

Aguas residuales de un Centro Hospitalario de Buenos Aires, Argentina: Características químicas, biológicas y toxicológicas

Marta PAZ, Humberto MUZIO, Virginia GEMINI, Anahi MAGDALENO, Susana ROSSI, Sonia KOROL y Juan MORETTON

Cátedra de Higiene y Sanidad, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 4to piso, (1113) Ciudad de Buenos Aires, Argentina.
Tlf. +54 011 4964-8258. E-mail: jamorett@huemul.ffyb.uba.ar

INTRODUCCIÓN

Los problemas asociados a los líquidos residuales generados en centros de salud han sido motivo de preocupación internacional debido al peligro de una potencial propagación de enfermedades y a los riesgos ambientales derivados de la ausencia de tratamientos adecuados. Es por ello que estos problemas trascienden el campo técnico-sanitario e involucran aspectos sociales, económicos, políticos y ambientales, entre otros (Ferreira La Rosa y cols., 2000).

La composición de las aguas residuales procedentes de los centros de salud presenta fluctuaciones más o menos evidentes en su descarga a la red cloacal debido a la gran diversidad de sustancias químicas y materiales biológicos eliminadas en los mismos.

Tanto los residuos sólidos como los efluentes líquidos provenientes de centros hospitalarios representan un impacto sobre la salud pública cuya magnitud ha comenzado a evaluarse en los últimos años en ámbitos científicos (Bassi y Moretton, 2003). En este contexto la División de Apoyo Operacional en Salud Ambiental y el Centro Europeo de Salud Ambiental de la OMS han formado un grupo internacional para estudiar el problema de los residuos en los centros de salud en países en desarrollo (Pruess y cols., 1998).

En el área de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, las aguas residuales procedentes de los centros de salud no son tratadas *in situ*, sino que se transportan a través del sistema cloacal y se vierten, con un mínimo tratamiento

previo, en el Río de La Plata. Este río es la principal fuente de abastecimiento de agua potable para una población de aproximadamente 10 millones de habitantes; por este motivo, es de suma importancia efectuar aportes para el estudio de los riesgos que pueden producir los contaminantes presentes en los efluentes sobre este sistema fluvial. Tales riesgos incluyen los posibles efectos patogénicos de numerosos microorganismos y los efectos tóxicos y genotóxicos de una gran variedad de sustancias químicas generadas en los centros de salud.

Para realizar este trabajo se utilizó agua cloacal proveniente del Hospital de Clínicas José de San Martín, Hospital Escuela de la Universidad de Buenos Aires, que fue creado hace más de 100 años. El actual edificio inaugurado en 1970, cuenta con 130.000 metros cuadrados cubiertos. Es un hospital de alta complejidad, con un ámbito geográfico de acción muy amplio. Los pacientes que utilizan este servicio hospitalario son habitantes de la Ciudad de Buenos Aires y de los municipios vecinos. En este hospital trabajan aproximadamente 2.800 personas, entre profesionales de la salud, técnicos y empleados. Funciona además una importante área docente, lo que implica concurrencia de alumnos, docentes y becarios. Las camas-día disponibles, período de 24 horas durante el cual una cama de hospital se mantiene a disposición para el uso de pacientes internados, actualmente son 401. El volumen de agua por día necesario para el funcionamiento del hospital es de aproximadamente 705 metros cúbicos. Este volumen se transforma en un líquido residual cuyas características no han sido estudiadas (Anuario Estadístico, 2001).

El presente trabajo se planteó como objetivo analizar las características básicas físicas, químicas y microbiológicas de las aguas residuales del Hospital de Clínicas y compararlas con los efectos tóxicos y genotóxicos generados por dichas aguas. Los resultados permitirían establecer las bases para un monitoreo ambiental que tenga en cuenta los efectos tóxicos y genotóxicos que puedan generarse en la compleja mezcla de los efluentes cloacales provenientes de centros de salud (Decreto Reglamentario 831/93).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de agua residual se tomaron en los meses de noviembre (M1) y diciembre (M2) de 2003. El sitio de extracción fue la cámara cloacal

ubicada en el sector Azcuénaga del Hospital de Clínicas José de San Martín donde se vierten aguas residuales correspondientes a los servicios detallados en la Tabla 1.

Debido a la variabilidad en la composición, caudal y concentración del líquido cloacal durante las distintas horas del día, se utilizaron muestras compuestas. Se tomaron muestras sucesivas de 3 litros cada una, extraídas con intervalos no superiores a dos horas, y se mezclaron. El resultante de la toma de muestras (15 litros), se homogeneizó y se conservó a 4° C.

Estas muestras compuestas representan la composición durante un período de ocho horas, correspondiente al horario de mayor funcionamiento del hospital. Los parámetros básicos físicoquímicos y microbiológicos considerados fueron:

- pH
- Sólidos Sedimentables
- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)
- Demanda Química de Oxígeno (DQO)
- Detergentes Aniónicos
- Fósforo Total
- Fenoles
- Bacterias mesófilas aerobias viables
- Coliformes fecales
- Streptococos fecales

En todos los casos se utilizaron las técnicas descritas en American Public Health Association Standard Methods (1998).

La determinación de toxicidad y genotoxicidad del efluente hospitalario se llevó a cabo utilizando distintos sistemas biológicos normalizados como:

Ensayo de inhibición del crecimiento bacteriano con *Pseudomonas fluorescens* de acuerdo con la Norma DIN 3841 (Kümmerer, 2001). El efluente se ensayó como agua cruda.

El ensayo de Ames emplea cepas mutantes de *Salmonella typhimurium*, auxótrofas para histidina, con el objeto de detectar efectos genotóxicos (Maron y

**TABLA 1. Hospital de Clínicas "José de San Martín".
 Distribución de los sectores y servicios por plantas.**

Sector Azcuénaga				
Piso	Salas			Solarium
	2	4	6	
12	Quirofanos			
11	Cátedra de medicina	Cátedra de medicina	Cátedra de medicina	
10	Cátedra de medicina	Cátedra de medicina	Cátedra de medicina	
9	Escuela de Instrumentación	Escuela de Enfermería	Escuela de Enfermería	
8	Nefrología	Nefrología Y dialisis	Quimioterapia y trasplante Med.osea.	
7	Hipertensión Arterial y cardiología	Neumonología	Cardiología	
6	Anatomía Patológica			
5	Endocrinología	Salud mental	Salud mental	
4	Gastroenterología	Neurofisiología Clínica	Escuela de Enfermería	
3	Infectología	Laboratorio de Inmunogenética	Hematología	
2	Pediatría	Pediatría	Neonatología	
1	Laboratorio Central P.a.m.i.	Laboratorio Central	Laboratorio central Extracciones	
E.p.	Consultorio Externo de Obstetricia	Consultorio Externo de Ginecología	Consultorio Externo de Oftalmología	Consultorio Externo de Cirugía
P.b.	Sector "a"	Sector "b"	Sector "c"	Farmacia
1er. S.s.	Cibermedica	Morgue	Oficinas	
2do. S.s.				
3er. S.s.				

TABLA 2. Parámetros fisicoquímicos (M1)

Parámetros	Muestra	Límite admisible *
pH	5,5	7-10
Sólidos Sedimentables 10 minutos	0,5 mL / L	Ausente
Sólidos Sedimentables 2 horas	0,5 mL / L	< 5,0
Demanda Química de Oxígeno	257 mg / L	< 700
Demanda Bioquímica de Oxígeno	77 mg / L	< 200
Detergentes Aniónicos	1,2 mg / L	< 10
Fenoles	0,4 mg / L	< 2,0
Fósforo Total	2,1 mg / L	< 10

(*): Límite admisible para descarga a colectora cloacal según Resolución 336/03. Ministerio de Asuntos Agrarios y Producción. Provincia de Buenos Aires. República Argentina.

TABLA 3. Parámetros microbiológicos (M1)

Parámetros	Valor muestra
Bacterias mesófilas viables a 28° C	5,4 x 10 ⁶ ufc / mL
Bacterias coliformes totales	1,2 x 10 ⁵ NMP/100 mL
<i>Escherichia coli</i>	5,5 x 10 ⁴ NMP/100 mL
Estreptococos fecales	5,4 x 10 ⁴ NMP/100 mL
Hongos	0,5 x 10 ufc / mL

(ufc/mL): unidades formadoras de colonias por mililitro. Los resultados surgen de promediar las ufc de tres placas.
 NMP: Número más probable.

TABLA 4. Ensayo de Ames (M1)

Concentración (%)	TA98	TA100	TA98EX	TA100EX
0	43 ± 14	98 ± 8	23 ± 4	176 ± 24
10	33 ± 12	89 ± 6	27 ± 1	198 ± 25
100	44 ± 11	92 ± 21	25 ± 4	179 ± 11

Los resultados fueron expresados como promedio del número de colonias por placa ±SD para 0,1 mL de muestras filtradas y XAD-2 extractos.(EX). Control: Solución fisiológica (0.85 % de ClNa). El criterio de resultados positivos del ensayo, fue definido por Maron and Ames (1983): El ensayo indica mutagenicidad cuando el número de ufc en las placas correspondientes a células tratadas con la muestra analizada, duplique por lo menos las ufc en las placas control.

Ames, 1983). El efluente fue ensayado de dos maneras, como agua cruda y como extractos. En el primer caso, debido a que este sistema requiere muestras estériles, se filtró con papel Whatman N° 2 y luego a través de membrana de 0,22 µm (Millipore). Los extractos se obtuvieron por pasaje a través de resinas XAD-2, copolímeros de estireno-divinil benceno de carácter hidrofóbico. Las resinas se eluyeron con porciones de eter etílico que fue luego evaporado a presión reducida. El residuo seco se resuspendió en dimetilsulfóxido, obteniendo así un extracto 100 veces concentrado (Dressler, 1979; Maron y Ames, 1983; Siddiqui y Ahmad, 2003).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los ensayos físicoquímicos, microbiológicos, de genotoxicidad y toxicidad de la muestra correspondiente a noviembre 2003 (M1), se muestran en las Tablas 2, 3, 4 y 5 respectivamente.

Los resultados obtenidos en los ensayos de parámetros físicoquímicos, microbiológicos, genotoxicidad y toxicidad de la muestra correspondiente a diciembre de 2003 (M2), se muestran en las Tablas 6, 7, 8 y 9 respectivamente.

Los datos físicoquímicos obtenidos en las muestras correspondientes a noviembre y diciembre son similares e inferiores a los límites establecidos para descarga a colectora cloacal, según Resolución N° 336/ 03, Provincia de Buenos Aires.

El número de microorganismos viables, comparados con trabajos de otros autores (Ferreira La Rosa y cols., 2000; Kümmerer, 2001), fue bajo en ambas muestras.

Los ensayos de Ames, tanto en los efluente crudos como en sus correspondientes extractos de XAD-2, no mostraron genotoxicidad. Los ensayos de inhibición del crecimiento bacteriano con *Pseudomonas fluorescens* no evidenciaron toxicidad.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los análisis de DBO, DQO y fenoles mostraron resultados similares a los obtenidos en el Hospital de Clínicas de Porto Alegre por Ferreira La Rosa y cols. (2000). En contraste, los datos microbiológicos de las muestras de efluente hospitalario, evidenciaron valores inferiores a los hallados en efluentes similares por otros autores (Ferreira La Rosa y cols. 2000; Kümmerer, 2001; Kümmerer y cols., 2000) e incluso a los que se consideran normales en cloacales domésticos. Estos valores bajos pueden adjudicarse a varias causas. La presencia de desinfectantes en concentraciones variables en las distintas tomas de muestra podría llevar a una disminución en el número de microorganismos sin dejar evidencias de su actividad en la mezcla compuesta final con la que se realizan las determinaciones. Debe recordarse que los

TABLA 5. Inhibición del crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* (M1)

Concentración Efluente (vol/vol)	Absorbancia	Frecuencia N/N0	% Inhibición
0,000	0,533	1,00	ND
0,001	0,568	1,07	ND
0,010	0,594	1,11	ND
0,100	0,668	1,25	ND
1,000	0,763	1,43	ND
Control Positivo K₂Cr₂O₇ (ppm)			
0	0,533	1,00	0,0
1	0,527	0,99	1,1
10	0,105	0,20	80,0
20	0,028	0,05	95,0

ND: no se detecta inhibición del crecimiento. N₀: promedio de ufc en tres placas control.
 N: promedio de ufc en tres placas tratadas.

TABLA 6. Parámetros físicoquímicos (M2)

Parámetros	Muestra	Límite admisible*
pH	6	7-10
Sólidos Sedimentables 10 min.	1,0 mL/L	Ausente
Sólidos Sedimentables 2 hs.	5,2 mL/L	< 5,0
Demanda Química de Oxígeno	240 mg/L	< 700
Demanda Bioquímica de Oxígeno	38 mg/L	< 200
Detergentes Aniónicos	1,5 mg/L	< 10
Fenoles	0,4 mg/L	< 2,0
Fósforo Total	1,5 mg/L	< 10

(*): Límite admisible para descarga a colectora cloacal según Resolución 336/03.
 Ministerio de Asuntos Agrarios y Producción. Provincia de Buenos Aires. República Argentina

TABLA 7. Parámetros microbiológicos (M2)

Parámetros	Valor muestra
Bacterias mesófilas viables a 28° C	2,0 x 10 ⁵ ufc / mL
Bacterias coliformes totales	4,0 x 10 ³ NMP/100 mL
<i>Escherichia coli</i>	3,0 x 10 ³ NMP/100 mL
Estreptococos fecales	1,0 x 10 ³ NMP/100 mL
Hongos	6,0 x 10 ³ ufc / mL

(ufc/mL): unidades formadoras de colonias por mililitro. Los resultados surgen de promediar las ufc de tres placas. NMP: número más probable.

ensayos con *P. fluorescens* no indican toxicidad en la muestra compuesta. Otra posibilidad es una importante variación en la carga bacteriana entre las distintas tomas de muestra lo que obedecería a diferentes prácticas como limpieza de servicios, usos de sanitarios durante las distintas horas del día. Esta

última hipótesis parece la más probable si se consideran los servicios que vierten sus efluentes a este sector (Tabla 1). De cualquier forma la verificación de estas hipótesis requiere la realización de ensayos en muestras puntuales.

Uno de los análisis que permite evaluar el impacto de la actividad hospitalaria sobre los recursos hídricos es la determinación de la carga de contaminantes asociada al caudal de efluente diario. Los datos obtenidos en el presente trabajo permiten una aproximación preliminar suponiendo cargas similares en los distintos sectores del hospital. Se consideró un intervalo de 8 horas que corresponde a los horarios de mayor funcionamiento de los sectores y servicios por planta del Hospital (Tabla 1). Según los datos registrados, el consumo medio de agua en el Hospital General San Martín es de 705 m³/día. Puede estimarse que el efluente corresponde al 80% del consumo de agua (Ferreira La Rosa y cols., 2000) o sea 564 m³/día. Las determinaciones realizadas

en la muestra compuesta durante 8 horas representan un 33% del efluente producido en el día, constituyendo así una aproximación aceptable al total de efluentes generados. Pueden así calcularse las cargas de contaminantes como se muestra en la Tabla 10.

Las aguas residuales de establecimientos hospitalarios pueden contener compuestos capaces de dañar a la molécula de ADN. Entre ellos se encuentran desinfectantes, drogas citostáticas y algunos antibióticos con actividad genotóxica (Organización Panamericana de la Salud, 1993). Estos efluentes son mezclas

complejas de sustancias cuya actividad tóxica y genotóxica dependerá de interacciones sinérgicas y antagónicas entre sus distintos componentes y entre estos y el ambiente (Bassi y Moretton, 2003). Una discusión más amplia acerca de las técnicas para el

TABLA 8. Ensayo de Ames (M2)

Concentración (%)	TA98	TA100	TA98EX	TA100EX
0	23 ± 10	138 ± 26	23 ± 10	138 ± 26
10	29 ± 03	157 ± 08	30 ± 02	121 ± 13
100	28 ± 10	140 ± 29	28 ± 02	134 ± 07

Los resultados fueron expresados como promedio del número de colonias por placa \pm SD para 0,1 ml de muestras filtradas y XAD-2 extractos.(EX). Control: Solución fisiológica (CINa, 0,85%). El criterio de resultados positivos del ensayo, fue definido por Maron and Ames (1983): El ensayo indica mutagenicidad cuando el número de ufc en las placas correspondientes a células tratadas con la muestra analizada, como mínimo duplique las ufc en las placas control.

TABLA 9. Inhibición del crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* (M2)

Concentración Efluente (vol/vol)	Absorbancia	Frecuencia N/N0	% Inhibición
0,000	0,573	1,00	ND
0,001	0,542	0,95	ND
0,010	0,575	1,00	ND
0,100	0,623	1,09	ND
1,000	0,660	1,15	ND
Control Positivo			
K₂Cr₂O₇			
(ppm)			
0	0,573	1,00	0
1	0,538	0,94	6
10	0,148	0,26	74
20	0,023	0,04	96
50	0,010	0,02	98

ND: no se detecta inhibición del crecimiento.
 N₀ : promedio de ufc de tres placas control.
 N : promedio de ufc de tres placas tratadas.

TABLA 10. Carga de contaminantes diaria generada por el Hospital José de San Martín

Parámetro	Carga Total
DBO kg/día	32,4
DQO kg/día	140,2
Fósforo kg/día	1,0
Coliformes Totales NMP/día	3,3 x 10 ¹⁰
Sólidos sedimentables 10 minutos L/día	423
Sólidos sedimentables 2 horas L/día	1607,4

estudio de la mutagenicidad en estas aguas residuales puede encontrarse en Moreno Abril y Carrillo Gallego (2002).

En una investigación llevada a cabo por Giuliani y cols. (1996) se observó respuesta mutagénica en las aguas residuales hospitalarias. Entre los posibles compuestos con estas características se

encontraron antineoplásicos como el cis-platino y la mitomicina C en muy bajas concentraciones. Falck y cols. (1979) detectaron mutagenicidad en muestras de orina de pacientes de la sección de oncología de un hospital . En general, los compuestos utilizados en la terapia del cáncer son mutágenos (Department of Health, 1989; Ferguson, 1995; Bassi y Moretton, 2003). Es conocida su alta toxicidad y los efectos secundarios no deseados como la genotoxicidad o la posibilidad de generar tumores secundarios como consecuencia del tratamiento quimio-terapéutico (IARC Monographs, 1990).

En las muestras de aguas residuales del Hospital José de San Martín se empleó el ensayo de Ames para la detección de mutagenicidad. Este ensayo fue seleccionado por ser el más utilizado a nivel internacional (Maron y Ames, 1983), con una respuesta mejor estudiada ante mezclas complejas como las generadas en los efluentes. Las determinaciones realizadas con muestras de agua no tratada produjeron resultados negativos. En estos casos se ha reconocido que la baja concentración de los posibles genotóxicos, unida a la posibilidad de que se hallen en formas ligadas a partículas, disminuye su actividad biológica.

Con el fin de solucionar este inconveniente se recurre a la concentración por pasaje a través de resinas XAD-2; estas resinas retienen los compuestos no polares entre los cuales puede encontrarse una mayor actividad tóxica y genotóxica (Dressler, 1979; Donnelly y cols., 1983; Houk, 1992). Los concentrados 100X obtenidos de las muestras del hospital tampoco produjeron resultados positivos. Este hallazgo se correlaciona perfectamente con los datos fisico-químicos que demuestran bajas concentraciones de compuestos tóxicos como fenoles, sumados a una relativamente baja DQO. Las concentraciones mayores a 100X con estas resinas no pueden considerarse en los estudios de aguas residuales ya que se aproximan a las utilizadas para detectar genotoxicidad en aguas potables (Dressler, 1979). En la actualidad se están ensayando estas y otras muestras con distintos sistemas biológicos con el fin

de determinar la diferente sensibilidad al efecto genotóxico y la conveniencia de su uso en estas determinaciones.

La caracterización química, biológica y toxicológica de los efluentes hospitalarios es una de las etapas iniciales en los procesos de gestión para encarar acciones que eviten vertidos inadecuados al medio ambiente. El trabajo realizado en el Hospital José de San Martín pretende ser una referencia para orientar a los usuarios en la normatización de procedimientos para la correcta disposición de los vertidos de aguas residuales.

Los datos presentados en este trabajo permitieron verificar, en forma preliminar, que el efluente de este centro de salud presenta características muy similares a las encontradas usualmente en efluentes cloacales domiciliarios. Para obtener una mejor aproximación acerca del impacto ambiental se deberán estudiar, en una segunda etapa, la presencia de compuestos tóxicos como metales pesados, citotóxicos, solventes, etc., y de microorganismos resistentes a antibióticos y a desinfectantes.

Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado con un subsidio de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires. Los autores desean expresar su agradecimiento al Ing. Jorge Argento del Hospital José de San Martín por su colaboración y asesoramiento técnico.

BIBLIOGRAFIA

- American Public Health Association (APHA) (1998): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition Washington DC.
- Anuario Estadístico (2001): Hospital de Clínicas José de San Martín. Dirección de Estadística y Archivo Médico República Argentina. Universidad de Buenos Aires.
- Bassi M.D. y Moretton J. (2003): Mutagenicity of antineoplastic drug residues treated in health care waste autoclave. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71: 170-175.
- Decreto Reglamentario 831/93 de la Ley Nacional N° 24.051. (1993): Residuos Peligrosos. Boletín Oficial República Argentina.
- Department of Health (1989): Report on Health and Social Subjects, 35. Guidelines for the testing of chemicals for mutagenicity, HMSO, London.
- Donnelly K.C., Brown K.W. y Scott B.R. (1983): The use of short-term bioassays to monitor the environmental impact of land treatment of hazardous wastes. In: Short-term bioassays in the analysis of Complex Environmental Mixtures, III. Plenum Press, Nueva York.
- Dressler M. (1979): Extraction of trace amounts of organic compounds from water with porous organic polymers. *J. Chromatogr.* 165: 167-206.
- Falck K., Gröhn P., Sorsa M., Vainio H., Heinonen E. y Hoslti L.T. (1979): Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Lancet* 1: 1250-1251.
- Ferguson L.R. (1995): Mutagenic properties of anticancer drugs. In: Ponder B.A.J., Waring M.J. (Eds.). *The genetics of cancer*, Kluner Scientific Publishers, Lancaster UK.
- Ferreira La Rosa A.M., Moschem Tolfo A., Olinto Monteggia L., Nascimento de Almeida M.M., da Silva Ortolan M., Genro Bins M.J., de Almeida Bendati M.M. y Raya Rodriguez M.T. (2000): Gestao de efluentes de serviços de saúde em Porto Alegre. Anais XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre, Brasil.
- Giuliani F., Koller T., Wügler F.E. y Widmer R.M. (1996): Detection of genotoxic activity in native hospital waste water by the umuC test. *Mut. Res.* 368: 49-57.
- Houk V. (1992): The genotoxicity of industrial wastes and effluents. A review. *Mut. Res.* 277: 91-138.
- IARC Monographs (1990). *Pharmaceutical Drugs* IARC International Agency for Research on Cancer. Lyon Vol 50.
- Kümmerer K. (2001): Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. *Chemosphere* 45: 957-969.
- Kümmerer K., Al-Ahmad A. y Mersch-Sundermann V. (2000): Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere* 40: 701-710.
- Maron D. y Ames B.N. (1983): Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mut. Res.* 113: 173-215.
- Moreno Abril O. y Carrillo Gallego E. (2002): Técnicas de estudio de la mutagenicidad. *Hig. Sanid. Ambient.* 2: 26-32.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS) (1993): Nuestro planeta, nuestra salud. Informe de la comisión de salud y medio ambiente de la OMS. Publicación científica N° 544.
- Pruess A., Giroult E. y Rushbrook P. (1998): Safe management of wastes from health-care activities. The World Health Organization (WHO) Washington DC.
- Siddiqui A.H. y Ahmad M. (2003): The Salmonella mutagenicity of industrial, surface and ground water samples of Aligarth region of India. *Mut. Res.* 541: 21-29.