Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.6 Núm.6 14 de agosto - 27 de septiembre, 2015 p. 1189-1201

Identificación de bacterias cultivables patógenas al humano en semicompostas de residuos agrícolas*

Identification of cultivable bacteria, pathogenic human in semicomposts of agricultural waste

Verónica Herrera-Ortíz[1], Ofelia Adriana Hernández-Rodríguez[1§], Ana Cecilia González-Franco[1], Abelardo Núñez-Barrios[1], Loreto Robles-Hernández[1] y Ramona Pérez-Leal[1]

[1]Universidad Autónoma de Chihuahua-Facultad de Ciencias Agrotecnológicas. Escorza No. 900, Col. Centro. C. P. 31000, Chihuahua, Chihuahua, México. A. P. 24. Tel: 614 439 18 44. (aernande@uach.mx;anunez@uach.mx;conzalez@uach.mx; lrobles@uach.mx; ing.ecologia@hotmail.com). [§]Autora para correspondencia: aernande@uach.mx.

Resumen

Los abonos orgánicos, importantes fuentes de materia orgánica para los suelos, contienen cuantiosos microorganismos, algunos potencialmente patógenos al humano. En 2009, en la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua, se evaluó la presencia de coliformes totales y fecales, y *Salmonella* sp., en cuatro semicompostas de 24 semanas de descomposición, obtenidos a partir de mezclas de aserrín (A) y esquilmos de maíz (E) como fuente de carbono, y bovinaza (B) y gallinaza (G) como fuente de nitrógeno. Además, se identificaron los géneros bacterianos patógenos al humano con el sistema API 20E. Se estableció un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey (α= 0.05). Los resultados que presentaron interacciones significativas fueron: para coliformes totales, estiércol-tiempo (p< 0.0038) con diferencia en la semana 12, y reducción en la 24. En coliformes fecales, estiércol-residuo vegetal ($p\leq$ 0.0477) donde el aserrín partió de 8.18 y 9.19 log NMPg^{-1} para gallinaza y bovinaza respectivamente, con tendencia a la baja en ambos. T3-GE mostró una mayor influencia en la reducción de coliformes fecales. Se identificaron 17 géneros bacterianos patógenos al humano durante el proceso. Los productos de los tratamientos presentaron menor diversidad y frecuencia de patógenos que las mezclas iníciales. En los productos

Abstract

Organic fertilizers, important sources of organic matter to the soil, containing substantial microorganisms, some potentially pathogenic to humans. In 2009, at the Faculty of Agrotechnological Sciences of the Autonomous University of Chihuahua, the presence of total and faecal coliforms was evaluated, and *Salmonella* sp., in four 24-week semicomposts decomposition, obtained from mixtures of sawdust (A) and corn-mixture (E) as a carbon source, and bovinaza (B) and manure (G) as nitrogen source. In addition, human pathogenic bacterial genera with the API 20E system were identified. Stablishing a completely randomized design of factorial 2 x 2. Comparison of means was done with the Tukey test (a = 0.05). The results showed significant interactions: total coliform, manure-time (p< 0.0038) with difference at week 12, and 24. reduction in faecal coliform, manure-waste plant (p< 0.0477) where the sawdust left 8.18 and 9.19 log NMPg^{-1} for poultry and bovinaza, respectively, with a downward trend in both. T3-GE showed better influence on the reduction of faecal coliforms. 17 human pathogenic bacterial genera identified during the process. The products of the treatments had lower diversity and frequency of pathogens initial mixtures. In the post-treatment products, 12 genera were identified, the most common *Pseudomonas aeruginosa* and *Grimontia*

* Recibido: diciembre de 2014
Aceptado: marzo de 2015

post-tratamientos se identificaron 12 géneros, siendo los más frecuentes *Pseudomonas aeruginosa* y *Grimontia hollisae*, en tres y cuatro de los tratamientos respectivamente. Solamente los tratamientos T1-GA y T4-BE presentaron menor incidencia de microorganismos patógenos riesgosos al humano.

Palabras clave: *Salmonella* sp., abonos orgánicos, coliformes fecales, coliformes totales.

Introducción

Los desechos derivados de las actividades agrícolas y pecuarias, pueden derivar en problemas de contaminación ambiental y afectar a la salud humana cuando no son manejados apropiadamente. El estado de Chihuahua, México se caracteriza por su importante actividad agrícola, ganadera y forestal. Las estadísticas de población pecuaria destacan la importancia de esta actividad para diferentes especies (INEGI, 2007), lo cual genera cantidades significativas de estiércol. En el sector forestal maderable, las pérdidas reportadas por desperdicio de madera en el proceso de aserrío son altas, en el cual el aserrín es uno de los subproductos más importantes (Zaragoza, 2004).

Estos materiales constituyen un importante reservorio de bacterias patógenas al humano como *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 y otras (Larney *et al*., 2003). Schamberger and Diez-González (2004) encontraron cepas de *Escherichia coli* en 20% de las heces de ganado vacuno examinadas. Larney *et al.* (2003) encontró que *E. coli* O157:H7 sobrevivió por más de un año en una pila de estiércol ovino expuesta a condiciones ambientales.

Por otro lado, el compostaje es un bioproceso aeróbico que posibilita la utilización de residuos orgánicos para la elaboración de abonos agrícolas en donde el material obtenido se considera enriquecido tanto química como biológicamente. En este proceso, la temperatura es uno de los factores más importantes que gobiernan la velocidad de las reacciones bioquímicas (Defriere *et al*., 2005) y una adecuada maduración de la composta. Larney *et al.* (2003) reportaron que los patógenos, parásitos y malezas no logran sobrevivir después del proceso de compostaje debido a la fase termofílica esperada en el proceso, con temperaturas de 60-70 ºC, Sin embargo, la elevación de la temperatura se asocia a grandes volumen en las pilas de compostaje, las cuales permiten el incremento de las poblaciones de organismos termofílicos (Dalzell, 1991).

hollisae, in three and four of the treatments, respectively. Only T1-GA and T4-BE had lower incidence of risky human pathogens.

Keywords: *Salmonella* sp., faecal coliforms, total coliforms, organic fertilizers.

Introduction

Wastes from agricultural and livestock activities can lead to problems of environmental pollution and affect human health when they are not properly managed. The State of Chihuahua, Mexico is characterized by its important agricultural, livestock and forestry. Livestock population statistics highlight the importance of this activity for different species (INEGI, 2007), which generates significant amounts of manure. In the timber forestry, losses reported by waste wood in the sawmilling process are high, in which sawdust is one of the most important products (Zaragoza, 2004).

These materials are a major reservoir of human pathogenic bacteria such as *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7 and other (Larney *et al*., 2003). Schamberger and Diez-González (2004) found strains of *Escherichia coli* in 20% of the feces of cattle tested. Larney *et al*. (2003) found that *E. coli* O157:H7 survived for more than a year in a pile of sheep manure exposed to environmental conditions.

On the other hand, composting is an aerobic bioprocess which enables the use of organic waste for the production of agricultural fertilizers in which the material obtained is considered enriched both chemically and biologically. In this process, the temperature is one of the most important factors which govern the rate of biochemical reactions (Defriere *et al*., 2005) and proper maturation of the compost. Larney *et al*. (2003), reported that pathogens, parasites and weeds do not survive after the composting process due to the thermophilic phase expected in the process, with temperatures of 60-70 °C; however, the temperature rise is associated with large volume in compost piles, which allow the increase in the populations of thermophilic organisms (Dalzell, 1991).

The decomposition of organic waste in volumes less than 1 m^3 by semicompost is a common practice among small organic producers, whose processes expected temperatures

La descomposición de residuos orgánicos en volúmenes menores a 1 m^3 mediante el semicompostaje, es una práctica común entre pequeños productores orgánicos, en cuyos procesos no se presentan las temperaturas esperadas para la fase termofílica. Sin embargo, se ha encontrado que representa una tecnología viable para el reciclaje de residuos agrícolas y pecuarios, ya que al final del proceso, las semicompostas presentan características fisicoquímicas típicas de los productos del compostaje (Castillo *et al*., 2010; Hernández-Rodríguez *et al*., 2013).

El objetivo de este trabajo fue determinar la sobrevivencia de coliformes totales y fecales y *Salmonella* sp., así como identificar los géneros bacterianos patógenos al humano presentes en mezclas de residuos vegetales y pecuarios sometidos a un proceso de semicompostaje, con el fin de impulsar esta práctica para la elaboración de abonos orgánicos.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH), en Chihuahua, Chihuahua, México, caracterizado por un clima cálido y seco la mayor parte del año. El proceso de semicompostaje tuvo una duración de 24 semanas llevándose a cabo de mayo a noviembre de 2009. Este estudio hace parte de un trabajo más amplio en que las características físicas y químicas de los productos de los tratamientos fueron evaluadas (Hernández-Rodríguez *et al*., 2013).

Para la elaboración de las mezclas sometidas a semicompostaje se utilizaron como fuente de nitrógeno (N-total), dos tipos de estiércoles: de ganado bovino lechero Holstein (B) estabulado de 2 a 5 años de edad, alimentado con maíz rolado, salvado de trigo, harinolina, pasta de soya, alfalfa y silo de maíz, y estiércol de gallina (G), alimentadas con maíz, arroz y purina de crecimiento. Los estiércoles se obtuvieron directamente de las deyecciones depositadas por los animales en las unidades productivas de la UACH. Como fuente de carbono (C-orgánico) se utilizó esquilmo de maíz (E), cuyos residuos de cosecha se obtuvieron de la localidad productiva de Cuauhtémoc, Chihuahua, y aserrín de pino y encino (A) proporcionado por una comercializadora maderera local.

for the thermophilic phase is not present. However, it was found that a viable recycling of agricultural and livestock waste technology, because at the end of the process, semicomposts present typical products of physicochemical composting (Castillo *et al*., 2010; Hernández-Rodríguez *et al*., 2013)

The aim of this study was to determine the survival of total and fecal coliforms and *Salmonella* sp., and to identify the human pathogenic bacterial genera in mixtures of plant and animal waste covered semicompost process in order to promote this practice for the production of organic fertilizers.

Materials and methods

The work was conducted at the Faculty of Agrotechnological Sciences of the Autonomous University of Chihuahua (UACH) in Chihuahua, Chihuahua, Mexico, characterized by a warm and dry climate most of the year. Semicompost process lasted 24 weeks taking place from May to November 2009. This study is part of a larger work in which the physical and chemical product characteristics treatments were evaluated (Hernández-Rodríguez *et al*., 2013)

For the preparation of the mixtures under semicompost is used as a source of nitrogen (N-total), two types of manure: dairy cattle Holstein (B) stabling of 2-5 years old, fed rolled corn bran corn, cottonseed meal, soybean meal, alfalfa and corn silage and chicken manure (G) fed corn, rice and purine growth. Manures were obtained directly from manure deposited by animals in the production units UACH. As a carbon source (organic C) corn mixture (E), whose crop residues were obtained from the productive town of Cuauhtémoc, Chihuahua, and pine and oak sawdust (A) provided by a local timber trader was used.

From the selected organic waste, four mixtures were forming the study treatments: T1-GA: poultry + sawdust; T2-BA: cattle manure + sawdust; T3-GE poultry + maize mixture; T4-BE: cattle manure + Mixture. For this, the organic residues were analyzed by determining the moisture content, total-N and C-organic (Table 1).

The analysis allowed calculating the necessary amount of each material to maintain the initial C/N ratio equal to 25/1, recommended for manufacture mixed under composting

A partir de los residuos orgánicos seleccionados se prepararon cuatro mezclas que constituyeron los tratamientos bajo estudio: T1-GA: gallinaza + aserrín; T2-BA: estiércol bovino + aserrín; T3-GE: gallinaza + esquilmo de maíz; T4-BE: estiércol bovino + esquilmo de maíz. Para ello, se analizaron los residuos orgánicos determinando el contenido de humedad, N-total y C-orgánico (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición y cantidad de los residuos orgánicos empleados para la elaboración de las mezclas iniciales de cada tratamiento, con una relación C/N igual a 25/1.

Table 1. Composition and quantity of organic waste used for the production of initial mixtures of each treatment, with a C/N ratio equal to 25/1.

Residuo orgánico	Humedad	C-orgánico	N-total	T1-GA	T2-BA	T3-GE	T4-BE
	-	- - (%) - - -		-	- - kg - - -		
Gallinaza	8.4	19.7	4.3	1.05		1.35	
Estiércol bovino	10.7	25.9	2.3		3.0		1.4
Aserrín	5.5	50.2	0.1	1.92	1.94		
Esquilmos de maíz	7.3	43.4	0.4			2.8	1.33

El análisis permitió calcular la cantidad necesaria de cada material para mantener la relación C/N inicial igual a 25/1, recomendada para la elaboración de las mezclas sometidas a compostaje (Castillo *et al*., 2010). Para ello se utilizó el programa "Moisture and C/N Ratio Calculation", desarrollado por Richard (1995). Las mezclas iniciales se depositaron en contenedores de plástico grueso de 115 L de capacidad con dimensiones 40*70*40 cm (Nogales *et al*., 2005); se destinaron cinco contenedores con cada mezcla los cuales se protegieron del ambiente y de la pérdida de humedad con un túnel de plástico, construido a partir de varillas metálicas y plástico semitransparente, con una altura de 60 cm. Las mezclas se removieron cada semana para reducir la formación de zonas anaerobias.

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2 con medidas repetidas a través del tiempo (TS). El factor A consistió en dos tipos de estiércol (ES) como fuente de N: a_1 = gallinaza; a_2 = estiércol bovino; mientras que el factor B, estuvo representado por dos clases de residuos vegetales (RV) ricos en C: b_1 = aserrín; b_2 = esquilmos de maíz. Los cuatro tratamientos con cinco repeticiones generaron un total de 20 unidades experimentales.

La temperatura ambiental del túnel se registró cada 48 h a las 10:00 $\pm$ 1 h, usando un termómetro de máximas y mínimas (Fisher Scientific, Pittsburgh, Pennsylvania, USA) simultáneamente se registró la temperatura en las mezclas

(Castillo *et al*., 2010). Using the "Moisture and C/N Ratio Calculation" program, developed by Richard (1995). Initial blends were deposited in thick plastic containers of 115 L capacity with dimensions 40*70*40 cm (Nogales *et al*., 2005); five containers with each mixture which protected the environment and the loss of moisture with a plastic tunnel, constructed from metal rods and semi-transparent plastic, with a height of 60 cm was allocated. The mixtures were removed weekly to reduce the formation of anaerobic zones.

The design was completely randomized, 2 x 2 factorial arrangement, with repeated measures over time (TS). The factor A consisted of two types of manure (ES) as a source of N: a_1 = poultry manure; a_2 = cattle manure; while factor B was represented by two kinds of plant residues (RV) rich in C: b_1 = sawdust; b_2 = maize mixture. The four treatments with five replicates generated a total of 20 experimental units.

The ambient temperature was recorded every 48 tunnel has 10:00 +- 1 h, using a maximum and minimum thermometer (Fisher Scientific, Pittsburgh, Pennsylvania, USA) temperature simultaneously blends semicompost recorded with a thermometer pistil with a range of minimum and maximum 100-20 °C to 20 cm deep in the central part of each container; pH analysis of the mixtures was performed at weeks 0, 6, 12, 18 and 24 by using a potentiometer (Fisher Scientific Accumet AB15, US) in water dilution 1:5 (w/v), to which 100 g samples were taken, dried in an oven at 60 °C and sieved through mesh no. 20.

Microbiological analysis for *Salmonella* sp., were quantified, and coliforms at the weeks 1, 12 and 24. The sampling was done by collecting two samples of 50 g of each substrate being placed in plastic bags with sealing; these were kept at 4 °C for

de semicompostaje, con un termómetro de pistilo con rango de mínima -20º y máxima 100 ºC a 20 cm de profundidad en la parte central de cada contenedor; el análisis del pH de las mezclas, se realizó en las semanas 0, 6, 12, 18 y 24 mediante el uso de un potenciómetro (Fisher Scientific Accumet AB15, US) en una dilución en agua 1:5 (p/v), para lo cual se tomaron muestras de 100 g, se secaron en estufa a 60 °C y se tamizaron con malla núm. 20.

Para el análisis microbiológico se cuantificaron *Salmonella* sp., y coliformes en las semanas 1, 12 y 24. El muestreo se realizó recogiendo 2 muestras de 50 g de cada sustrato, colocándose en bolsas de plástico con cierre hermético; estas se mantuvieron a 4 °C por una hora antes de ser analizadas siguiendo la metodología propuesta por la norma NOM-004-SEMARNAT-2002. El $NMPgr^{-1}$ de coliformes fecales se obtuvo a partir del código compuesto por los tubos múltiples con resultado positivo en el medio EC. Las $UFCgr^{-1}$ de *Salmonella* sp., se identificaron utilizando agar verde brillante, mediante la presencia de colonias rojas o rosas rodeadas del medio rojo. Adicionalmente en las semanas 1 y 24 se seleccionaron de cada tratamiento, 10 colonias presuntivas para su identificación utilizando el API 20E (Biomérieux®), el cual es un método eficaz para la identificación de enterobacterias y otros bacilos gram negativos mediante 21 diversas reacciones bioquímicas (Nucera *et al*., 2006).

El análisis de varianza se realizó con el procedimiento general lineal model (GLM) y mediante el paquete estadístico Statistical Analisis System (SAS), versión 9.1. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey al $\alpha = 0.05$. Para el análisis estadístico de las variables microbiológicas se realizó una transformación de la concentración de patógenos a $logaritmo_{10}$. Los valores reflejan la media de tres repeticiones.

Resultados y discusión

Temperatura. La temperatura máxima y mínima ambiental y la de los sustratos registradas durante el estudio, se muestra en la Figura 1. De acuerdo con el análisis estadístico de la variable temperatura los resultados revelaron diferencias significativas entre tratamientos en todas las semanas de compostaje, excepto en las semanas 11 y 12. Además, las componentes de varianza ES, RV y su interacción fueron estadísticamente significativas en la semanas 3 a 7 y 9. Sin embargo, en las semanas 1, 2, 8 y 10 solo una o dos

one hour before being analyzed following the methodology proposed by the NOM-004-SEMARNAT-2002. The fecal coliform $NMPgr^{-1}$ was obtained from the compound by manifolds with positive result in the code EC medium. The $UFCgr^{-1}$ *Salmonella* sp., were identified using brilliant green agar, by the presence of red colonies and red roses surrounded environment. Additionally at weeks 1 and 24 were selected from each treatment, 10 presumptive colonies for identification using API 20E (Biomérieux®), which is an effective method for the identification of enterobacteria and other gram negative rods using 21 different biochemical reactions (Nucera *et al*., 2006)

Analysis of variance was performed using the general linear model procedure (GLM) and using the Statistical Analysis System (SAS) version 9.1 statistical package. Tukey test was used when a= 0.05 for the comparison of means. For statistical analysis of microbiological variables a transformation of the concentration of pathogens to log 10 is performed. Values reflect the mean of three replicates.

Results and discussion

Temperature. The maximum and minimum ambient temperatures and substrates recorded during the study, shown in Figure 1. According to the statistical analysis of the variable temperature results revealed significant differences between treatments in composting every week, except in the weeks 11 and 12. Moreover, the variance components ES, RV and their interaction were statistically significant at weeks 3 and 7 and 9. However, at weeks 1, 2, 8 and 10 only one or two components of variance they had significant effects. Only the RV component had significant ($p< 0.05$) on the temperature of the compost during weeks 10 and 14 to 22.

At week 1, the temperature of the four treatments was between 35 - 40 °C thereby indicating the start of the mesophilic phase (20-40 °C). At this stage the treatments T2-BA and T3-GE showed a temperature above T1-GA and T4-BE. During the next four weeks, the substrate temperature dropped to 30 °C, so in this study did not show the expected thermophilic phase in the process. According to previous studies (Dalzell, 1991) raising the temperature, it is associated with the surface/volume compost piles; wherein the amount of degraded biomass is related to the transmission and storage of a greater amount of heat, leading to higher temperatures, which allow

componentes de la varianza tuvieron efectos significativos. Solo la componente RV tuvo efecto significativo ($p< 0.05$) sobre la temperatura de las compostas durante las semanas 10 y 14 a la 22.

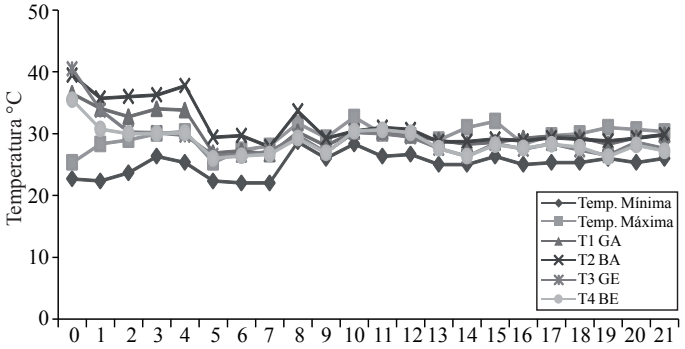

Figura 1. Comportamiento de las temperaturas durante el semicompostaje de las mezclas: T1-GA, gallinaza+aserrín; T2-BA, bovinaza+aserrín; T3-GE, gallinaza+esquimo de maíz, y T4-BE, bovinaza+esquilmo de maíz. Se muestra la dinámica de la temperatura ambiental. Los valores representan la media de cinco observaciones.

Figure 1. Behavior temperatures during semicompost mixtures: T1-GA, poultry manure + sawdust; T2-BA, bovinaza + sawdust; T3-GE poultry manure + maize mixture, and T4-BE, bovinaza + maize mixture. The dynamics of the ambient temperature is displayed. Values represent the average of five observations.

En la semana 1, la temperatura de los cuatro tratamientos se situó entre 35 - 40 ºC indicando con ello el inicio de la fase mesofílica (20 - 40 ºC). En esta etapa los tratamientos T2-BA y T3-GE mostraron una temperatura superior a los tratamientos T1-GA y T4-BE. Durante las siguientes cuatro semanas, la temperatura de los sustratos bajó a 30 ºC, por lo que en este estudio no se presentó la fase termofílica esperada en el proceso. De acuerdo con estudios previos (Dalzell, 1991) la elevación de la temperatura, se asocia a la superficie/volumen de las pilas de compostaje; en donde la cantidad de biomasa degradada se relaciona con la emisión y conservación de una mayor cantidad de calor, lo que genera temperaturas mayores, las cuales permiten el incremento de las poblaciones de organismos termofílicos; en este estudio, la cantidad de sustrato utilizado en los sistemas, inferiores a 1 m^3, pueden explicar porque los sustratos no alcanzaron las temperaturas esperadas para la fase termofílica, por lo que los materiales deben considerarse semicompostados (Castillo *et al*., 2010; Hernández-Rodríguez *et al*., 2013). Sin embargo, resultados observados señalan que increased populations of thermophilic organisms; in this study, the amount of substrate used in systems below 1 m^3, may explain why substrates did not reach the expected temperatures for the thermophilic phase, so that the materials must be considered semicomposted (Castillo *et al*., 2010; Hernández-Rodríguez *et al*., 2013). However, it observed results indicate that the optimum temperature to kill pathogens and weed pests, are from the range of 35-55 °C (Pierre *et al*., 2009.

pH. The average pH values of the treatments showed the behavior over time as shown in Figure 2. It found significance in the variance components ES*RV ($p< 0.0001$), TS ($p< 0.0293$) and interactions ES*RV ($p< 0.0001$), TS*ES ($p< 0.0001$) and TS*RV ($p< 0.0001$). The variable showed an alkaline pH trend during the process. The increase in pH observed in this study could be attributed to the loss of the organic acids that are volatilized at high temperatures, action of microorganisms, as well as the release of ammonia (Uribe *et al*., 2001).

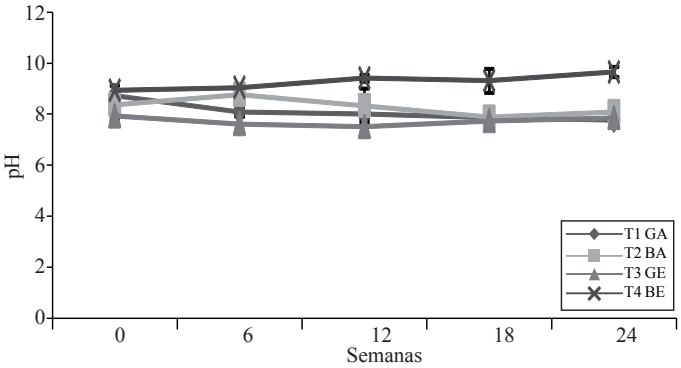

Figura 2. Variación de las medias de mínimos cuadrados (+EE) de los valores de pH durante el proceso de descomposición para los diferentes tratamientos. T1-GA, gallinaza+aserrín; T2-BA, bovinaza+aserrín, T3-GE, gallinaza+esquimo de maíz, y T4-BE, bovinaza+esquilmo de maíz.

Figure 2. Changes in minimum square means (+SD) of the values of pH during the decomposition process for different treatments. T1-GA, pultry manure + sawdust; T2-BA, bovinaza + sawdust, T3-GE, poultry + corn mixture and, T4-BE, bovinaza + maize mixture.

This coincided with those reported by Isaza *et al*. (2009), where the same waste treatments but different management tended to alkalinity. Gordillo *et al*. (2011) reported alkaline pH values, even with larger volumes cells (8∗2.5∗1.5 m), so that a considerably smaller volume represents a similar behavior in this variable.

las condiciones óptimas de temperatura para eliminar patógenos parásitos y malezas, se encuentran desde el rango de 35 a 55 °C (Pierre *et al*., 2009).

pH. Los valores promedio de pH de los tratamientos estudiados mostró el comportamiento a través del tiempo que se muestra en la Figura 2. Se encontró significancia en los componentes de varianza ES y RV ($p< 0.0001$), TS ($p\leq 0.0293$), y en las interacciones ES*RV ($p< 0.0001$), TS*ES ($p< 0.0001$) y TS*RV ($p< 0.0001$). La variable pH mostró una tendencia alcalina durante el proceso. El aumento en pH observado en este estudio pudo atribuirse a la perdida de los ácidos orgánicos que se volatilizan por altas temperaturas, acción de los microorganismos, así como por la liberación de amoniaco (Uribe *et al*., 2001).

Esto coincidió con lo reportado por Isaza *et al.* (2009), donde los tratamientos con mismos desechos pero diferentes manejos tendieron a la alcalinidad. Gordillo *et al*. (2011) observaron valores de pH alcalinos, aun con pilas de mayores volúmenes (8∗2.5∗1.5 m), por lo que un volumen considerablemente menor supone un comportamiento similar en esta variable.

Microorganismos patógenos al humano. La presencia de coliformes totales y fecales en las mezclas estudiadas mostró el comportamiento que se presenta en las Figuras 3 a) y b) respectivamente. Los efectos estadísticos significativos observados para coliformes totales fueron: TS ($p<0.0001$), ES ($p< 0.0061$), y la interacción de estos (ES*TS $p< 0.0038$) en la semana 12, donde B correspondió a 9.23 y G a 3.99 log NMPg^{-1}. Pero en la semana 24, ambas medias tuvieron el mismo comportamiento, sugiriendo que el efecto de los estiércoles, aun de diferentes orígenes, influye de igual manera sobre la presencia de coliformes totales al final de un semicompostaje.

Human pathogenic microorganisms. The presence of total and fecal coliforms in the studied mixtures showed the behavior presented in Figures 3 a) and b) respectively. Significant statistical effects observed for total coliforms were: TS ($p< 0.0001$), ES ($p< 0.0061$), and the interaction of these (ES*TS $p< 0.0038$) at week 12, where B corresponded to 9.23 and G 3.99 log NMPg^{-1}. But at week 24, both half had the same behaviour, suggesting that the effect of manure, even from different backgrounds, influences equally on the presence of total coliforms at the end of a semicompost.

For faecal coliforms were significant interactions RV*ES ($p< 0.0477$) and the effect of TS ($p< 0.005$). The concentration of faecal coliforms for the effect of residue A in Week 1 was 8.18 and 9.19 log NMPg^{-1} in G and B respectively. These with a very noticeable trend lower, reaching at week 24, with 2.11 and 0.86 log NMPg^{-1} in G and B respectively.

Residue behaviour was more irregular compared to A. At week 1 had an average of 2.42 and 8.15 log NMPg^{-1} in G and B respectively. For 12 weeks the concentration of faecal coliforms in G and it decreased contrast, rose in B. But at the end of the process increased in G, 3.90 log NMPg^{-1}, but fell sharply in B to 2.00 log NMPg^{-1}. Interaction with G residue A had a mean of 4.64 log NMPg^{-1}, as with B was 3.77 log NMPg^{-1}, statistically equal, indicating no difference in the use of A with either types manures to have an influence on the inhibition of faecal coliforms. The interaction of E with G residue had a mean of 2.65 log NMPg^{-1}, and B of 6.00 log NMPg^{-1} statistically different, suggesting that the residue E with the G manure had a greater influence on the reduction of faecal coliform.

The behaviour of the concentrations of faecal coliforms by the TS effect was a marked downward trend (Figure 3c). It began with an average of 6.98 log NMPg^{-1} up to

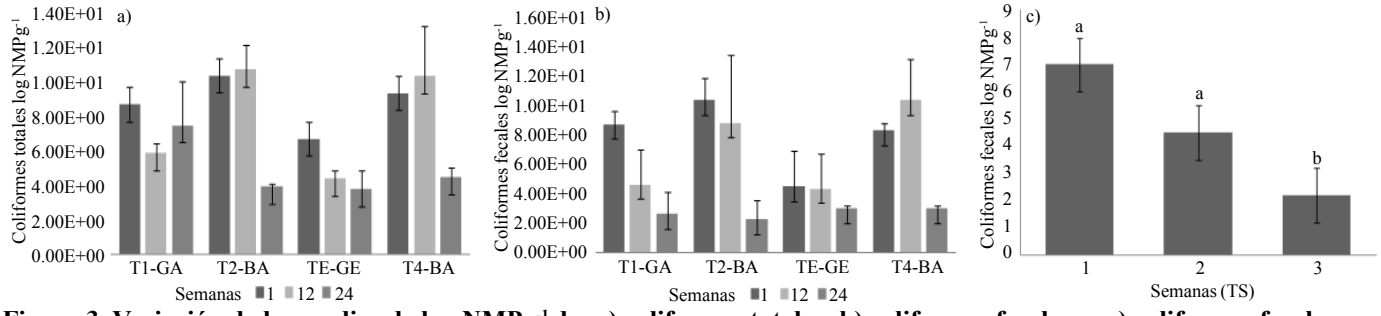

Figura 3. Variación de las medias de log NMPg^{-1} de: a) coliformes totales; b) coliformes fecales; y c) coliformes fecales por el efecto tiempo (TS).

Figure 3. Mean variations of log NMPg^{-1}: a) total coliforms; b) fecal coliform; and c) fecal coliforms by time (TS) effect.

Para coliformes fecales las interacciones significativas fueron RV*ES ($p< 0.0477$) y el efecto de TS ($p< 0.005$). La concentración de coliformes fecales para el efecto de residuo A en la semana 1, fue de 8.18 y 9.19 log $NMPg^{-1}$ en G y B respectivamente. Estas con una tendencia a la baja muy notoria, llegando en la semana 24, con 2.11 y 0.86 log $NMPg^{-1}$ en G y B respectivamente.

El comportamiento del residuo E fue más irregular respecto al de A. En la semana 1 presentó una media de 2.42 y 8.15 log $NMPg^{-1}$ en G y B respectivamente. Para la semana 12 se redujo la concentración de coliformes fecales en G y en contraste, subió en B. Pero al final del proceso aumentaron en G hasta 3.90 log $NMPg^{-1}$, pero se redujeron considerablemente en B hasta 2.00 log $NMPg^{-1}$. La interacción del residuo A con G presentó una media de 4.64 log $NMPg^{-1}$, en lo que con B fue de 3.77 log $NMPg^{-1}$, iguales estadísticamente, señalando que no existe diferencia en el uso de A con cualquiera de los dos tipos de estiércoles para poder tener una influencia en la inhibición de coliformes fecales. La interacción del residuo E con G presentó una media de 2.65 log $NMPg^{-1}$, y para B de 6.00 log $NMPg^{-1}$, diferentes estadísticamente, sugiriendo que el residuo E con el estiércol G posee una mayor influencia en la reducción de coliformes fecales.

El comportamiento de las concentraciones de coliformes fecales por el efecto TS, fue con una marcada tendencia a la baja (Figura 3c). Inició con una media de 6.98 log $NMPg^{-1}$ hasta alcanzar 2.22 log $NMPg^{-1}$. Sin embargo, la reducción de coliformes fecales, no puede atribuirse solo al tiempo del efecto de semana, pues existen otras causas que pueden influenciar su reducción. Fuccz *et al.* (2007) reportaron que un pH alto como los encontrados en este estudio, pueden reducir la tolerancia de los coliformes a la radiación solar o incluso aumenta la generación de formas tóxicas de oxígeno. De esta forma, una modificación de las membranas por un mayor pH puede producir un flujo de iones hidroxilos los que a su vez incrementan el pH interior de los coliformes fecales, provocando una alteración de viabilidad y funcionamiento.

Salmonella sp. La presencia de *Salmonella* en un compost es muy cambiante, existiendo diversas limitaciones para seleccionar el procedimiento adecuado para aislarla y detectar a más de 1,700 serotipos reconocidos (Bustamante *et al*., 2008). Por esto, un resultado negativo con alguno de los métodos usados no implica su ausencia. Los efectos significativos fueron RV ($p< 0.0411$), así como las interacciones RV*TS ($p< 0.0004$), ES*RV ($p< 0.0023$) y ES*RV*TS ($p< 0.0165$).

2.22 log $NMPg^{-1}$. However, reducing faecal coliform, it cannot be attributed only to the time of the effect of week, as there are other causes that can influence their reduction. Fuccz *et al*. (2007) reported that a higher pH as found in this study can reduce coliform tolerance to sunlight or even increases the generation of toxic oxygen forms. Thus, a modification of membranes by higher pH may cause a flow of hydroxyl ions which in turn increase the pH within faecal coliforms, causing an alteration of viability and function.

Salmonella sp. The presence of *Salmonella* in compost is very changeable, various limitations exist to select the appropriate procedure to isolate and detect more than 1 700 known serotypes (Bustamante *et al*., 2008). Thus, a negative result with any of the methods used, do not imply the absence. RV effects were significant ($p< 0.0411$), and the TS*RV ($p< 0.0004$) interactions, ES*RV ($p< 0.0023$) and TS*EN*RV ($p< 0.0165$).

The interaction of A*ES*TS (Figure 4a) began with the values 5.77 and 7.79 log $NMPg^{-1}$ in G and B respectively, statistically different, indicating that the concentration of *Salmonella* sp. Affected by the influence of A, but for weeks 12 and 24 no longer existed difference. Although the concentration of *Salmonella* sp., Increased at week 24 compared to week 12, this may be attributable to a recolonization or recontamination of the medium. Behaviour for E*ES*TS (Figure 4b) only statistical difference in Week 1. *Salmonella* sp., can be susceptible to microbiological environment that prevails in the compost (Avery *et al*., 2012).

Pathogen identification. From 80 suspects isolated determined by their microscopic characteristics and basic biochemical tests, 13 were identified by API 20E gallery as *Salmonella* sp., of the remaining strains, 16 different bacterial genera were found. Only one of the isolated pathogens were classified as belonging to the group of non-fermenting bacteria, with only positive proof of cytochrome oxidase (CIT) (Table 2).

Four prevalent genera that grouped 52.2% of isolates were observed. The genus was observed more frequently, covering 17.5% was *Grimontia hollisae*, followed with 15% *Citrobacter braakii*; third and fourth with 10% *Salmonella choleraesuis* and *Pseudomonas aeruginosa* were identified.

La interacción de A*ES*TS (Figura 4a) inició con los valores de 5.77 y 7.79 log NMPg^{-1} en G y B respectivamente, diferentes estadísticamente, indicando que la concentración de *Salmonella* sp. Se vio afectado por influencia de A, pero para las semanas 12 y 24 ya no existió diferencia. Aunque la concentración de *Salmonella* sp., aumentó en la semana 24 respecto a la semana 12, esto puede ser atribuible a una recolonización o recontaminación del medio. En el comportamiento para E*ES*TS (Figura 4b) solo hubo diferencia estadística en la semana 1. *Salmonella* sp., puede ser susceptible al ambiente microbiológico que impere en el compost (Avery *et al*., 2012).

Identificación de patógenos. De 80 aislados sospechosos determinados por sus características microscópicas y pruebas bioquímicas básicas, 13 fueron identificados por la galería API 20E como S*almonella* sp. De las cepas restantes, se encontraron 16 diferentes géneros bacterianos. Solamente uno de los patógenos aislados se clasificó como perteneciente al grupo de las bacterias no fermentadoras, siendo únicamente positivos a la prueba de la citrocromo–oxidasa (CIT) (Cuadro 2).

Se observaron cuatro géneros prevalentes que agruparon el 52.2% de los aislados. El género que se observó con mayor frecuencia, abarcando 17.5%, fue *Grimontia hollisae*, siguiéndole con 15.0% *Citrobacter braakii*; en tercer y cuarto lugar con 10% se identificaron *Salmonella choleraesuis* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Grimontia hollisae, es miembro de las *Vibrionaceae*, familia que posee una distribución principalmente en agua, capaz de causar enfermedades gastrointestinales en personas sanas pero solo cuando han consumido mariscos (Murray *et al*., 2007; Hinestrosa *et al*., 2007). *Citrobacte rbraakii* y S*almonella choleraesuis* spp. *arizonae*, son miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Esta familia es de amplia distribución en suelo, agua, plantas y flora intestinal de mamíferos, incluyendo al humano (Murray *et al*., 2007). Las infecciones al humano por el género *Citrobacter* son poco comunes y de índole oportunista (Ryan *et al*., 2010).

Los géneros de *Salmonella* detectados según la metodología empleada, no fueron del género peligroso. *Salmonella* entérica sub especie *arizonae* (Cuadro 2). Es un patógeno muy raro en humanos, pero puede llegar a infectar a niños muy pequeños y personas con un sistema inmunocomprometido (Kumar *et al*., 2003).

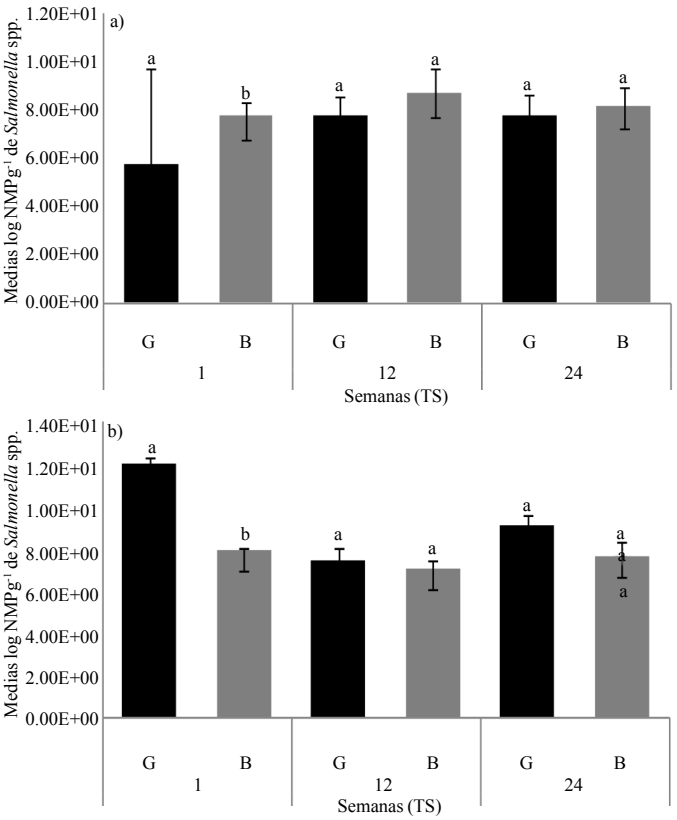

Figura 4. Medias del log NMPg^{-1}de *Salmonella* sp. por las interacciones: a) aserrín (A)*tipo de estiércol (ES)*tiempo (TS); y b) esquilmo de maíz (E)*tipo de estiércol (ES)*tiempo (TS).

Figure 4. Means of log NMPg^{-1} *Salmonella* sp. by interactions: a) Sawdust (A) * type of manure (ES) * time (TS); and b) corn mixture (E) * type of manure (ES) * time (TS).

Grimontia hollisae, a member of the *Vibrionaceae* family that owns a distribution mainly in water, can cause gastrointestinal illness in healthy people but only when they have consumed seafood (Murray *et al.*, 2007; Hinestrosa *et al.*, 2007). *Citrobacte rbraakii* and *Salmonella choleraesuis* spp. *arizonae*, they are members of the *Enterobacteriaceae* family. This family is widely distributed in soil, water, plants and intestinal flora of mammals, including humans (Murray *et al*., 2007). Human infections by the genus *Citrobacter* are rare and opportunistic nature (Ryan *et al*., 2010).

Salmonella detected genera according to the methodology used were not the dangerous kind. *Salmonella* enterica sub species *arizonae* (Table 2). It is a very rare human pathogen, but can become infected very young children and people with an immunocompromised system (Kumar *et al*., 2003).

Cuadro 2. Géneros identificados con las pruebas bioquímicas API 20E por fuente de procedencia.
Table 2. Genera identified by biochemical tests API 20E by source of origin.

Patógeno				Semana							
				- - 1 - - -				- - 24 - - -			
Familia	Género	Especie	Núm. de cepas	T1 GA	T2 BA	T3 GE	T4 BE	T1 GA	T2 BA	T3 GE	T4 BE
Aeromonadaceae	*Aeromonas*	*hydrophila*	2	x	-	x	-	-	-	-	-
Enterobacteriaceae	*Enterobacter*	*sakazakii*	2	-	x	-	x	-	-	-	-
	Escherichia	*hermannii*	1	-	-	-	-	-	x	-	-
	Citrobacter	*braakii*	12	x	x	x	x	-	-	x	x
	Plesiomonas	*shigelloides*	4	x	x	x	x	-	-	-	-
	Proteus	*penneri*	3	x	-	x	-	-	-	-	-
	Providencia	*rettgeri*	1	-	-	-	-	-	-	-	x
	Salmonella	*choleraesuis* spp. *arizonae*	8	x	x	x	x	-	-	-	x
	Salmonella	spp.	5	-	-	-	-	-	-	x	-
	Shigella	spp.	5	x	x	-	-	x	-	x	-
	Shigella	*sonnei*	5	-	-	-	-	-	x	x	-
Flavobacteriaceae	*Chryseocterium*	*indologenes*	2	-	-	-	-	x	-	-	-
	Chryseocterium	*meningosep- ticum*	2	x	-	x	-	-	-	-	-
Pasteurellaceae	*Pasteurella*	*aerogenes*	2	-	-	-	-	-	-	-	x
Pseudomonadaceae	*Pseudomonas*	*aeruginosa*	8	x	x	-	x	x	x	x	.
Vibrionaceae	*Grimontia*	*hollisea*	14	x	x	x	x	x	x	x	x
	Photocterium	*damselae*	3	-	-	-	-	x	-	-	-
	Non-fermenter	spp.	1	-	-	-	-	x	-	-	-

x= género detectado; -= con la técnica metodológica empleada no fue detectada la presencia de dicho género: T1 GA= tratamiento 1, gallinaza aserrín; T2 BA= tratamiento 2, bovinaza aserrín; T3 GE= tratamiento 3, gallinaza esquilmo de maíz; T4 BE= bovinaza esquilmo de maíz.

Los miembros de la familia de las Pseudomonadaceae, son de amplia distribución, están en suelo, materia orgánica en descomposición, agua para consumo (Murray *et al*., 2007), incluso en la flora intestinal humana y sobre la piel (Madigan *et al*., 2003).

Pseudomonas aeruginosa tuvo una amplia presencia durante este estudio. A pesar de ser el microorganismo que causa más enfermedades a humanos de las *Pseudomonadaceaes*, no llega a ser motivo de alarma (Murray *et al*., 2007). Aunque el compost puede ser una fuente de *P. aeruginosa*, como reporta Kaszaba *et al*. (2011), solo sería un riesgo en individuos susceptibles por ser un microorganismo oportunista. Vásquez *et al*. (2010) reportó que este microorganismo nativo de la pulpa de café se utilizó entre otros, para la aceleración del compostaje de la misma pulpa, pues está involucrado en el proceso de degradación.

Members of the family of Pseudomonadaceae are widely distributed, are in soil, decaying organic matter, water consumption (Murray *et al*., 2007), even in the human intestinal flora and on the skin (Madigan *et al*., 2003).

Pseudomonas aeruginosa had a strong presence during this study. Despite being the organism that causes more diseases to humans of *Pseudomonadaceaes* not become a cause for alarm (Murray *et al*., 2007). Although the compost may be a source of *P. aeruginosa*, as reported by Kaszaba *et al*. (2011), would be a risk only in susceptible individuals for being an opportunistic microorganism. Vásquez *et al*. (2010), reported that, the native microorganism coffee pulp was used among others, to accelerate the composting of the same pulp as it is involved in the degradation process.

Mircoorganismos patógenos al humano en los productos post-tratamiento. En la semana 24 no se detectaron: *A. hydrophila*, *E. sakazakii*, *P. shigelloides*, *P. penneri* y *C. meningosepticum* presentes al inicio del proceso. La explicación pudiera ser múltiple. Posiblemente como refiere Fuccz *et al*. (2007) la propia microflora pudo competir por nutrientes con microorganismos entéricos, siendo así un factor de reducción, así como los altos valores de pH presentados en este estudio. Sin embargo, se detectaron otros microorganismos: *E. hermannii*, *Salmonella* spp., *S. sonnei* y *P. damselae* que son bacilos anaerobios facultativos (Schelegel y Zaborosch, 1997), *Pasteurella* que es anaerobio o aerobio facultativo (Madigan *et al*., 2003), *P. rettgeri* y *C. indologenes*.

Los productos post-tratamiento con menor presencia de microorganismos patógenos riesgosos al humano fueron los tratamientos T1-GA y T4-BE (Cuadro 2), debido a que los microorganismos detectados fueron raramente oportunistas (*C. braakii, S. choleraesuis* spp. *arizonae, Escherichia hermannii* y *G. hollisea*) (Kumar *et al*., 2003; Hinestrosa *et al*., 2007; Ryan *et al*., 2010), por lo que su potencial patógeno sobre los individuos que tengan contacto o manipulen este material, es relativamente bajo con las medidas de higiene básicas. Sin embargo, los tratamientos T2-BA y T3-GE fueron menos eficientes en la eliminación de patógenos ya que se detectó la presencia de *Shigella sonnei*, caracterizado por un alto potencial patógeno y causa importante de shigelosis (Sangal *et al*., 2012), aun cuando en los análisis de los tratamientos en la semana 1 no fueron detectados con la metodología empleada.

Conclusiones

La temperatura máxima registrada en los reactores fue de 40 °C, por lo que ningún reactor alcanzó temperaturas termófilas comunes en la práctica del compostaje. Por esta razón, los sustratos producidos en este trabajo deben ser considerados como semicompostados. El pH del proceso tendió invariablemente a la alcalinidad. El valor más alto correspondió a la mezcla de estiércol vacuno y esquilmo de maíz.

Los residuos orgánicos empleados influyeron en el comportamiento del proceso de transformación a un producto inocuo. El esquilmo de maíz con la gallinaza mostró una mayor influencia en la reducción de coliformes fecales.

Human pathogenic microorganisms in the product post-treatment. At week 24 were not detected: *A. hydrophila*, *E. sakazakii*, *P. shigelloides*, *P. penneri* and *C. meningosepticum* present early in the process. The explanation could be multiple. Possibly as referred by Fuccz *et al*. (2007), the microflora could compete for nutrients with enteric microorganisms, making it a reduction factor and high pH values presented in this study: However, other microorganisms were detected *E. hermannii*, *Salmonella* spp., *S. sonnei* and *P. damselae* which are facultative anaerobic bacilli (Zaborosch and Schlegel, 1997), Pasteurella is anaerobic or facultatively aerobic (Madigan *et al*., 2003), *P. rettgeri* and *C. indologenes*.

The post-treatment products less risky presence of human pathogens were the treatments T1-GA and T4 -BE (Table 2), because the microorganisms were detected rarely opportunistic (*C. Braakii*, *S. choleraesuis arizonae* spp. *Escherichia hermannii* and *G. hollisea*) (Kumar *et al*., 2003; Hinestrosa *et al.*, 2007; Ryan *et al.*, 2010), so its pathogenic potential of individuals who have contact or handling this material is relatively of low basic hygiene measures. However, the treatments T2-BA and T3-GE were less efficient in killing pathogens because the presence of *Shigella sonnei*, characterized by a high pathogenic potential and significant cause of shigellosis was detected (Sangal *et al*., 2012), even though the analysis of the treatments at week 1 were not detected with the methodology used.

Conclusions

The maximum temperature in the reactor was 40 °C, so that no common thermophilic reactor temperatures reached in practice composting. For this reason, the substrates produced in this work should be considered as semicompostes. The pH of the process invariably tended to alkalinity. The highest value corresponded to the mixture of cow manure and corn Mixture.

Organic waste used influenced on the behaviour transformation process to a safe product. The corn mixture manure showed a large influence on the reduction of faecal coliforms.

The most prevalent pathogens found both in the initial substrates as aftertreatment products were *Grimontia hollisea*, *Citrobacter braakii*, *Salmonella choleraesuis* and *Pseudomonas aeruginosa* sp. *arizonae*.

Los microorganismos patógenos de mayor incidencia encontrados tanto en sustratos iniciales como en los productos post-tratamiento fueron: *Grimontia hollisea*, *Citrobacter braakii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella choleraesuis* sp. *arizonae*.

En general, los productos del semicompostaje presentaron menor diversidad y abundancia de poblaciones microbiológicas patógenas al humano que las mezclas iniciales, lo cual pone de manifiesto la importancia del proceso para obtener mejores resultados y optimizar el uso de residuos orgánicos. Sin embargo, se destaca la importancia del aumento de la temperatura propia de la fase termófila del compostaje para un mayor control de patógenos. Se sugiere dar seguimiento a este tipo de trabajos de investigación, ya que las variables estudiadas pueden variar dependiendo de la estación del año, del tipo de residuos orgánicos, de las mezclas empleadas y del tiempo que se sometan a compostaje, así como incluir estudios sobre la acción de diversas metabolitos característicos de cada residuo orgánico en el control de patógenos.

Agradecimientos

A Fondos Mixtos CONACYT-Gobierno del estado de Chihuahua por el apoyo para la realización de este estudio. Al Ing. Héctor Maltos Romo, por su importante colaboración.

Literatura citada

Avery, L. M.; Booth, P.; Campbell, C.; Tompkins, D. and Hough, R. L. 2012. Prevalence and survival of potential pathogens in source-segregated green waste compost. Science of the Total Environment. 431:131.

Bustamante, M. A.; Moral, R.; Paredes, C.; Vargas-García, M. C.; Suárez-Estrella, F. and Moreno, J. 2008. Evolution of the pathogen content during co-composting of winery and distillery wastes. Bio. Technol. 99:7299-7306.

Castillo, H.; Hernández, A.; Domínguez, D. and Ojeda, D. 2010. Effect of californian red worm (*Eisenia foetida*) on the nutrient dynamics of a mixture of semicomposted materials. Chilean J. Agric. Res. 70:465-473.

Dalzell, H.; Bliddlestone, A.; Gray, K. y Thurairajan, K. 1991. Manejo del suelo: producción y uso del compost en ambientes tropicales y subtropicales. Servicio de Recursos, Manejos y Conservación de Suelos de la FAO. Roma, Italia. 178 p.

Overall, the products of semicompost had lower diversity and abundance of human pathogenic microbiological populations that initial mixtures, which highlights the importance of the process for best results and optimize the use of organic waste. However, the importance of increasing the characteristic temperature of the thermophilic stage of composting for better control of pathogens is highlighted. It is suggested to follow up on this type of research, since the variables studied may vary depending on the season, the type of organic waste mixtures used and the time they are submitted to composting, and include studies on the action of various metabolites characteristic of each organic residue in controlling pathogens.

End of the English version

Fuccz, J.; Gómez, R.; Cárdenas, M. y Campos, C. 2007. Comportamiento de coliformes fecales como indicadores bacterianos de contaminación fecal en diferentes mezclas de biosólido y estériles utilizados para la restauración ecológica de la Cantera Soratama, Bogotá. Universitas Scientiarum. 2(12):111-120.

Gordillo, F.; Peralta, E.; Chávez, E.; Contreras, V.; Campuzano, A. y Ruiz, O. 2011. Producción y evaluación del proceso de compostaje a partir de desechos agroindustriales de *Saccharum officinarum* (caña de azúcar). Rev. Invest. Agropec. 37(2):140-146.

Hernández-Rodríguez, O. A.; Hernández-Tecorral, A.; Rivera-Figueroa, C.; Arras-Vota A. M. y Ojeda-Barrios, D. 2013. Calidad nutrimental de cuatro abonos orgánicos producidos a partir de residuos vegetales y pecuarios. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Terra Latinoam. 31(1):35-46.

Hinestrosa, F.; Madeira, R.G. and Bourbeau, P.P. 2007. Severe gastroenteritis and hypovolemic shock caused by *Grimontia* (*Vibrio*) *hollisae* infection. Am. Soc. Microbiol. J. Clinical Microbiol. 45(10):3462-3463.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Historia). 2007. VIII Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. 2007. Entidad Chihuahua. http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/agro/ca2007/resultados_agricola/default.aspx Isaza, G. C.; Pérez, M. A.; Laines, J. R. y Castañón-Nájera, G. 2009. Comparación de dos técnicas de aireación en la degradación de la materia orgánica. Universidad y Ciencia Trópico Húmedo. 25(3):234.

Kaszaba, E.; Szoboszlaya, S.; Dobolyia, C.; Péka, J. N. and Kriszta, B. 2011. Antibiotic resistance profiles and virulence markers of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from composts. Bio. Technol. 102:1543-1548.

Kumar, K.; Akhtar, S.; Singh, D.; Kumar, N.; Hans, C. and Chaudhry, R. 2003. Fatal case of *Salmonella enteric* subsp *arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. Am. Soc. Microbiol. J. Clinical Microbiol. 41(12):5830.

Larney, F.; Jay, Y. L.; Miller, J. and Mc Allister, T. 2003. Fate of coliform bacteria in composted beef cattle feedlot manure. J. Environ. Quality. 32(6):1508-1515.

Madigan, M. T.; Martinko, J. M. and Parker, J. 2003. Brook biología de los microorganismos. Pearson Prentice Hall. 10 edition. 1011 pp.

Murray, P. R.; Rosenthal; Ken, S. y Pfaüer, M. 2007. Microbiología médica. El Servier. 5ª edición. 323-357 pp.

Nogales, R.; Cifuentes, C. and Benítez, E. 2005. Vermicomposting of winery wastes: a laboratory study. Environ. Sci. Health. 1234:659- 673.

NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. Lodos y biosólidos especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.

Nucera, D. M.; Maddox, C. W.; Hoien, P. and Weigel, R. M. 2006. Comparison of API 20E and invAPCR for identification of *Salmonella* enterica isolates from swine production units. J. Clinical Microbiol. 44(9):3388.

Pierre, F.; Rosell, M.; Quiroz, A. and Granda, Y. 2009. Evaluación química y biológica de compost de pulpa del café en caspito municipio Andrés Eloy Blanco, estado Lara, Venezuela. Bioagro. 21(2):105-110.

Richard, T. 1995. Moisture and carbon/nitrogen ratio calculation. Cornell Waste Management Institute, Department of Agricultural and Biological Engineering, Ithaca, New York, USA.

Ryan, K. J.; Ray, C. G.; Ahmad, N.; Drew, W. L. and Plorde, J. J. 2010. Sherris Microbiología Médica. 5ª (Ed.). Mc Grawn Hill. México, D. F.

Sangal, V.; Holt, K. E.; Yuan, J.; Brown, D. J.; Filliol-Toutain, I.; Weill, F. X.; Kim, D. W.; Dias da Silveira, W.; Pickard, D.; Thomson, N. R.; Parkhill, J. and Yua, J. 2012. Global phylogeny of *shigella sonnei* strains from limited single nucleotide polymorphisms (SNPs) and development of a rapid and cost-effective SNP-typing scheme for strain identification by high- resolution melting analysis. American Society for Microbiology. J. Clinical Microbiol. 51(1):303.

Schamberger, G. P. and Diez-González, F. 2005. Assessment of resistance to colicinogenic *Escherichia coli* by E. coli 0157:H7 strains. J. Appl. Microbiol. 98:245.

Schelegel, H. G. y Zaborosch, C. 1997. Microbiología General. Séptima edición. Ediciones Omega S.A. Barcelona.

Uribe, J. F.; Estrada, M.; Córdoba, S.; Hernández, L. E. y Bedoya, D. M. 2001. Evaluación de los microorganismos eficaces (E.M) en producción de abono orgánico a partir del estiércol de aves de jaula. Rev. Colomb. Cienc. Pec. 14(2):168.

Vásquez de Díaz, M. C.; López, A.; Fuentes, B. y Coe, E. 2010. Aceleración del proceso de compostaje de residuos poscosecha (pulpa) del café con la aplicación de microorganismos nativos. Centro Nacional de Investigaciones Científicas Cuba. Revista Centro Nacional de Investigaciones Científicas Ciencias Biológicas. Núm. Especial. 41.

Zaragoza, E. A. 2004. Avance última milla "madera líquida". CIMAV. Centro de Investigación en Materiales Avanzadas. Chihuahua, México. http://www.conacyt.mx/avance/proyectos/propuesta_C01-81_2003.pdf.