

Autores

Christine Moe PhD
Universidades de Emory y
Carolina del Norte en Chapel Hill
USA

Ricardo Izurieta MD PHD
Centros para el Control y
Prevención de Enfermedades
USA

Lic. María Guadalupe Hidalgo de Guzmán
Laboratorio Central Dr. Max Bloch
Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social
El Salvador

Ing. Vivian Saade Saade
Gerencia de Salud Ambiental
Ministerio de Salud Pública y
Asistencia Social
El Salvador

INDICE

RECONOCIMIENTOS	i
CAPITULO I	1
ECOSANEAMIENTO EN EL SIGLO XXI	1
RESEÑA HISTORICA DE LA LETRINIZACION EN EL SALVADOR	2
LA LETRINA ABONERA EN EL SALVADOR	2
DESARROLLO DE LA MICROBIOLOGIA AMBIENTAL EN EL SALVADOR	5
CAPITULO II	6
METODOS	6
Métodos de campo:	6
Métodos de laboratorio:	7
Determinación de <i>Clostridium perfringens</i>	7
Determinación de <i>Coliformes fecales</i>	8
Determinación de <i>Colifagos somáticos</i>	8
Prueba de las Manchas para determinación de virus ARN ó ADN	9
Determinación de Huevos de Helmintos	10
Análisis Estadístico:.....	11
CAPITULO III	13
CONOCIMIENTOS, ACTITUDES Y PRÁCTICAS EN EL USO Y MANTENIMIENTO DE LAS LETRINAS	13
USO DE ADITIVOS Y VARIACION DEL pH EN LOS BIOSOLIDOS.	22
VARIACION DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD EN LOS BIOSOLIDOS:.....	23
CAPITULO IV	24
PARAMETROS FISICO-QUIMICOS Y DESTRUCCION MICROBIANA.....	24
CAPITULO V	38
ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	38
CAPITULO VI	41
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
RECOMENDACIONES SOBRE LETRINAS SECAS DADAS POR LA GERENCIA DE SALUD AMBIENTAL DEL MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL	43
ANEXOS	45

RECONOCIMIENTOS

El presente estudio es dedicado a la memoria de nuestro colaborador y amigo, Dr. Steven Esrey, el primero en concebir este estudio y quien fue parte activa en la planificación y la implementación de cada aspecto de este proyecto. Estamos agradecidos a Dr. Mark Sobsey por sus consejos microbiológicos en el análisis de las muestras de biosólidos y el diseño de estudio. También agradecemos a los doctores Dale Little y Frank Schaefer por compartir sus protocolos y sus consejos para la detección de huevos viables de *Ascaris* en muestras de biosólidos. Este trabajo fue financiado por el Thrasher Research Fund, UNICEF El Salvador, La Orden de Malta y la Organización Panamericana de la Salud (OPS). Nuestros agradecimientos para el señor Ministro de Salud de El Salvador, Dr. Herbert Betancourt y el personal del Ministerio de la Salud en El Salvador por su dedicado trabajo de coordinación, Ing. Luis Guerrero y Licdo. Herbert Aparicio por su apoyo administrativo. Nuestros reconocimientos al representante Juan Espínola de UNICEF El Salvador por su apoyo y ayuda. Damos gracias a Carlos Alvarez, Elmer Medardo López, Catalina Ochoa, Tierney Murphy, Dikson Rolando Batres y Ana Lilian Alvarez de García por su apoyo técnico y dedicación a este proyecto.

CAPITULO I

ECOSANEAMIENTO EN EL SALVADOR

ECOSANEAMIENTO EN EL SIGLO XXI

En los inicios del siglo XXI la humanidad se encuentra ante un nuevo reto al tener que afrontar la contaminación ambiental física, química y biológica de nuestro planeta Tierra. Uno de los principales contaminantes biológicos de nuestro ecosistema son nuestras propias excretas. En muchas partes del planeta, las fuentes de aguas superficiales y subterráneas han sido seriamente contaminadas por las descargas directas de aguas y desechos sanitarios no tratados.

Desde 1852, cuando el primer sistema sanitario con arrastre de agua fue instalado en Londres, éste fue adoptado mundialmente y se ha constituido en uno de los principales símbolos de nuestra civilización. Sin embargo, desde sus inicios, el sistema sanitario con arrastre de agua nació con un problema: el tratamiento de las excretas. Muchos de estos sistemas descargan inmensas cantidades de microorganismos, fibras no digeridas y grandes volúmenes de agua al medio ambiente.

Por otro lado, el sistema sanitario con arrastre de agua requiere de grandes cantidades de agua para su mantenimiento. Se calcula que por cada descarga de este sistema, se consumen de 6 a 15 litros de agua, esto es más de la mitad de agua que consumimos diariamente. Bajo la premisa de que el agua de nuestro planeta es un recurso limitado y que millones de habitantes carecen o disponen de abastecimientos precarios, es imperante que los científicos y técnicos del nuevo milenio enfoquen su trabajo en el diseño de nuevos sistemas de saneamiento ecológico que funcionen con base a energía solar o eólica.

Se tiene la seguridad de que el ecosaneamiento se constituirá en el nuevo salto tecnológico de la humanidad en el área de salud pública en el siglo XXI. Durante el siglo XX, en materia de salud pública, se han observado varios saltos científico - tecnológicos a favor de la especie humana: las sales de rehidratación oral, los programas de inmunización y la erradicación de la viruela, el mejoramiento de las fuentes de abastecimiento de agua, la expansión de la atención primaria de salud. A pesar de estos grandes avances, el problema de eliminación de excretas persiste, más de la mitad de la población mundial carece de un sistema sanitario de disposición de éstas.

RESEÑA HISTORICA DE LA LETRINIZACION EN EL SALVADOR

En 1940, en El Salvador existían tres sistemas de disposición de excretas:

1. Inodoro con arrastre de agua, usado por los estratos socioeconómicos altos, los artefactos eran traídos en barco desde Europa.
2. La clase media utilizaba la letrina de canal, que consistía en una cámara donde se depositaban los excrementos, y desde donde éstos eran arrastrados por el agua de desecho de la ducha donde la gente se bañaba. Los excrementos eran arrastrados por las aguas servidas por un canal abierto el cual terminaba en terrenos no habitados.
3. Los sectores sociales más pobres no disponían de sistema alguno o construían tarimas de tablas sobre arbustos desde las cuales las heces caían por un agujero al lugar donde se criaba los cerdos y aves de corral, los mismos que consumían las heces.

En 1960, comienza a funcionar la Fábrica de Artefactos Sanitarios del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador (MSPAS). Inicialmente se producían asientos y planchas de cemento en un número de 30 diarios, los mismos que se distribuían en todo el país. En 1975 la producción de la Fábrica de Artefactos Sanitarios alcanza niveles de producción de 10.000 artefactos al año, los mismos que eran distribuidos en todo el país a un costo de 10 colones.

El conflicto armado del país en la década de los 80 complica la implementación del programa de letrización en los departamentos de Usulután, San Miguel, La Unión y Morazán. Durante la guerra civil mucha infraestructura sanitaria fue abandonada o destruida. A pesar de las difíciles circunstancias, en 1985 el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador, construyó en la fábrica de artefactos sanitarios de Moncagua, Municipio del departamento de San Miguel, 2000 artefactos, en coordinación con desplazados por la guerra y con ayuda financiera de la Cruz Roja Internacional. Una delegación del Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) observó la calidad de este trabajo y el aporte comunitario por lo que brinda apoyo técnico financiero para la construcción de letrinas dentro de los programas de saneamiento ejecutados por la Gerencia de Salud Ambiental, anteriormente departamento de Saneamiento Ambiental, del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador. Este programa de cooperación entre UNICEF El Salvador y el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador se mantiene hasta hoy, siendo el organismo que más aportó durante este período, para la instalación de infraestructura sanitaria de disposición de excretas en los sectores rurales del país.

LA LETRINA ABONERA EN EL SALVADOR

En 1986 UNICEF introduce en El Salvador un nuevo diseño de la “Letrina Abonera Seca Familiar” (LASF) basado en las experiencias de ecosaneamiento desarrolladas en Vietnam, constituyéndose en el punto de partida de un proceso de desarrollo

tecnológico en esta área. El primer proyecto de letrización con LASF en el Salvador se llevó a cabo en el cantón El Escobal del departamento de La Paz, en donde se asignó personal técnico del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social para la supervisión de obra y educación en el uso y mantenimiento de letrinas.

A pesar de que existían estudios previos de aceptación por parte de la población y de uso y mantenimiento de las LASF, no existían estudios completos que demostraran la seguridad microbiológica del material fecal, producto de las mismas. En 1992 se inicia un programa de letrización nacional con LASF, incentivando a la población en el uso de los contenidos como abono para los cultivos. La necesidad de conocer sobre la seguridad del uso de los contenidos de las LASF como abono, conllevó a que se realizaran dos evaluaciones, una en 1994 y otra en 1996 por parte de CREA Internacional. En el estudio de 1996, se analizaron en el laboratorio de CEMAT de Guatemala, 51 muestras del contenido de las letrinas instaladas en El Salvador; dichos resultados de laboratorio reportaron concentraciones de coliformes fecales en un rango de <3 a 460 (NMP/g). Basados en los resultados de laboratorio, el informe concluye que el 39.2% de las letrinas se están usando y manteniendo en forma adecuada, el 25.5% tenían algunos problemas con cierta presencia de coliformes totales y coliformes fecales, el 35.3% estaban en malas condiciones por la alta presencia de Coliformes totales y coliformes fecales. Paradójicamente, a pesar de reportarse la presencia de coliformes totales y coliformes fecales, ninguna de las muestras tuvo presencia de huevos de *Áscaris lumbricoides* o larvas, concluyéndose que el abono podía ser utilizado sí se le hacía ciertas mejoras¹.

En 1994 se introduce en El Salvador la letrina solar con financiamiento de UNICEF. Este proyecto piloto, iniciado en la comunidad Tecpán del Departamento de La Libertad (Prototipo I), promueve a que la población use el producto de la letrina solar como abono para los cultivos. Inicialmente, bajo la supervisión de técnicos de saneamiento ambiental se construyen seis letrinas solares, tres con lecho de arena y tres con lecho de cemento. De acuerdo a observaciones de campo se recomendó:

1. Disminuir la altura de la cámara eliminando dos hileras de bloques, reduciendo así el número de hileras de cinco a tres.
2. Eliminar el lecho arenoso debido a que en la época lluviosa la fluctuación del nivel freático no permitía la desecación de las heces.

La disminución de la altura de la cámara permitió que el ángulo de inclinación del colector solar fuera menor incrementándose la captación del calor de los rayos del sol; asimismo, se reduce el riesgo de caídas de niños y ancianos.

Posteriormente, en 1995, se inicia la construcción de un nuevo prototipo de letrina solar mejorado (Prototipo II) en la comunidad La Gloria, cantón El Ángel, Municipio de Apopa, San Salvador. La construcción de estas letrinas se realizó con albañiles de la misma comunidad quienes recibieron capacitación por parte de técnicos del MSPAS. El prototipo II de letrina solar tenía como modificaciones fundamentales:

1. División al centro de la cámara solar para que las heces frescas no se mezclaran con las almacenadas.

2. Un asiento sanitario de plástico con tapadera para que pudiera ser utilizada por los niños.
3. Disminución en la altura de la cámara.

En ese mismo año se realizó una evaluación microbiológica de estas letrinas solares. Los resultados de las pruebas de laboratorio reportaron la presencia de coliformes fecales en un rango de <3 a 1100. Los laboratorios locales no tenían la capacidad de detectar la presencia de huevos de Áscaris lumbricoides por lo que no se analizó la presencia de huevos de estos parásitos ².

En 1996 se realizó una reunión internacional sobre saneamiento, una de las interrogantes no resueltas durante esta reunión fue la seguridad microbiológica del contenido de la letrina. No se pudo determinar si el material contenido en la letrina estaba libre de huevos de Áscaris al momento de evacuarlo de la cámara.

En el año de 1997 la producción diaria de artefactos por parte de la Fábrica de Artefactos Sanitarios del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador disminuyó a 37 y estuvo a punto de ser cerrada para trasladar su producción al sector privado. En 1998, se reactiva la producción de la fábrica con apoyo de UNICEF.

En el año de 1999 se planifica la implementación de un nuevo proyecto piloto de letrinas solares en el Cantón Punta Remedios, Departamento de Sonsonate, en el marco de cooperación entre el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y Médicos Sin Fronteras de El Salvador. El diseño del Prototipo III de letrina solar fue asesorado por técnicos del Ministerio de Salud. Las innovaciones introducidas en la construcción del prototipo III fueron:

1. Instalación de un tubo de ventilación en la cámara para la extracción de olores y humedad.
2. Reducir a dos hiladas de bloques la altura de la cámara. Al bajarse la altura de la cámara, el ángulo de inclinación de la lámina solar disminuyó sustancialmente, permitiendo una mayor exposición. Por otro lado el riesgo de caídas de altura disminuyó, especialmente para niños y ancianos ³.

A pesar de los avances y mejoras en los diseños técnicos y arquitectónicos de las LASF y letrinas solares, en El Salvador persistía, hasta antes de la publicación de estos resultados, desconocimiento sobre la seguridad microbiológica de estos sistemas de saneamiento; lo que generó la necesidad de contar con un estudio que cuantificara y caracterizara en forma sistematizada y con los métodos de laboratorio adecuados, las complejas relaciones existentes entre parámetros físico-químicos (pH, humedad, temperatura, tiempo de almacenaje) con variables sociales y conductuales en relación a la variable dependiente: el poseer un producto de las letrinas microbiológicamente seguro.

DESARROLLO DE LA MICROBIOLOGIA AMBIENTAL EN EL SALVADOR

En Agosto del 2000, en el marco del Acuerdo entre UNICEF El Salvador, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador y las Universidades de Carolina del Norte y Emory en Estados Unidos, se inicia el estudio de seguimiento y monitorización microbiológica de letrinas LASF y solares. La recolección de datos de la monitorización terminó en Abril del 2002 y los resultados finales se presentan en este documento. El proyecto planteó como principal objetivo el evaluar la seguridad microbiológica de las LASF y de las letrinas solares e identificar factores para una adecuada destrucción de microorganismos patógenos.

Para la ejecución del proyecto se creó el Laboratorio de Seguridad Microbiológica en el Laboratorio Central Dr. Max Bloch del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. UNICEF fue el organismo internacional que financió el equipamiento de este laboratorio y la Organización Panamericana de la Salud contribuyó para acondicionar la infraestructura física.

Con esta infraestructura física, se procedió a transferir técnicas de punta en la detección de agentes microbianos ambientales tales como: detección de *Escherichia coli* mediante técnicas de fluorescencia con EC-MUG; detección de virus mediante el uso de las bacterias huéspedes creadas por ingeniería genética Famp, CN13, WG45, WG49 y determinación de la viabilidad de huevos de áscaris por medio de cultivo.

Es importante mencionar que con el desarrollo de este estudio se logró no sólo transferir estas técnicas, sino que, se alcanzó el desarrollo de la capacidad de realizarlas en este país por profesionales salvadoreños. Actualmente, este laboratorio es único en América Latina por su capacidad de realizar pruebas de detección de microorganismos en medio ambiente y constituye el brazo científico que la labor del saneamiento ambiental del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social necesitaba para su posicionamiento como uno de los líderes a nivel mundial en desarrollo de nuevas técnicas de ecosaneamiento. La visión para el Laboratorio de Seguridad Microbiológica lo posiciona como un centro de capacitación para profesionales de América Latina.

REFERENCIAS

1. Evaluación del uso y mantenimiento de letrinas construidas por el Proyecto de CREA Internacional en El Salvador. Mayo 1996
2. Reportes de Análisis Microbiológico realizado por FUSADES. Enero 10/1996- Octubre 28/1997.
3. Carlos Álvarez Herodier: comunicación personal.

CAPITULO II

METODOS

Métodos de campo:

El presente estudio estuvo diseñado en dos fases. Una primera fase comprendió el estudio basal de las características demográficas, conocimientos, actitudes y prácticas de la población en cuanto al uso y mantenimiento de la letrina y observación de las condiciones de la misma. En una segunda fase se procedió a realizar un estudio longitudinal para medir los parámetros físico-químicos que influyen en la destrucción de microorganismos en los biosólidos.

El estudio basal comprendió la aplicación de una entrevista y la observación directa de las condiciones de la letrina en 444 familias de 8 comunidades de El Salvador: Hermosa Provincia, Joya Grande, Las Isletas, Tecpán, La Gloria, Majahual Arriba, Majahual Abajo, Los Cóbano. Las familias entrevistadas estuvieron conformadas por una población total de 2,184 incluyendo niños, adultos y adultos mayores. La entrevista fue aplicada a la madre o padre cabeza de familia y la inspección fue realizada por observación directa de los investigadores siguiendo una guía de procedimientos estandarizada. El jefe de cada familia fue entrevistado para obtener información sobre demografía familiar, abastecimiento y tratamiento de agua, conocimientos, actitudes y prácticas de uso y mantenimiento de la letrina; así como de transmisión de enfermedades. Para la inspección sanitaria de la letrina se registró información acerca de la limpieza, ventilación, presencia de material secante, diseño y construcción.

Para el estudio longitudinal se realizó una encuesta e inspección de 118 viviendas con letrinas LASF y 38 con letrinas solares en siete comunidades rurales de El Salvador. Las letrinas habían estado en operación un promedio de 5.4 años, con un rango de 1 a 13 años. La cámara que no estaba en ese momento en uso fue abierta desde arriba, y las muestras de biosólidos se recolectaron de la superficie, el centro y el fondo del material apilado en la cámara, usando un dispositivo de muestreo. Se solicitó a las familias mantener un registro escrito de la última vez que ellos utilizaron ese lado de la letrina para determinar la edad del biosólido en la cámara al momento de la recolección de la muestra. Fueron registrados el color y la textura de cada muestra, la temperatura del ambiente y la temperatura dentro del contenido al momento de la recolección. La temperatura pico correspondió a la temperatura más alta registrada dentro del contenido y se registró generalmente durante el medio día. Todas las familias fueron visitadas cada 3 meses, tomándose las medidas de los parámetros físicos y muestras de biosólidos en cada visita. Diez casas se excluyeron del análisis final debido a que:

1. La letrina se localizó cerca de un río y la cámara fue inundada con frecuencia cuando el nivel del río subía (n=2).
2. Ambas cámaras fueron utilizados al mismo tiempo (n=8).

Métodos de laboratorio:

Se realizaron una serie de medidas físicas y microbiológicas en cada muestra de biosólidos para valorar la inactivación microbiológica bajo las condiciones ambientales encontradas en las LASF y letrinas solares. Los indicadores microbiológicos (coliformes fecales, colifagos somáticos, *Clostridium perfringens*) fueron escogidos como modelos para medir la sobrevivencia de bacterias entéricas, virus patógenos y *Clostridium perfringens* para nemátodos tales como *Áscaris lumbricoides*. En cada letrina, una muestra compuesta fue preparada según el peso de las muestras tomadas de la superficie, el centro y el fondo del material de la cámara. La muestra compuesta se suspendió en buffer (suspensión al 10%) y luego fue dividida para cada una de las pruebas físicas y microbiológicas. El pH fue medido agregando agua destilada a la muestra y obteniendo la lectura con un electrodo de pH. El contenido de humedad fue determinado comparando el peso inicial de 35-50g de la muestra compuesta, la cual ha estado en el horno a una temperatura entre 103 °C - 105° C por 24 horas, pesándola al día siguiente varias veces hasta que la variación en las medidas del peso de la muestra seca fuera menor al 4%. Los coliformes fecales fueron analizados usando caldo de cultivo A1 y la técnica de fermentación en tubos múltiples. Se analizó el *Clostridium perfringens* usando el medio de leche - hierro y la técnica de fermentación en tubos múltiples. Los coliformes fecales y *Clostridium perfringens* estimados por gramo de muestra, se calcularon utilizando la tabla de números más probables (NMP). Los colifagos somáticos se midieron como unidad formadora de colonia (UFC) en el huésped CN 13. La presencia de *Áscaris lumbricoides* viable, *Trichuris trichiura* y huevos de *Uncinaria sp.* fue valorada por medio de una adaptación de la técnica de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), "Métodos para la Detección, Enumeración y Determinación de Viabilidad de los Huevos de *Áscaris lumbricoides* en el Fango".

Las muestras fueron procesadas dentro de las primeras 24 horas posteriores a su recolección

Determinación de *Clostridium perfringens*

Luego de preparar las diferentes diluciones de los biosólidos en agua estéril bufferada, se procede a inocular cada una de éstas en medio de cultivo Leche - Hierro. El medio de cultivo Leche - Hierro debe estar a temperatura ambiente previo a su inoculación. Luego de la inoculación, la muestra es homogenizada en el caldo de cultivo mediante agitación suave. Los tubos con las muestras diluidas en el medio de Leche-Hierro son llevadas a incubación por 16 ± 2 horas a 44.5 ± 0.5 °C. Luego de la incubación de 16 horas, se examinan los tubos para determinar la presencia de "fermentación en tormenta".

Finalmente, se calcula el número más probable (NMP) de acuerdo a la dilución y usando la tabla correspondiente.

Determinación de Coliformes fecales

Luego de preparar las diferentes diluciones de los biosólidos en agua estéril bufferada, se procede a inocular cada una de éstas en medio de cultivo A-1. El medio de cultivo A-1 debe estar a temperatura ambiente en cada uno de los tubos con su correspondiente campana de Durham. Al inocular la muestra se homogeniza en el caldo de cultivo mediante agitación suave. Los tubos con las muestras diluidas en el medio de cultivo A-1 son llevados a incubación por 3 horas a 37 ± 0.5 °C. Luego de esta incubación inicial, las muestras son transferidas a una segunda fase de incubación a 44.5 ± 0.5 °C por un periodo de 21 ± 2 horas. Terminada esta segunda fase de incubación, se examinan los tubos en busca de turbidez y producción de gas. Finalmente, se calcula el Número Más Probable (NMP) de acuerdo a la dilución y usando la tabla correspondiente.

Determinación de Colifagos somáticos

La técnica en placas de agar de doble capa se utilizó para la detección de Colifagos. Las pruebas se realizaron por duplicado en las diferentes diluciones de la muestra, con la finalidad de incrementar el nivel de validez de las mismas. Se utilizaron los correspondientes controles positivos y negativos.

Para la técnica de agar de doble capa se requiere la preparación de dos soluciones de agar: una con una consistencia sólida para el fondo y otra con mayor dilución para la capa superficial. Con la finalidad de controlar el crecimiento de posibles bacterias contaminantes se mezcla en el agar (fondo y superficie) antibióticos de amplio espectro inocuos para la bacteria huésped, pero que inhiben el crecimiento de otras bacterias. Se agregan 100 µl de bacteria huésped de fase logarítmica al agar de superficie y cloruro de calcio (CaCl_2). Este reactivo acelera el ciclo lítico permitiendo la adherencia del virus al receptor específico de la superficie celular.

El procedimiento comprendió los pasos descritos a continuación. Se inoculó 1 mL de muestra diluida en agua bufferada en 5 ml de agar de superficie, el mismo que estuvo a temperatura de 48 °C. El agar de superficie mezclado con la dilución de la muestra es sembrado sobre el agar de fondo que se encuentra en las cajas Petri. Luego se procede a tapar las cajas Petri con las diferentes diluciones. Con la finalidad de evitar posibles contaminaciones puede trabajar bajo una cabina de seguridad biológica, o en su defecto, en un ambiente lo más estéril posible junto a dos mecheros.

Las cajas Petri luego son llevadas a la incubadora de 37 ± 0.5 °C y colocadas en forma invertida. La incubación se realiza por un período de 12 a 18 horas y se leen los resultados al siguiente día.

Para la lectura, se examina la superficie del agar en busca de zonas claras (placas), las mismas que se cuentan y registran. Cualquier formación de zonas claras (placas) sobre la superficie de la bacteria huésped que sea observada luego de la incubación es un indicador de que la muestra contiene virus capaces de fagocitar la bacteria huésped, una superficie intacta es indicador de la inexistencia de virus.

Prueba de las Manchas para determinación de virus ARN ó ADN

Con la finalidad de determinar si las “placas” o zonas claras observadas sobre la superficie del agar corresponden a virus ARN o virus ADN, se realiza el Test confirmatorio por medio de la prueba de las “manchas”.

Para la realización de la prueba de las “manchas”, se procede a colocar el agar nutritivo con el antibiótico en dos cajas Petri: una sin RNAsa y otra con RNAsa. En la caja Petri para las pruebas con RNAsa se adiciona al agar nutritivo la bacteria huésped de fase logarítmica, el antibiótico y la RNAsa. Con una micropipeta de 1000 µl con puntas estériles se succiona una muestra de la placa viral de la caja Petri con doble agar. Se introduce la punta de la micropipeta en un vial de reacción que contiene glicerol al 20% y agua bufferada estéril. La punta debe ser lavada varias veces para asegurar la dilución y homogenización de la muestra. Las cajas Petri con RNAsa y sin RNAsa deben estar a temperatura ambiente (20 ± 5 °C) previo a su utilización. En la cara inferior de las cajas Petri se procede a delinear con marcador indeleble una cuadrícula. Cada uno de los recuadros de la cuadrícula deberá corresponder a la muestra tomada de una placa viral. También se deberán incluir los recuadros correspondientes para los controles negativo y positivo previo a la inoculación, el vial que contiene la muestra de la placa es sometido a homogenización con un mezclador. Se aspira 10 µl del contenido del vial se inocula en el centro del recuadro previamente identificado en la cuadrícula. Debe inocularse primero la caja Petri con agar de marcamiento sin RNAsa y luego la otra con RNAsa para evitar la contaminación accidental de la pipeta con material selectivo que evite el crecimiento de los virus. Para cada placa viral se debe utilizar una punta de micropipeta descartable. Se utiliza agua bufferada como control negativo y lisado de fagos como control positivo. Las cajas Petri deben dejarse por 20 minutos hasta que los inóculos vírales hayan secado. Posteriormente estas cajas Petri son incubadas a 37°C y colocadas en forma invertida por un periodo de 6 a 8 horas.

Si la caja Petri con agar de marcamiento sin RNAsa presenta una mancha translúcida similar al del control positivo, se confirma que la placa viral sospechosa es positiva. En el caso contrario, si no se forma esta mancha translúcida el resultado es negativo, similar a lo que se observa con el control negativo. Si la caja Petri con agar de marcamiento con RNAsa presenta una mancha translúcida igual a la del control positivo se comprueba que el virus aislado no fue inhibido por la RNAsa y que por lo tanto es un virus ADN. Si la caja Petri con agar de marcamiento con RNAsa no presenta una mancha translúcida igual a la del control positivo, se comprueba que el virus aislado fue inhibido por la RNAsa y por lo tanto es un virus ARN.

Determinación de Huevos de Helmintos

La determinación de la presencia de huevos de Helmintos en muestras ambientales de biosólidos es difícil debido a la presencia de cuerpos extraños y a la disminución de la densidad. Los métodos diagnósticos comúnmente utilizados para su detección son poco sensibles y la especificidad es igualmente baja para determinar la viabilidad. Por esta razón, en el presente estudio se decidió adoptar las técnicas utilizadas por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) con ciertas variantes propuestas por M.D. Little.

Previo a la realización de la prueba, toda la cristalería debe ser recubierta con organosilene. Sin embargo esta sustancia es altamente explosiva y por lo tanto difícil de transportar. En tal virtud, de acuerdo a la sugerencia propuesta por el Doctor Little se decidió reemplazar el organosilene por el limpiador de parabrisas de carros RAIN-X. Los resultados de esta innovación, de acuerdo a lo previsto por el Dr. Little fueron altamente satisfactorios en cuanto a evitar la adherencia de los huevos de helmintos a las paredes de la cristalería. Este es un procedimiento crítico en las pruebas para detectar huevos de *Ascaris lumbricoides*, pues usualmente los huevos tienden a adherirse a las paredes de la cristalería, disminuyendo sustancialmente las posibilidades de observar o detectar los huevos microscópicamente, lo que origina los resultados falsos negativos.

Se procedió a colocar en remojo 60 g de biosólidos en 200 mL de agua destilada en un beaker de 600 mL. Esta mezcla se deja sedimentar en refrigeración a una temperatura de 4 a 10 °C durante toda la noche. Al siguiente día se licúa la muestra para lograr su homogenización y se le agrega la solución Limbro 7 x al 0.1% para lograr la flotación de cuerpos extraños y la sedimentación de huevos de helmintos. En una segunda fase se procede a aspirar el sobrenadante que se encuentra por encima de la capa de biosólidos sedimentada. Este procedimiento debe ser realizado con una bomba de succión para evitar esparcir la fina capa que contiene los huevos de helmintos. Se repiten los pasos anteriores adicionando la solución Limbro 7 x al 0.1% hasta alcanzar un volumen final de 900 mL. Esta mezcla se deja por 2 horas en refrigeración para permitir su sedimentación.

Luego de aspirar el sobrenadante por segunda vez, se procede a cernir la mezcla de biosólidos a través de dos cribas, una con agujero # 20 y otra con agujero # 50. Posterior al segundo cernido, se agrega nuevamente la solución de Limbro 7x. El producto del proceso de cribaje es llevado a un volumen final de 900 mL mediante la adición de Limbro 7x al 0.1%. Los 900 mL de volumen final son dejados en reposo en refrigeración por dos horas.

En un tercer lavado, se distribuye el sedimento en forma equitativa en tubos cónicos de 50 mL, para luego centrifugarlos por 10 minutos a 2700 r.p.m. para que sedimenten los huevos y se eliminen las partículas extrañas. El sedimento compactado en cada uno de los tubos no debe exceder de 5 mL, en caso de exceder este límite, adicionar agua estéril y redistribuir el sedimento equitativamente en otros tubos, luego se centrifuga y aspira el sobrenadante.

El siguiente procedimiento comprende la adición de sulfato de magnesio gravedad específica 1.20 en cada uno de los tubos cónicos. Los tubos cónicos son llevados a centrifugación por 5 minutos a 2500 r.p.m. para lograr la flotación de los huevos de helmintos.

En un tercer cernido, se transfiere el sobrenadante de los tubos cónicos a una criba de agujero # 400. Se recolecta el contenido de la criba en tubos de centrifuga de 15 mL. Luego se centrifugan los tubos por 3 minutos a 2500 r.p.m. para sedimentar los huevos. Se examina al microscopio una pequeña alícuota del sedimento para observar la presencia de huevos. En caso de observar los huevos, se vuelve a suspender la muestra en 4 mL de ácido sulfúrico al 0.1 N con el objeto de evitar la contaminación de la muestra con otros microorganismos. Antes de someter los tubos a incubación es necesario marcar el nivel del líquido con la finalidad de reponer el líquido evaporado. Las tapaderas de los tubos deben mantenerse flojas con la finalidad de mantener la oxigenación necesaria. Los controles positivos y las muestras se incuban a 28 °C por un periodo de 18 días. Debido a que los huevos de helmintos podrían estar en diferentes fases de incubación en las muestras de las letrinas, es necesario examinar cada 3 días alícuotas de la muestra en incubación, para monitorear el desarrollo de los embriones dentro de los huevos.

Luego del proceso de incubación que puede durar aproximadamente 18 días o menos, se procede a lavar los huevos por cuarta vez. En este proceso se lava el sedimento de los tubos sometidos a incubación con agua destilada, se centrifuga y descarta el sobrenadante. Se adiciona luego hipoclorito de sodio al 10% para decolorar la capa externa del huevo, posteriormente se sumergen los tubos en baño maría a 38 °C con el objeto de inducir movilidad en las larvas desarrolladas dentro de los huevos.

Para observar el desarrollo de los embriones dentro del huevo, se transfiere una gota a una lámina portaobjetos con un pozuelo cóncavo en el centro. Se examina a una resolución de 10x y 40x para clasificar los huevos por su especie y viabilidad. La viabilidad positiva de los huevos de *Áscaris lumbricoides* por este método se define como la presencia de huevos embrionados con larvas móviles o en proceso de eclosión¹.

Análisis Estadístico:

La recolección de datos de campo se completó en Abril del 2002. Después de terminado el trabajo de campo, se realizó un análisis final de la calidad de los datos. El análisis de calidad incluyó la verificación de valores fuera de rango, verificación de valores extremos, identificación de datos perdidos, verificación de datos no aplicables, verificación de respuestas con inconsistencia lógica y verificación de familias que abandonaron el estudio. Debido al sistema de doble ingreso de datos aplicado desde el inicio del trabajo de campo y a las medidas de rutina para asegurar la calidad durante la recolección de

¹ **Nota:** Todo el material utilizado en el desarrollo del estudio fue descontaminado en baño de María a 100 °C, o en autoclave y el material a descartar fue incinerado.

datos, no fue detectado error alguno en el ingreso de datos y se identificó un bajo porcentaje de información perdida. Las 157 casas que iniciaron el periodo de 12 meses de seguimiento, permanecieron en el estudio hasta la finalización del mismo, solamente dos familias dejaron el estudio debido a que sus letrinas fueron destruidas por el terremoto de enero del 2001.

El análisis preliminar incluyó un análisis univariado y tablas de contingencia para análisis bivariado. En una segunda fase, se realizó un análisis estratificado. Técnicas estadísticas más avanzadas se aplicaron en el análisis multivariado. El presente estudio de microbiología ambiental es el primero en el cual se aplican técnicas del análisis de sobrevivencia para determinar la persistencia de huevos de Áscaris lumbricoides en biosólidos. También se aplicaron análisis de sobrevivencia para determinar la persistencia de los organismos índice: Escherichia coli, Clostridium perfringens y colifagos somático.

Debido a la complejidad de los datos, el análisis fue dividido en dos componentes:

1. El estudio basal para determinar los factores socioeconómicos, culturales y conductuales que influyen en el mantenimiento y operación de las letrinas.
2. El estudio longitudinal para determinar los parámetros biofísicos que afectan la destrucción microbiana.

Las técnicas de análisis incluyeron:

1. Análisis univariado y bivariado de las características de la vivienda y letrina; uso y mantenimiento de la letrina; las características físicas de las muestras de los biosólidos y microbiológicas de los mismos.
2. Análisis multivariado para determinar la relación entre:
 - a) Características físicas de los biosólidos, edad de los mismos y concentraciones de los indicadores microbianos.
 - b) Características de la casa, de la letrina y reporte del uso de aditivos.
 - c) Prácticas de mantenimiento y características físicas de los biosólidos.
3. Análisis de sobrevivencia para determinar las curvas de destrucción de los microorganismos índice, bajo condiciones físico-químico diferentes.

Los análisis multivariados se realizaron con el software del sistema SAS (versión 8.1, Instituto SAS, Cary, NC) utilizando el procedimiento de REG para las regresiones y el procedimiento de LIFETEST para el análisis de sobrevivencia.

CAPITULO III

CONOCIMIENTOS, ACTITUDES Y PRÁCTICAS EN EL USO Y MANTENIMIENTO DE LAS LETRINAS

La edad de los usuarios constituyó un factor determinante en las prácticas de uso de las letrinas LASF y solares. En su mayor parte los adultos y niños mayores de 6 años usaron su letrina familiar. Sin embargo, el uso de la letrina por parte de niños menores de 5 años fue substancialmente menor, siendo de apenas el 11% en niños menores de 3 años (Tabla 1).

Las razones más comunes que se adujeron para no usar la letrina fueron:

1. Dificultad en su uso (35%);
2. Miedo a que los niños puedan caer en su interior;
3. La no percepción de una asociación entre las letrinas y la salud;
4. En algunos de los casos (26%), las letrinas tenían una puerta difícil de ser abierta por niños o adultos mayores.

Tabla 1: Uso de las letrinas de acuerdo a la edad de los usuarios

Estrato Erario	Número (%) de familias	Número total de personas	Número de personas (%) que usan las letrinas
Adultos > 18 años	442 (99.56)	1,385	1,330 (96.03)
Niños 6-18 años	314 (70.72)	821	753 (91.72)
Niños 3-5 años	150 (33.78)	222	83 (37.39)
Niños <3 años	124 (27.93)	159	18 (11.32)

El tiempo promedio de la existencia de las letrinas, fue de 6.11 años con un rango entre 0.83 y 18 años. De las letrinas estudiadas sólo un 2.7% tenían menos de un año de ser construidas y el 14.1% tenían más de 10 años. Generalmente la capacitación en el uso de las letrinas fue proporcionado cuando éstas fueron construidas y esta asociación se evidencia en el lapso entre capacitación en el uso y la fecha en la que se realizó este estudio.

El tiempo promedio desde que la familia había recibido la última capacitación fue de 5.5 años con un rango entre 0 y 13 años. Un 7% de las familias habían recibido la capacitación hace un año o menos y un importante porcentaje 51.6% no había recibido ningún tipo de capacitación en los últimos seis años o más. La mayor parte de capacitación en el uso de las letrinas fue proporcionada por educadores en salud, inspectores sanitarios o promotores de salud, habiendo recibido la población una capacitación informal por parte de voluntarios o líderes comunitarios en un porcentaje que oscila entre 23.6% y 21.1%.

El promedio de visitas anuales del promotor de salud fue de 2.59. Sin embargo, debido a que en pocos casos las visitas del promotor de salud fueron frecuentes, el promedio del número de visitas anuales del promotor de la salud fue casi cero. Las comunidades que reportaron los más altos porcentajes de ausencia de visitas por parte del promotor en el último año fueron Hermosa Provincia en San Salvador (100%), Las Isletas en La Paz (71.8%) y Joya Grande en Ilopango (62%).

En cuanto al uso de aditivos en las letrinas, el 100% de las familias reportó usar algún material aditivo. Un 72% de las familias reportaron usar el aditivo en cada evento en que se usó la letrina. Durante la inspección de la letrina, se observó en un 66% la presencia de material aditivo dentro de la misma. La mayor parte de los usuarios (96.6%) reportaron adicionar 2 tazas de material.

De acuerdo a las recomendaciones estándar, el contenido de humedad de las letrinas debe ser rápidamente disminuido a menos de 25% (Esrey et al., 1998). Teóricamente el contenido de las letrinas puede ser secado mediante el calor, ventilación y/o el uso de materiales secantes. De acuerdo a las recomendaciones de uso de las letrinas LASF, se recomienda a las familias revolver el contenido de la cámara por lo menos una vez por semana, pues este procedimiento promueve la aireación y evaporación de la humedad. Un 19% de las familias reportaron revolver el contenido de las cámaras semanalmente y un 52% reportó realizar este procedimiento algunas veces y el 29% reportó no hacerlo nunca. Las letrinas solares podrían proporcionar mayores facilidades para realizar este procedimiento debido a la necesidad de movilizar los contenidos hacia la cámara solar.

Si bien las recomendaciones para el uso de las letrinas LASF indican claramente el uso alternante de las dos cámaras un porcentaje bajo 2.79% de las familias reportaron usar las dos cámaras al mismo tiempo. Sin embargo este porcentaje del uso simultáneo de las dos cámaras fue de 5.57% cuando las familias fueron observadas por los investigadores. Esta diferencia de porcentajes en el uso de ambas cámaras se explica por el número importante de eventos en cuanto al uso de la cámara sellada por parte de niños o adultos mayores a los cuales no se les había instruido o simplemente no tenían referencia alguna de cual de las cámaras estaba en uso.

Los manuales de capacitación recomiendan un tiempo mínimo de almacenamiento del material dentro de la cámara de 6 meses. El número promedio de meses que los biosólidos fueron mantenidos en la cámara fue de 12.45 meses, sin embargo, este promedio refleja la gran variabilidad observada en el rango de 1 a 60 meses de

almacenamiento. Un 7% de las familias reportaron almacenar los biosólidos en la letrina por un período menor a 6 meses. Las percepciones de los usuarios en cuanto al tiempo de almacenamiento que los biosólidos deberían tener son descritos en la tabla 2. La mayoría de las familias (93%) respondieron en concordancia con las recomendaciones impartidas por el Ministerio de Salud, esto es, que se debería mantener almacenado el material dentro de la cámara por un tiempo mínimo de 6 meses.

Tabla 2: Prácticas y percepciones relacionadas con el tiempo de almacenamiento de los biosólidos en las letrinas

	Letrinas LASF (n=395)		Letrinas Solares (n=49)	
	Tiempo	N(%)	Tiempo	N(%)
¿Hace cuánto tiempo usó una cámara antes de cambiarse a la otra?	<6 meses.	23 (6.61)	N/A*	N/A
	6, <12 meses.	128 (36.78)		
	12 meses.	197 (56.61)		
¿Cuánto tiempo piensa que el material debería ser almacenado en una cámara para que éste no contamine?	<6 meses.	26 (7.07)	<30 días	5 (17.24)
	6, <12 meses.	220 (59.78)	≥30, <60 días	10 (34.48)
	12 meses	122 (33.15)	≥60 días	14 (48.28)
¿Cuándo removi6 el producto final de la letrina, usted pens6 que este es seguro?	Si	190 (48.59)	Si	24 (51.06)
	No	101 (25.83)	No	17 (36.17)
	No conozco	100 (25.58)	No conozco	6 (12.77)

*N/A (No aplicable a una sola cámara de la letrina solar)

Los principales materiales usados como aditivos para las letrinas fueron ceniza, cal, aserrín y tierra. El uso de aditivos alcalinizantes tales como cal o ceniza estuvo relacionado en el área rural, fundamentalmente a la disponibilidad de ceniza. Las razones para no usar un determinado aditivo se exponen en la Tabla 3, observándose que uno de los mayores determinantes fue la no disponibilidad de ciertos aditivos en la comunidad o área.

Tabla 3: Razones dadas por el jefe de la familia para no usar un tipo específico de aditivo.

Razones para no usar un tipo específico de aditivo	Ceniza (n=83) n (%)	Cal (n=152) n (%)	Aserrín (n=390) n (%)	Tierra (n=218) n (%)
Difícil de encontrar	67 (80.72)	31 (20.39)	363 (93.08)	32 (14.68)
No entienden el valor de su uso.	4 (4.82)	44 (28.95)	22 (5.64)	145 (66.51)
Muy costoso	-	57 (37.50)	-	5 (2.29)
Mal olor	5 (6.02)	2 (1.32)	1 (0.26)	-
Humedad	2 (2.41)	-	1 (0.26)	-
Se seca mucho y se Compacta	-	0	-	2 (0.92)
Otros	3 (3.61)	2 (1.32)	2 (0.51)	3 (1.38)
Prefiere otros materiales	2 (2.41)			
Difícil de remover		3 (1.97)		2 (0.92)
Ceniza es suficiente		8 (5.26)		
Produce irritación		2 (1.32)		
Produce mucho volumen			1 (0.26)	3 (1.38)
No conozco				13 (5.96)
Este no es necesario		3 (1.97)		9 (4.13)
Este produce mucha humedad				4 (1.83)

Con la finalidad de controlar las variables que podrían influir en el uso de los aditivos se procedió a realizar un análisis multivariado mediante regresión logística. Luego de controlar las demás variables en el modelo de regresión logística, las familias que vivían en el área rural tuvieron una mayor probabilidad (OR 25.39; CI 8.06-80.02; valor de p <0.0001) en el uso de aditivos alcalinos. No se observó una asociación estadísticamente significativa entre nivel de educación formal de la madre y el uso de aditivos alcalinos. Otras variables tales como situación socioeconómica relativa, servicio sanitario previo, número de miembros en la familia y prácticas higiénicas tampoco tuvieron una asociación estadísticamente significativa con el uso de materiales alcalinos. Específicamente no se evidenció una asociación entre el número de visitas del promotor de salud y el uso de materiales alcalinos. Por otro lado, el haber recibido una capacitación por parte de un trabajador de salud formalmente entrenado, mostró efecto positivo sobre el uso de estos materiales aunque éste no fue estadísticamente significativo (Tabla 4).

Tabla 4: Análisis de regresión logística: Uso de aditivos alcalinos en las letrinas

Variable	Categoría	OR Cruda (95% CI)	Valor p	OR ajustada ♣ (95% CI)	Valor p
Rural	Sí	45.729 (19.8, 105.5)	<0.0001	25.390 (8.057, 80.017)	<0.0001
	No	referencia	-	-	-
¿Quién le entreno en el uso de la letrina?	Organización/promotor salud/inspector salud	0.795 (0.429, 1.473)	0.4665	1.333 (0.498, 3.567)	0.5667
	Ninguna persona preparada	referencia	-	-	-
Número de visitas del promotor por año	Al menos uno	2.402 (1.497, 3.855)	0.0003	1.027 (0.513, 2.055)	0.9411
	Ninguno	referencia	-	-	-
Nivel económico	Alto	0.827 (0.496, 1.380)	0.4678	0.574 (0.263, 1.249)	0.1613
	Medio	1.021 (0.596, 1.749)	0.9407	0.894 (0.400, 1.999)	0.7848
	Bajo	referencia	-	-	-
Madre que puede leer y escribir	Sí	0.451 (0.281, 0.724)	0.0010	1.165 (0.339, 4.005)	0.8081
	No	referencia	-	-	-
Años de educación de la madre	> 6 años	0.367 (0.188, 0.717)	0.0033	0.962 (0.184, 5.032)	0.9637
	1-6 años	0.493 (0.302, 0.804)	0.0046	0.504 (0.143, 1.784)	0.2883
	Ninguno	referencia	-	-	-
Años desde que construyó la letrina	≤ 6 años	2.963 (1.852-4.740)	<0.0001	1.065 (0.537, 2.109)	0.8576
	> 6 años	referencia	-	-	-
Servicios sanitarios Previos	Ninguno	3.510 (2.173, 5.671)	<0.0001	1.561 (0.799, 3.047)	0.1922
	Hoyo, LASF o servicio higiénico	referencia	-	-	-
Costo de los aditivos	Gratis	3.486 (1.983-6.128)	<0.0001	1.800 (0.874, 3.709)	0.1111
	No gratis	referencia	-	-	-
Letrina construida con ayuda	No	2.454 (0.933, 6.456)	0.0689	2.082 (0.579, 7.479)	0.2612
	Sí	referencia	-	-	-
Número de personas en la familia	1-5	0.804 (0.522, 1.240)	0.3237	1.145 (0.611, 2.148)	0.6722
	≥ 6	referencia	-	-	-
Cabinas de la letrina limpia	Sí	1.359 (0.876, 2.109)	0.1710	1.258 (0.666, 2.375)	0.4794
	No	referencia	-	-	-

♣ Ajustado para todas las otras variables en el modelo

No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre los aspectos de conducta y la frecuencia en el uso de los aditivos (tabla 5). Tampoco se observaron asociaciones estadísticamente significativas con la práctica de revolver los biosólidos dentro de la cámara (Tabla 6). Como era de esperarse, el tiempo de almacenamiento de los biosólidos en las cámaras no estuvo relacionado con factores demográficos o conductuales, sin embargo se observó una asociación no significativa entre familias extensas de más de cinco miembros y la probabilidad de almacenar los biosólidos por menos de un año (OR 1.5:CI 0.91 a 4.02). También se observó una asociación no significativa entre un nivel de educación mayor a 6 años y de 1-6 años con tiempos prolongados de almacenamiento (Tabla 7).

Tabla 5: Análisis de regresión logística de la frecuencia de uso de aditivos en las letrinas LASF (n=328)

Variable	Categoría	OR cruda (95% CI)	Valor p	OR ajustada † (95% CI)	Valor p
Rural	Si	0.251 (0.111, 0.570)	0.0009	0.390 (0.132, 1.152)	0.0884
	No	Referencia	-	-	-
¿Quién le entrenó en el uso de la letrina?	Organización/promotor de salud/inspector sanitario	2.001 (1.165, 3.437)	0.0119	1.160 (0.540, 2.494)	0.7030
	Ninguna persona preparada	Referencia	-	-	-
Número de visitas del promotor por año	Al menos uno	0.570 (0.367, 0.886)	0.0125	0.678 (0.393, 1.169)	0.1622
	Ninguno	Referencia	-	-	-
Nivel económico	Alto	1.562 (0.915, 2.667)	0.1019	1.709 (0.892, 3.275)	0.1065
	Medio	1.243 (0.741, 2.087)	0.4099	0.946 (0.503, 1.779)	0.8640
	Bajo	Referencia	-	-	-
Madre puede leer y escribir	Sí	1.110 (0.710, 1.737)	0.6464	1.463 (0.506, 4.226)	0.4823
	No	Referencia	-	-	-
Años de educación de la madre	> 6 años	1.096 (0.541, 2.218)	0.7991	0.644 (0.161, 2.576)	0.5343
	1-6 años	1.153 (0.729, 1.823)	0.5416	0.696 (0.242, 2.001)	0.5009
	Ninguno	Referencia	-	-	-
Años desde que construyó la letrina	≤ 6 años	0.498 (0.311, 0.796)	0.0036	0.753 (0.438, 1.296)	0.3063
	> 6 años	Referencia	-	-	-
Servicios sanitarios Previos	Ninguno	1.065 (0.692, 1.641)	0.7739	1.304 (0.758, 2.243)	0.3375
	Hoyo, LASF o servicio higiénico	Referencia	-	-	-
Costo de los aditivos	Gratuito	1.017 (0.650, 1.593)	0.9403	1.179 (0.686, 2.027)	0.5509
	No gratuito	Referencia	-	-	-
Letrina construida con ayuda	No	0.478 (0.242, 0.942)	0.0330	0.515 (0.237, 1.120)	0.0943
	Sí	Referencia	-	-	-
Número de personas en la familia	1-5	0.819 (0.532, 1.260)	0.3635	1.001 (0.594, 1.685)	0.9981
	≥ 6	Referencia	-	-	-
Cabina de la letrina limpia	Sí	0.678 (0.432, 1.065)	0.0920	0.790 (0.462, 1.351)	0.3890
	No	Referencia	-	-	-

† Ajustado para todas las otras variables en el modelo

Tabla 6: Análisis de regresión logística del procedimiento de mezclado de los biosólidos en las letrinas LASF (n=327)

Variable	Categoría	OR cruda (95% CI)	Valor p	OR ajustada † (95% CI)	Valor p
Rural	Sí	0.244 (0.107, 0.552)	0.0007	0.725 (0.250, 2.101)	0.5534
	No	Referencia	-	-	-
¿Quién le entrenó en el uso de la letrina?	Organización/promotor de salud/inspector sanitario	2.284 (1.333, 3.913)	0.0027	1.912 (0.910, 4.017)	0.0872
	Ninguna persona preparada	Referencia	-	-	-
Número de de visitas del promotor por año	Al menos una	0.624 (0.401, 0.970)	0.0363	0.721 (0.413, 1.260)	0.2510
	Ninguno	Referencia	-	-	-
Nivel económico	Alto	1.610 (0.940, 2.756)	0.0828	1.645 (0.847, 3.195)	0.1419
	Medio	1.122 (0.672, 1.874)	0.6602	0.779 (0.409, 1.484)	0.4482
	Bajo	Referencia	-	-	-
Madre puede leer y escribir	Sí	1.234 (0.793, 1.921)	0.3520	1.296 (0.429, 3.916)	0.6454
	No	Referencia	-	-	-
Años de educación de la madre	> 6 años	1.511 (0.729, 3.135)	0.2672	1.206 (0.285, 5.103)	0.7992
	1-6 años	1.276 (0.810, 2.009)	0.2935	0.961 (0.322, 2.872)	0.9431
	Ninguno	Referencia	-	-	-
Años desde que construyó la letrina	≤ 6 años	0.613 (0.386, 0.974)	0.0381	0.729 (0.420, 1.266)	0.2617
	> 6 años	Referencia	-	-	-
Servicios sanitarios Previos	Ninguno	0.934 (0.608, 1.434)	0.7552	1.082 (0.624, 1.879)	0.7784
	Hoyo, LASF o servicio higiénico	Referencia	-	-	-
Costo de los aditivos	Gratuito	0.366 (0.235, 0.570)	<0.0001	0.450 (0.261, 0.774)	0.0039
	No gratuito	Referencia	-	-	-
Letrina construida con ayuda	No	0.874 (0.424, 1.801)	0.7160	0.917 (0.404, 2.082)	0.8365
	Sí	Referencia	-	-	-
Número de personas en la familia	1-5	0.553 (0.357, 0.855)	0.0077	0.604 (0.358, 1.022)	0.0601
	≥ 6	Referencia	-	-	-
Cabina de la letrina Limpia	Sí	0.759 (0.487-1.186)	0.2261	1.000 (0.585, 1.711)	0.9993
	No	Referencia	-	-	-

† Ajustado para todas las otras variables en el modelo

Tabla 7: Análisis de regresión logística: tiempo de almacenamiento de las letrinas LASF (n=303)

Variable	Categoría	OR cruda (95% CI)	Valor p	OR ajustada † (95% CI)	Valor p
Rural	Sí	1.438 (0.826, 2.503)	0.1987	0.985 (0.424, 2.290)	0.9722
	No	Referencia	-	-	-
¿Quién le entreno en el uso de la letrina?	Organización/promotor salud/inspector salud	1.102 (0.606, 2.004)	0.7497	1.068 (0.507, 2.247)	0.8627
	Ninguna persona preparada	Referencia	-	-	-
Número de visitas del promotor por año	Al menos uno	1.606 (1.027, 2.510)	0.0377	1.374 (0.812, 2.324)	0.2359
	Ninguno	Referencia	-	-	-
Nivel económico	Alto	0.646 (0.381, 1.097)	0.1057	0.723 (0.400, 1.304)	0.2808
	Medio	0.605 (0.356, 1.028)	0.0633	0.700 (0.383, 1.279)	0.2465
	Bajo	Referencia	-	-	-
Madre puede leer y escribir	Sí	0.838 (0.542, 1.296)	0.4277	0.545 (0.188, 1.585)	0.2655
	No	Referencia	-	-	-
Años de educación de la madre	> 6 años	1.229 (0.601, 2.514)	0.5713	2.490 (0.665, 9.330)	0.1758
	1-6 años	0.804 (0.512, 1.263)	0.3435	1.513 (0.524, 4.372)	0.4444
	Ninguno	Referencia	-	-	-
Años desde que construyó la letrina	≤ 6 años	1.404 (0.903, 2.184)	0.1317	1.315 (0.784, 2.205)	0.2986
	> 6 años	Referencia	-	-	-
Servicios sanitarios Previos	Ninguno	0.934 (0.611, 1.428)	0.7521	0.828 (0.488, 1.408)	0.4863
	Hoyo, LASF o servicio higiénico	Referencia	-	-	-
Costo de los aditivos	Gratuito	1.358 (0.862, 2.140)	0.1864	1.292 (0.771, 2.168)	0.3309
	No gratuito	Referencia	-	-	-
Letrina construida con ayuda	No	0.909 (0.446, 1.853)	0.7938	0.887 (0.396, 1.987)	0.7710
	Sí	Referencia	-	-	-
Número de personas en la familia	1-5	1.440 (0.940, 2.206)	0.0934	1.496 (0.921, 2.431)	0.1036
	≥ 6	Referencia	-	-	-
Cabinas de la letrina limpia	Sí	1.299 (0.842, 2.004)	0.2369	1.144 (0.707, 1.853)	0.5832
	No	Referencia	-	-	-

† Ajustado para todas las otras variables en el modelo

USO DE ADITIVOS Y VARIACION DEL pH EN LOS BIOSOLIDOS.

Como fue descrito en los resultados iniciales, se observó una gran variabilidad en los parámetros físico-químicos como pH, humedad y temperatura. El promedio de pH para los biosólidos fue de 9.03 con una media de 9.20 y un rango de 5.07 a 12.76. Las letrinas LASF mostraron un pH menor de 8.92 (rango 5.07-12.72) en comparación con el pH 9.84 (rango 6.79-12.76) observado en las letrinas solares. Al aplicar un test de student de doble cola el promedio del pH en las LASF mostró ser significativamente mayor con una P menor a 0.001. El principal determinante de la alcalinidad de los biosólidos fue el material secante utilizado. El promedio del pH observado en los biosólidos de acuerdo al material secante utilizado es descrito en la Tabla 8. Como se puede observar, las combinaciones de ceniza con cal mostraron los niveles de pH más altos.

Tabla 8: pH de biosólidos en letrinas por tipo de aditivo reportado por la familia incluyendo todas las opciones *

Tipo de aditivo	N (%)	Promedio del pH	Rango del pH	S.E.
Ceniza, tierra y cal	25 (6.11)	9.45	7.2-12.45	1.30
Ceniza, y cal	168 (41.01)	9.36	6.89-12.72	1.00
Ceniza, cal y otros**	4 (0.98)	9.35	6.37-12.52	2.51
Ceniza ‡	121 (29.58)	9.20	6.88-11.19	0.73
Ceniza y tierra	11 (2.69)	9.11	8.11-9.72	0.54
Cal	22 (5.38)	9.11	5.60-12.76	1.93
Otros	1 (0.24)	8.98	-	-
Cal y otros	1 (0.24)	8.53	-	-
Tierra y cal‡†	13 (3.18)	8.42	6.75-12.30	1.52
Ceniza, cal y aserrín	6 (1.47)	7.92	6.00-9.92	1.91
Tierra	3 (0.73)	7.83	6.79-8.74	0.98
Tierra, cal y aserrín	2 (0.49)	7.31	7.09-7.53	0.31
Cal y aserrín	28 (6.85)	7.04	5.55-9.96	1.08
Aserrín	2 (0.49)	5.95	5.90-6.00	0.07
Ceniza y otros	2 (0.49)	5.52	5.07-5.97	0.64

*Reporte de los miembros de la familia del uso de las opciones 1^{era} – 3^{era}

**Otras categorías de respuesta incluyen: gas propano, veneno, arena seca

‡Recomendado para letrinas solares

†Recomendado para letrinas LASF

Se realizó un análisis multivariado con regresión logística para determinar los factores asociados con un pH mayor o igual a 9 en los biosólidos. Las familias que utilizaron dos aditivos alcalinos mostraron una probabilidad mayor OR =4.8 (CI 2.76-8.12) y aquellas familias que utilizaron un aditivo alcalino tuvo una OR = 3.2(CI 1.88-5.59) con relación a obtener un pH mayor o igual a 9 en los biosólidos. Las otras covariantes mostradas en la (Tabla 9) no mostraron efecto significativo alguno.

Tabla 9: Análisis de regresión logística para pH 9 en muestras de biosólidos

Variable	Categoría	OR cruda (95% CI)	Valor p	OR ajustada† (95% CI)	Valor p
Categoría del aditivo	2 aditivos alcalinos	118/168 (70.24)	4.442 (2.611, 7.556)	4.754 (2.758, 8.193)	<0.0001
	1 aditivos alcalino	89/143 (62.24)	3.102 (1.815, 5.302)	3.240 (1.879, 5.589)	<0.0001
	Otro	34/98 (34.69)	referencia	-	-
Frecuencia del uso de aditivo	Después de cada uso	175/292 (59.93)	1.211 (0.728, 2.015)	1.269 (0.583, 2.766)	0.5482
	Una vez al día	24/41 (58.54)	1.143 (0.530, 2.464)	1.047 (0.445, 2.465)	0.9158
	Ocasionalmente	42/76 (55.26)	referencia	-	-
Cantidad de aditivo	>4 tazas	55/99 (55.56)	1.875 (0.620, 5.669)	1.841 (0.537, 6.318)	0.3318
	4 tazas	66/109 (60.55)	2.302 (0.765, 6.931)	2.444 (0.769, 7.773)	0.1300
	2 tazas	114/186 (61.29)	2.375 (0.811, 6.954)	2.189 (0.707, 6.778)	0.1742
	1 taza	6/15 (40.00)	referencia	-	-

† Ajustado para todas las otras variables en el modelo

VARIACION DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD EN LOS BIOSOLIDOS:

El promedio del contenido de humedad de las LASF fue mayor 40.86% con un rango de 1.82-98.32 comparado con el promedio de humedad en las letrinas solares 33.59% con un rango de 5.73 - 97.33. Los resultados del test de student para la diferencia de promedios mostraron que la humedad en las LASF fue estadísticamente mayor que en las letrinas solares. Esta diferencia puede ser aducida a varios factores relacionados con el diseño, uso y mantenimiento. Uno de los más importantes es la temperatura pico alcanzada en las letrinas solares la cual estaría facilitando la desecación de los biosólidos. En segundo lugar, el traslado de los biosólidos hacia la cámara solar, podría determinar una mayor aireación de éstos. Finalmente, el tiempo de almacenamiento sustancialmente diferente entre estos dos tipos de letrinas podría influir en los contenidos de humedad.

CAPITULO IV

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS Y DESTRUCCION MICROBIANA

Los parámetros físicos para las LASF y letrinas solares son comparados en la tabla 3. La diferencia más notable es el tiempo medio más corto de almacenamiento del biosólido en las letrinas solares, 26 días en la letrina solar, 306 días en la LASF, debido al diseño de cámara más pequeña de las letrinas solares. También, las letrinas solares fueron un tanto más secas y alcanzaron temperaturas pico más altas que las letrinas LASF.

Las medidas de las temperaturas de los biosólidos en las cámaras indicaron que un verdadero proceso de compostaje aeróbico no ocurría debido a que las temperaturas eran levemente más altas que la temperatura ambiental en vez de los 60 °C típicos de una reacción de compostaje termofílico. Se observó una diferencia en la temperatura de los biosólidos medida al medio día (temperatura pico) en comparación con las temperaturas medidas por la mañana. Esta diferencia fue especialmente notable en las letrinas solares donde la temperatura pico media de los biosólidos almacenados, era 7 grados más alta que la temperatura media de la mañana en los biosólidos.

Una gran variación de condiciones de pH fue medida en los biosólidos, reflejando la diferencia en el uso de materiales aditivos secantes de cal o ceniza de cada vivienda. Los aditivos de tierra tuvieron un pH medio de 8.8, los de ceniza fueron alrededor de 9.4, y el pH medio de cal fue 10.5. No hubo una relación clara entre el pH y tiempo de almacenamiento de los biosólidos (Gráfico 1). Algunas comunidades tendieron a utilizar ciertos aditivos con mayor frecuencia. El reporte de la adición de ceniza varió de 0 a 89%, y el uso de cal varió de 1 a 64% de acuerdo a la comunidad.

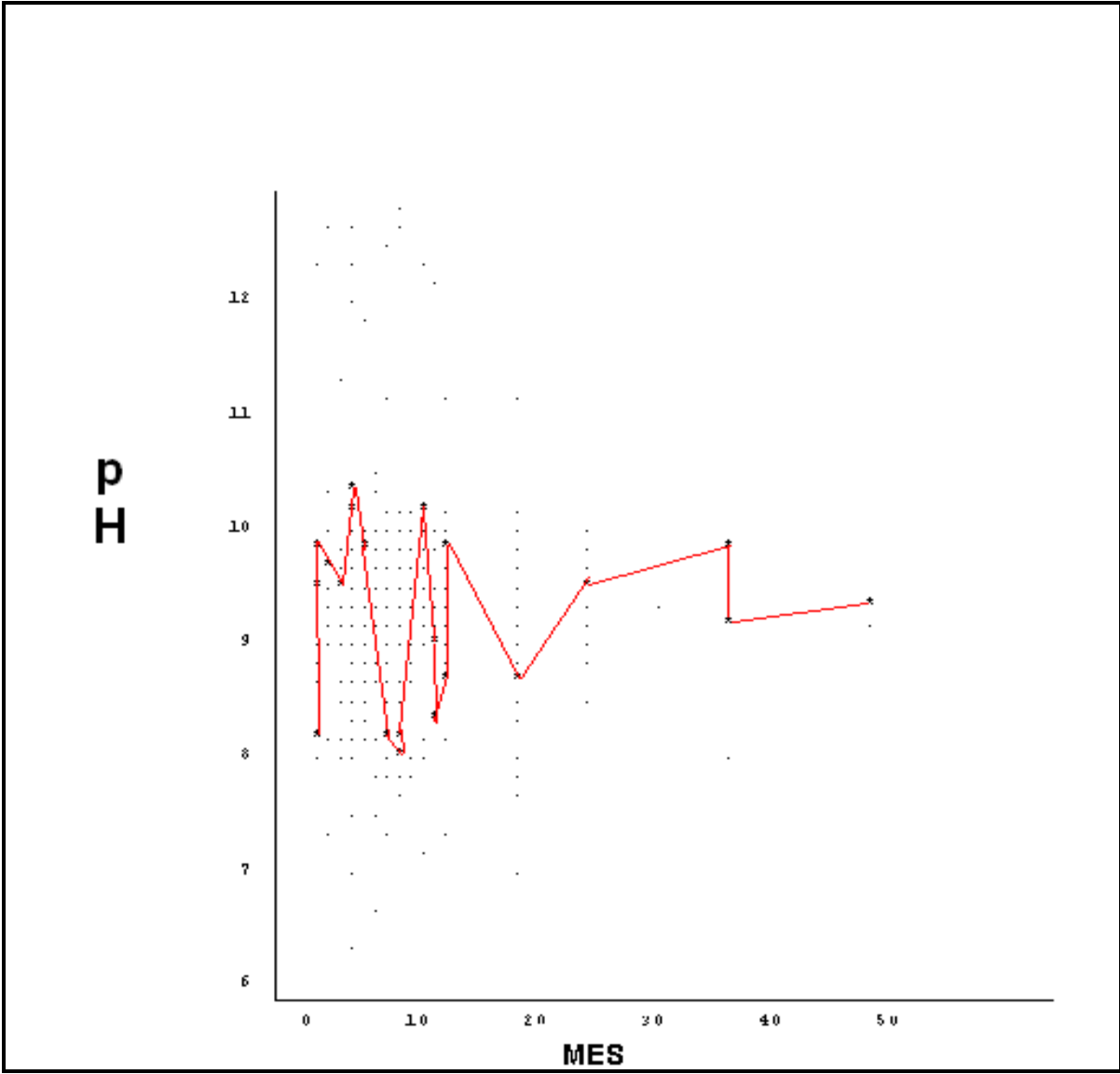


Gráfico 1: Variación del pH versus tiempo de almacenamiento

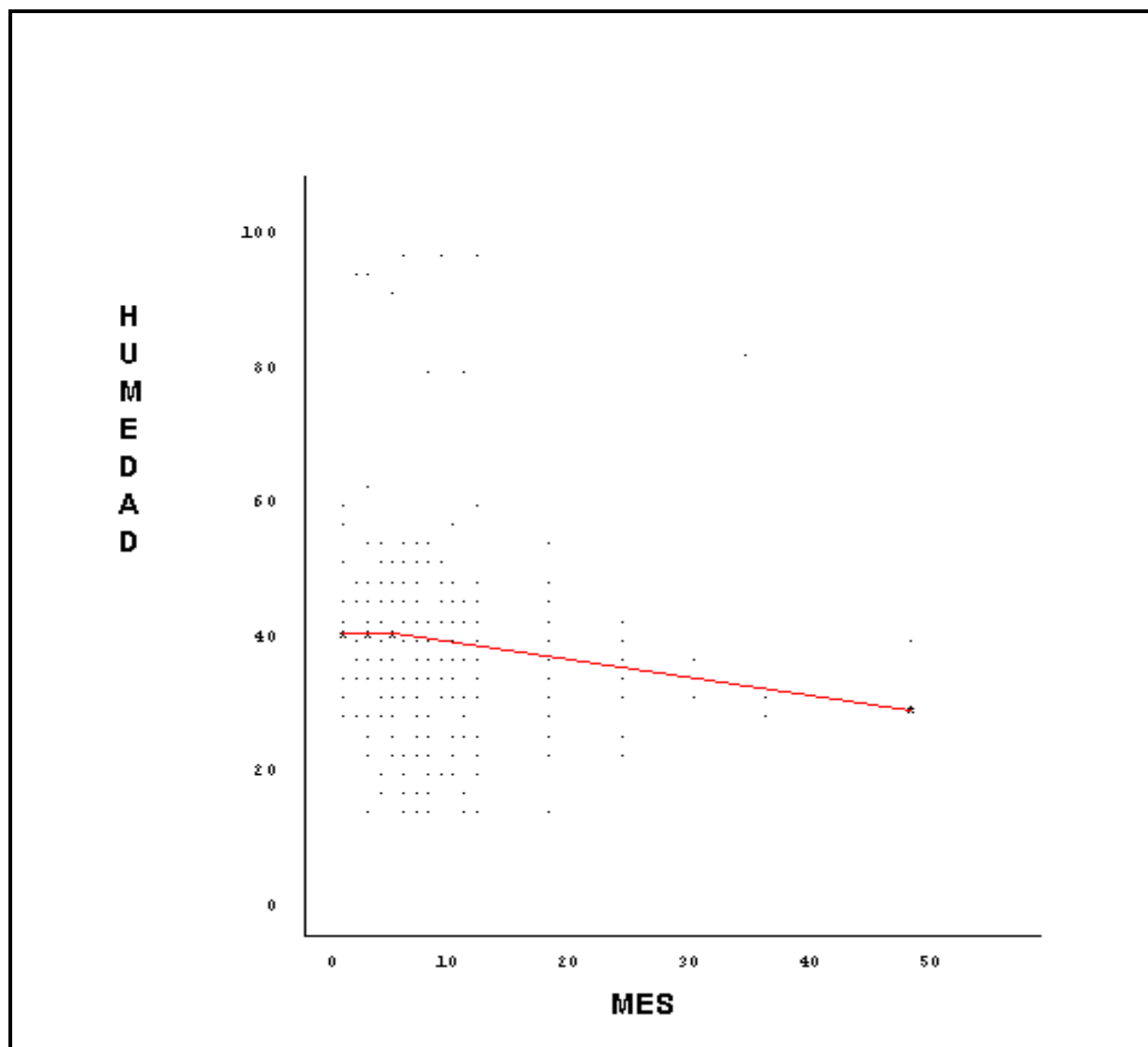


Gráfico 2: Variación del Porcentaje de Humedad versus tiempo de almacenamiento

El contenido de la humedad de los biosólidos estuvo inversamente relacionado al tiempo del almacenamiento (Gráfico 2). Las muestras de biosólidos que se habían almacenado por más de 12 meses tuvieron un promedio de humedad menor a 34% en comparación con un promedio de humedad de 40% detectado en muestras que se almacenaron por menos de 6 meses.

Tabla 10: Comparación de las características físico-químicas de las letrinas LASF y Solares

Parámetro	Letrinas LASF (N=117) Promedio (Min-Max)	Letrinas Solares (N=38) Promedio (Min-Max)
Tiempo de almacenamiento (días)	306 (80-720)	26 (0-90)
Humedad (%)	37 (15-96)	31 (3-77)
Temperatura (°C)	31 (22-36)	30 (23-37)
Temperatura pico (°C)	~1°C Mayor que la ambiental	37 (30-44)
pH	9.6 (6.2-13.0)	9.9 (7.1-12.9)

Además de las muestras de rutina recolectadas cada 3 meses, también fueron recolectadas muestras de biosólidos inmediatamente antes de que las cámaras fueran vaciadas, con la finalidad de conocer la seguridad microbiológica de los biosólidos. Los análisis de la calidad microbiológica de las muestras del producto final (tabla 11) de los biosólidos indicaron que las letrinas solares tuvieron menos probabilidad de producir biosólidos de Clase A de acuerdo a los estándares de la USEPA (<1000 coliformes fecales por gramo), comparadas con las letrinas LASF. Los resultados mostraron que un 55% de las letrinas solares alcanzaron estos estándares de seguridad en comparación con el 81% logrado en las LASF. Los biosólidos de las letrinas solares también tuvieron niveles más altos de *Clostridium perfringens* y colifagos. Sin embargo, ningún huevo viable de *Áscaris lumbricoides* se detectó en las 22 muestras de letrinas solares analizadas. Por otro lado, 20 de 49 letrinas LASF, equivalente al 41% de las muestras de biosólidos, reportaron la presencia de huevos de *Áscaris lumbricoides* viables.

Tabla 11: Concentraciones microbiológicas en los biosólidos de las letrinas LASF y Solares

Microorganismos	Letrinas LASF (N=117) No. Muestras post/Total (%)	Letrinas Solares (N=38) No. Muestras post /Total (%)
Coliformes fecales ≥1000 mpn/gm	21/108 (19)	17/38 (45)
<i>Clostridium perfringens</i> ≥1000 mpn/gm	60/108 (56)	25/38 (66)
Colifagos Somáticos ≥5 pfu/gm	15/108 (14)	12/38 (32)
<i>Áscaris lumbricoides</i> (≥1 ova/gm)	20/49 (41)	0/22
Viable	33/49 (67)	1/22 (5)
No viable		
<i>Trichuris trichiura</i> (≥1 ova/gm)	7/49 (14)	1/22 (5)
Viable	32/49 (65)	4/22 (18)
No viable		
<i>Uncinaria sp.</i> (≥1 ova/gm)		
Viable	0/49	0/22
No viable	0/49	2/22 (9)

Se utilizaron modelos de regresión múltiple para analizar los efectos del tiempo de almacenamiento, el contenido de humedad, temperatura y pH sobre las concentraciones de los indicadores microbiológicos y huevos viables de *Áscaris lumbricoides* (Tabla 12, Tabla 13). Tanto en las LASF como en las letrinas solares, el pH fue el factor más importante en la determinación de la inactivación de los indicadores bacterianos y colifagos. La desecación fue también un factor significativo en el control de la destrucción de bacterias y colifagos en las LASF, pero la magnitud del efecto fue menor. Para las letrinas solares, donde la temperatura pico puede alcanzar niveles tan altos como los 44°C, fue la temperatura el más fuerte indicador de la destrucción de huevos de *Áscaris*. En las letrinas LASF, el tiempo de almacenamiento también fue el factor más importante en cuanto a su efecto sobre la concentración de huevos de *Áscaris lumbricoides* viables.

Tabla 12: Análisis de Regresión Múltiple de la inactivación microbiana en 107 letrinas LASF

Microorganismos	Time almacenaje ¹	Humedad ²	Temperatura ³	pH ⁴
<i>Coliformes fecales</i> (Log NMP/g)	-0.03 (p=0.04)	-0.01 (p=0.007)	-0.06 (p=0.10)	-0.43 (p<0.0001)
<i>Clostridium perfringens</i> (Log NMP/g)	-0.09 (p<0.0001)	-0.05 (p<0.0001)	-0.08 (p=0.07)	-1.05 (p<0.0001)
Colifago Somático (Log UFC)	-0.05 (p<0.001)	-0.02 (p<0.001)	-0.07 (p=0.023)	-0.20 (p=0.005)
<i>Áscaris lumbricoides</i> (huevos viables/g)	-0.72 (p=0.001)	-1.33 (p=0.57)	-6.95 (p=0.61)	11.61 (p=0.73)

¹ Estimación del parámetro y valor de p para el efecto de un mes de almacenaje

² Estimación del parámetro y valor de p para el efecto de 10% de disminución en el porcentaje de humedad

³ Estimación del parámetro y valor de p para el efecto de 1°C de incremento en la temperatura

⁴ Estimación del Parámetro y valor de p para el efecto del incremento de una unidad de pH

Tabla 13: Análisis de regresión múltiple de la inactivación microbiológica en 38 letrinas solares

Microorganismo	Tiempo de almacenaje ¹	Humedad ²	Temperatura ³	pH ⁴
<i>Coliformes fecales</i> (Log NMP/g)	-0.19 (p=0.08)	-0.019 (p=0.11)	-0.12 (p=0.007)	-0.91 (p<0.0001)
<i>Clostridium perfringens</i> (Log NMP/g)	-0.03 (p=0.72)	-0.03 (p=0.03)	-0.10 (p=0.03)	-1.02 (p<0.0001)
Colifagos somáticos (Log UFC)	-0.08 (p=0.33)	-0.02 (p=0.02)	-0.06 (p=0.05)	-0.47 (p<0.0001)
<i>Áscaris lumbricoides</i> ⁵ (huevos viables /g)	-0.036 (p=0.01)	-2.25 (p=0.10)	-19.80 (p=0.0008)	-1.19 (p=0.95)

¹ Estimación del Parámetro y valor de p para el efecto de un mes de almacenaje

² Estimación del Parámetro y valor de p para el efecto de 10% de disminución en el porcentaje de humedad

³ Estimación del Parámetro y valor de p para el efecto de 1°C de incremento en la temperatura

⁴ Estimación del Parámetro y valor de p para el efecto del incremento de una unidad de pH

⁵ Para los resultados de *Áscaris lumbricoides* tanto LASF como solares (N=71) fueron incluidas en este modelo de regresión para lograr la convergencia del modelo.

Se utilizaron técnicas de análisis de sobrevivencia para examinar el efecto de cada parámetro físico en la inactivación microbiológica de acuerdo al tiempo de almacenamiento del material en las letrinas LASF y solares. Las curvas de sobrevivencia indican que la inactivación más rápida de coliformes fecales (Gráficos 3a y 3b) *Clostridium perfringens* (Gráficos 4a y 4b), colifagos somáticos (Gráficos 5a y 5b) y *Ascaris lumbricoides* (Gráficos 6a y 6b) ocurrió cuando el pH fue mayor de 11 y la temperatura pico fue mayor a 36°C.

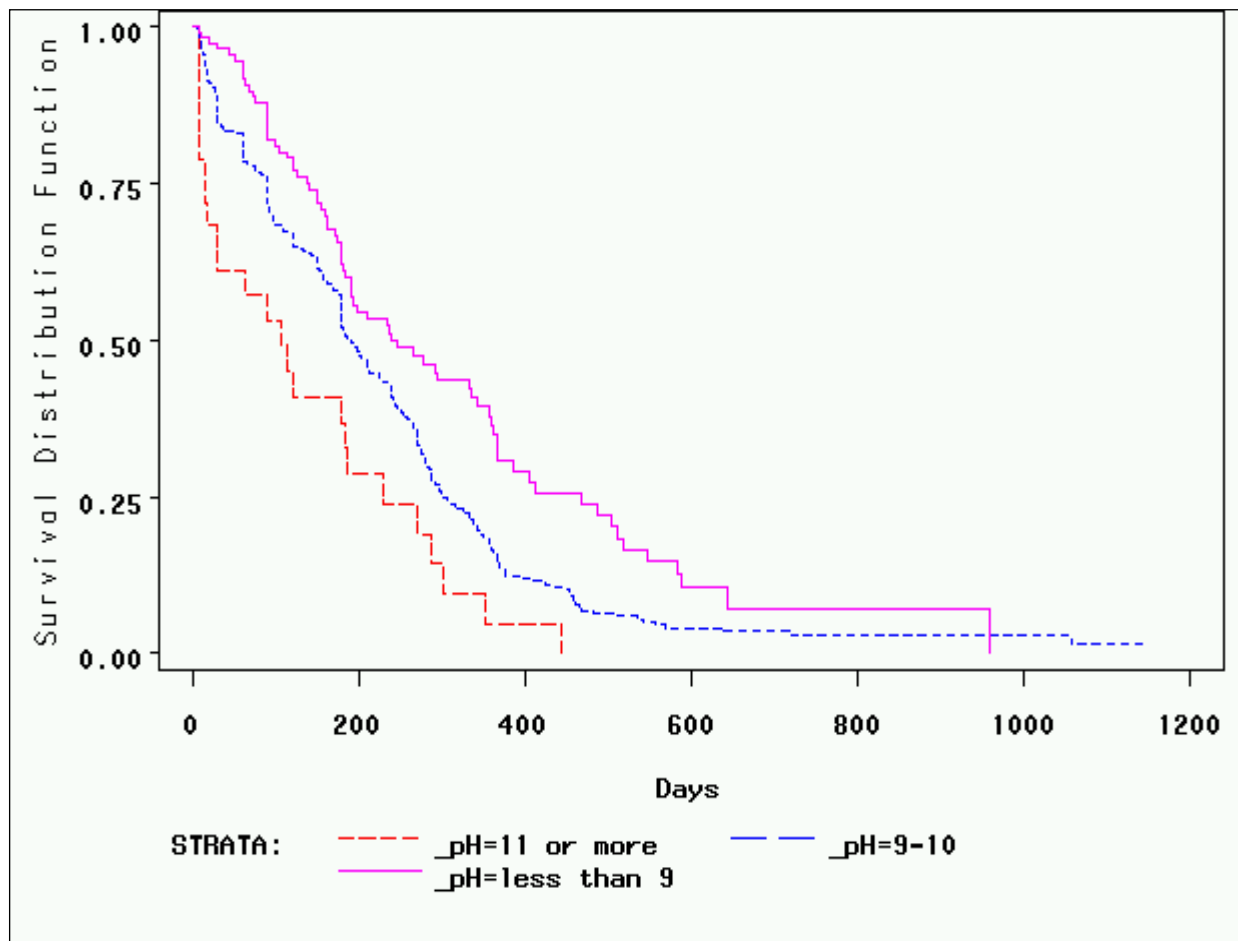


Gráfico 3a: Efecto del pH sobre la inactivación de coliformes fecales según tiempo de almacenamiento

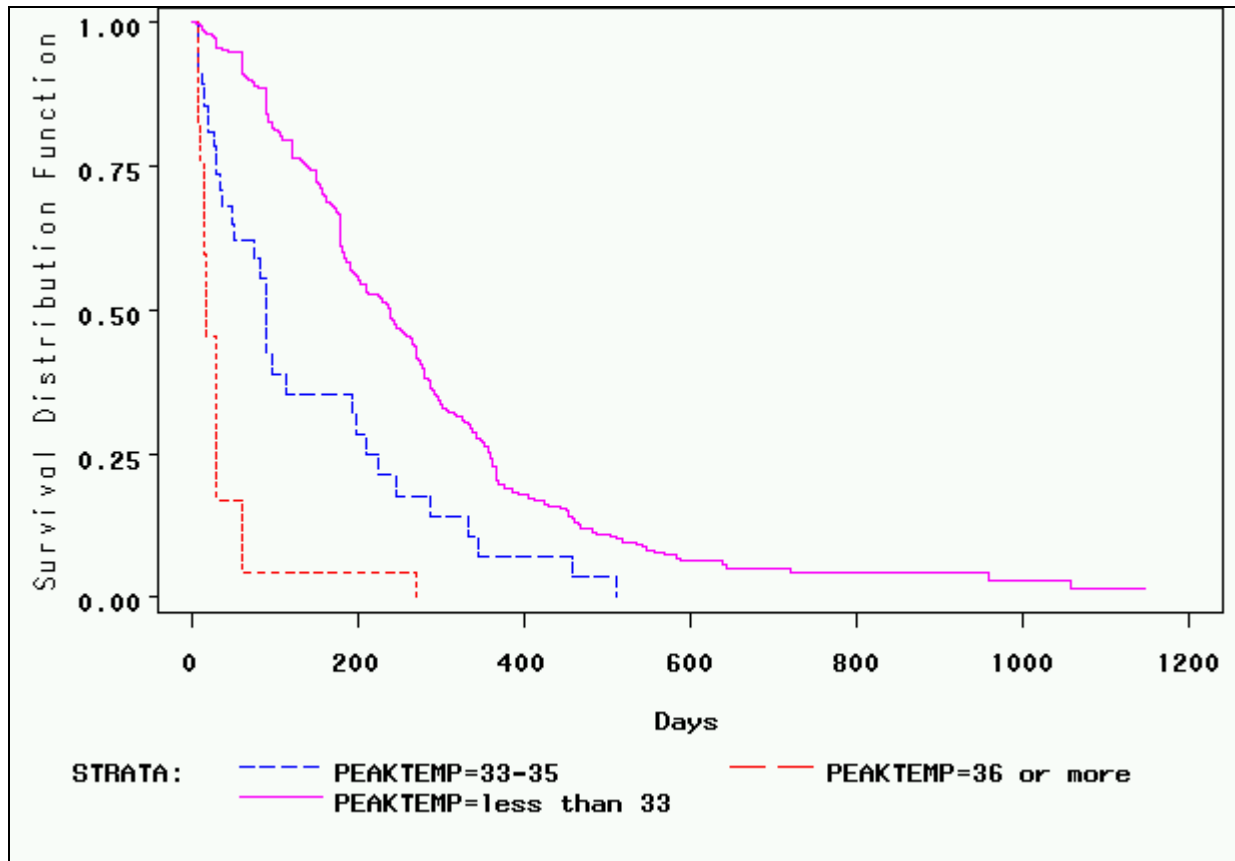


Gráfico 3b: Efecto de la temperatura pico sobre la inactivación de coliformes fecales según tiempo de almacenamiento

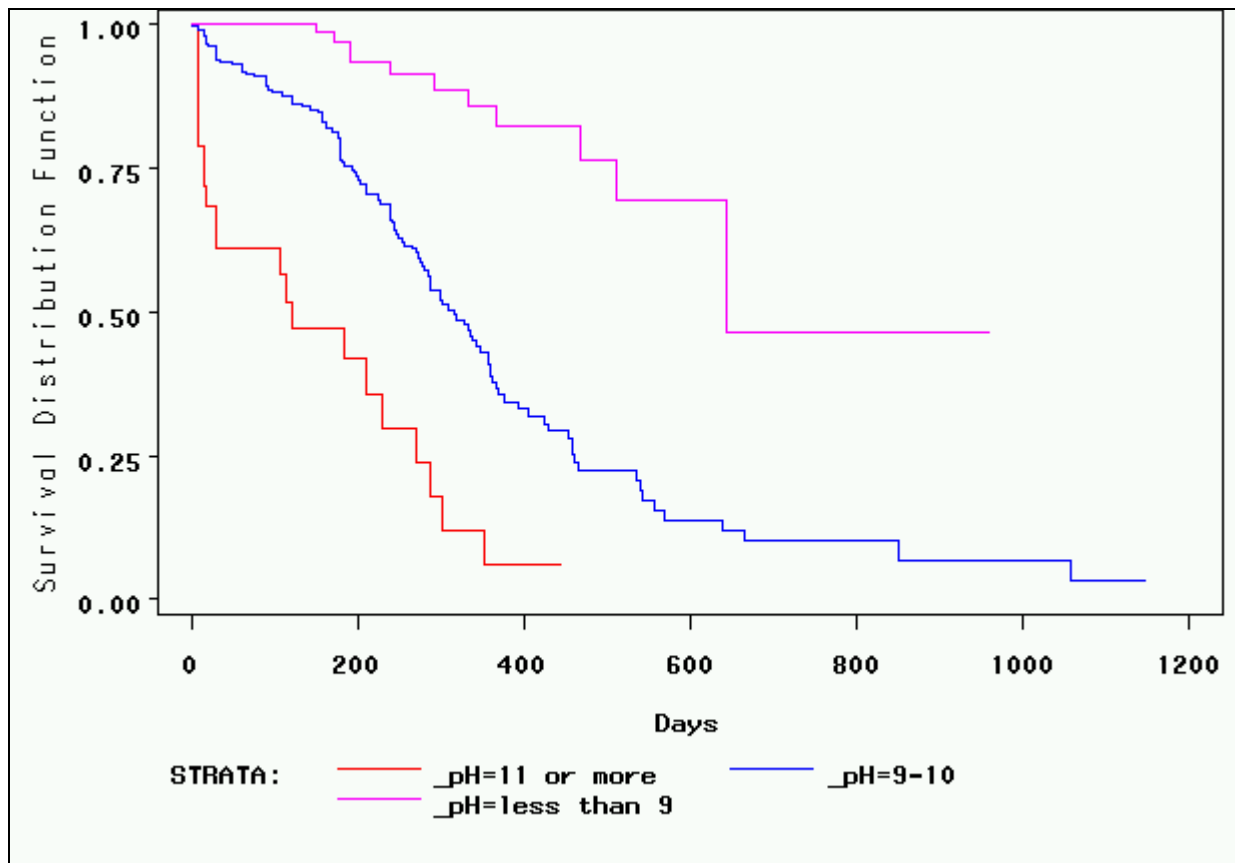


Gráfico 4a: Efecto del pH sobre la inactivación de *Clostridium perfringens* según tiempo de almacenamiento

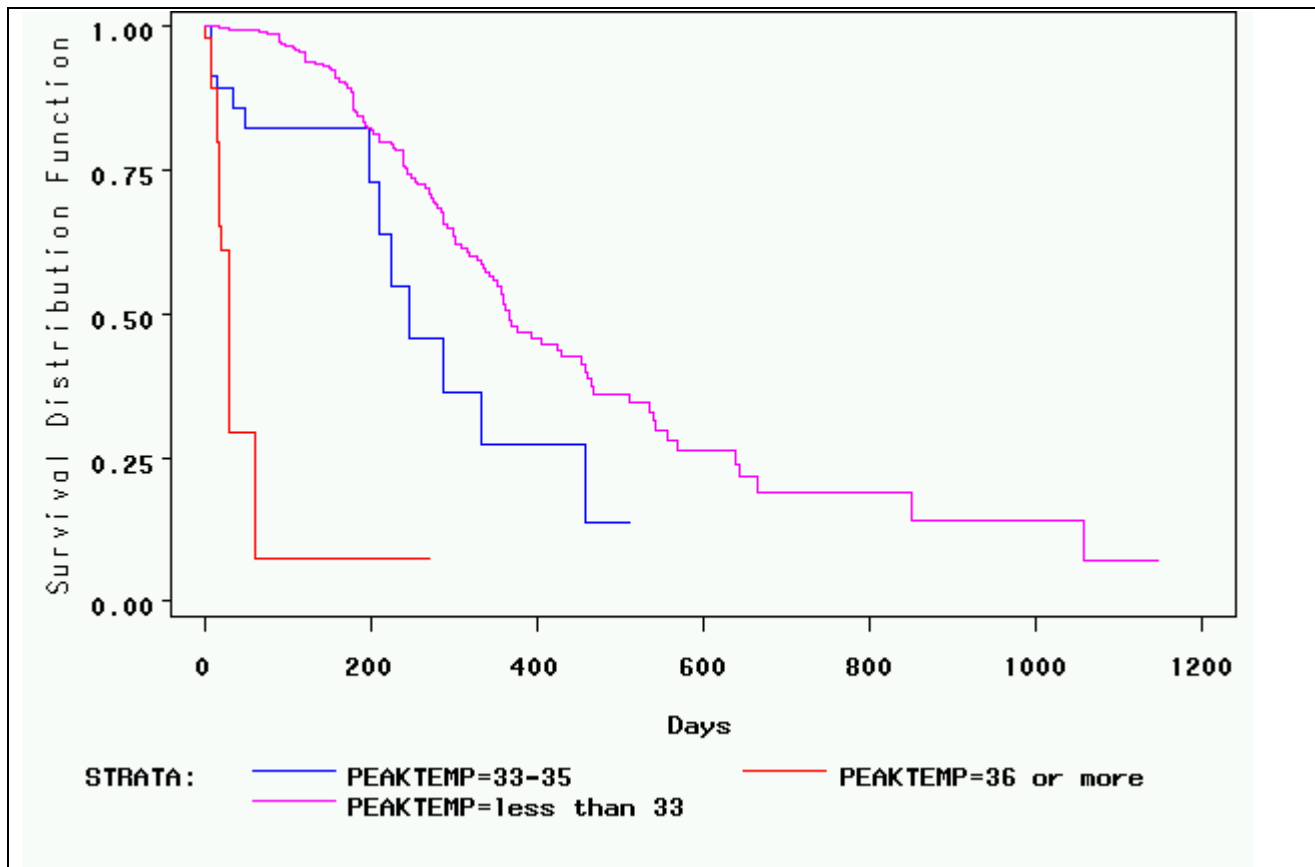


Gráfico 4b: Efecto de la temperatura pico sobre la inactivación de *Clostridium perfringens* según tiempo de almacenamiento

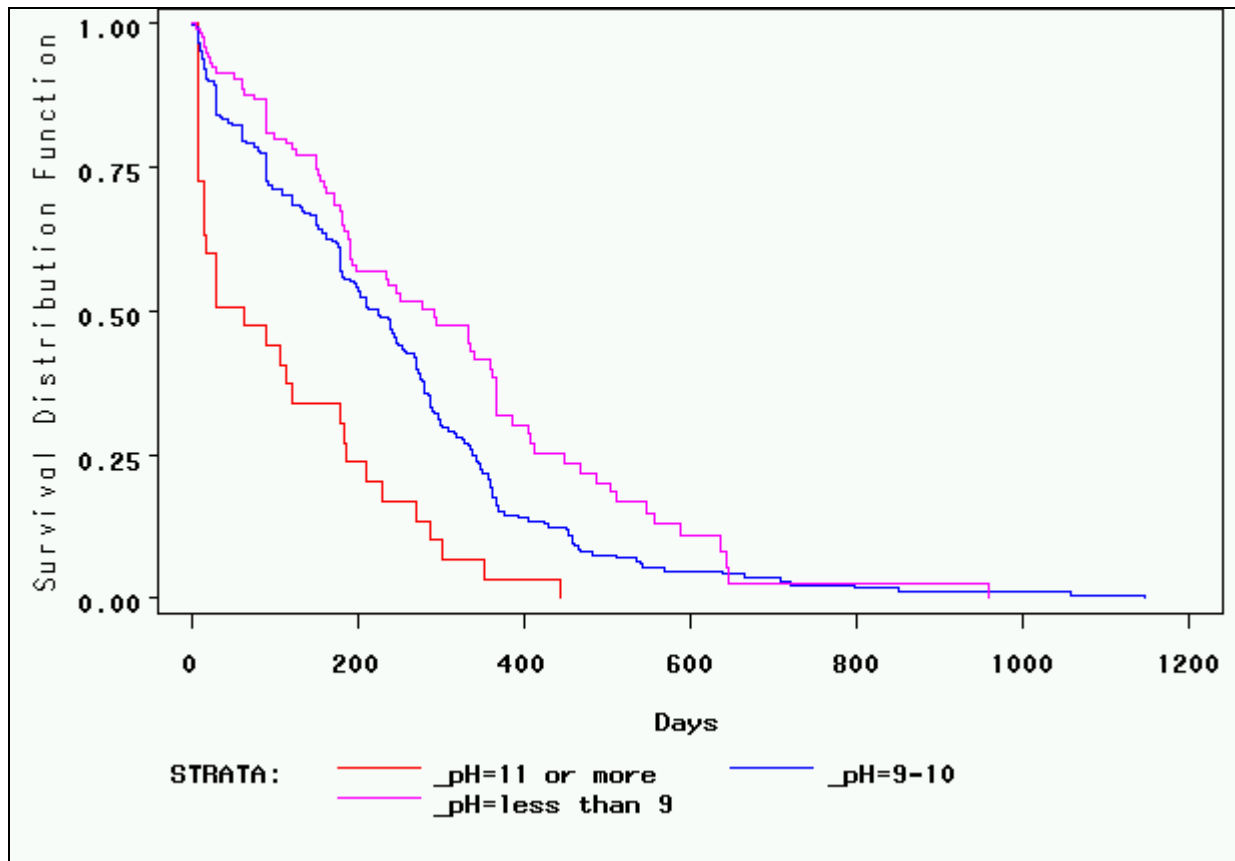


Gráfico 5a: Efecto del pH sobre la inactivación de Colifagos somáticos según tiempo de almacenamiento

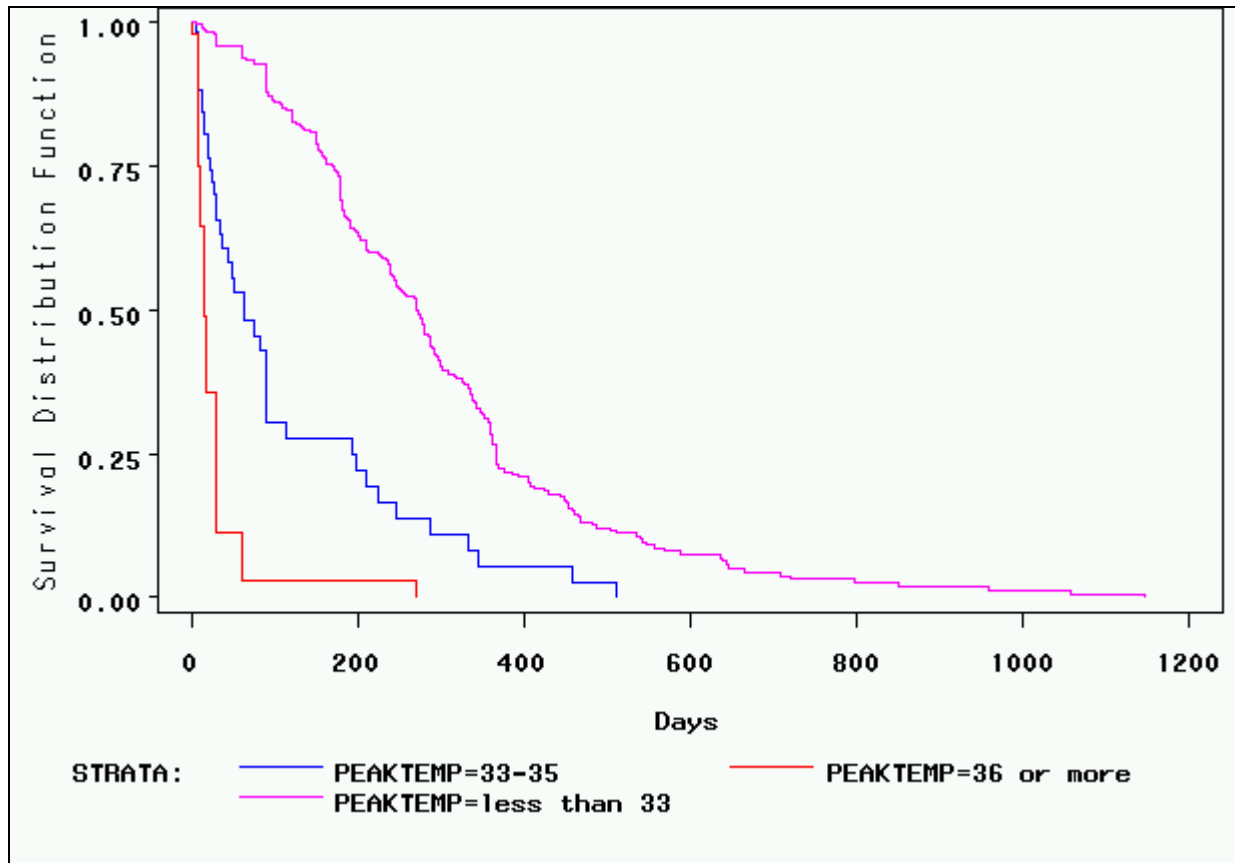


Gráfico 5b: Efecto de la temperatura pico sobre la inactivación de Colifagos somáticos según tiempo de almacenamiento

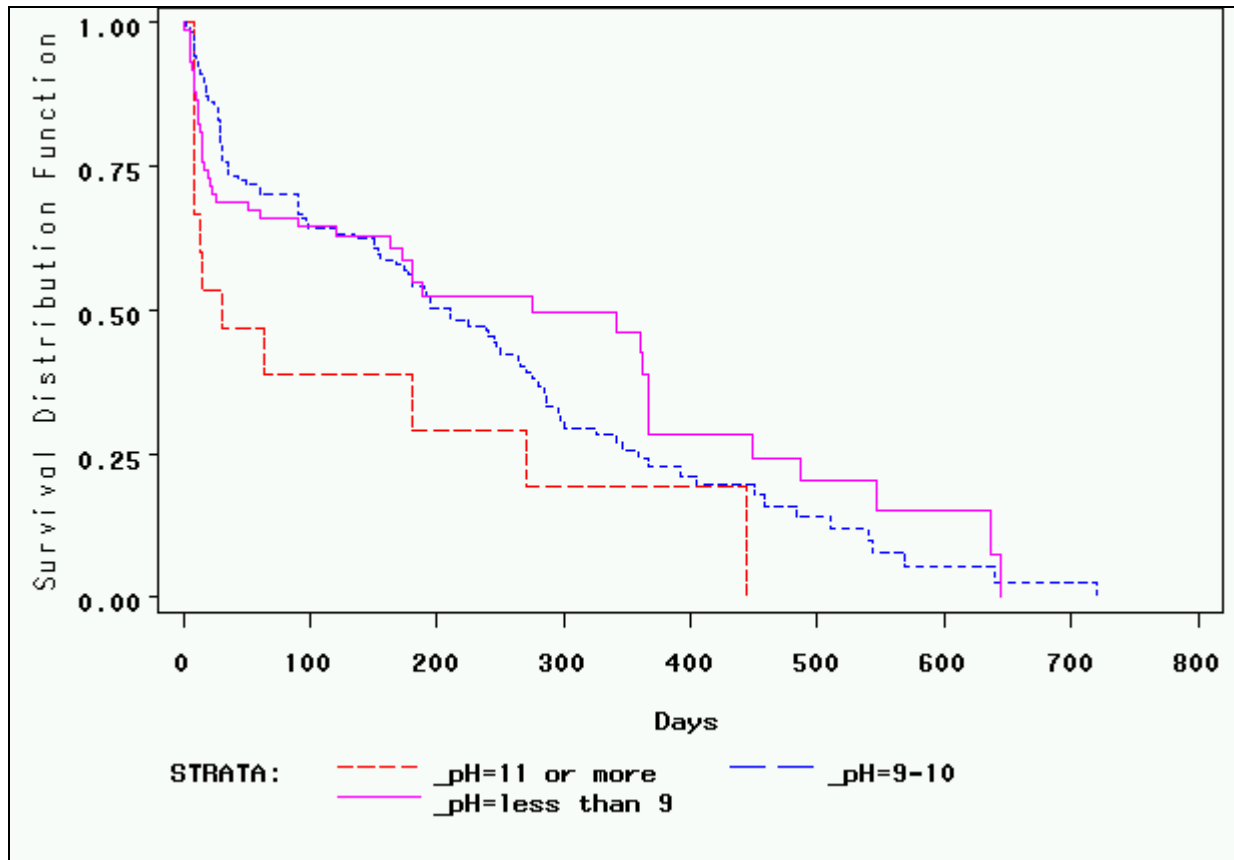


Gráfico 6a: Efecto del pH sobre la inactivación de *Áscaris lumbricoides* según tiempo de almacenamiento

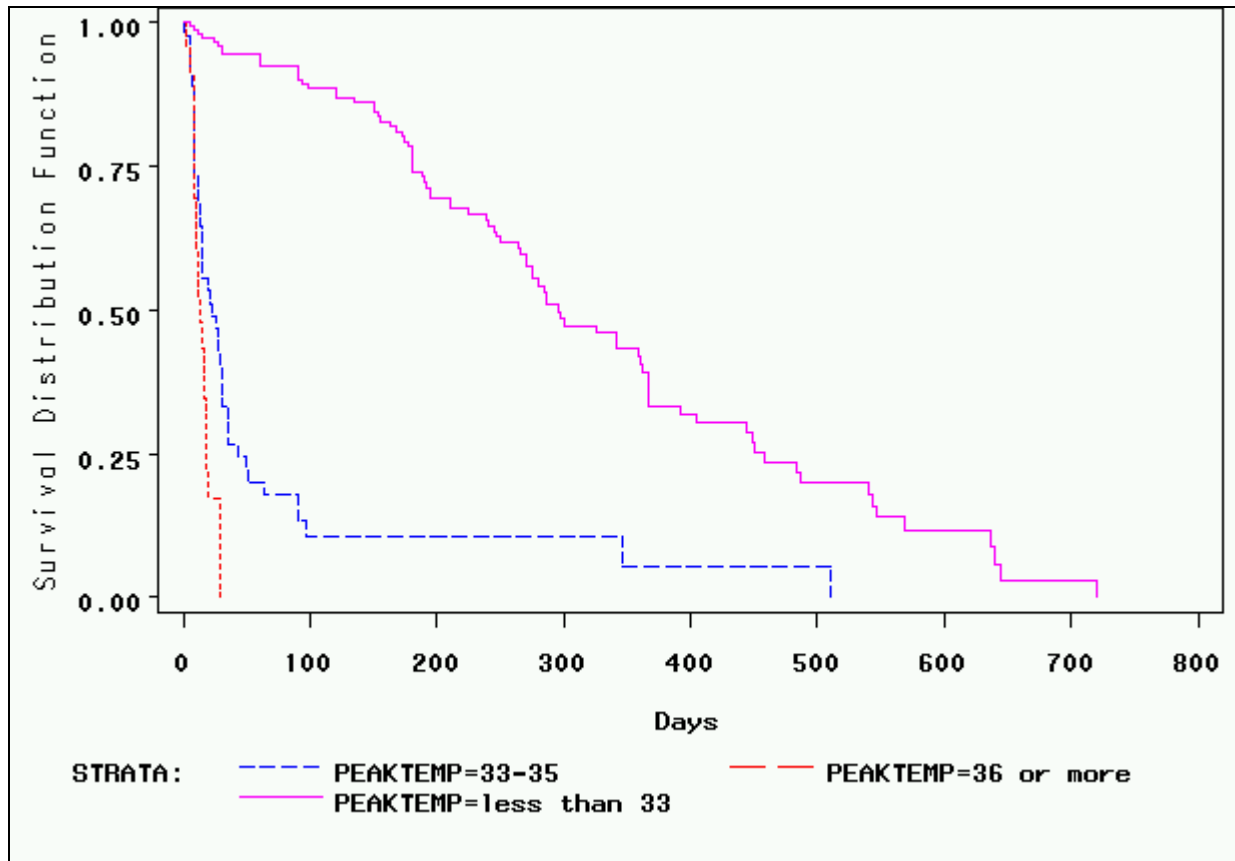


Gráfico 6b: Efecto de la temperatura pico sobre la inactivación de *Áscaris lumbricoides* por tiempo de almacenamiento

CAPITULO V

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

El propósito de este estudio fue conocer más acerca de los factores que determinan la destrucción de organismos bacterianos e índices víricos, así como Áscaris lumbricoides en los biosólidos a lo largo del tiempo, mediante mediciones repetidas en 156 casas con letrinas LASF y solares en El Salvador.

Las letrinas LASF generalmente fueron efectivas en producir biosólidos (81% de las muestras de producto final) que cumplieron los estándares de la USEPA en cuanto al contenido de coliformes fecales para biosólidos de clase A (<1000 coliformes fecales/g), los mismos que son considerados seguros para uso agrícola (USEPA, 1994). El tiempo prolongado de almacenamiento en las letrinas LASF con un promedio de 306 días podría ser el factor primario que contribuye a la inactivación bacteriana. Solo el 59% de las muestras de letrinas LASF cumplieron el estándar de Áscaris lumbricoides para los biosólidos de clase A equivalente a menos de 1 huevo por cada 4 gramos. Los resultados del análisis de regresión múltiple y de sobrevivencia indicaron que el parámetro crítico para la inactivación de indicadores bacterianos y colifagos fue el pH. Y para Áscaris lumbricoides los factores más críticos fueron la temperatura y pH altos. En las letrinas LASF, se observó un amplio rango de pH (6.2 – 13.0), pero la temperatura pico fue usualmente sólo 1 grado mayor que la temperatura ambiente (promedio 31°C) y por lo tanto no es posible que haya tenido impacto alguno en la inactivación de Áscaris lumbricoides. Carlander y Westrell, en su estudio de siete semanas en letrinas LASF de Vietnam (1999), también concluyeron que el pH alto (pH>10) era por sí solo el único factor importante en la inactivación de bacteriófagos en los biosólidos y que el pH y la temperatura alta eran importantes para la rápida inactivación de Áscaris lumbricoides. En 12 LASF (6 con colectores solares) que ellos estudiaron, la temperatura obtenida en los biosólidos estuvo en un rango de 28.3 a 40.1°C, el pH de 8.1 a 10.9 y el porcentaje de humedad de 21% a 45%. Sin embargo, Carlander y Westrell reportaron una inactivación sorprendentemente rápida de los huevos de Áscaris lumbricoides sembrados de la pila de los biosólidos con un 80% de reducción en la viabilidad comparado con los huevos control después de 2 semanas de almacenamiento, y un 95-100% de reducción después de 9 semanas.

En el presente estudio no se detectaron Áscaris lumbricoides viables en las muestras de biosólidos de las letrinas solares en las que la temperatura media pico fue 37°C y a veces tan alto como 44°C. Estas letrinas tuvieron también un pH medio levemente más alto que las letrinas LASF lo que pudo haber promovido la inactivación de los huevos de Áscaris. Sin embargo, el producto final de las letrinas solares tuvo más probabilidad de tener concentraciones altas de coliformes fecales, Clostridium perfringens y colifagos comparados con las letrinas LASF. Sólo el 55% de las muestras de las letrinas solares

cumplió el estándar de coliformes fecales para los biosólidos de Clase A. Sin embargo, esto es mejor que el desempeño de 90 letrinas composteras solares de una sola cámara descritas por Redlinger et al (Redlinger et al 2001), en las que sólo 36% de las muestras cumplió estándares para biosólidos de Clase A después de 6 meses. El tiempo de almacenamiento corto, en promedio 26 días, fue un problema con las letrinas solares y puede explicar en parte por qué los niveles bacterianos y de colifagos fueron altos en algunas de las muestras.

Los diseños de las letrinas solares han estado evolucionando en El Salvador. Se examinaron tres diseños diferentes pertenecientes a tres comunidades diferentes. El primer diseño tiene una sola cámara grande, y los excrementos frescos se mezclan con los biosólidos almacenados. Además, el “colector solar” (una cubierta de metal pintada de negro) usualmente no estuvo orientado hacia el sol o estaba bajo la sombra de árboles y arbustos. Este diseño no alcanzó una temperatura pico alta reportando tan sólo un promedio de 33°C. Por otro lado, esta comunidad agregó una cantidad adecuada de cal a sus letrinas lo que hizo que el pH promedio fuera muy alto (10.4). En el segundo diseño solar, la cámara tuvo una división entre los biosólidos frescos y almacenados, pero generalmente el tamaño de la cámara fue más pequeño y tuvo que ser vaciada aproximadamente cada 15 días. La temperatura pico media fue baja (34°C) debido a que muchos paneles solares no estuvieron expuestos totalmente a la luz solar, y el pH medio fue bajo, (8.2) debido a que esta comunidad utilizó principalmente tierra y poca ceniza como material secante. El tercer y último diseño de letrina solar tuvo una cámara dividida más grande que separa los contenidos dentro de la cámara y además permitió un tiempo más prolongado de almacenamiento para los biosólidos el mismo que fue de aproximadamente 31 días. La mayor parte de los colectores solares en esta comunidad tuvieron una orientación adecuada, (hacia el sur), lo que resultó en una temperatura media pico de 42°C. Esta comunidad también agregó una cantidad adecuada de cal a su letrina y el pH promedio fue 10.3. Los biosólidos de este último diseño de letrina solar constantemente reportaron niveles bacterianos y de colifagos más bajos que en los otros dos diseños, y el 75% de estas muestras cumplieron el estándar de coliformes fecales para los biosólidos de Clase A. En Redlinger et al. (2001), también se enfatizó la importancia de la exposición solar en las letrinas solares de cámara única en México: Se reportó que el 95% de muestras de biosólidos que cumplieron los estándares para biosólidos de Clase A fueron de letrinas con buena exposición solar.

REFERENCIAS

- Carlander, A and T Westrell. A microbiological and sociological evaluation of urine-diverting double-vault latrines in Cam Duc, Vietnam. Minor Field Studies No. 91, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, December 1999.
- CREA International: "Evaluation of the use and maintenance of latrines built by the Creative Associates International (CREA International) Project in El Salvador". May 31, 1996
- Moe, CL, R Izurieta, MD Sobsey, LF Cohen and SA Esrey. Microbiological studies of ecological sanitation in El Salvador. First International Conference on Ecological Sanitation, November 2001, Nanning, China.
- National Research Council. Biosolids Applied to Land: Advancing Standards and Practices. The National Academies Press, Washington, D.C., 2003
- Redlinger, T, J Graham, V Corella-Barud and R Avitia. Survival of fecal coliforms in dry-composting toilets. Appl Environ Micro 2001 67(9):4036-4040.
- United States Environmental Protection Agency. A plain English guide to the EPA part 503 biosolids rule. Office of Wastewater Management, US Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1994.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El diseño longitudinal de este estudio permitió tomar durante un año mediciones repetidas de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de biosólidos en un gran número de letrinas ecosanitarias con diseños, patrones de uso y mantenimiento diferentes. En este clima húmedo, la temperatura pico y el pH fueron los factores más importantes que afectaron la calidad microbiológica de los biosólidos tanto en las letrinas LASF como en las letrinas solares. Los materiales secantes que se usaron para elevar los niveles de pH en las letrinas ecosanitarias deben ser intensamente promovidos. El presente estudio examinó tres diseños de letrinas solares diferentes encontrando que el prototipo más reciente, prototipo III, con buena exposición solar, una cámara dividida y tiempo más largo de almacenamiento produjo los biosólidos de mejor calidad. La innovación y mejora de los diseños de letrinas ecosanitarias, así como mejores patrones de uso y mantenimiento proporcionan un producto más seguro de biosólidos para el uso agrícola. Los riesgos de aplicar biosólidos al suelo, han sido revisados recientemente por el Concilio Nacional de Investigación (NRC, 2003). Sin embargo, se necesitan estudios adicionales sobre cómo promover una inactivación más rápida y completa de los microbios bajo condiciones que se podrían lograr y mantener en letrinas LASF y solares en áreas climáticas diferentes.

Basados en los resultados de los análisis microbiológicos y estadísticos los autores de este informe realizan las siguientes **RECOMENDACIONES** en cuanto al diseño, implementación y ejecución de los programas de ecosaneamiento en El Salvador:

1. Promover la construcción de letrinas solares prototipo III (Punta Remedios) y asegurar que la cámara solar posea suficiente capacidad de almacenaje y el panel solar tenga mayor exposición al sol.
2. El tiempo mínimo de almacenaje para las letrinas LASF deberá ser de un año y 8 semanas para las letrinas solares operadas bajo normas estándar.
3. Promover el uso de cal y ceniza o una mezcla de los mismos como aditivos. Los aditivos deberán ser adicionados cada vez que se use la letrina, así mismo no deberán usarse aserrín debido a su bajo pH.
4. La instalación de tubos de aireación en las cámaras ayudaría en la desecación del contenido de las letrinas.

5. Los biosólidos producto de las letrinas deben ser usados con cuidado en labores agrícolas con la finalidad de prevenir posibles contaminaciones. Así por ejemplo no debería usarse como abono para la producción de vegetales o frutas que se consumen crudos, especialmente los productos de plantas rastreras.
6. Los asientos de las letrinas deberían ser adaptadas con una tapadera doble para que proporcionen comodidad y seguridad especialmente a los niños que se inician en el uso de las letrinas.
7. Los programas de educación escolar deberían incluir en su currícula la educación a los niños en el uso de las letrinas y la importancia de éstas en la preservación de nuestro medio ambiente.
8. La capacitación en el uso de las letrinas debería ser un proceso continuo y los programas de construcción de letrinas ecológicas deberían ejecutarse conjuntamente con un paquete de educación continua.
9. Facilitar a las familias que usan letrinas ecosanitarias el acceso o la obtención de aditivos alcalinos tales como cal o ceniza.
10. Ajustar la capacidad de las cámaras de acuerdo al tamaño de la familia e incluso construir una cámara adicional en el caso de familias extensas que usan LASF.

RECOMENDACIONES SOBRE LETRINAS SECAS DADAS POR LA GERENCIA DE SALUD AMBIENTAL DEL MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL

LETRINA ABONERA SECA FAMILIAR

Uso y Mantenimiento

1. Como material secante y alcalinizante se recomienda el uso exclusivo de cal, ceniza o una combinación de ambas en proporciones iguales, tomando en consideración que estos materiales deben conservarse libres de humedad y contaminantes; la medida a utilizar será de media libra cada vez que se use la letrina
2. El material contenido dentro de la cámara debe revolverse cada 7 días con un instrumento de madera que permita realizar esta labor y que sólo se utilice para este fin.

Investigación

3. Promover la Investigación para realizar adaptaciones o innovaciones a letrinas aboneras en su diseño actual con el objeto de aumentar el tiempo de almacenamiento a un mínimo de un año sin destruir la infraestructura ya construida.

LETRINAS ABONERAS SECA FAMILIAR Y SOLARES

Construcción

1. Aumentar el alero del techo (traslapar dos láminas) en aquellas letrinas que escasamente tienen cubierta la caseta.
2. Promover el uso de materiales de construcción de buena calidad y buscar materiales más durables y livianos para aumentar la vida útil de la letrina.

Uso y mantenimiento

3. El papel de descarte de la limpieza anal no debe colocarse dentro de la cámara sino en un recipiente tapado para su posterior disposición final (al servicio de aseo municipal o enterrarlo).

Investigación

4. Promover la Investigación de letrinas secas que permitan mayor tiempo de almacenamiento de las heces.

5. Promover la investigación de letrinas secas que alcancen mayor temperatura en la cámara lo cual contribuya a un aumento de la desecación a fin de no utilizar materiales desecantes (cal, ceniza), ya que su uso no es sostenible.

LETRINAS SOLARES DE DOS CAMARAS

Construcción

1. Actualmente se encuentra en estudio la efectividad de aumentar la cámara solar a 3 compartimientos. En tal caso el ancho de la cámara solar será de 1.20m por un largo de 1.80m. Las divisiones dentro de la cámara tendrán un largo de 0.60m a partir del rostro de la pared.
2. Ampliar el ancho de la plancha de cemento en 0.10m para proporcionar mayor comodidad dentro de la caseta.
3. Las letrinas solares de una sola cámara se consideran obsoletas debido a la mezcla de heces recientes con las más antiguas por lo que no se recomienda su construcción.
4. El tubo de ventilación se encuentra en proceso de investigación para evaluar la efectividad en la desecación de las heces.

Uso y mantenimiento

1. Cada 7 días debe trasladarse el material fecal al compartimiento en uso de la cámara solar hasta completar la capacidad del compartimiento con el material procedente de por lo menos 3 semanas. Una vez que se tenga el material en el compartimiento de la cámara solar este debe ser homogenizado revolviendo las heces con un instrumento de madera que permita realizar esta labor y que sólo se utilice para este fin. Este procedimiento debe seguirse con cada uno de los compartimientos de la cámara solar.

Consideraciones finales

Estas recomendaciones han surgido a partir de las experiencias e investigaciones realizadas hasta este momento por la Gerencia de Salud Ambiental del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, cabe mencionar que actualmente se está llevando a cabo un estudio en la Comunidad de Los Ángeles cantón el Majahual del departamento de la Libertad, donde se está evaluando la efectividad de un nuevo diseño, la Letrina Solar Prototipo IV, con la incorporación de las recomendaciones descritas en el estudio elaborado por La Universidad de Emory en coordinación con el MSPAS colaboración de UNICEF y OPS. Se espera continuar con estas investigaciones, razón por la cual pudieran surgir nuevos conceptos sobre la construcción, uso y mantenimiento de letrinas de este tipo.

ANEXOS

Gráfico 3a: Prueba de homogeneidad de las Curvas de Supervivencia para el efecto del pH sobre la inactivación de coliformes fecales según tiempo de almacenamiento

The LIFETEST Procedure

Testing Homogeneity of Survival Curves for Days over Strata

Rank Statistics

_pH	Log-Rank	Wilcoxon
11 or more	12.807	4166.0
9-10	18.871	3214.0
less than 9	-31.678	-7380.0

Covariance Matrix for the Log-Rank Statistics

_pH	11 or more	9-10	less than 9
11 or more	12.3927	-8.5462	-3.8465
9-10	-8.5462	76.8437	-68.2975
less than 9	-3.8465	-68.2975	72.1440

Covariance Matrix for the Wilcoxon Statistics

_pH	11 or more	9-10	less than 9
11 or more	980490	-682448	-298042
9-10	-682448	4644966	-3962518
less than 9	-298042	-3962518	4260560

Test of Equality over Strata

Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	24.0512	2	<.0001
Wilcoxon	26.6642	2	<.0001
-2Log(LR)	18.7955	2	<.0001

Gráfico 3b: Prueba de homogeneidad de las Curvas de Supervivencia para el efecto de la temperatura pico sobre la inactivación de coliformes fecales según tiempo de almacenamiento

The LIFETEST Procedure

Testing Homogeneity of Survival Curves for Days over Strata

Rank Statistics

PEAKTEMP	Log-Rank	Wilcoxon
33-35	16.446	5240
36 or more	30.326	11670
less than 33	-46.773	-16910

Covariance Matrix for the Log-Rank Statistics

PEAKTEMP	33-35	36 or more	less than 33
33-35	17.0302	-0.4577	-16.5725
36 or more	-0.4577	4.3285	-3.8708
less than 33	-16.5725	-3.8708	20.4432

Covariance Matrix for the Wilcoxon Statistics

PEAKTEMP	33-35	36 or more	less than 33
33-35	1426829	-72791	-1354039
36 or more	-72791	617813	-545022
less than 33	-1354039	-545022	1899061

Test of Equality over Strata

Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	235.2168	2	<.0001
Wilcoxon	251.2903	2	<.0001
-2Log(LR)	97.3384	2	<.0001

Gráfico 4a: Prueba de homogeneidad de las Curvas de Supervivencia para el efecto del pH sobre la inactivación de *Clostridium perfringens* según tiempo de almacenamiento

Testing Homogeneity of Survival Curves for Days over Strata

Rank Statistics

_pH	Log-Rank	Wilcoxon
11 or more	16.337	5287.0
9-10	21.155	2384.0
less than 9	-37.492	-7671.0

Covariance Matrix for the Log-Rank Statistics

_pH	11 or more	9-10	less than 9
11 or more	5.3774	-3.7107	-1.6667
9-10	-3.7107	34.8056	-31.0949
less than 9	-1.6667	-31.0949	32.7615

Covariance Matrix for the Wilcoxon Statistics

_pH	11 or more	9-10	less than 9
11 or more	419540	-293173	-126367
9-10	-293173	1906711	-1613538
less than 9	-126367	-1613538	1739906

Test of Equality over Strata

Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	82.2485	2	<.0001
Wilcoxon	88.3371	2	<.0001
-2Log(LR)	68.5079	2	<.0001

Gráfico 4b: Prueba de homogeneidad de las Curvas de Supervivencia para el efecto de la temperatura pico sobre la inactivación de *Clostridium perfringens* según tiempo de almacenamiento

The LIFETEST Procedure

Testing Homogeneity of Survival Curves for Days over Strata

Rank Statistics

PEAKTEMP	Log-Rank	Wilcoxon
33-35	6.862	2062
36 or more	20.688	8029
less than 33	-27.550	-10091

Covariance Matrix for the Log-Rank Statistics

PEAKTEMP	33-35	36 or more	less than 33
33-35	7.52448	-0.23904	-7.28544
36 or more	-0.23904	2.13261	-1.89357
less than 33	-7.28544	-1.89357	9.17901

Covariance Matrix for the Wilcoxon Statistics

PEAKTEMP	33-35	36 or more	less than 33
33-35	626448	-40099	-586349
36 or more	-40099	321131	-281032
less than 33	-586349	-281032	867382

Test of Equality over Strata

Test	Chi-Square	DF	Pr >
			Chi-Square
Log-Rank	211.9253	2	<.0001
Wilcoxon	215.8556	2	<.0001
-2Log(LR)	77.2808	2	<.0001

Gráfico 5a: Prueba de homogeneidad de las Curvas de Supervivencia para el efecto del pH sobre la inactivación de Colifagos somáticos según tiempo de almacenamiento

The LIFETEST Procedure
 Testing Homogeneity of Survival Curves for Days over Strata

Rank Statistics

_pH	Log-Rank	Wilcoxon
11 or more	18.494	6054.0
9-10	8.971	548.0
less than 9	-27.465	-6602.0

Covariance Matrix for the Log-Rank Statistics

_pH	11 or more	9-10	less than 9
11 or more	11.7532	-8.1043	-3.6488
9-10	-8.1043	73.8076	-65.7033
less than 9	-3.6488	-65.7033	69.3522

Covariance Matrix for the Wilcoxon Statistics

_pH	11 or more	9-10	less than 9
11 or more	1017610	-709854	-307756
9-10	-709854	4672951	-3963097
less than 9	-307756	-3963097	4270852

Test of Equality over Strata

Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	36.0175	2	<.0001
Wilcoxon	41.4653	2	<.0001
-2Log(LR)	24.3273	2	<.0001

Gráfico 5b: Prueba de homogeneidad de las Curvas de Supervivencia para el efecto de la temperatura pico sobre la inactivación de Colifagos somáticos según tiempo de almacenamiento

The LIFETEST Procedure
 Testing Homogeneity of Survival Curves for Days over Strata

Rank Statistics

PEAKTEMP	Log-Rank	Wilcoxon
33-35	24.515	8150
36 or more	38.565	15120
less than 33	-63.080	-23270

Covariance Matrix for the Log-Rank Statistics

PEAKTEMP	33-35	36 or more	less than 33
33-35	16.8914	-0.5616	-16.3299
36 or more	-0.5616	4.9916	-4.4301
less than 33	-16.3299	-4.4301	20.7599

Covariance Matrix for the Wilcoxon Statistics

PEAKTEMP	33-35	36 or more	less than 33
33-35	1549391	-93695	-1455696
36 or more	-93695	765028	-671333
less than 33	-1455696	-671333	2127029

Test of Equality over Strata

Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	347.4223	2	<.0001
Wilcoxon	363.8777	2	<.0001
-2Log(LR)	159.0927	2	<.0001

Gráfico 6a: Prueba de homogeneidad de las Curvas de Supervivencia para el efecto del pH sobre la inactivación de *Áscaris lumbricoides* según tiempo de almacenamiento

The LIFETEST Procedure

Testing Homogeneity of Survival Curves for Days over Strata

Rank Statistics

_pH	Log-Rank	Wilcoxon
11 or more	5.5479	960.00
9-10	0.8197	-860.00
less than 9	-6.3676	-100.00

Covariance Matrix for the Log-Rank Statistics

_pH	11 or more	9-10	less than 9
11 or more	6.0370	-3.9465	-2.0904
9-10	-3.9465	34.5353	-30.5887
less than 9	-2.0904	-30.5887	32.6792

Covariance Matrix for the Wilcoxon Statistics

_pH	11 or more	9-10	less than 9
11 or more	136671	-89015	-47656
9-10	-89015	632722	-543707
less than 9	-47656	-543707	591363

Test of Equality over Strata

Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	5.7172	2	0.0574
Wilcoxon	6.8391	2	0.0327
-2Log(LR)	5.2943	2	0.0709

Gráfico 6b: Prueba de homogeneidad de las Curvas de Supervivencia para el efecto de la temperatura pico sobre la inactivación de *Áscaris lumbricoides* según tiempo de almacenamiento

The LIFETEST Procedure
 Testing Homogeneity of Survival Curves for Days over Strata

Rank Statistics

PEAKTEMP	Log-Rank	Wilcoxon
33-35	28.232	4850.0
36 or more	19.185	3490.0
less than 33	-47.417	-8340.0

Covariance Matrix for the Log-Rank Statistics

PEAKTEMP	33-35	36 or more	less than 33
33-35	11.7136	-0.6678	-11.0458
36 or more	-0.6678	3.4330	-2.7652
less than 33	-11.0458	-2.7652	13.8110

Covariance Matrix for the Wilcoxon Statistics

PEAKTEMP	33-35	36 or more	less than 33
33-35	317958	-25909	-292049
36 or more	-25909	129999	-104090
less than 33	-292049	-104090	396139

Test of Equality over Strata

Test	Chi-Square	DF	Pr > Chi-Square
Log-Rank	195.4142	2	<.0001
Wilcoxon	192.0115	2	<.0001
-2Log(LR)	169.8510	2	<.0001