos complejos, con altos costos de operación y que conllevan largo tiempo de ejecución. Por estas razones sólo pueden realizarse en laboratorios especializados que cuenten con el equipo y material necesarios.

La metodología utilizada en este trabajo de investigación, es el resultado de la combinación del método descrito por Hurst y colaboradores (45) como método de concentración y los procedimientos virológicos estandarizados en el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP), que son los recomendados internacionalmente y los utilizados en la mayoría de laboratorios de virología para el aislamiento e identificación de enterovirus y rotavirus.

La importancia del presente trabajo, radica en que es el primer estudio virológico que se realiza en material proveniente de letrinas aboneras y digestores de bio-gas. Los escasos estudios realizados a la fecha, han sido encaminados hacia el análisis bacteriológico y parasitológico (85).

Los resultados (cuadro No. 9), demuestran que se aislaron enterovirus solamente en el grupo de sistemas convencionales de disposición higiénica de excretas. Las muestras tomadas de el grupo de las alternativas propuestas, fueron negativas. Esto sugiere que las LASF y los digestores de bio-gas son eficaces en la inactivación de los virus que se transmiten por la vía feco-oral.

La anterior aseveración es apoyada en los siguientes hechos:

1. Los poliovirus se aislaron en seis oportunidades a partir de las letrinas de pozo. Una situación similar podría esperarse en las muestras provenientes de cámaras en uso de las LASF, si se toma en cuenta que en éstas diariamente se depositan las heces frescas de toda una familia que generalmente es numerosa en el área rural. Sin embargo, en las muestras provenientes de las LASF los resultados fueron negativos. La explicación para estos hallazgos puede ser que, mientras en las letrinas de pozo las heces son depositadas en medio líquido y sin tratamiento posterior, en las LASF el tratamiento es eficaz aunque simple. Este consiste, además de la digestión aeróbica-anaeróbica que normalmente ocurre, en agregar cenizas vegetales ó cal. Estas cumplen varios objetivos: absorber la humedad, neutralizar los malos olores y elevar la alcalinidad del sistema, hecho que se complementa con la acción de la temperatura que se eleva dentro de la cámara y la recolección de la orina en un recipiente aparte.

Esto da como resultado la formación de un material compacto y seco. Todas estas condiciones, son adversas a la sobrevivencia de los diferentes microorganismos patógenos. Los resultados de varios investigadores, indican claramente que el calor, el pH alcalino y la deshidratación de los lodos por evaporación, son los factores predominantes para la inactivación de los enterovirus y reovirus (8, 53, 99).

2. De las cinco muestras de lodos digeridos analizadas, se aisló enterovirus en las tres que corresponden a tanques de tratamiento de aguas negras. Las dos restantes, que corresponden a los digestores de bio-gas, fueron negativas.

La presencia de enterovirus y reovirus en lodos digeridos en plantas de tratamiento de aguas negras ha sido ampliamente demostrada (7, 33, 60, 81, 100).

Según describen otros autores (57), los lodos de desagües y plantas de tratamiento, son una fuente rica en virus; por lo tanto resultan ser un material adecuado para establecer parámetros de comparación. Para este caso, se comparan con los lodos provenientes de los digestores de bio-gas.

Respecto al análisis de las aguas negras tratadas y no tratadas, se demostró que las 11 muestras estudiadas fueron negativas. La razón podría ser que el método de concentración utilizado, posee baja sensibilidad para este tipo de muestra. Esto se evidencia al haber aislado enterovirus únicamente en los lodos de plantas de tratamiento; vale enfatizar que los enterovirus poseen la particularidad de adsorberse a las partículas sólidas en suspensión, lo que les permite viajar en las aguas negras y ser concentrados en los lodos tratados en dichas plantas. En consecuencia, es posible que las aguas negras así tratadas, estén exentas de virus o que tengan niveles bajos de infecciosidad.

Es necesario mencionar que, en ninguno de los ocho poliovirus aislados se determinó el tipo respectivo, y que ninguno, se estudió para determinar si corresponden al virus de la vacuna (cepa Sabin) o bien si se trata del virus infeccioso (salvaje).

Respecto a los rotavirus, estudios realizados en Guatemala demuestran que pueden ser aislados en un 14.2 por ciento de niños que padecen diarrea (77, 104) y que pueden ser aislados en cualquier época del año, con marcada prevalencia en los meses fríos cada dos años (104). Así mismo, Davidson y colaboradores (18), sugieren la posibilidad de encontrarlo en desagües y otros ambientes similares, debido a que los individuos infectados son capaces de excretar al menos 10^9 partículas/gramo de heces. A pesar de tales consideraciones, en ninguna de las 66 muestras estudiadas se demostró la presencia de este agente.

Trabajos previos (25), han demostrado que los rotavirus están unidos con menos eficiencia que los enterovirus, a los sólidos provenientes de desagües. Consecuentemente los procesos de digestión en las plantas de tratamiento, son eficaces en retirar los enterovirus de las aguas negras que recolectan pero no igualmente efectivos para los rotavirus. Por lo tanto, es posible su descarga en los cuerpos de agua donde se descartan las aguas negras ya tratadas. Además, los resultados obtenidos por Hurst y Gerba (46), indican que los rotavirus son capaces de sobrevivir largo tiempo en aguas naturales contaminadas.

Tanto el trabajo de Farrah y colaboradores (25) como el de Hurst y Gerba (46), fueron realizados de una manera "artificial", usando como modelo un rotavirus relacionado, el SA-11 aislado de simios.

Hasta la fecha, no se ha informado sobre el aislamiento "natural" de rotavirus humano en sistemas de disposición de excretas y ambientes similares. Así, las consideraciones asumidas por estos autores, sólo podrán tener valor cuando la metodología para investigar rotavirus humano a partir de aguas negras, lodos, etc., esté bien establecida.

Es evidente que el suministro adecuado de agua potable y adecuada disposición de excretas son medidas de gran importancia para el saneamiento del medio, principalmente en el área rural, en donde la mayor parte de población obtiene el vital líquido de los lugares que les exige el menor esfuerzo. Esto significa que, al mismo tiempo, recogen microorganismos patógenos provenientes del fecalismo indiscriminado en el suelo. Sin embargo, debe reconocerse que tales medidas deberán llevarse a cabo en las debidas condiciones tomando en cuenta factores socioeconómicos, culturales y técnicos.

Respecto a la disposición de excretas, está claro que en el área rural aquellos sistemas que involucran su transporte por sistemas de desagües, no son las mejores alternativas, debido a los problemas técnicos, económicos y de contaminación a otras fuentes de agua que

presentan. Por lo tanto, debe concentrarse la atención en aquellas alternativas que conllevan el tratamiento de las excretas en su propio origen (hogar, escuela, etc.), y, preferentemente, que estén ligados a la aplicación de métodos satisfactorios de preparación de fertilizantes y/o bio-gas. Indudablemente, estas medidas mejorarán el estado de salud de las comunidades y el desarrollo económico de las mismas.

X. CONCLUSIONES

1. Las alternativas propuestas para la eliminación de excretas en el área rural e investigadas en ésta tesis, son efectivas para la eliminación de los virus que se transmiten feco-oralmente.
2. Los abonos procesados en las letrinas aboñeras secas familiares son inocuos desde el punto de vista virológico.
3. Las letrinas secas familiares y los digestores de bio-gas, resultan ser alternativas que pueden resolver grandes problemas de salud en el área rural desde varios puntos de vista: higiene, salud, alimentos y energía.
4. Las plantas de tratamiento son efectivas para la separación de enterovirus a partir de aguas negras. Los lodos provenientes de las mismas podrían ser una ruta de transmisión si no se tratan posteriormente.
5. Los lodos digeridos en plantas de tratamiento, podrían ser utilizados como un fertilizante adecuado si reciben un tratamiento posterior como la desecación o el composting, que ha demostrado ser eficaces en la inactivación viral.
6. La detección de poliovirus en lodos digeridos, sugiere la probable presencia de otros virus que se transmiten por la vía feco-oral.
7. Los métodos de concentración utilizados en este trabajo, no fueron efectivos para el aislamiento e identificación de virus a partir de sistemas que involucran grandes volúmenes de agua, aunque pueden proveer utilidad en la investigación que concierne a la optimización de los métodos de tratamiento de lodos de desagües.
8. La presencia de rotavirus no logró ser demostrada por los procedimientos seguidos en este trabajo, no obstante que las muestras se sometieron a métodos de concentración y que el método de ELISA es una prueba serológica sumamente sensible.

XI. RECOMENDACIONES

1. **Estudiar un número mayor de muestras en los sistemas convencionales, con muestreos seriados, para establecer con mayor claridad la incidencia de los diferentes tipos de virus, que puedan estar presentes en este tipo de ambientes y la variación estacional de los virus en los mismos.**
2. **Utilizar los lodos digeridos provenientes de plantas de tratamiento como fertilizante, siempre y cuando se aplique un tratamiento posterior adecuado.**
3. **Establecer un método más sensible para investigar la frecuencia del grupo y tipo de enterovirus aislado en aguas negras y plantas de tratamiento. De igual manera, se recomienda establecer si el tipo de poliovirus aislado, pertenece al virus atenuado de la vacuna (cepa Sabin) o bien si se trata del virus salvaje (infeccioso).**
4. **Establecer la metodología adecuada para el diagnóstico de rotavirus humano en diversos sistemas ambientales.**
5. **Utilizar las letrinas aboneras secas y los digestores de biogás en futuras campañas de letrinización, en vista de su valor sanitario y como productores de bio-gas y fertilizante.**

XII, BIBLIOGRAFIA

1. Acton, J. D., L.S. Kucera., Q.N. Myrvik y R.S. Weiser. *Virología* (Traducido del inglés por R. Folch) México, Interamericana 1977. p. 331.
2. Aguilar, F. J. "Parasitismo intestinal en Guatemala". *Rev. Col. Med.*, 24 : 175 1975.
3. Armstrong C. "The experimental transmission of poliomyelitis to the eastern cotton rat, *sigmodon hispidus*, hispidus". *Public Health Rep.* 54 : 1719-21, 1939. Citado por: Horstmann, D.M. "The Picornavirus group". En: Horsfall, F.L. Jr. y I. Tamm. eds. *Viral and Rickettsial Infections of Man*. 4th. ed. Philadelphia. J.B. Lippincott Co. / c 1965 / pp. 425-473.
4. Beck, M.D., J.A. Muñoz y N.S. Scrimshaw. "Studies on diarrheal disease in Central America. I. Preliminary findings on cultural surveys of normal population groups in Guatemala". *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, . 6 : 62-65. 1957.
5. Bennet, S.W. y R.U. Carcavallo. "Sistemas ecológicos y salud humana". *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 86 : 1-17. 1979.
6. Berg, G., D.R. Dahling y D. Berman. "Recovery of small quantities of viruses from clean waters on cellulose nitrate membrane filters". *Appl. Microbiol.*, 22 : 608-14. 1971.
7. Bloom, H.H., W.N. Mack., B.J. Krueger y W.L. Mallmann. "Identification of enteroviruses in sewage". *J. Infect. Dis.*, 105 : 61-68. 1959.
8. Breindl, M. "The structure of heated poliovirus particles". *J. Gen. Virol.*, 11 : 147-56. 1971. Citado por: McGeady M.L., June-sang Siak y R.L. Crowell, "Survival of coxsackievirus B3 under diverse environmental conditions". *Appl. Environ. Microbiol.*, 37 : 972-77. 1979.
9. Cáceres A., y E. Villagrán. "Infecciones por parásitos en estudiantes universitarios de la ciudad de Guatemala". *Rev. Col. Med. Guate.*, 25 : 49-51, 1974.
10. Cáceres A., y M.S. Torres. "Informe Preliminar sobre Contaminación Fecal en el Lago de Atitlán". *Mortero*, 2: 5,7. 1978.
11. Clark, E.M., D.J. Knowles., F.T. Shimada., A.J. Rhodes., R.C. Ritchie y W.L. Donohue. "Coxsackievirus in urban sewage, recovery of virus in season of low incidence of reported poliomyelitis". *Canad. J. Pub. Health.*, 42 : 103-107. 1951.
12. Clarke, N.A., R.E. Stevenson., J.L. Chang y P.W. Kabler. "Removal of enteric viruses from sewage by activated sludge treatment". *Am. J. Pub. Health.*, 51; 118-29. 1961.
13. Cohen, A. *Textbook of medical virology*. Oxford and Edinburgh. Blackwell Scientific publications 1969. pp. 219-259.
14. Cooney, M.K., L.C. McLaren y H. Bauer. "A newly-recognized enteroviruses with affinity for primary human amnion cells isolated from cases of aseptic meningitis". *Am. J. Hyg.*, 75 : 301-310. 1962.
15. Dalldorf G. "The coxsackie group of viruses", *Science.*, 110 : 594. 1949.

16. Dalldorf, G., y G.M. Sickles. "An unidentified filtrable agent isolated from the feces of children with paralysis". *Science.*, 108 : 61-62. 1948.
17. Daniel, M., y I. Dömök. "Virological examination of urban sewage in periods of mass immunization with live attenuated polioviruses". *Acta Microbiol.* 9 : 251-59. 1962.
18. Davidson, G.P., R.F. Bishop., y R.R.W. Townley. "Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children". *Lancet.*, 1 : 242-45. 1975.
19. Derbyshire, J.B. y G.N. Woode. "Clasificación de rotaviruses: report from the World Health Organization, Food and Agriculture organization. Comparative, virology, program". *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 173 : 519-21. 1978.
20. División de Salud de la Familia (OMS) La Salud de los niños del mundo: necesidades y problemas. En: Niño Sano Porvenir del Mundo. (DMS. 79/3). pág. variada. 1979.
21. Efectos del deterioro del medio ambiente en el hombre. Crónica de la OMS., 28 : 608-12. 1974.
22. Ehlers, V.M., y E.W. Steel. Saneamiento Urbano y Rural.. 6a. ed. México. Interamericana. 1966. pp 1-78.
23. Enders. J.F., T.H. Weller y F.C. Robbins. "Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues". *Science.*, 109 : 85-87. 1949.
24. Farrah, S.R. y G. Bitton. "Elution of poliovirus adsorbed to membrane filters". *Appl. Environ. Microbiol.*, 36 : 982-84. 1978.
25. Farrah, S.R., S.M. Goyal., C.P. Gerba., R.H. Conklin y E.M. Smith. "Comparison between adsorption of poliovirus and rotavirus by aluminum hydroxide and activated sludge Flocs". *Appl. Environ. Microbiol.*, 35 : 360-63. 1978.
26. Feachem R., y S. Cairncross. Small Excreta Disposal Systems. London. Ross Institute of Tropical Hygiene. 1978. 54 p. (Ross Bulletin 8).
27. Fenner, F. "Clasificación and nomenclature of viruses. Second report of the International Committee on Taxonomy of Viruses". *Intervirology.*, 7 : 34-36. 1976.
28. Flewett, T.H., A.J. Bryden., H. Davies. "Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves". *Lancet.*, 2 : 61-63. 1974.
29. Flewett T.H. y G.N. Woode. "The rotaviruses". *Arch. Virol.*, 57 : 1-23. 1978.
30. Gangarosa, E.J. "Base epidemiológica del control del cólera". *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 77 : 281-90. 1974.
31. Gerga, C.P., C. Wallis y J.L. Melnick. "Microbiological hazard of household toilets: droplet production and the fate of residual organism". *Appl. Microbiol.*, 30: 229-37. 1975.
33. Glass, I.S., R.J. Sluls y W.A. Yanko. "Practical method for detecting poliovirus in anaerobic digester sludge". *Appl. Environ. Microbiol.*, 35: 983-985. 1978.

34. González F. Valores Hematológicos Normales de la Población de Cobán A.V. Tesis (Químico Biólogo) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1977.
35. Gordon J.E., M. Béhar y N.S. Scrimshaw. "Acute diarrhoeal disease in less developed countries. I. An epidemiological basis for control". *Bull. WHO.*, 31: 1-7. 1964.
36. Gordon J.E., V. Pierce., W. Ascoli y N.S. Scrimshaw. "Studies of diarrheal disease in Central América. II, Community prevalence of Shigella and Salmonella infections in child-hood". *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 11: 389. 1962.
37. Goyal, S.M., y C.P. Gerba. "Comparative adsorption of human enteroviruses, simian rotaviruses and selected bacteriophages to soils". *Appl. Environ. Microbiol.*, 38: 241-247. 1979.
38. Haas, R., y O. Vivell. Infecciones Humanas por Virus y Rickettsias. (Traducido del alemán por Juan Díaz Vásquez) Barcelona. Ed. Científico-Médica. 1968.
39. Hejkal, T.W., Flora M. Wellings., P.A. LaRock y A.L. Lewis. "Survival of poliovirus within organic solids during chlorination". *Appl. Environ. Microbiol.*, 38: 114-18. 1979.
40. Hermann J.E., K.D. Kostenbader Jr. y D.O. Cliver. "Persistence of enterovirus in lake water". *Appl. Microbiol.*, 28: 895-896. 1974.
41. Honig, E.I., J.L. Melnick., P. Isacson., R. Parr., I.L. Meyer y M. Walton. "An epidemiological study of enteric virus infections". *J. Exp. Med.*, 103 : 247-262. 1956.
41. Hortsman, D.M. "The Picornavirus Groups". En: Horsfall, F.L. Jr. y I. Tamm. eds. *Viral and Rickettsial Infections of Man.* 4a. ed. Philadelphia. J.B. Lippincott Co. / c1965 / pp 425-29.
43. Hsiung, G.D. y J.L. Melnick. "Morphological characteristics of plaques produced on monkey kidney monolayer cultures by enteric viruses. (poliomyelitis, Coxsackie and ECHO groups)". *J. Immunol.*, 78: 128-136. 1957a.
44. Hsiung, G.D. y J.L. Melnick. "Comparative susceptibility of kidney cells from different monkey species to enteric viruses (poliomyelitis, Coxsackie and ECHO groups). *J. Immunol.*, 78: 137-46. 1957b.
45. Hurst, J.C., S.R. Farrah., C.P. Gerba., y J.L. Melnick. "Development of quantitative methods for detection of enteroviruses in sewage sludges during activation and following land disposal". *Appl. Environ. Microbiol.*, 6 : 81-89. 1978.
46. Hurst, J.C. y C.P. Gerba. "Stability of simian rotavirus in fresh and estuarine water". *Appl. Environ. Microbiol.*, 39: 1-5. 1980.
47. International Enterovirus Study Group, Picornavirus group. *Virology* ., 19 : 114-16. 1963.
48. Kalica, A.R., R. Wyatt, y A.Z. Kapikian. "Detection of difference among human and animal rotaviruses using analysis of viral RNA". *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1973: 531-37. 1978.

49. Kalica, A.R., R.H. Pucerril, M.M. Sereno, R.G. Wyatt, H.W. Kim, R.M. Chanock y A.Z. Kapikian. "A microtiter solid phase radioimmunoassay for detection human reovirus-like agent in stools". *J. Immunol.*, 118 : 1275-79. 1977.
50. Kapikian, A.Z., W.L. Cline, C.A. Mebus, R.G. Wyatt, A.R. Kalica, H.D. James, D. Vankirk, R.M. Chanock y H.W. Kim. "New complement-fixation test for the human reovirus-like agent of infantile gastroenteritis". *Lancet.*, 1: 1056-61. 1975.
51. Kapikian, A.Z. "Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with winter gastroenteritis in the hospitalized infants and young children". *N. Engl. J. Med.*, 294 : 965-972. 1976.
52. Kapikian, A.Z. "Antigenic relationships among five reoviruslike agent (RVL) by complement-fixation (CF) and development of a new substitute CF antigens for the Human RVL agent of infantile gastroenteritis". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 152: 535-39. 1976.
53. Katagiri, S., S. Aikawa, Y. Hinuma. "Stepwise degradation of poliovirus capsid by alkaline treatment". *J. Gen. Virol.*, 13: 101-109. 1971.
54. Kelly, S. J. Winsser y W. Kinkelstein. "Poliomyelitis and other enteric viruses in sewage". *Am. J. Pub. Health.*, 47: 72-77. 1957.
55. Kelly, S. "Enteric virus isolations from sewage". *Acta Med. Scand.*, 159 (fase 1) : 63-70. 1957.
56. Kourany, M. "Papel del laboratorio en el manejo y vigilancia epidemiológica de las diarreas". En: Seminario sobre nuevas tendencias para el diagnóstico y tratamiento del síndrome diarreico, Centroamérica y Panamá. INCAP, Guatemala, Nov. 24-28 1975. Documento de trabajo e informe final. Guatemala, OPS-INCAP. 1 vol. pág. variada, Tema 2.
57. Konowalchuk, J. y J.I. Speirs. "Enterovirus recovery with vegetable floc". *Appl. Microbiol.*, 26: 505-507. 1973.
58. Krugman, S., R. Ward y Joan P. Giles. "The natural history of infection hepatitis". *Am. J. Med.*, 32: 717-728. 1962.
59. Landry, E.F., J.M. Vaughn, McH.Z. Thomas y T.J. Vicale. "Efficiency of beef extract for the recovery of poliovirus from wastewater effluents". *Appl. Environ. Microbiol.*, 36 : 544-548. 1978.
60. Lund, E., y V. Ronne. "On the isolation of virus from sewage treatment plant sludges". *Water. Res.*, 7 : 863-971. 1973. citado por: Hurst, C.J. y col. "Development of quantitative method for detection of enterovirus in sewage sludges during activation and following land disposal". *Appl. Environ. Microbiol.*, 36 : 81-89. 1978.
61. Landsteiner, K. y E. Popper. "Übertragung der poliomyelitis acuta auf affen". *Z. Immunitätsforsch. Orig.*, 2: 277-390. 1909. Citado por: Horstmann, D.M. "The picornavirus group". En: Horsfall, F.L. Jr. y I. Tamm. eds. *Viral and Rickettsial Infections of Man*. 4a. ed. Philadelphia, J.B. Lippincott Co. / c1965 / pp. 425-473.
62. Mata, L.J. "Manual de técnicas en histocultivos". Mi m. INCAP.

63. Mata, L.J. y C.E. Beteta. "Colonización del intestino de niños lactantes por virus, bacterias y levaduras". *Rev. Col. Med. Guate.*, 16 : 127-135. 1965.
64. Mata, L.J., E. Gangarosa, A. Cáceres, D.R. Perera y M.L. Mejicanos. "Epidemia de disentería Shiga en Centroamérica. I. Investigaciones etiológicas en Guatemala". *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 71 : 93-107. 1971.
65. Mata, L.J., A. Cáceres, R. Fernández, M. Torres, M. Córdón y R. Rosales. "Avances sobre el conocimiento de la disentería en Guatemala". *Rev. Lat. Amer. Microbiol.*, 14: 1-10. 1972.
66. Mata, L.J., M.L. Mejicanos y S. Jiménez. "Studies on indigenous gastro-intestinal flora on Guatemalan children". *Amer. J. Clin. Nutr.*, 25 : 1380-90. 1972.
67. Mata, L.J., Urrutia J.J., A. Cáceres y M.A. Guzmán. "The biological environment in a Guatemalan rural community". En: *Proceedings of the Western Hemisphere Nutrition Congress III*, Futura Publishing Co. New York. pp. 257-264. 1972.
68. Mata, L.J. "The environment of the malnourished child". En: *Nutrition and Agricultural Development, Significance and Potential for the Tropics*. Eds. Nevin S. Scrimshaw y M. Béhar. New York. Plenum Press. pp. 45-60. 1976.
69. Maynard J.E. "Hepatitis A". *Am. J. Path.*, 81 : 683-694. 1975.
70. McCabe J.J. y T.W. Haines. "Diarrheal disease control by improved human excreta disposal". *Pub. Health Rep.*, 72 : 921-27. 1957.
71. McGeady Mary Loy, June-sang Siang y R.L. Crowell. "Survival of coxsackie virus B3 under diverse environmental conditions". *Appl. Environ. Microbiol.*, 37 : 972-77. 1979.
72. Mebus C.A., N.R. Underdahl, y M.B. Rhodes. "Calf diarrhea (scours) reproduced with a virus from a foal outbreak". *Univ. Neb. Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, 223 : 1-16. 1969.
73. Melnick J.L. "Isolation of poliomyelitis virus from a single species of flies collected during and urban epidemic". *Am. J. Hyg.*, 49 : 9-16. 1949.
74. Melvin D.M. y L.J. Mata. "Intestinal parasites in a Mayan indian village of Guatemala". *Rev. Lat. Amer. Microbiol.*, 13 : 15-19. 1971.
75. Middleton P.J., Szymanski M.T. y Abbot G.D. "Orbivirus Acute gastroenteritis in infancy". *Lancet.*, 1 : 1241-44. 1974.
76. Middleton P.J., M. Petric, C.M. Hewitt, M.T. Szymanski y J.S. Tamm. "Counterimmunoelectro-osmophoresis for detection of infantile gastroenteritis virus (Orbi-group) antigen-antibody". *J. Clin. Path.*, 29 : 191-97. 1976.
77. Monroy G. J. Rehidratación oral. Incidencia de bacterias enteropatógenas y rotavirus sobre diarreas agudas en el hospital de Retalhuleu. Tesis (Médico y cirujano). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. 1980.
78. Muñoz C.E. "II. Proyectos de contaminación de cuerpos de agua. Proyecto de investigación de corrientes en la cuenca sur del valle de Guatemala (cuenca del río Villalobos y lago de Amatitlán)". *Ingeniería.*, 27 : 15-21. 1974.

79. O'Brien R.T. y J.S. Newman. "Inactivation of poliovirus and coxsackie virus in surface water". *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 334-340. 1977.
80. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Mayor Producción con Menos Tierra. "El aumento de la producción agrícola mediante el mejoramiento tecnológico". Roma. 1969. 86 pp. (FAO, El Mundo y su Alimentación No. 8).
81. Palfi A. "Survival of enteroviruses during anaerobic sludge digestion". PA/13/26/ 1-6. En: S.H. Jenkins (ed). *Advances in water pollution research (Proceedings of the 6th International Conference)* Pergamon Press. Elmsford.
82. Paul J.R., J.L. Melnick y J.T. Riordan. "Comparative neutralizing antibody patterns to Lansing (type 2) poliomyelitis virus in different populations". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 56: 232-251. 1952.
83. Pazos A. "III. Proyecto de métodos de tratamiento. Investigación de tratamiento de aguas negras por medio de filtro percolador torre". *Ingeniería*, 27 : 27-31. 1974.
84. Ramos-Alvarez M., y A.B. Sabin. "Characteristics of poliomyelitis and other enteric viruses recovered in tissue culture from health and american children". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 87 : 655-661. 1954.
85. Republica Popular de China, Provincia de Hopei. Sección de Higiene del Comité Revolucionario del Distrito de Chien-Ann. "The Practices and management of excreta and farm waste composting". En: *Compost, Fertilizer and Biogas production from Human and Farm Wastes in the Peoples Republic of China*. Editores: M.G. McGarry y S. Stainforth. /Ottawa, International Development Research Center. 1978 / pp. 5-13.
86. Richtsel, W.A., R.A. Keltsch., F.M. Tekushan y I.W. McLean Jr. "Tissue culture cultivation of cytopathogenic agents from patients with chemical hepatitis". *Science*, 124 : 226-. 1956.
87. Riordan J.T., "Isolations of enteroviruses from sewage before and after vaccine administration". *Yale. J. Biol. Med.*, 34 : 512-21. 1962.
88. Romero A. "Algunas características epidemiológicas de las enfermedades diarreicas en Centroamérica y sus sistemas de vigilancia epidemiológica". En: *Seminario sobre nuevas tendencias para el diagnóstico y tratamiento del síndrome diarreico Centroamérica y Panamá*. INCAP, Guatemala, Nov. 24-28. 1975. Documento de trabajo e informe final. /Guatemala/ OPS-INCAP /1976/, 1 volumen, paginación variada. Tema 2.
89. Shiffman M. y R.E. Schneider. "The development and evaluation of measures to reduce food waste caused by intestinal diseases". *Annual progress report for AID Contract*. No. CDS-2959 ed. 1974 y 1975.
90. Simkova A. y Z. Wallernova. "Isolation of coxsackie viruses from Danube river water". *Acta. Virol. Engl. Ed.*, 17Bs, : 505-506. 1973.
91. Smith E.M., C.P. Gerba y J.L. Melnick. "Role of sediment in the persistence of enteroviruses in the stuarine environment". *Appl. Environ. Microbiol.*, 35 : 685-89. 1978.

92. Thouless, M.E., A.S. Bryden y T.H. Flewett. "Serological relationships between rotaviruses from different species as studied by complement fixation and neutralization". *Arch. Virol.*, 53 : 287-94. 1977.
93. Trask. J.D., A.J. Vicenc y J.R. Paul. "Polioomyelitis virus in human stools". *J. A. M. A.*, 111 : 6-11. 1938.
94. Urrutia J.J. "El patrón de colonización intestinal y su relación con la enfermedad diarreica en niños de un área rural de Guatemala". En: *Seminario sobre nuevas tendencias para el diagnóstico y tratamiento del síndrome diarreico en Centroamérica y Panamá*. INCAP. Guatemala, Nov. 24-28. 1975. Documento de Trabajo e Informe Final. /Guatemala/ OPS-INCAP /1976/. 1 vol. paginación variada. Tema. 2.
95. Villarejos V.M., Visona K.A., Eduarte A. y col. "Evidence for viral hepatitis other than type A or type B among persons in Costa Rica". *N. Engl. J. Med.*, 293 : 1350-52. 1975.
96. Vond Bondsdorff C.H., y T.H. Hovi. "Rotaviruses associated with acute gastroenteritis in adults". *Lancet.*, 2 : 423. 1976.
97. Wagner E.G. y J.N. Lanoux. *Evacuación de excretas en las zonas rurales y en las pequeñas comunidades*. OMS. Serie de monografías No. 39. Ginebra, 1960.
98. Wallis C. y J.L. Melnick. "Concentration of viruses from sewage by adsorption on millipore membrane". *Bull. WHO.*, 36 : 219-25. 1967.
99. Ward L.R. y C.S. Ashley. "Inactivation of enteric viruses in wastewater sludge through dewatering by evaporation". *Appl. Environ. Microbiol.*, 34 : 564-570. 1977.
100. Wellings F.M., A.L. Lewis y C.W. Mountain. "Demonstration of solid-associated virus in wastewater and sludge". *Appl. Environ. Microbiol.*, 31 : 354-58. 1976.
101. Wimblad U. y K. Torstesson. *Sanitation without water*. Preliminary edition. Stockholm, Sweden, Sund offset Sthlm. 1978.
102. Woode G.N., J.C. Bridger., G.A. Hall y col. "The isolation of reovirus-like agent (rotaviruses) from acute gastroenteritis of piglets". *J. Med. Microbiol.*, 9 : 203-209. 1976.
103. Woode G.N., J.C. Bridger y J.M. Jones. "Morphological and antigenic relationships between viruses (rotaviruses) isolated from acute gastroenteritis of children, calves, piglets, mice and foals". *Infect. Immun.*, 14 : 804-810. 1976.
104. Wyatt G.R., R.H. Yolken, J.J. Urrutia L.J. Mata, H.B. Greenberg, R.M. Chanock y A.Z. Kapikian. "Diarrhea associated with rotaviruses in rural Guatemala: a longitudinal study of 24 infants and young children". *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 28 : 325-28. 1979.
105. Wyke R.J., Tsiquaye K.N., Thornton A., y col. "Transmission of Non-A, Non-B Hepatitis to chimpanzees by factor IX concentrates after fatal complications in patients with chronic liver disease". *Lancet.*, 1 : 520-24. 1979.
106. Yolken R.H., R.G. Wyatt., A.R. Kalica., H.W. Ki m., C.D. Brandt., R.H. Parrot., A.Z. Kapikian y R.M. Chanock. "Use of a free viral immunofluorescence assay to detect human reovirus-like agent in human stools". *Infect. Immun.*, 16 : 467-70. 1977.

107. Yolken R.H., H.W. Kim., T. Clem., R.G. Wyatt., A.R. Kalica., R.M. Chanock y A.Z. Kapikian. "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of human reovirus-like agent of infantile gastroenteritis". Lancet., 2 : 263-67. 1977.
108. Programas de Saneamiento Básico y Rural en Centroamérica y Panamá (Nicaragua y Guatemala). En: XXIV Reunión de Ministros de Salud Pública y IX de Directores Generales de Salud de Centroamérica y Panamá. San Salvador, El Salvador. Julio 16-21, 1979. Documento de Trabajo. REMCAP/23/T.4/79. OPS.

XIII. ANEXOS

CUADRO No. 1

**LAS CINCO PRINCIPALES CAUSAS DE DEFUNCION,
CON TASAS POR 100,000**

	CAUSAS	No ORDEN	TASA	PORCENTAJE
COSTA RICA	Tumores malignos	1	68.9	14.1
	Enfermedades del corazón	2	68.5	14.0
	Accidentes	3	42.5	8.7
	Influenza y Neumonía	4	30.8	6.3
	Mortalidad perinatal	5	27.2	5.6
EL SALVADOR	Enteritis y enf. diarreicas	1	104.9	13.3
	Accidentes	2	47.2	6.0
	Mortalidad perinatal	3	35.1	4.5
	Homicidios	4	33.0	4.2
	Influenza y neumonía	5	32.3	4.1
GUATEMALA	Enteritis y enf. diarreicas	1	230.6	18.3
	Influenza y neumonía	2	197.5	15.7
	Sarampión	3	79.9	6.3
	Accidentes	4	62.2	4.9
	Avitaminosis y def. nutrición	5	49.4	3.9
HONDURAS	Enteritis y enf. diarreicas	1	99.6	14.2
	Accidentes	2	65.6	9.4
	Enfermedades del corazón	3	62.9	9.0
	Influenza y neumonía	4	30.0	4.3
	Bronquitis, efisema y asma	5	22.5	3.2
NICARAGUA	Enteritis y enf. diarreicas	1	108.7	18.7
	Accidentes	2	49.1	8.4
	Enfermedades del corazón	3	38.5	6.6
	Enfermedades cerebrovasculares	4	23.4	4.0
	Homicidios	5	22.8	3.9
PANAMA	Enfermedades del corazón	1	68.4	12.3
	Accidentes	2	49.0	8.8
	Tumores malignos	3	43.3	7.8
	Influenza y Neumonía	4	40.6	7.3
	Enf. cerebrovasculares	5	37.8	6.9

Tomado de: Referencia 108

CUADRO No. 2
INTOXICACIONES POR INSECTICIDAS, NOTIFICADAS EN
CINCO PAISES CENTROAMERICANOS
1971 - 1976

PAIS	AÑO						TOTAL
	1971	1972	1973	1974	1975	1976	
Costa Rica	196	235	259	326	216	—(*)	1,232
El Salvador	586	2860	1301	1331	1454	1385	8,917
Guatemala	1134	2313	1621	1010	1044	1144	8,266
Honduras	—	30	48	37	—	—	115
Nicaragua	—	557	243	—	—	—	800
TOTAL	1196	5995	3472	2704	2714	2529	19,330

(*) significa datos no obtenidos.

Tomado de Referencia 108.

CUADRO No. 3
POBLACION RURAL, CON ALGUN SERVICIO DE AGUA
Diciembre, 1977

PAIS	POBLACION RURAL	Población beneficiada	
		HABITANTES	o/o
Costa Rica	1.138,280	714,750	62.8
El Salvador	2.657,630	698,640	26.3
Guatemala	4.190,700	602,800	14.4
Honduras	1,848,000	580,600	31.4
Nicaragua	1.062,000	460,000	43.3
Panamá	867,900	553,990	63.8
Sumas	11.764,510	2,979,930	25.3

Fuente de Información: Referencia 108.

CUADRO No. 4

POBLACION RURAL SERVIDA CON ALCANTARILLADO Y OTROS MEDIOS SANITARIOS DE ELIMINACION DE EXCRETAS Diciembre de 1977			
PAIS	POBLACION RURAL	Población No. HABITANTES	Servida o/o
Costa Rica	1.138,280	978,130	85.8
El Salvador	2.657,630	462,425	17.4
Guatemala	4.190,700	738,100	17.6
Honduras	1.848,000	143,700	7.8
Nicaragua	1.062,000	446,000	42.0
Panamá	867,900	685,050	78.9
Sumas	11.764,510	3.453,405	29.3

Fuente de Información: Referencia 108.

CUADRO No. 5

AGENTES BACTERIANOS EN ENFERMEDAD DIARREICA

Agentes	Enfermedad
<u>Shigella</u>	Enterocolitis, disentería
<u>Salmonella</u>	Enteritis, gastroenteritis, Fiebres entéricas.
<u>Escherichia coli</u>	Diarrea epidémica del recién nacido,
<u>Enteropatógena</u>	enteritis, disentería.
<u>Escherichia coli</u>	Gastroenteritis.
<u>toxigénica</u>	
<u>Vi brio cholerae</u>	Gastroenteritis, enteritis.
<u>Vibrio parahemolyticus</u>	Gastroenteritis, enteritis.
<u>Vibrio fetus</u>	Enteritis, disentería.
<u>Clostridium perfringens</u>	Gastroenteritis, enteritis.
<u>Srrophylococcus aureus</u>	Gastroenteritis, enterocolitis
<u>Aeromonas hydrophila</u>	Diarrea
<u>Edwarsiella tarda</u>	Diarrea
<u>Yersinia enterocolitica</u>	Diarrea
<u>Bacillus cereus</u>	Diarrea
<u>Bacillus subtilis</u>	Diarrea

Tomado de: INCAP 75-86.

CUADRO No. 6

AGENTES PARASITARIOS DE ENFERMEDAD DIARREICA

Agente	enfermedad
<u>Entamoeba histolytica</u>	Asintomático, diarrea, colitis, disenteria.
<u>Giardia lamblia</u>	Asintomático, diarrea crónica, mala absorción.
<u>Balantidium coli</u>	Asintomático, diarrea-estreñimiento, disentería.
<u>Trichuris trichiura</u>	Asintomático, diarrea, disentería.

CUADRO No. 7

AGENTES VIRALES EN ENFERMEDAD DIARREICA

Agentes	Enfermedad
<u>Echo 11, 14, 18</u>	Diarrea epidémica
<u>Echo 19</u>	Diarre no epidémica
<u>Coxsackie B₃</u>	Diarrea no epidémica
<u>Poliovirus 2</u>	Diarrea no epidémica
<u>Adenovirus 3, 7</u>	Diarrea asociada a fiebre conjuntival.
<u>Adenovirus 1, 2, 4, 14</u>	Diarrea asociada a infección respiratoria.
<u>Adenovirus 1, 4, 7</u>	Diarrea
Agente Norwalk	Gastroenteritis
Agente Hawaii	Gastroenteritis
Agente semejante a	
<u>Orbivirus (Rotavirus)</u>	Gastroenteritis

CUADRO No. 8

CARACTERÍSTICAS DE GENEROS DE LA FAMILIA REOVIRIDAE

CARACTERÍSTICAS	REOVIRUS	ORBIVIRUS	ROTAVIRUS
MORFOLOGIA			
Tamaño:			
Virus completo (nm)	76	69	66
Partícula central (nm)	52	60	55
No. de Capsómeros	32	32	32
Estructura de la cápside	Doble	Doble	Doble
Cápside Externa	Bien definida	Poco definida	Bien definida
ARN	Doble Cadena	Doble cadena	Doble cadena
P. Molecular			
Total (Dalt. x 10 ⁶)	15	12	11-12
No. de Segmentos	10	10	11
Largo (Dalt. x 10 ⁶)	2.8 a 0.6	2.7 a 0.3	2.2 a 0.2
POLYPEPTIDOS			
ESTRUCTURALES	7	7	5; 10
Partícula central	4	5	4; 6
Cápside externa	3	2	1; 4

Adaptado de: Kalica R., R.G. Wyatt; A.Z. Kapikian. "Detection of Differences among Human and animal rotaviruses, using analysis of viral RNA". J. Am. Vet. Med. Assoc., 173: 531-537, 1978.

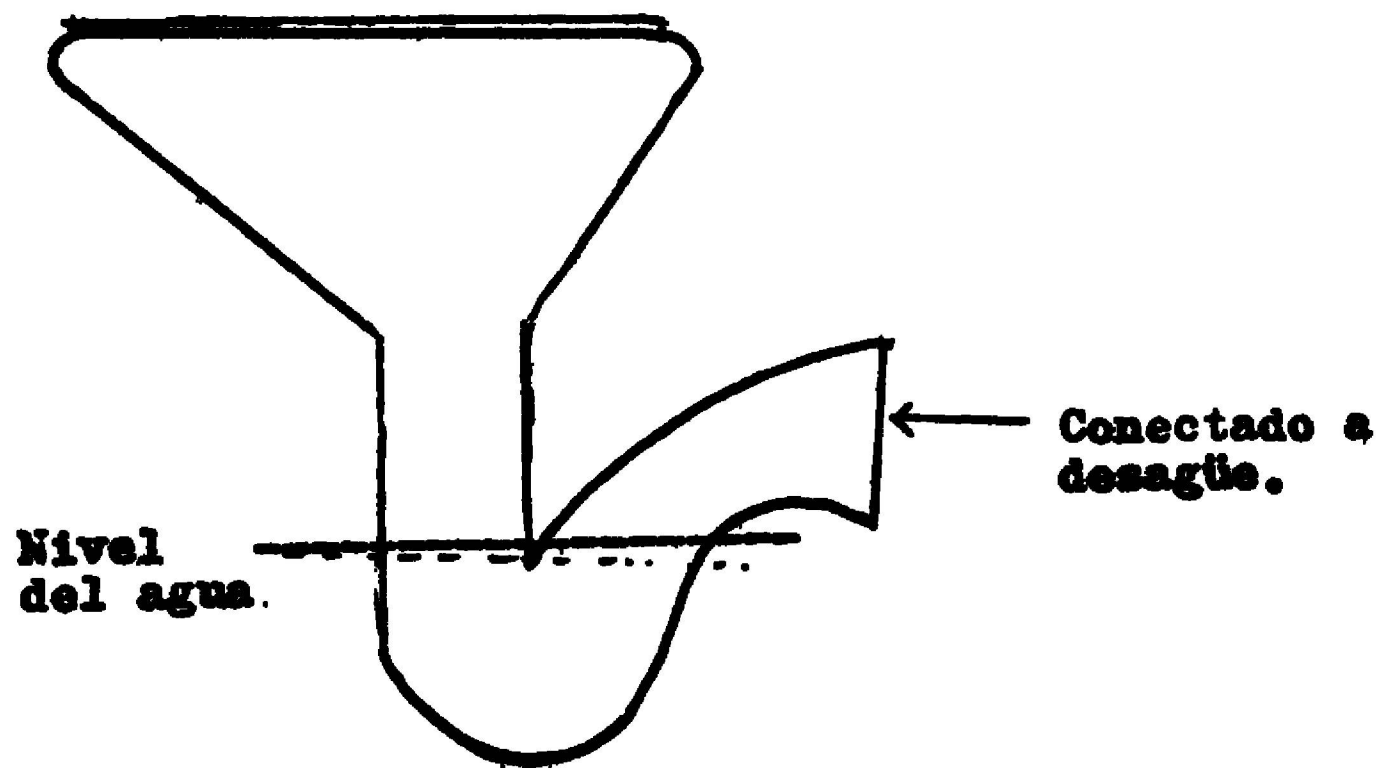
CUADRO No. 9

HALLAZGOS DE VIRUS EN SISTEMAS DE DISPOSICION DE EXCRETAS

Sistemas de disposición de excretas		Número	POSITIVOS		
			Enterovirus		Rotavirus
			Poliovirus	Otros (*)	
CONVENCIONALES	LETRINAS DE POZO DESAGUES COMUNALES	20	6	0	0
	A) Aguas Negras sin Tratamiento	5	0	0	0
	B) Lodos	3	2	1	0
	C) Aguas Negras Tratadas	3	0	0	0
		31	8	1	0
ALTERNATIVAS	LETRINAS ABONERAS SECAS				
	A) Cámaras en Uso	21	0	0	0
	B) Abonos	11	0	0	0
	DIGESTORES BIO-GAS				
	(Lodos y/o efluentes)	3	0	0	0
		35	0	0	0
TOTAL		66	8	1	0

(*) Posible ECHO o Coxsackie.

FIGURA # 1 Sistema de Sifón o Cierre Hidráulico.



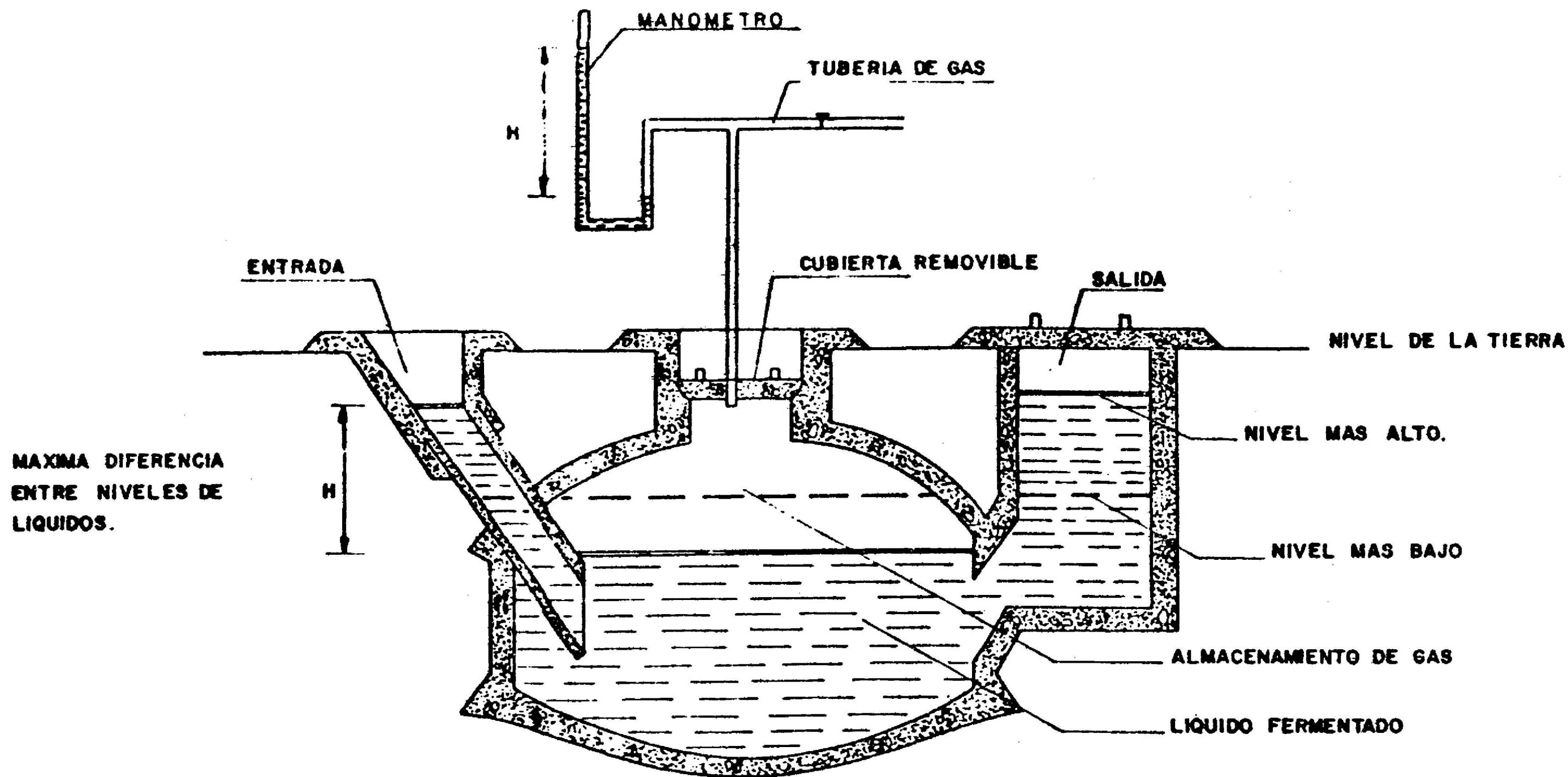


FIG - 2.

**PLANTA DE BIOGAS FAMILIAR TIPO "CIRCULAR PEQUEÑO
Y ACHATADO" «USADO EN LA REPUBLICA POPULAR
CHINA»**

Fig. # 3 Letrina Vietnamita

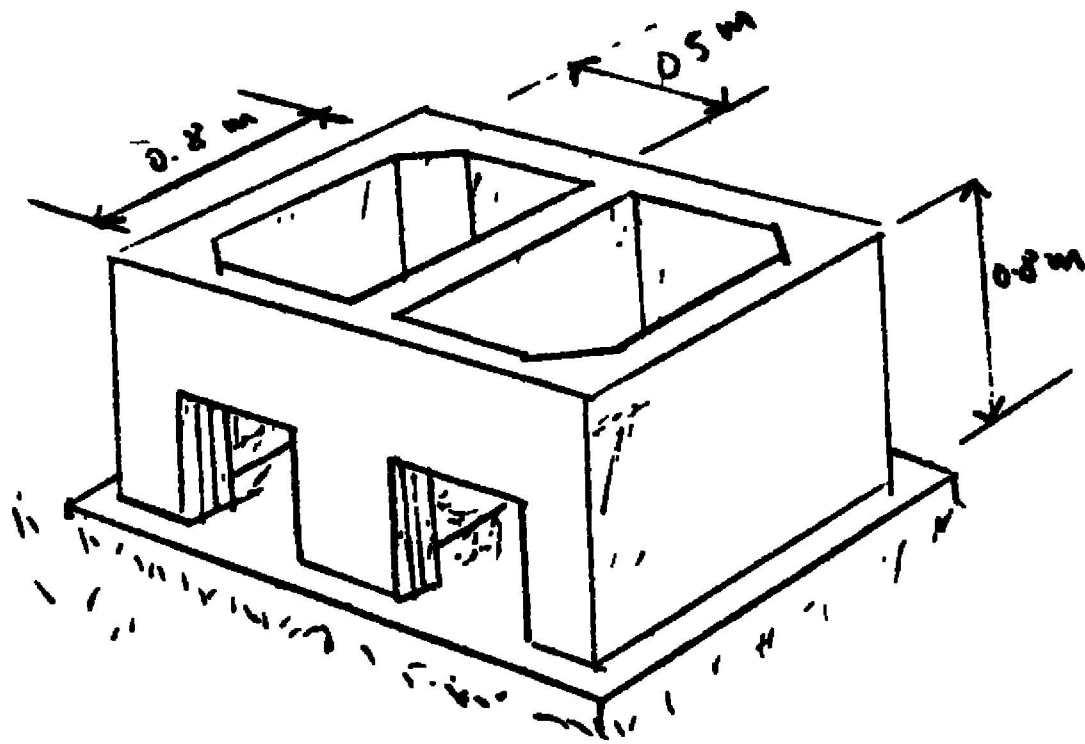


Fig. 3 a

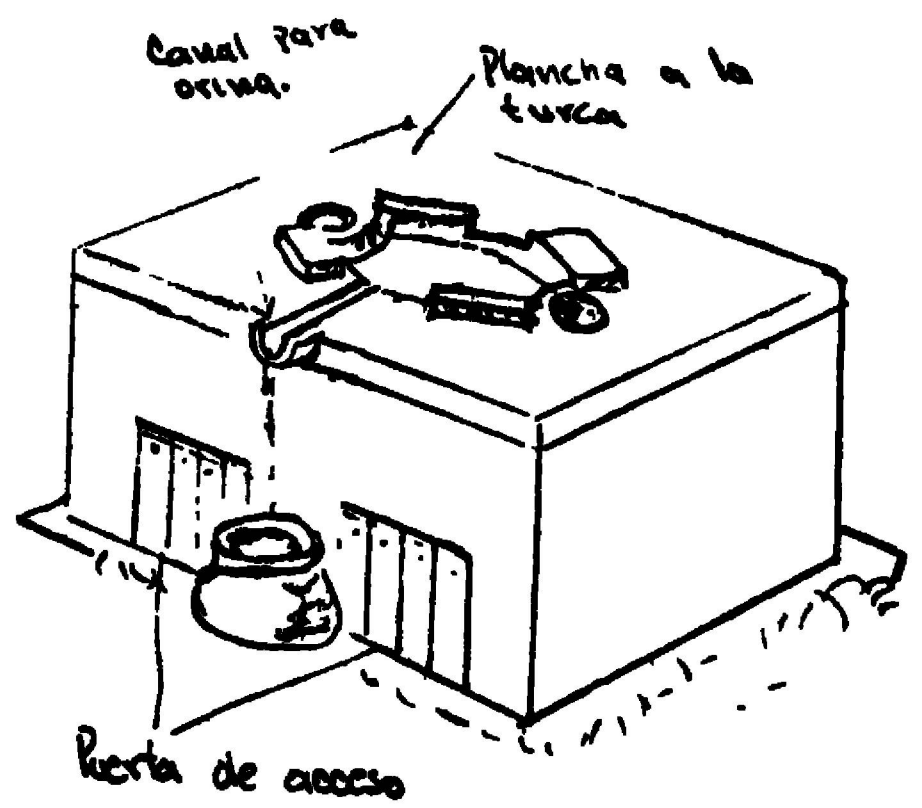


Fig. 3 b

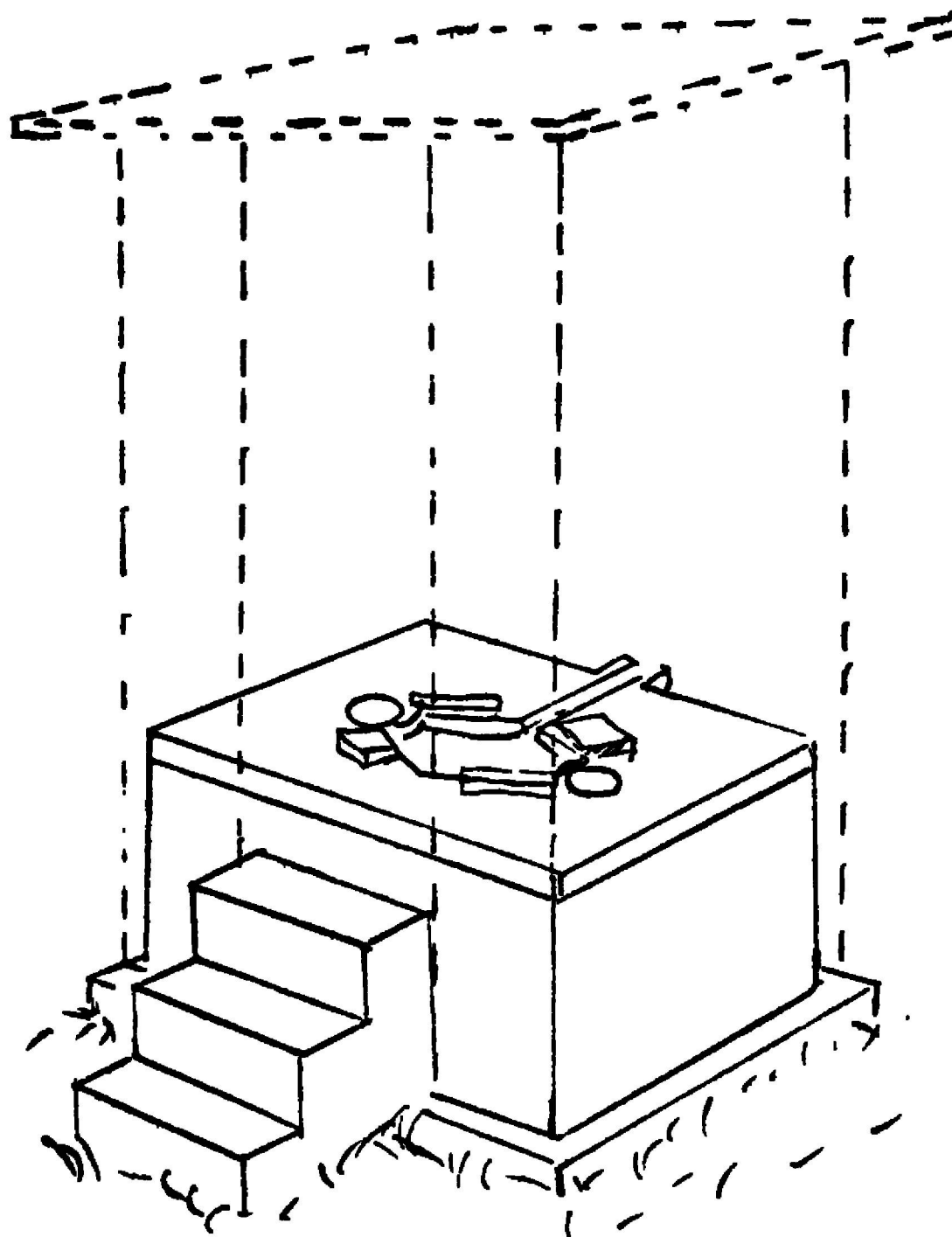
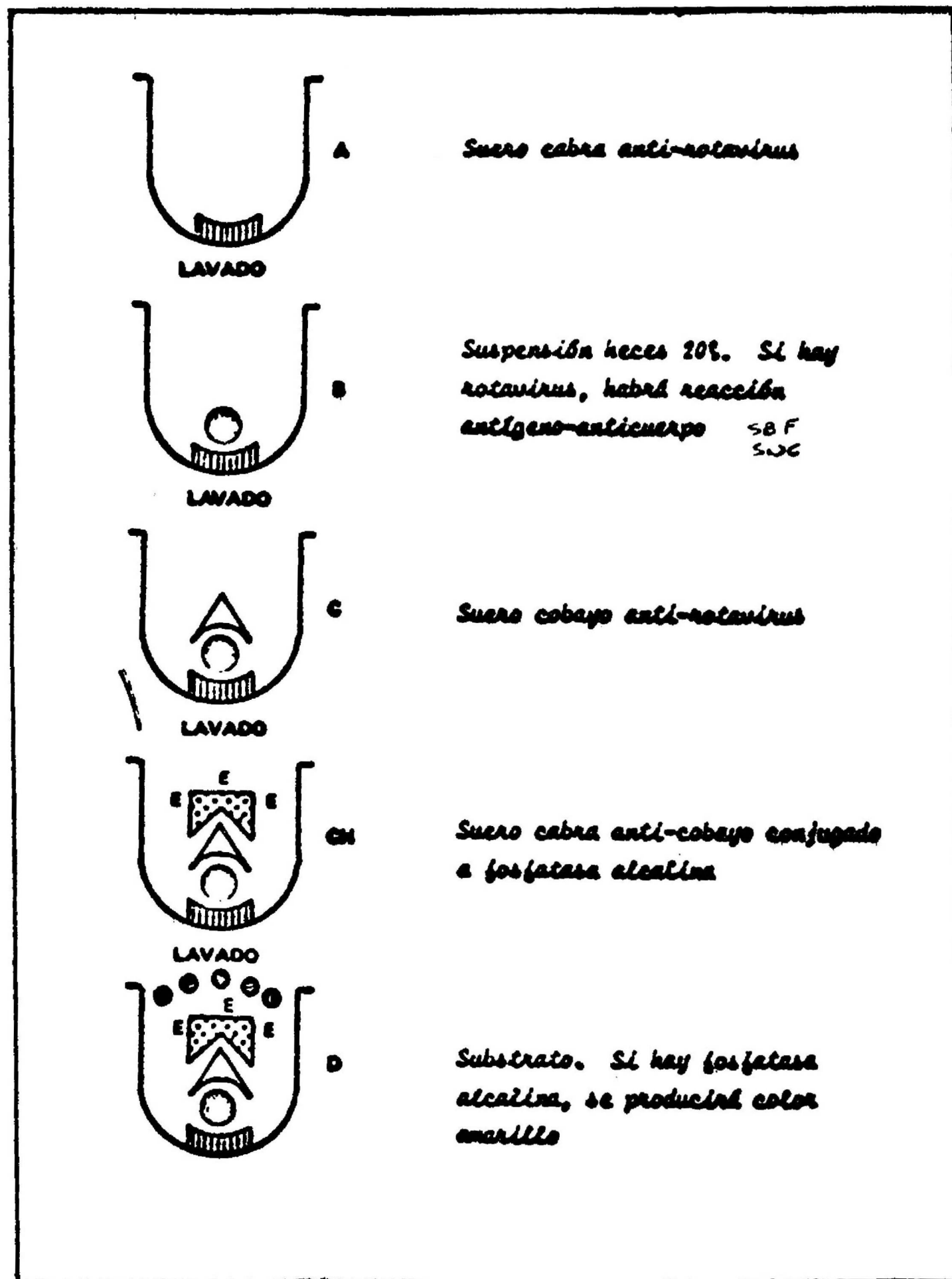


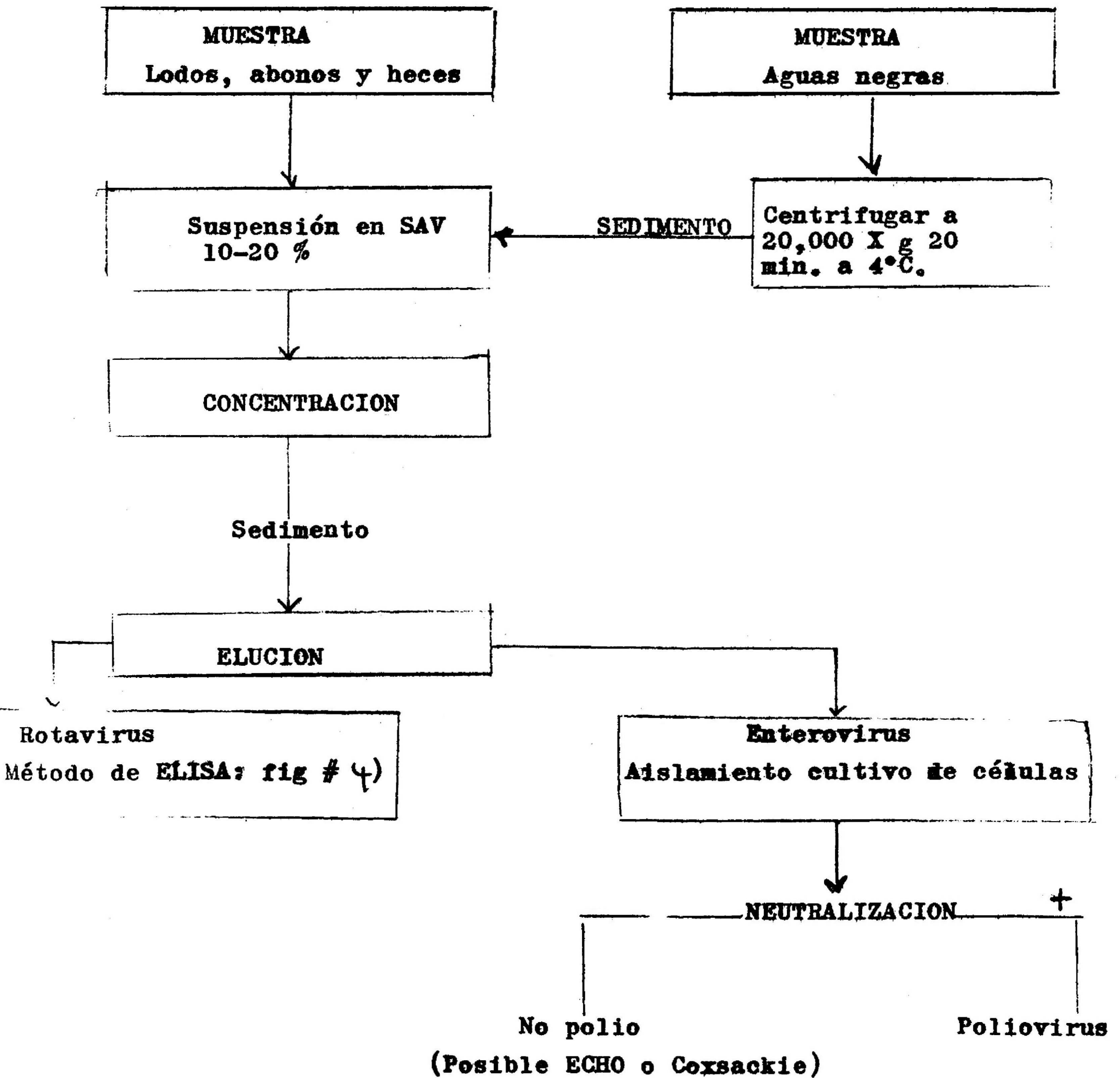
Fig 3 c

Fig # 4 ELISA para Rotavirus



FIGURA

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA EL AISLAMIENTO
E IDENTIFICACION DE ENTEROVIRUS Y ROTAVIRUS



DIVISION DE MICROBIOLOGIA

Laboratorio de Virus

Hoja de Trabajo

Fecha experimento: _____

Cultivo: _____

Aislamiento

☐

Pasaje:

☐

No. MUESTRA	TUBO	D I A S															RESULTADOS
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																
	1																
	2																



JUAN ARNOLDO CASTILLO ESCALANTE
Autor



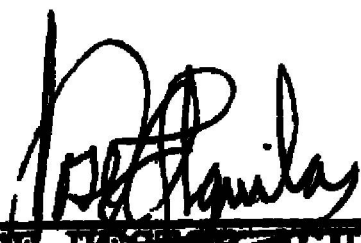
Lic. ARMANDO CACERES E.
Asesor



Dr. RAMIRO CRUZ L.
Revisor- INZAP



Lic. GUSTAVO GINI
Director de Escuela



Dr. JOSE HECTOR AGUILAR
Decano