

302827

# UNIVERSIDAD MOTOLINIA A. C.

ESCUELA DE QUIMICA

Con estudios incorporados a la Universidad Nacional Autónoma de México



**DETECCION DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES, FECALES Y VIRUS ENTERICOS EN RABANOS *RAPHANUS sativus*, L. IRRIGADOS CON AGUAS RENOVADAS DEL CANAL DE APAMPILCO EN XOCHIMILCO.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ANA OFELIA FERNANDEZ ARENAS



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

Capítulo	I.	INTRODUCCION.....	1
		1.1 Objetivo.....	7
		1.2 Hipótesis.....	7
Capítulo	II.	INFORMACION GENERAL SOBRE EL TEMA.....	8
		2.1 Antecedentes.....	8
		2.2 Zona de trabajo.....	15
		2.2.1 Canal de Apampilco.....	15
		2.2.2 Chinampa.....	16
		2.2.3 Factores ambientales.....	17
		2.2.4 Laboratorio Central.....	18
		2.3 Cosecha del rábano ( <u>Raphanus sativus</u> , L.).....	20
		2.3.1 Siembra de la muestra de rábano en Xochimilco.....	20
		2.3.1.1 Preparación de la tierra..	20
		2.3.1.2 Implantación.....	20
		2.3.1.3 Irrigación.....	21
		2.3.1.4 Cosecha.....	21
		2.3.2 Recolección de la muestra.....	22
Capítulo	III.	PARTE EXPERIMENTAL.....	23
		3.1 Diagramas de Flujo.....	23
		3.1.1 Diagrama General de la Metodología utilizada en los análisis de bac- terias coliformes y virus entéri- cos para las muestras de rábano <u>Raphanus sativus</u> , L.....	23
		3.1.2 Diagrama de flujo de la metodolo- gía empleada en bacteriología de rábano <u>Raphanus sativus</u> , L.....	24
		3.1.3 Diagrama de flujo para enterovirus utilizado en las muestras de rá- bano <u>Raphanus sativus</u> , L.....	25
		3.2 Material, reactivos y equipo.....	26
		3.2.1 Material para el análisis bacte- riológico.....	26
		3.2.2 Material para el análisis viroló- gico.....	27
		3.2.3 Reactivos usados en el análisis bacteriológico.....	27

	3.2.4	Reactivos para el análisis virológico.....	28
	3.2.5	Equipo para análisis bacteriológico.....	29
	3.2.6	Equipo para el análisis virológico.....	29
	3.3	Metodología.....	30
	3.3.1	Cuenta estándar en placa.....	30
	3.3.2	Método de membrana para coliforme total.....	30
	3.3.3	Método de membrana para coliforme fecal.....	31
Capítulo	IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	32
	4.1	Resultados.....	32
	4.2	Discusión.....	44
Capítulo	V.	CONCLUSIONES.....	50
		BIBLIOGRAFIA.....	54
		APENDICE.....	58
	7.1	Técnica para el subcultivo de células de riñón de mono verde (BGM).....	58
	7.2	Técnica para detección de virus por ensayo en placa en células BGM.....	59
	7.3	Técnica para detección de virus por efecto citopático (EC).....	60
	7.3.1	Pase ciego (prueba confirmativa)..	61
		GLOSARIO DE TERMINOS.....	62

## INTRODUCCION

El rápido crecimiento de los asentamientos humanos irregulares ha traído como consecuencia el deterioro de algunos recursos naturales como es el caso de los canales de Xochimilco, los cuales, actualmente mantienen su nivel a través del abastecimiento de agua renovada de la planta del Cerro de la Estrella. Las aguas de los canales han sido utilizadas desde hace muchos años para el riego de hortalizas. La mala calidad sanitaria de las aguas de Xochimilco podría ser fundamental en la transmisión de enfermedades principalmente gastrointestinales debido a que la mayor parte de lo que se cosecha son vegetales, los cuales su consumo se realiza sin cocción, como en el caso de la lechuga, cilantro, perejil, rábano, etc.

La importancia de detectar posibles microorganismos entéricos ha sido uno de los principales problemas a resolver a corto plazo, puesto que algunos reportes de los Organismos Internacionales de Salud han informado sobre posibles brotes epidemiológicos a causa de la ingestión de alimentos contaminados en diversas partes del mundo (India, Israel y Egipto entre otros). (16)

La Tabla I muestra las principales enfermedades producidas por algunas bacterias y virus entéricos. (9)

T A B L A 1  
PRINCIPALES ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR ALGUNAS BACTERIAS Y VIRUS ENTERICOS

PRINCIPALES ENFERMEDADES DE VIRUS ENTERICOS		PRINCIPALES ENFERMEDADES DE BACTERIAS ENTERICAS	
TIPO	ENFERMEDADES	TIPO	ENFERMEDADES
I. Enteriovirus		I. Escherichieae	
1- Poliovirus	- PARALISIS DE MENINGITIS ASEPTICA	1- Escherichia coli	- PILENEFRITIS - PIELITIS - ENFERMEDADES DE VIAS URINARIAS - BACTEREMIA - COLESISTITIS AGUDA CON GANGRENA DE VESICULA Y PERFORACION - INFECCIONES SUBCUTANEAS
2- Coxsackievirus			
A.	- MENINGITIS ASEPTICA - RESPIRATORIA - PARALISIS		- NEUMONIA - INFECCION NEO-NATAL - MENINGITIS - GASTROENTERITIS
B.	- PLEURODINIA - PERICARDITIS - MIOCARDITIS - ALTERACIONES CONGENITAS DEL CORAZON - NEFRITIS		
3- Echovirus	- INFECCION RESPIRATORIA - MENINGITIS ASEPTICA - DIARREA - PERICARDITIS - MIOCARDITIS - URTICARIA	2- Shigella	- DIARREA A DISENTERIA SEVERA - DISENTERIA TIPO 1 - URETRITIS
		II. Salmonelleae	
		1- Salmonella	- FIEBRE TIFOIDEA - GASTROENTERITIS Y FIEBRE PARATIFOIDEA
II. Reovirus	- ENFERMEDADES RESPIRATORIAS - GASTROENTERITIS	III. Klebsielleae	
		1- Klebsiella	- RINITIS SEVERA CRONICA - NEUMONIA - RINOSCLERONA
III. Adenovirus	- CONJUNTIVITIS - DIARREA - INFECCION DEL OJO	2- Enterobacter	- BACTEREMIA - INFECCION DE VIAS URINARIAS
IV. Hepatitis 'A'	- HEPATITIS INFECCIOSA	IV. Proteae	
V. Rotavirus	- GASTROENTERITIS INFANTIL	1- Proteus	- INFECCIONES EN LA PIEL, OIDOS, HUESOS, VIAS URINARIAS, PULMONES Y SANGRE - PARALISIS DEL NERVIOS FACIAL - INFECCIONES EN OIDO MEDIO - MENINGITIS - ABSCESO CEREBRAL
VI. Agente Norwalk	- GASTROENTERITIS NO BACTERIANA	V. Yersinieae	
		1- Yersinia	- DIARREA CON SANGRE - ARTRITIS EN RODILLA Y MANO - BACTEREMIA - FARINGITIS - ERITENEO NODOSO - DOLOR ARTICULAR - PESTE BUBONICA

De acuerdo con Frazier (11) las plantas en crecimiento poseen en su superficie una flora microbiana típica, pudiendo además contaminarse a partir del medio ambiente. Del mismo modo, los animales tienen una microflora superficial típica además de la intestinal, eliminando microorganismos con sus excreciones y secreciones pudiendo asimismo contaminarse del medio externo. Se ha señalado, sin embargo, que los tejidos internos de las plantas y animales sanos contienen muy poco o ningún germen vivo.

La microflora superficial de los vegetales varía con la planta, pero generalmente esta formada por especies de Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Achromobacter, Micrococcus y bacterias coliformes. El número de bacterias depende de las plantas y del medio en que se encuentran, variando entre unos pocos cientos o miles por centímetro cuadrado de superficie hasta varios millones. Por ejemplo, la superficie de un jitomate bien lavado muestra de 400 a 700 microorganismos por centímetro cuadrado, mientras que otro sin lavar muestra varios millares. (11)

Las superficies externas de los vegetales se contaminan a partir del suelo, agua, materias cloacales, aire y animales, de forma tal que los microorganismos presentes en ellos se añaden a la flora natural de aquellas. Cuando las condiciones son favorables para el crecimiento de la flora natural y de los contaminantes, el número de algunos tipos de

microorganismos aumentará. Esto ocurre casi siempre después de la recolección. En el interior de algunas frutas se han podido observar microorganismos viables. Se han encontrado levaduras en el interior de frutas y hortalizas intactas y otros microorganismos como virus en raíces y tubérculos sanos. (11)

Cuando el material cloacal, sin tratamiento previo, se destina a la fertilización de las cosechas, existe el peligro de una contaminación de los vegetales comestibles por bacterias patógenas del hombre, especialmente por las que causan enfermedades gastrointestinales. (11)

Las aguas residuales tratadas que van a parar al suelo o al agua, también aportan microorganismos, si bien en menor número y menor cantidad de patógenos que las aguas sin tratar. (11)

Las aguas naturales no sólo contienen su flora microbiana habitual, sino también microorganismos del suelo y posiblemente de los animales e incluso del material cloacal. Las aguas superficiales de arroyos y corrientes y las aguas almacenadas en lagos y grandes charcas varían considerablemente en su contenido bacteriano, desde muchos millares por miligramo, después de una precipitación acuosa, a un número relativamente bajo debido a la autodepuración que sufren tanto las aguas tranquilas de lagos y estanques como las aguas corrientes. Las aguas subterráneas de fuentes y pozos, al atravesar capas rocosas y térreas hasta alcanzar un

nivel determinado, pierden la mayor parte de sus bacterias y de la materia orgánica en suspensión. Su contenido bacteriano varía entre unas pocas a varios cientos de bacterias por mililitro. (11)

Las bacterias que se encuentran en las aguas naturales pertenecen principalmente a los siguientes géneros: Pseudomonas, Chromobacterium, Proteus, Achromabacter, Micrococcus, Bacillus, Streptococcus (enterococos), Aerobacter y Escherichia. Estos tres últimos son posiblemente contaminantes y no forman parte de su flora natural. (11)

Los gérmenes anaerobios productores de gas suelen llegar a los alimentos con el agua cargada de tierra. Las aguas deben protegerse contra la contaminación de origen cloacal purificándose por sedimentación en depósitos o lagos, por filtración a través de arena o filtros finos, por cloración, irradiación ultravioleta o ebullición. (11)

El deterioro sufrido por las hortalizas y frutas crudas puede ser debido a causas físicas, a la acción de sus propias enzimas, a la acción microbiana o a la combinación de varios de estos factores. Las alteraciones mecánicas causadas por aves, insectos u otros animales, o debido a golpes, cortes, heridas, congelación, desecación y otros defectos de manipulación, predispone a la acción enzimática y a la invasión microbiana. El daño causado previamente por patógenos vegetales puede hacer que la parte comestible de la planta sea

inutilizable, o puede abrir el camino al crecimiento de saprófitos que causan su alteración. (11)

Las enfermedades de las frutas y hortalizas pueden ser causadas por el crecimiento de un organismo que obtiene su alimento del huésped y suele perjudicarlo o ser originadas por condiciones ambientales adversas que causan anormalidades en las funciones o estructuras de la fruta u hortaliza. (11)

El tipo de alteraciones predominante varía no sólo con la clase de fruta u hortaliza de que se trate, sino también con la variedad. Las alteraciones microbianas pueden ser debido a (i) la acción de gérmenes patógenos sobre las hojas, tallos, raíces, flores, frutos o cualquier otra parte del vegetal que se utilice como alimento y (ii) los microorganismos saprófitos, que pueden producir una invasión secundaria consecutiva a la acción de los patógenos o penetrar en una fruta u hortaliza sana, como sucede en diversos tipos de podredumbre; o multiplicarse en la superficie como ocurre con las bacterias que crecen en las hortalizas húmedas y apiladas. (11)

A veces la acción de un saprófito puede ser posterior a la de un patógeno, otras veces actúan varios saprófitos consecutivamente. Así, las bacterias coliformes pueden desarrollarse como invasores secundarios y hallarse presentes en número considerable en las hortalizas. (11)

El consumo de plantas o sus productos puede dar lugar a problemas gastrointestinales y ha ocasionado a veces la muerte de los consumidores. (11)

#### 1.1 OBJETIVO.-

En base a lo anterior, realizar un estudio enfocado a detectar microorganismos patógenos al hombre tales como son las bacterias coliformes fecales y los enterovirus (Poliovirus, Coxsackievirus y virus Echo) en rábanos irrigados con agua renovada del Canal de Apampilco ubicado en Xochimilco.

#### 1.2 HIPOTESIS.-

Debido a que los rábanos son consumidos en crudo y son irrigados con aguas renovadas (según el índice de calidad de las aguas tratadas nos señala que las aguas renovadas en Xochimilco no son adecuadas para el riego de cultivos cuyo consumo sea en crudo (1)), estos pueden ser vectores importantes en la transmisión de enfermedades gastrointestinales.

## INFORMACION GENERAL SOBRE EL TEMA

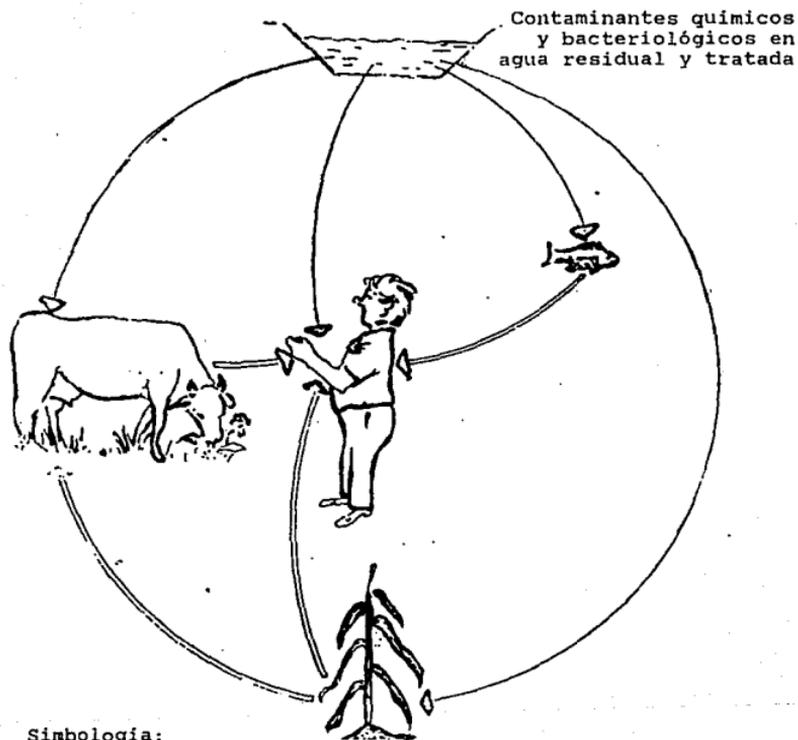
### 2.1 ANTECEDENTES.-

El uso de aguas residuales para el riego de superficies agrícolas se ha practicado desde hace tiempo en nuestro país, sobre todo en zonas áridas, donde existen problemas para el abastecimiento de agua. (1)

La utilización de agua residual cruda en riego agrícola, genera una situación muy controvertida ya que, por un lado presenta efectos positivos, tales como el mayor rendimiento en los cultivos, debido a los aportes de fertilizantes, amortiguamiento en la salinidad del suelo por su contenido en materia orgánica; reducción de la carga contaminante por el uso del suelo como medio de disposición del agua residual. Por otro lado presenta efectos negativos como los problemas de salud pública en el consumo y manejo de vegetales, trayendo como consecuencia la adquisición de enfermedades gastrointestinales, producidas por organismos patógenos como coliformes fecales, virus entéricos y formas parasitarias viables, ya que estos organismos pueden sobrevivir a los tratamientos aplicables en el suelo, y entonces incorporarse a la cadena alimenticia. (Fig. 1) (1)

FIGURA 1

PROBLEMAS DE SALUD PUBLICA POR EL CONSUMO  
Y MANEJO DE ALIMENTOS CONTAMINADOS POR AGUA



Simbología:

———— Acceso por cadena alimenticia

———— Acceso por contacto o ingestión

Otra de las cosas importantes a considerar en el riego de vegetales, es que los microorganismos no puedan penetrar en cultivos de frutas y verduras sanas, pero sí lo pueden hacer, si las frutas o verduras han sido golpeadas o presentan rajaduras; así como también los microorganismos viven más tiempo en cultivos que tienen mucho forraje o su superficie es rugosa. (2)

En algunos países como los Estados Unidos de América se ha visto que los vegetales y frutas contaminadas, fueron responsables aproximadamente del 9% de los brotes de enfermedades alimenticias. Entre estos brotes, los vegetales irrigados con agua residual o renovada mal tratada han sido responsables de muchas enfermedades causadas por bacterias protozoa, helmintos y virus. (2)

La amenaza de enfermedades con el consumo de vegetales contaminados ha provocado interés a nivel mundial al pronosticar virus en estos que son irrigados con agua renovada. Un problema muy serio se deriva de los vegetales que tienen un crecimiento relativamente corto por ejemplo el rábano, el cual se consume crudo. (2)

La Tabla 2 ilustra la persistencia de poliovirus en vegetales (lechuga y rábanos) irrigados por aspersión con aguas residuales y renovadas (UFP/g de planta). (2)

Nota: UFP = Unidades Formadoras de Placa.

TABLA 2

AGOSTO-OCTUBRE 1973 (TEMPERATURA 15-33 ° C)

IRRIGADAS CON AGUAS  
RESIDUALES (INFLUENTE)

IRRIGADAS CON AGUAS  
RENOVADAS (EFLUENTES)

DIAS	LECHUGA (UFP/g)	RABANO (UFP/g)	LECHUGA (UFP/g)	RABANO (UFP/g)
2	112.0	294.0	14.0	7.0
4	23.0	7.0	3.0	3.0
8	0.8	6.0	2.0	0.6
14	1.0	0.2	0.0	0.1
36	0.1	0.1	0.1	0.0
=====				
JUNIO-JULIO 1974 (TEMPERATURA 19-33 ° C.)				
1	118.0	950.0	20.0	172.0
3	4.0	300.0	3.0	80.0
6	1.4	46.0	0.5	10.0
8	0.2	14.0	0.4	7.0
10	0.0	0.4	0.2	0.2
14	0.2	0.6	0.0	0.0

El virus fue capaz de sobrevivir entre 14 y 36 días bajo condiciones de campo. Estos datos son significativos ya que un periodo de 36 días es bastante en plantíos y cosechas, como por ejemplo el rábano. La temperatura y la radiación solar son probablemente los factores más importantes para la sobrevivencia del virus en la superficie de los vegetales. Por lo tanto, hay un riesgo potencial de enfermedades virales después del consumo de vegetales crudos cultivados en suelos que han sido irrigados por aspersión o inundados con aguas residuales o renovadas. (2)

Otra pregunta ha surgido en relación a la absorción de virus por raíces de plantas y su translocación a espigas y hojas. Algunas investigaciones en raíces de papas y jitomates sumergidas en una suspensión de poliovirus, indican que no exhibieron ni una translocación de los virus a las espigas o a las hojas. Sin embargo, el virus de la encefalomiелitis de ratón fue algunas veces translocado a las partes aéreas de las plantas, tal como en el chicharo, papa y jitomate. Es probable que los virus entren a las plantas a través de raíces lesionadas. (2)

Dado que los vegetales generalmente se almacenan en refrigeración a 4-6 °C, dichas temperaturas permiten la sobrevivencia de virus entéricos en la superficie de los vegetales bajo condiciones húmedas hasta por dos meses. Además, la rutina de lavado de los vegetales no remueve completamente los virus que pueden estar presentes en la superficie, claro que esto dependerá del tipo de vegetal. En contraste con los jitomates y pimienta los cuales tienen una superficie lisa, las lechugas tienen superficie rugosa difícil de limpiar permitiendo que prevalezcan condiciones de humedad y prolongando la sobrevivencia de los virus. (2)

Parece ser que las frutas se encuentran menos implicadas que las hortalizas en la transmisión de enfermedades. Sólo una vez en los Estados Unidos de América se ha considerado a las frutas como la causa de la aparición de un brote infeccioso.

Contrariamente a las hortalizas, algunas frutas presentan actividades antivirales, esto es particularmente cierto en fresas y uvas, los agentes responsables son los compuestos fenólicos, los cuales se localizan principalmente en la superficie de las frutas mencionadas. Los fenoles desactivan a los virus porque los contraen temporalmente. Sin embargo, no hay razón para dudar que estas contracciones pueden ser disociadas una vez en el intestino animal o humano. (2)

Los polifenoles, incluyendo los taninos, son también responsables de la actividad antiviral del jugo de uva, del jugo de manzana y del té. Estas bebidas también pueden actuar como agentes antivirales naturales pero su eficacia depende de la estabilidad de los complejos que ellos formen con los agentes virales. Estos complejos pueden estar inestables en el intestino humano, aunque aún no ha sido demostrado. (2)

Los brotes de enfermedades virales pueden ocurrir potencialmente después de la irrigación de sembradíos de vegetales con aguas residuales y aguas renovadas. Este riesgo es mayor en países que usan aguas residuales crudas o pobremente tratadas como en el caso de la India. (2)

En los Estados Unidos de América el uso de agua residual cruda o procedente de efluentes para la irrigación de cosechas comestibles, está prohibida en la mayor parte de la Unión Americana, sin embargo en algunas partes permiten la irrigación de sembradíos de vegetales con efluentes de aguas

residuales solamente que esten desinfectadas (2).

**TABLA 3**  
**BROTOS DE ENFERMEDADES ASOCIADAS**  
**CON VEGETALES CONTAMINADOS CON AGUA RESIDUAL**

ENFERMEDADES	FUENTES DE CONTAMINACION	VEGETALES
FIEBRE TIFOIDEA	RENOVADA	COLES
FIEBRE TIFOIDEA	IRRIGACION RENOVADA	VEGETALES CRUDOS
SALMONELOSIS	RENOVADA Y RESIDUAL	VEGETALES
SALMONELOSIS	TRATAMIENTO PRIMARIO DE EFLUENTES	BERZA
AMIBIASIS	IRRIGACION RENOVADA	VEGETALES
ASCARIASIS	IRRIGACION POR ASPERSION CON AGUA RENOVADA	VEGETALES
INFECCION ANQUILOSTOMA	AGUA RENOVADA DE GRANJA	VEGETALES
HEPATITIS VIRAL	TANQUE SEPTICO EFLUENTE	COLES

Adaptado por E. R. Bryan (1977)

En el Área metropolitana existen algunos sitios donde se lleva a cabo la irrigación de hortalizas con aguas residuales o renovadas. Tal es el caso de los canales de Xochimilco, que desde el siglo XIX en la época de lluvias el Río San Buenaventura, manantiales y cerros de elevadas pendientes, contribuían a mantener el nivel de las aguas del lago de Xochimilco, mientras que en la época de estiaje, sólo los manantiales eran las principales fuentes del mismo. (12)

En el año de 1884 los manantiales presentaban aguas cristalinas y puras (26). En 1897 se vio la posibilidad de emplearlas en el abastecimiento de agua potable para la Ciudad de México, y no fue hasta el período post-revolucionario cuando fueron finalmente utilizados (19). La sobre-explotación de los manantiales provocó la desecación del sistema de canales de Xochimilco, por lo que desde entonces son alimentados mediante la inyección de aguas negras tratadas. Es así como se ha producido una modificación de la calidad de las aguas en el sistema lacustre de Xochimilco. (12)

Un estudio realizado en éste lugar por Báez (1975) (1) menciona desde el punto de vista de salud pública, que se corre el riesgo de adquirir enfermedades de origen bacteriano al ingerir hortalizas irrigadas con agua residual.

Actualmente en Xochimilco se cosechan los siguientes vegetales: betabel, rábano, zanahoria, acelga, col, lechuga, perejil, cilantro, romero, col de Bruselas, quelite, etc., siendo regadas con aguas de los canales. (14)

## 2.2 ZONA DE TRABAJO:

2.2.1 CANAL DE APAMPILCO: Esta considerado como uno de los principales canales de irrigación de hortalizas, es por ello que su estudio reviste un interés agrícola y sanitario.

Ubicación: El canal esta situado entre el Canal Tlicuilt y el Canal Texuilo en el pueblo de San Luis Tlaxialtemalco en el

barrio de la Asunción, corresponde a la Delegación de Xochimilco, al suroeste del Distrito Federal. Esta región esta localizada en el que fué el canal de Xochimilco-Chalco.

El agua con la que se llenaba el canal procedía de manantiales y del río Buenaventura; actualmente se abastece de dos fuentes principales. Por un lado, durante la temporada de lluvias, precipitación pluvial directa y de los escurrimientos torrenciales de arroyos provenientes de las serranías del sur de la cuenca, y por otro lado, de las aguas negras tratadas procedentes de la planta del Cerro de la Estrella, con una capacidad de 1,250 l/seg (25).

2.2.2 CHINAMPA.- (del náhuatl chinamitl, cerco de cañas). Cada uno de los pequeños cuadros de terreno, bordeados de canales, en las lagunas vecinas a la ciudad de México, donde se cultivan flores y verduras. Originalmente, las chinampas fueron isletas flotantes, con lodo y tierra sobre un tejido de varas y carrizos; pero con el descenso del nivel de agua fueron quedando fijas en el fondo (10).

La superficie susceptible de sembrarse en el área chinampera es alrededor de 4,000 ha. de las cuales se siembran entre 1,000-1,500 ha., es decir, sólo la cuarta parte es cultivada (24). Una de las causas es debido a la mala calidad del agua, reduciendo la producción de legumbres así como la variedad y cantidad de los productos de cultivo.

La chinampa seleccionada es de las pocas donde se cosechan hortalizas. Esta situada sobre el Canal de Apampilco, con una área de 15 metros cuadrados dividida en 10 zurcos.

### 2.2.3 FACTORES AMBIENTALES.

Aire: La región canalera-chinampera debido a que pertenece al Valle de México presenta características que favorecen la presencia de los fenómenos de inversión atmosférica que causa la mala calidad del aire.

El sulfito ( $SO_2$ ) es el verdadero responsable de la disminución de la flora silvestre. Esto es debido a que ocasiona fitotoxicidad, generalmente al cubrir físicamente las hojas de la planta con partículas, inhibiendo así su respiración por los estomas y reduciendo la fotosíntesis (4).

Clima: La temperatura media anual es de  $15.9^{\circ}C$ ; la temperatura del mes más frío (enero) es de  $12^{\circ}C$ , la temperatura del mes más caliente (junio) es de  $18.7^{\circ}C$ . Los meses más lluviosos son en julio con 233.7 mm y en septiembre con 257.1 mm.

La precipitación anual con las estaciones del año alcanza valores que oscilan alrededor de los 1,200 mm de promedio anual. La precipitación del mes más seco (enero) es de 12 mm.

En esta área chinampera de Xochimilco los vientos en calma son los predominantes (12).

Suelo: Los suelos de las chinampas se originaron a partir de la descomposición de sedimentos orgánicos y minerales depositados en el medio lacustre, así como la depositación artificial de lodos orgánicos, su formación es lacustre y su grado de desarrollo es joven.

Características físicas: Son suelos orgánicos color café oscuro a negro, presentan horizontes húmicos y sápricos (orgánicos medianamente descompuestos), textura arcillosa, relieve plano, pendiente menor al 1% sin pedregosidad superficial ni en el perfil, sin problemas de erosión, presenta mal drenaje superficial e interno, con manto freático elevado.

Características químicas: Su capacidad de intercambio catiónico es de alta a media (49-32 meq/100g) predominando el calcio (26-20 meq) y el magnesio (21-18 meq) ricos en materia orgánica (9.64 a 12%), muy ricos en fósforo aprovechable (75 a 65 ppm), pobres en carbonato de calcio (3.8-8.4 ppm), con problemas de sales solubles (8 a 10 mmhos) de sodio intercambiable, los cationes solubles predominantes son el sodio (165 a 67 meq/l), magnesio (94 a 38 meq/l), calcio (36 a 26 meq/l) y bicarbonatos (22 a 18 meq/l) (5).

#### 2.2.4 LABORATORIO CENTRAL:

Se realizaron los análisis de las muestras de rábanos en las instalaciones de Bacteriología de Agua Potable y Virología del

Laboratorio Central de la Dirección General de Construcción y Operación Hidráulica (DGCCH).

Dichas instalaciones cuentan con las siguientes características:

A) Instalación para el análisis Bacteriológico (7):

\* Características generales:

El área está dividida para las distintas funciones que se deban realizar. Estas funciones se agrupan en general en cinco:

- 1- Preparación de material estéril.
- 2- Preparación de medios de cultivo.
- 3- Siembra de las muestras.
- 4- Incubación.
- 5- Conteo de bacterias

B) Instalación para el análisis Viroológico (8):

\* Características Generales:

Al igual que la instalación en Bacteriología, el espacio esta dividido de acuerdo a las distintas funciones agrupándose en tres:

- 1- Procesamiento de muestras.
- 2- Infección e identificación de Enterovirus.
- 3- Mantenimiento de Líneas Celulares.

## 2.3 COSECHA DEL RABANO RAPHANUS sativus. L

### 2.3.1 SIEMBRA DE LA MUESTRA DE RABANO EN XQCHIMILCO:

2.3.1.1 PREPARACION DE LA TIERRA- La chinampa tiene un área de  $15 \text{ m}^2$  (tres metros de ancho y cinco de largo) de los cuales  $6 \text{ m}^2$  están dedicados a la siembra del rábano; el resto se utiliza para la siembra de flores y otro tipo de vegetales cuyo consumo no es en crudo.

Se realiza la limpieza del terreno durante tres días, luego se afloja la tierra (barbechar) y se divide en diez zurcos, cada uno midiendo 10 cm de ancho por 500 cm de largo. Entre cada zurco hay un descanso de 20 cm de ancho. Los zurcos tienen 30 cm de profundidad, se llenan con abono, el cual esta hecho de lirio acuático conocido en ésta zona como huachinango, lama, lodo (sustraído del fondo del canal) el cual se recoge en cuero (bolsa atada al remo) y estiércol de caballo y de vaca. (14)

2.3.1.2 IMPLANTACION- La siembra es directa en forma "mateada". Es decir, se coloca la semilla dentro del zurco ya preparado, dejando cierta distancia entre una y otra, se cubre la semilla con zacate para que no se reseque, se agrega una capa espesa de lodo, así durante tres días siendo la capa cada vez más menuda. Esto con el fin de que no se pierda humedad. La duración de la germinación es de cinco a seis días. (14)

2.3.1.3 IRRIGACION- La irrigación comienza desde el momento de la siembra. Poca agua los primeros días, porque puede arrastrar la semilla y después durante los próximos quince se riega en forma exagerada. El brote de la planta se riega cada tercer día de preferencia en la tarde a la caída del sol, para evitar dispersiones del agua por evaporación. (14)

El método de irrigación es por inundación el cual consiste en la distribución del agua por gravedad sobre toda la superficie del terreno. Se llena el compartimiento con una cantidad relativamente grande de agua la cual penetra verticalmente en la tierra. Se realiza con una bomba que se llena con agua del canal de Apampilco donde se encuentra la chinampa. (14)

2.3.1.4 COSECHA- La cosecha se realiza manualmente después de 30-35 días de sembrado. El inicio de la siembra de estos rábanos en particular fué el 20 de octubre, terminando un mes después.

El rábano es una planta anual propia de todas las estaciones del año, de todos los climas y su composición y valor energético es el siguiente (30):

Agua:	93.6 %
Energía del alimento:	20.0 cal
Proteína:	1.2 g
Grasa	0.1 g
Carbohidratos:	4.2 g
Fibra:	0.7 g
Cenizas	1.0 g
Calcio	37.0 mg
Fósforo:	31.0 mg
Hierro:	1.0 mg

Vitamina A:	30.0 iu
Tiamina:	0.03 ml
Riboflavina:	0.02 mg
Niacina:	0.3 mg
Acido Ascórbico:	24.0 mg

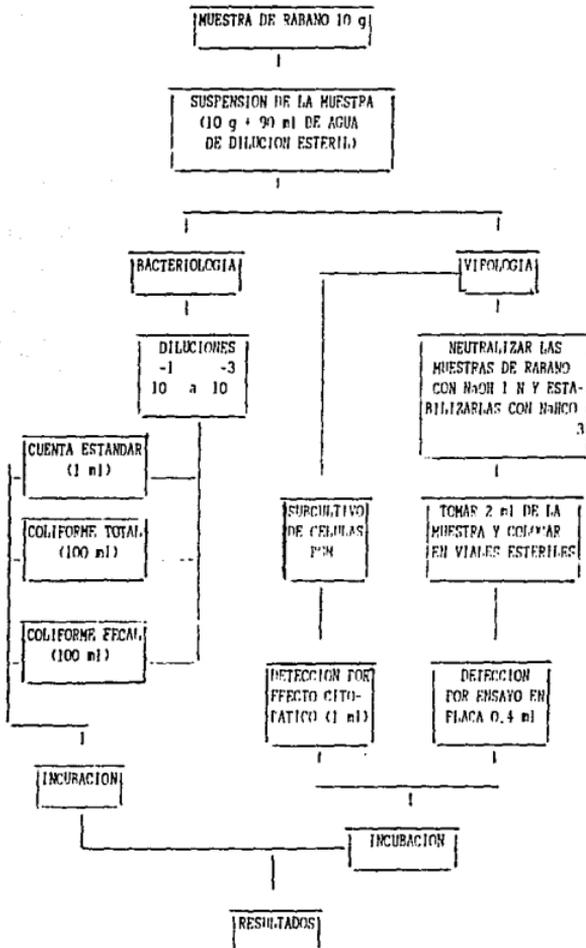
### 2.3.2 RECOLECCION DE LA MUESTRA:

Contando la chinampa con un área de  $15 \text{ m}^2$ , se recolectó al azar un lote de 60 rábanos representativos a los  $6 \text{ m}^2$  de siembra de rábano.

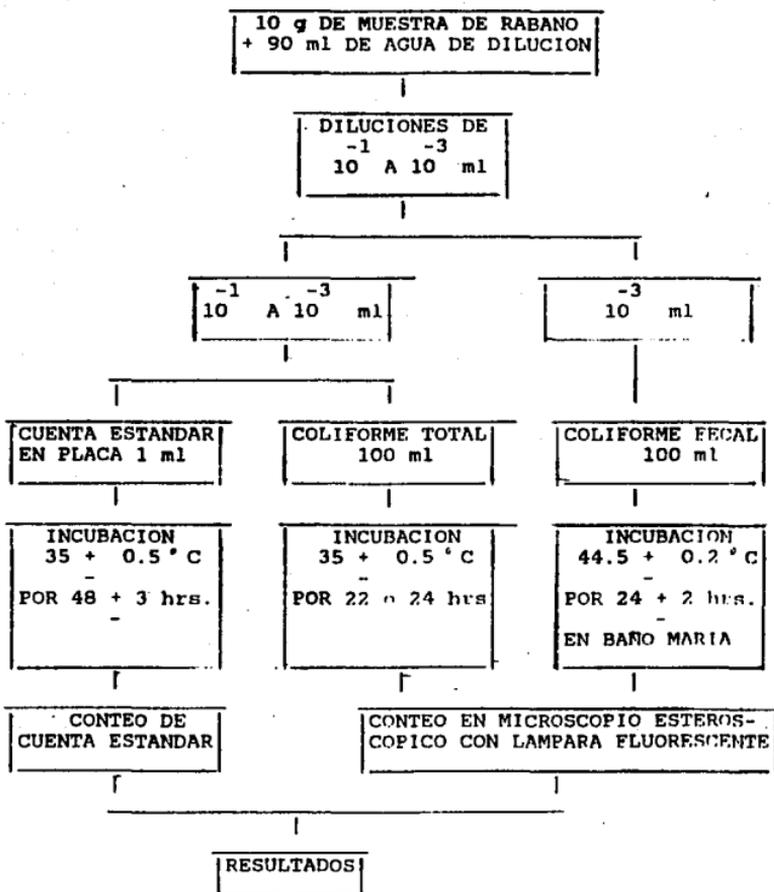
## PARTE EXPERIMENTAL

### 3.1 DIAGRAMAS DE FLUJO

#### 3.1.1 DIAGRAMA GENERAL DE LA METODOLOGIA UTILIZADA EN LOS ANALISIS DE BACTERIAS COLIFORMES Y VIRUS ENTERICOS PARA LAS MUESTRAS DE PABANO *RAPHANUS sativus*, L

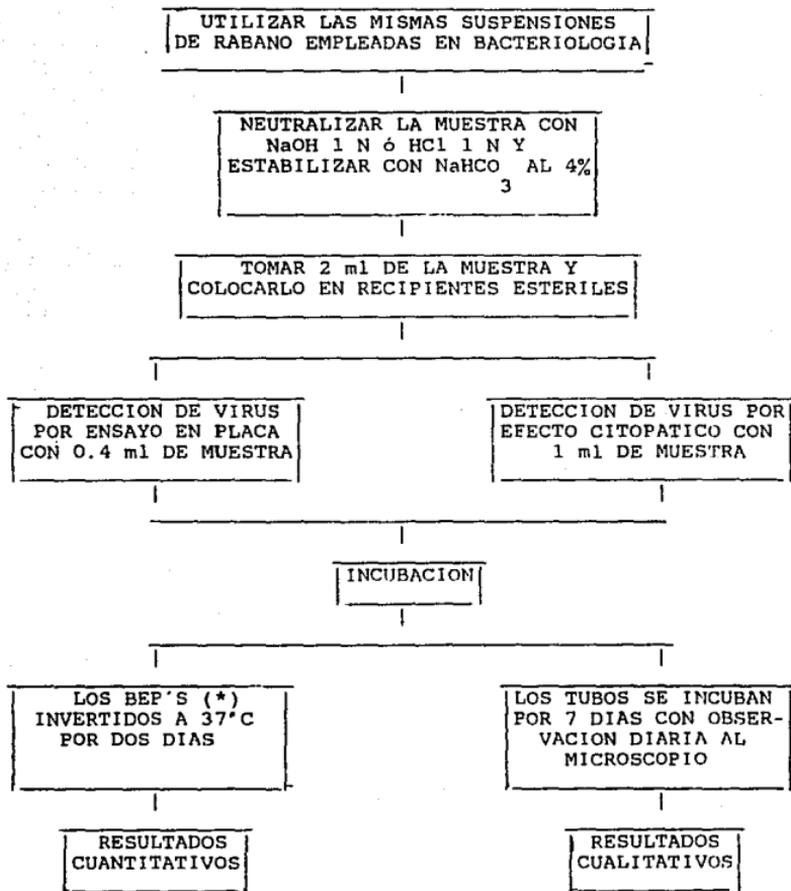


3.1.2 DIAGRAMA DE FLUJO DE LA METODOLOGIA EMPLEADA EN BACTERIOLOGIA DE RABANO *RAPHANUS sativus*. L



Seleccionar 10g al azar de cada uno de los 60 rábanos.

3.1.3 DIAGRAMA DE FLUJO PARA ENTEROVIRUS  
UTILIZADO EN LAS MUESTRAS DE RABANO  
RAPHANUS sativus, L



(\*) BEP'S: Botellas por ensayo en placa

### 3.2 MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO:

#### 3.2.1. MATERIAL PARA EL ANALISIS BACTERIOLOGICO.-

- Asas de platino o nicromel.
- Bolsas de plástico 18.5 x 30 cm.
- Cajas de Petri 60 x 15, 100 x 10, 100 x 15 mm.
- Cuchillo.
- Frascos bacteriológicos con tapón esmerilado de 125 ml.
- Lápiz graso.
- Licuadora con vaso de cristal estéril.
- Matraces Erlenmeyer de 250, 500, 1000 ml.
- Membranas estériles filtrantes de poro 0.45 y 47.0 mm de diámetro.
- Papel aluminio.
- Pinzas estériles de punta redondeada.
- Pipeteros con pipetas de 1 y 10 ml.
- Pissetas estériles de 500 ml.
- Probeta de 100 ml.
- Tabla de madera de 20 x 15 cm.
- Tubos de tapón de rosca de 18 x 150 mm.
- Unidad de filtración de varias plazas. Esta unidad comprende embudos y vasos de vidrio ó metálicos estériles. Los embudos están graduados en 50 y 100 ml.

### 3.2.2 MATERIAL PARA EL ANALISIS VIROLOGICO:

- Botellas de dilución de leche.
- Botellas de ensayo en placa (BEP).
- Bulbo para pipetas Pasteur.
- Gradilla especial para tubos inclinados.
- Manguera de hule Latex.
- Matraz de Kitasato de 250 ml.
- Pipetas graduadas de 1 ml con subdivisión 1/100, 2, 5 y 10 ml.
- Pipetas Pasteur profesional.

### 3.2.3 REACTIVOS USADOS EN EL ANALISIS BACTERIOLOGICO:

- Benzal 1%.
- Cloruro de magnesio (Baker).
- Fosfato Monopotásico (Baker).
- EC Broth (Merck).
- Medio de agar extracto de levadura, glucosa y tripti-  
caseina (Merck).
- Medio de caldo lauril triptosa (Bioxon).
- Medio de caldo verde brillante bilis 2% (Bioxon).
- M Endo broth MF dehydrated (Bacto) (Difco).
- m EC broth base dehydrated (Bacto) (Difco).

#### 3.2.4 REACTIVOS PARA EL ANALISIS VIROLOGICO:

- Agar al 3% (Merck).
- Acido succínico (Difco).
- Aminoácidos esenciales (Microlab).
- Bicarbonato de Sodio al 4.4% (Baker).
- Cloruro de Calcio (Baker).
- Cloruro de Magnesio (Baker).
- Cloruro de Potasio (Baker).
- Cloruro de Sodio (Baker).
- Estreptomicina (Microlab).
- Fosfato Disódico (Baker).
- Fosfato Monopotásico (Baker).
- Glucosa (Difco).
- Hepes (sal sódica) (Microlab).
- Medio de crecimiento MEM 1X (Medio mínimo esencial 9%) (Microlab).
- Medio de cultivo Leibovitz (Microlab).
- Penicilina (Microlab).
- Suero fetal de bovino (SFB al 3%) (Microlab).
- Sulfato de Magnesio (Baker).
- Tripsina (Microlab).
- Verseno (Baker).

### 3.2.5. EQUIPO PARA ANALISIS BACTERIOLOGICO:

- Autoclave con rangos de temperatura 0 a 150 °C (Ciclomático Industrias Médicas Mexicanas S.A.).
- Balanza granataria (Mettler PM 2,000).
- Baño de agua de temperatura constante (Precisión).
- Baño de agua de temperatura constante (Thelco 18).
- Contador de colonias (Quebec).
- Horno con rango de temperatura 0 a 250°C (Mapsa).
- Incubadora (Lab-Line Instruments, Inc.).
- Microscopio estereoscópico con lámpara fluorescente (Baush and Lomb).
- Refrigerador (Nieto).

### 3.2.6 EQUIPO PARA EL ANALISIS VIROLOGICO:

- Autoclave con rango de temperatura de 0 a 150 °C (Ciclomático Industrias Médicas Mexicanas S.A.).
- Campana de flujo laminar (Veco).
- Incubadora con CO<sub>2</sub> (Lab-Line).
- Microscopio invertido (American Optical).
- Multiblock (baño temperatura constante a 37°C) (Lab-Line).
- Pantalla de luz blanca uniforme (American Optical).

### 3.3 METODOLOGIA:

#### 3.3.1 CUENTA ESTANDAR EN PLACA.-

El procedimiento de cuenta estandar en placa es un medio establecido para determinar la densidad de bacterias heterotróficas aerobias y anaerobias facultativas. Es una medida empírica pues no tiene un medio de crecimiento ni condiciones físicas y químicas que puedan satisfacer los requerimientos fisiológicos de todas las bacterias.

#### 3.3.2 METODO DE MEMBRANA PARA COLIFORME TOTAL.-

La técnica de membrana filtrante es altamente reproducible y pueden usarse volúmenes grandes de muestra; además proporciona resultados más rápidos que el método del tubo múltiple. Puede decirse que éste método comprende la detección del grupo coliforme entendiéndose por esto, todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, gram negativas no esporadas en forma de bastoncillos que se reproducen en medio de Endo en 24 hs. a 35 ' C. formando colonias oscuras con brillo metálico amarillo-verdoso.

### 3.3.3 METODO DE MEMBRANA PARA COLIFORME FECAL.-

Para la separación de organismos del grupo coliforme derivados de fuentes no fecales de los de origen fecal, se usan temperaturas más elevadas y más precisas en la incubación a  $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$  para obtener el mínimo de variación en la temperatura de incubación. Se mantienen las cajas Petri sumergidas en baño de agua a dicha temperatura (8).

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1 RESULTADOS.-

Hacer suspensiones de rábano y realizar el análisis virológico, con estas mismas suspensiones hacer diluciones para llevar a cabo los análisis bacteriológicos.

Los datos que se observan en la Tabla I indican el número de colonias detectadas en la tercera dilución de cada uno de los 60 rábanos analizados con las tres técnicas bacteriológicas (Cuenta Estándar, Coliforme Total y Fecal). Seleccionar la tercera dilución por ser la más representativa para su conteo ya que la primera y segunda son imposibles de leer por la gran densidad bacteriana. En la primera columna de la tabla se representan las muestras de rábano analizadas escogidas al azar y su peso en gramos del cual se analizan 10 g tomados indistintamente.

En la Tabla II se observa que de las 60 muestras de rábano analizadas en bacteriología, 22 fueron utilizadas para detectar virus entérico en placa (UEP); las restantes 38 fueron analizadas para indicar la presencia/ausencia de virus entéricos en el rábano.

En la técnica de detección de virus por ensayo en tubo (efecto citopático) hubo muestras contaminadas porque no se tapó debidamente el tubo que contenía la muestras.

En los análisis virológicos no se pudieron analizar (NA) los 60 rábanos con una sola técnica debido a la cantidad reducida de medios de cultivo con el que contaba el laboratorio. La próxima llegada de estos rebasaba el tiempo estimado para realizar el análisis de las muestras. Por esta razón, todo rábano analizado bajo la técnica de placa, no se analizó con la técnica de detección de virus por ensayo en tubo (efecto citopático).

En la Tabla III se indican los resultados cualitativos de los análisis bacteriológicos y virológicos obtenidos del mismo rábano. El signo (+) representa en bacteriología resultados positivos de cada una de las colonias observadas mientras que el signo (-) representa los resultados negativos.

En virología (+) representa la muerte celular por la presencia de virus y (-) representa los resultados negativos.

En la Tabla IV se refleja el número de colonias positivas y negativas de coliforme fecal presentes en la tercera dilución de rábano y de las UFP por virus entéricos en suspensiones de los mismos rábanos en gramos.

TABLA I  
 ANALISIS BACTERIOLÓGICOS EN RABANO (*RAPHANUS sativus*, L)

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	TECNICA CUENTA ESTANDAR (col/ml)	TECNICA DE MEMBRANA PARA COLIFORME TOTAL (col/100ml)	TECNICA DE MEMBRANA PARA COLIFORME FECAL (col/100ml)
1	35.10	625	33	1
2	30.03	975	56	2
3	36.30	155	08	0
4	42.36	905	28	1
5	25.63	110	04	0
6	19.72	115	05	3
7	25.14	755	26	2
8	27.70	218	67	0
9	27.91	380	17	1
10	20.19	300	38	9
11	48.14	720	87	1
12	22.53	770	20	0
13	21.93	240	15	5
14	25.26	170	85	0
15	27.75	520	99	0
16	16.77	145	15	0
17	23.20	177	33	0
18	27.53	170	21	0
19	22.30	140	24	0
20	23.52	200	23	0
21	19.15	100	66	0
22	14.95	230	62	0
23	17.00	199	22	0
24	23.20	115	15	0
25	17.15	108	26	0

TABLA I  
 (CONTINUACION)

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	TECNICA CUENTA ESTANDAR (col/ml)	TECNICA DE MEMBRANA PARA COLIFORME TOTAL (col/100ml)	TECNICA DE MEMBRANA PARA COLIFORME FECAL (col/100ml)
26	28.90	180	28	0
27	17.61	135	49	0
28	31.34	189	26	0
29	18.75	210	60	0
30	31.12	405	15	0
31	18.40	200	23	0
32	20.91	405	21	0
33	22.99	155	65	0
34	21.45	228	38	0
35	34.64	330	20	0
36	16.93	120	26	0
37	16.66	220	45	0
38	14.10	230	30	0
39	22.98	300	09	0
40	21.73	206	18	0
41	18.34	110	34	0
42	27.52	140	38	0
43	18.05	270	28	0
44	12.65	200	58	0
45	15.42	198	25	0
46	10.46	70	20	0
47	10.57	950	24	0
48	46.46	780	40	0
49	28.17	650	75	0
50	18.46	780	19	0

## (CONTINUACION)

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	TECNICA CUENTA ESTANDAR (col./ml)	TECNICA DE MEMBRANA PARA COLIFORME TOTAL (col./100ml)	TECNICA DE MEMBRANA PARA COLIFORME FECAL (col./100ml)
51	11.21	398	30	4
52	14.01	445	19	5
53	12.48	520	17	0
54	17.35	780	38	1
55	14.78	200	15	5
56	20.90	780	15	0
57	12.83	120	40	5
58	10.26	230	28	4
59	10.50	715	11	4
60	10.02	290	26	1

TABLA II

ANALISIS CUALITATIVOS Y CUANTITATIVOS VIROLOGICOS EN RABANO			
MUESTRA	PESO	TECNICA CUALITATIVA	TECNICA CUANTITATIVA
NUMERO	(gramos)	EFECTO CITOPATICO	(UFP/g)
1	35.10	-	NA
2	30.03	-	NA
3	36.30	+	NA
4	42.36	+	NA
5	25.63	-	NA
6	19.72	+	NA
7	25.14	+	NA
8	27.70	+	NA
9	27.91	NA	0.00125
10	20.19	NA	0
11	48.14	NA	0
12	22.53	+	NA
13	21.93	NA	0
14	25.26	NA	0.0025
15	27.75	+	NA
16	16.77	NA	0.0037
17	23.20	CONTAMINADA	NA
18	27.53	CONTAMINADA	NA
19	22.30	-	NA
20	23.52	NA	0.0025
21	19.15	NA	0.00125
22	14.95	-	NA
23	17.00	+	NA
24	23.20	CONTAMINADA	NA
25	17.15	NA	0

## (CONTINUACION)

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	TECNICA CUALITATIVA EFECTO CITOPATICO	TECNICA CUANTITATIVA (UFP/g)
26	28.90	NA	0.0037
27	17.61	NA	0.00125
28	31.34	NA	0
29	18.75	NA	0
30	31.12	+	NA
31	18.40	CONTAMINADA	NA
32	20.91	+	NA
33	22.99	NA	0.00625
34	21.45	NA	0
35	34.64	+	NA
36	16.93	NA	0
37	16.66	NA	0.015
38	14.10	+	NA
39	22.98	NA	0
40	21.73	NA	0
41	18.34	NA	0
42	27.52	-	NA
43	18.05	-	NA
44	12.65	-	NA
45	15.42	+	NA
46	10.46	-	NA
47	10.57	NA	0
48	46.46	NA	0
49	28.17	+	NA
50	18.46	+	NA

TABLA II  
 (CONTINUACION)

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	TECNICA CUALITATIVA EFECTO CITOPATICO	TECNICA CUANTITATIVA (UFP/g)
51	11.21	CONTAMINADA	NA
52	14.01	+	NA
53	12.48	CONTAMINADA	NA
54	17.35	+	NA
55	14.78	-	NA
56	20.90	-	NA
57	12.83	-	NA
58	10.26	+	NA
59	10.50	+	NA
60	10.02	+	NA

TABLA III

RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS ANALISIS  
BACTERIOLÓGICOS (COLIFORME FECAL)  
Y VIROLÓGICOS (EFECTO CITOPÁTICO)

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	COLIFORME FECAL	EFECTO CITOPÁTICO
1	35.10	+	-
2	30.03	++	-
3	36.30	-	+
4	42.36	+	+
5	25.63	-	-
6	19.72	+++	+
7	25.14	++	+
8	27.70	-	+
9	27.91	+	NA
10	20.19	+++++	NA
11	48.14	+	NA
12	22.53	-	+
13	21.93	++++	NA
14	25.26	-	NA
15	27.75	-	+
16	16.77	-	NA
17	23.20	-	CONTAMINADA
18	27.53	-	CONTAMINADA
19	22.30	-	-
20	23.52	-	NA
21	19.15	-	NA
22	14.95	-	-
23	17.00	-	+
24	23.20	-	CONTAMINADA

TABLA III  
 (CONTINUACION)

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	COLIFORME FECAL	EFEECTO CITOPATICO
25	17.15	-	NA
26	28.90	-	NA
27	17.61	-	NA
28	31.34	-	NA
29	18.75	-	NA
30	31.12	-	+
31	18.40	-	CONTAMINADA
32	20.91	-	+
33	22.99	-	NA
34	21.45	-	NA
35	34.64	-	+
36	16.93	-	NA
37	16.66	-	NA
38	14.10	-	+
39	22.98	-	NA
40	21.73	-	NA
41	18.34	-	NA
42	27.52	-	-
43	18.05	-	-
44	12.65	-	-
45	15.42	-	+
46	10.46	-	-
47	10.57	-	NA
48	46.46	-	NA
49	28.17	-	+
50	18.46	-	+

(CONTINUACION)

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	COLIFORME FECAL	EFEECTO CITOPATICO
51	11.21	+++	CONTAMINADA
52	14.01	++++	+
53	12.48	-	CONTAMINADA
54	17.35	+	+
55	14.78	++++	-
56	20.90	-	-
57	12.83	++++	-
58	10.26	++++	+
59	10.50	++++	+
60	10.02	+	+

NA: NO ANALIZADA

TABLA IV

ANALISIS CUANTITATIVOS BACTERIOLÓGICOS Y  
VIROLÓGICOS EN RABANO *RAPHANUS sativus*, L

MUESTRA NUMERO	PESO (gramos)	COLIFORME FECAL col/g	UNIDADES FORMADORAS DE PLACA (UFP/g)
9	27.91	100	0.00125
10	20.19	900	0
11	48.14	100	0
13	21.93	500	0
14	25.26	0	0.0025
16	16.77	0	0.0037
20	23.52	0	0.0025
21	19.15	0	0.00125
25	17.15	0	0
26	28.90	0	0.0037
27	17.61	0	0.00125
28	31.34	0	0
29	18.75	0	0
33	22.99	0	0.00625
34	21.45	0	0
36	16.93	0	0
37	16.66	0	0.015
39	22.98	0	0
40	21.73	0	0
41	18.34	0	0
47	10.57	0	0
48	46.46	0	0

#### 4.2 DISCUSION

En la TABLA I se presentan los resultados cuantitativos de los análisis bacteriológicos (Cuenta Estandar, Coliforme Total y Coliforme Fecal) de los rábanos irrigados con aguas renovadas.

Al no existir una norma específica de calidad microbiológica para el consumo de hortalizas (rábano), se compararon los resultados con los criterios para sancionar aguas renovadas utilizadas en el riego de cultivos para consumir crudos (20) ya que dichas hortalizas fueron irrigadas con este tipo de agua.

TABLA 4

<u>DENSIDAD BACTERIANA</u>		
(Cuenta Estandar)		
<u>CRITERIOS PARA AGUA RENOVADA (DGCOH)</u>	<u>CRITERIO PARA SANCIONAR AGUA RENOVADA SEGUN McKEE &amp; WOLF (1963)</u>	<u>MUESTRA ANALIZADA (RABANO)</u>
col/ml	col/ml	col/ml
200	no sancionado	70,000 a 975,000
<u>COLIFORME TOTAL</u>		
col/100ml	col/100ml	col/100ml
1,000	100	4,000 a 99,000
<u>COLIFORME FECAL</u>		
col/100ml	col/100ml	col/100ml
10	10	0 a 9,000

Por los resultados obtenidos en estos análisis bacteriológicos del rábano se puede discutir que en coliforme total sí se rebasan los parámetros permisibles comparándolos con los de agua renovada, pero están ubicados dentro de la lógica ya que muchos de estos coliformes son de tierra y no de origen intestinal de animales de sangre caliente, lo que ocasionaría problemas serios. Sin embargo, en algunos rábanos se detectó coliforme fecal. Debido a esto, existe un riesgo potencial para la salud. Estudios recientes han subrayado la evaluación del número de coliformes fecales con la ocurrencia de Salmonella que es la bacteria patógena de mayor presencia en agua de irrigación, cultivos y suelos. La sobrevivencia de esta bacteria es de 28 a 53 días, justo el tiempo en que el rábano se desarrolla y se realiza la cosecha (3).

En la siguiente tabla se puede observar la "Dosis infecciosa de algunas bacterias patógenas" (2).

TABLA 5

BACTERIAS	DOSIS INFECCIOSA COLONIAS
Shigella	100
Salmonella	100,000
<u>Escherichia coli</u>	100,000,000
<u>Vibrio cholerae</u>	<100

En los rábanos analizados se detectó la presencia de una gran cantidad de bacterias las que, si se identificaran, podrían ser algunas de las del ejemplo anterior y así correr el riesgo de provocar enfermedades tales como la disentería bacilar, sobre todo en los niños.

TABLA 6

RESULTADOS DEL ANALISIS BACTERIOLOGICO		
POR LA TECNICA DE MEMBRANA PARA COLIFORME TOTAL		
MUESTRA	TOTAL DE MUESTRAS	%
POSITIVAS	60	100
NEGATIVAS	0	0

TABLA 7

RESULTADOS DEL ANALISIS BACTERIOLOGICO		
POR LA TECNICA DE MEMBRANA PARA COLIFORME FECAL		
MUESTRA	TOTAL DE MUESTRAS	%
POSITIVAS	17	28
NEGATIVAS	43	72
	60	100

En base a los resultados, se observa que, de las 60 muestras analizadas, todas presentaron coliforme total mientras que, de las mismas 60, 17 (28%) presentaron coliforme fecal, el cual es un porcentaje significativo. De estas 28% el 18% presentan una densidad superior a las 1,000 colonias por 100 ml. La

probabilidad de que exista Salmonella en rábanos es de 96.4% según la EPA (1972) (3).

Respecto a los aislamientos virales, al no existir en México criterios establecidos para el consumo de vegetales irrigados con agua renovada, se tuvieron que comparar los resultados con los obtenidos en Estados Unidos de América (EUA) (Tabla 2 de "Antecedentes") observándose lo siguiente:

MUESTRA DE RABANO  
ANALIZADA

MUESTRA DE RABANO  
EUA

MES DE OCTUBRE

UFP/g

0.0 a 0.015

UFP/g

0.6 a 154.0

De lo anterior se desprende que los resultados obtenidos en éste trabajo se encuentran muy por debajo de los valores obtenidos en los Estados Unidos de América sobretodo a sabiendas de que una dosis infectiva (1 UFP) en cultivo de tejido es suficiente para infectar a humanos susceptibles.

Desafortunadamente, algunos individuos se presentan como portadores de gérmenes propagando por lo tanto la enfermedad a la comunidad a través de contactos con personas sanas (2).

En la Tabla II se presentan los resultados cualitativos y cuantitativos de los Análisis Viroológicos en rábano.

De las 60 muestras de rábano analizadas en bacteriología, 38

de ellas se realizaron utilizando la Técnica Cualitativa (Efecto Citopático). De estas, 20 muestras resultaron positivas (52%), 12 resultaron negativas (32%) y 6 se contaminaron (16%).

A las restantes 22 muestras de rábano de las mismas 60, se les aplicó la Técnica Cuantitativa (Unidades Formadoras de Placa). De estas, 9 resultaron positivas (41%) y 13 negativas (59%).

TABLA B

	NO. DE MUESTRAS	%
<u>EFEECTO CITOPATICO</u>		
POSITIVAS	20	52
NEGATIVAS	12	32
CONTAMINADAS	6	16
TOTAL (EC)	38	100
<u>ENSAYO EN PLACA</u>		
POSITIVAS	9	41
NEGATIVAS	13	59
CONTAMINADAS	0	0
TOTAL (UFP)	22	100

Aunque los resultados positivos fueron mayores a los negativos, no se puede concluir que exista un riesgo significativo al ingerir estos alimentos debido a que de los 60 rábanos analizados, el 48% de las 29 muestras positivas presentaron

resultados menores de 1 UFP/g.

En las Tablas III y IV se presentan los resultados cualitativos y cuantitativos respectivamente, de los Análisis Bacteriológicos y Viroológicos en rábano.

Comparando los resultados de las dos técnicas bacteriológicas y virológicas se observa que en el 15% de los 60 rábanos analizados hubo presencia de coliforme fecal y virus entérico; el 30% refleja la ausencia de bacterias coliformes fecales y de virus entéricos y el 45% de los rábanos presentan indistintamente coliforme fecal y virus entéricos. Este último porcentaje indica que no existe una relación directa entre el crecimiento de bacterias fecales y virus entéricos y que en algunas ocasiones pueden estar presentes ya sean las bacterias o los virus o ninguno de los dos.

A pesar de que el porcentaje de microorganismos detectado en rábano fué bajo, hay que tomar en cuenta su presencia en este tipo de hortalizas irrigadas con agua renovada el cual es un claro indicio de que sí son vectores de enfermedades gastrointestinales.

## CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos después de analizar las muestras de rábano, se llegó a las siguientes conclusiones:

- En México, como en muchos otros países, ha aumentado la demanda de agua potable a tal grado que se ha hecho necesario establecer ciertos planes para optimizar su manejo, distribución y aprovechamiento así como el tratamiento y uso de aguas renovadas. Sin embargo, este tipo de agua aunque ya tratada, no está lo suficientemente libre de microorganismos como para poder ser utilizada en el riego de vegetales. Tal es el caso de Xochimilco donde los campesinos utilizan el agua proveniente de los canales.
- Debido a lo anterior y con la ayuda de los análisis bacteriológicos y virológicos aplicados al rábano, se pudo detectar la presencia de bacterias coliformes fecales en un 28% de las muestras, es decir, en 17 de los 60 rábanos analizados.
- La presencia de bacterias coliformes es un claro indicador de contaminación por desperdicios cloacales; por lo tanto, de bacterias entéricas patógenas tales como: Shigella, Salmonella, Proteus, Serratia y Erwinia las cuales causan enfermedades gastrointestinales en el hombre.

Este último género (Erwinia) también provoca la necrosis, marchitamiento y podredumbre en las cosechas.

- Por lo que respecta a enterovirus en rábano, en el 48% de las muestras se detectó la presencia de virus entéricos, es decir, en 29 de los 60 rábanos analizados. Su presencia indica la posibilidad de encontrar otro tipo de enterovirus tales como los Rotavirus, Hepatitis Tipo "A", causantes de la hepatitis infecciosa y gastroenteritis infantil.

Una vez realizado este estudio, se llegó a la conclusión de que en el 18% del 28% de las muestras donde se detectó coliforme fecal, sí se rebasaron las 1,000 colonias por 100 ml teniendo con esto la posibilidad de que exista, en un 96.4%, bacterias patógenas como Salmonella y Shigella (conforme a la EPA, 1972).

Por otro lado, en ninguno de los casos donde se detectó la presencia de virus entéricos (48% de la muestra) existe riesgo significativo alguno porque se presentaron resultados menores a una Unidad Formadora de Placa.

- En México falta evaluar el peligro de la presencia de los enterovirus en hortalizas cuyo consumo sea en crudo y previamente irrigado con aguas renovadas mal tratadas.
- De aquí se desprende la necesidad de elaborar más estudios para la identificación de estos virus en los alimentos, como en el caso del rábano, cuya ingestión normalmente es sin cocción.

En base a las anteriores conclusiones, se recomienda:

- En los lugares donde existen problemas de abastecimiento de agua potable, usar aguas renovadas en la irrigación de vegetales siempre y cuando se tomen las siguientes precauciones:

Estas aguas renovadas no sólo deben contener una baja densidad microbiana, sino tampoco otro tipo de metales pesados que puedan producir acumulación en el organismo ocasionando enfermedades tan graves como el cáncer.

Realizar medidas de control necesarias en la calidad de los desechos vertidos en el ambiente que puedan ser la causa de la transmisión de patógenos en hortalizas u otros alimentos.

- Es necesaria la elaboración de normas y/o criterios oficiales microbiológicas en hortalizas naturales y en aguas renovadas.
- Toda hortaliza o fruta que sea consumida sin tratamiento previo de cocción, debe ser irrigada con agua potable libre de microorganismos, ya que el agua renovada contiene una gran densidad de contaminantes microbianos.
- El consumo de las hortalizas que se cosechen en éstas zonas donde se utiliza agua renovada en el riego debe tener un tratamiento previo con cocción o con algún desinfectante

para inactivar cualquier tipo de microorganismo presente en la superficie de dicha hortaliza.

Por lo tanto, es aconsejable consumir el rábano irrigado con aguas renovadas después de ser sometidas a un tratamiento de congelación para disminuir las bacterias. Cabe recalcar que esta práctica no destruirá los virus.

- La adición de bisulfito de sodio en rábanos crudos es responsable de la inactivación de enterovirus. Se sabe que el ácido nucléico del centro del virus es el objetivo principal de la acción del bisulfito de sodio, a pesar de que también se puede alterar la cápsida.
- En virtud de que los rábanos se consumen en crudo, hay que adicionarles ácido acético debido a que su acidez puede ser perjudicial para algunos virus (básicamente rinovirus).
- Los resultados obtenidos en esta investigación podrán marcar la pauta para continuar estudiando la presencia de virus entéricos en alimentos debido a que ya existen técnicas específicas para enterovirus.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Baéz, P.A.  
"Modificaciones de la Calidad de las Aguas del Lago de Xochimilco por el Uso de las Aguas Negras en su Recarga".  
Instituto de Geografía, UNAM, México.  
Ed. Diana (1975).
- 2.- Brittan G.  
"Introduction to Environmental Virology".  
University of Florida  
Ed. Wiley Interscience (1980).
- 3.- Curso Internacional sobre Virología y Parasitología de Aguas Residuales.  
México D.F., del 26 de septiembre al 7 de octubre de 1988.
- 4.- Del Giorgio, I.A.  
"Contaminación Atmosférica".  
Alhambra, España (1986).
- 5.- Departamento del Distrito Federal (DDDF).  
"Plan Xochimilco".  
Comisión Coordinadora para el Desarrollo Agropecuario del D.F.  
(1989).
- 6.- Dirección General de Construcción de Operaciones Hidráulicas.  
"Criterio de Calidad Viroológica del Agua".  
Vol. 1 (1986).
- 7.- Dirección General de Construcción de Operaciones Hidráulicas.  
"Manual de Muestreo y Análisis de Agua Potable, Residual y Renovada".  
Vol. II (1986).
- 8.- Dirección General de Construcción de Operaciones Hidráulicas.  
"Manual de Muestreo y Análisis de Agua Potable, Residual y Renovada".  
Vol. VII (1986).

- 9.- Edward A., L. Joseph, Melnick.  
"Manual de Microbiología Médica".  
 Ed. Acribia Zaragoza España, 9a edición (1981).
- 10.- Enciclopedia Diccionario del Readers Digest.  
 Ed. Readers Digest (1981).
- 11.- Frazier, W.C.  
"Microbiología de los Alimentos".  
 Ed. Acribia Zaragoza España (1981).
- 12.- García E.  
 Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de  
 Köppen".  
 México, D.F. (1981).
- 13.- Handbook for Evaluating Water Bacteriological Laboratories".  
 U.S. Environmental Protection Agency.  
 U.S.A. (1975).
- 14.- "Información Directa por Campesinos de Xochimilco".  
 México, D.F. (1987).
- 15.- Katzenelsm E. Mills D.  
 "Environmental Health Laboratory, Hebrew".  
 University Hadassah.  
 Medical School, Jerusalem, Israel (1980).
- 16.- Larkin, E.P.  
"Foods as Vehicles for the Transmission of Viral  
 Diseases, Indicators of Virus in Water and Food".  
 Ed, Ann Arbor Sci. Anal Aibor, Mich.  
 (1978).
- 17.- "Manual of Methods for Virology".  
 Environmental Protection Agency.  
 Estados Unidos de América (1984).
- 18.- Migaduri L.  
"Technology Conference Proceedings. Advances in Water  
 Analysis and Treatment".  
 Ed. American Water Works Association.  
 U.S.A. (1988).

- 19.- Peñafiel, A.  
"Aprovechamiento de los Manantiales de Xochimilco".  
Memoria de la Sociedad Científica Antonio Alzate.  
Tomo II (1987).
- 20.- "Proyecto de Reglamento para Reuso del Agua en el  
Distrito Federal".  
México, D.F. (1982).
- 21.- Rao, V.C.  
"Virus Transmission through Foods".  
J. Food Science Technol. 13: 287-293  
(1976).
- 22.- Rao and Melnick.  
"Environmental Virology".  
Ed. American Society for Microbiology.  
(1986).
- 23.- Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de  
"Control Sanitario de Actividades, Establecimiento,  
Productos y Servicios" (1988).
- 24.- Rojas R. T.  
"La Agricultura Chinampera".  
Universidad Autónoma de Chapingo.  
(1986).
- 25.- SARH, Comisión Nacional de Fruticultura.  
Memoria del Simposium "La Investigación, el Desarrollo  
Experimental y la Docencia en Conafrut".  
Tomo IV. (1982).
- 26.- SARH  
"Manual de Conservación del Suelo y del Agua".  
Colegio de Postgrado, Universidad Autónoma de Chapingo.  
(1983).
- 27.- SEDUE  
"Problemas Microregionales de Desarrollo Integral para la  
Zona de Canales de Xochimilco, D.F.  
I.D.D.E.C., S.A. (1983).

- 28.- Slade J.S.  
"Methods for the Isolation and Enumeration of Enteric Virus".  
Vol. 5 (1984).
- 29.- "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater."  
Ed. American Public Health Association.  
Ed. American Water Works Association.  
Ed. Water Pollution Control Federation.  
16th Edition (1985).
- 30.- Watt B.K. and Merrill A.L.  
"Composition of Foods-Raw Processed Prepared".  
Bioquímica, 1a. reimpression  
Ed. Cultural S.A. (1971)

## APENDICE

### 7.1 TECNICA PARA EL SURCULTIVO DE CELULAS DE RINON DE MONO VERDE (BGM)-

Aspirar el medio de crecimiento MEM-IX con pipeta Pasteur. Agregar 5 ml de Verseno, agitar la botella horizontalmente con el fin de separar las células muertas y posteriormente aspirar el Verseno.

Agregar 2 ml de Verseno-Tripsina al 0.25% para desprender las células unas de otras y de la superficie de la botella. Dejar el Verseno-Tripsina un máximo de tres minutos y observar al microscopio la separación de las células.

Aspirar el Verseno-Tripsina e incubar durante diez minutos en una atmósfera húmeda con 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de aire y 36 °C.

Suspender las células con medio de crecimiento MEM IX precalentado, proceder a realizar las diluciones correspondientes.

Es conveniente diluir la línea celular. Cuando se trata de la Técnica de Ensayo en Placa, la dilución, que es de 24 ml contenidos en la botella de dilución, se reparten 3 ml de suspensión celular a cada BEP (Botella de Ensayo en Placa) obteniendo como resultado 8 BEP's de cada botella de dilución y aproximadamente en tres días observar la

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

confluencia de células.

Si la técnica es de Efecto Citopático (muerte celular) la dilución es de 1:30, es decir, por cada 30 ml de suspensión celular que contiene la botella de dilución, colocar 1 ml a cada tubo con tapón de rosca y esperar de tres a cuatro días para observar la totalidad de las células. Obtener 30 tubos de cada botella.

#### 7.2 TECNICA PARA DETECCION DE VIRUS POR ENSAYO EN PLACA EN CELULAS BGM-

Retirar el medio de los BEP's; lavar dos veces con 2 ml de PBS-C cada vez; infectar con 0.4 ml de la dilución adecuada; marcar cuidadosamente cada BEP; incubar en atmósfera de 5% CO<sub>2</sub> y 95% aire a 37 °C por una hora; agitar cada 15 minutos; retirar el virus añadido con vacío; volver a lavar dos veces con 2 ml de PBS-C conteniendo 1 ml de Pen-estrep por ml; agregar la primera capa de agar tal y como se indicó en los reactivos; dejar una hora a temperatura ambiente para permitir que el agar se solidifique; incubar los BEP's invertidos con atmósfera de 5% CO<sub>2</sub> y 95% aire a 37 °C durante dos días.

Al cabo del tiempo indicado añadir la segunda capa de agar. Dejar de 30-60 minutos a temperatura ambiente sin mover para que se solidifique el agar.

Incubar los BEP's invertidos y observar después de ocho horas; posteriormente cada 12-16 horas, marcar y contar el número de placas.

Observar las botellas (BEP'S). Sobre una pantalla de luz blanca y uniforme, o sobre fondo oscuro y con luz incidiendo lateralmente.

A los tiempos indicados marcar con un plumón las posibles placas. A los tiempos posteriores marcar con una raya aquella en que se observe un aumento de diámetro. Al tercer día, contar el número de rayas. Este número será considerado como el número de placas. En cada observación, revisar cuidadosamente que la tinción sea uniforme en toda la pared las BEP's. Si hay regiones no teñidas anotar esto en observaciones. Las placas marcadas con rayas deben ser claras y no contener un centro turbio. Estas últimas podrían deberse a crecimiento de bacterias u hongos.

### 7.3 TECNICA PARA DETECCION DE VIRUS POR EFECTO CITOPATICO (EC)

Al tener los tubos con una monocapa de células confluentes, proceder a quitar el medio de cultivo por decantación.

Agregar medio de cultivo (Leibovitz) 1 ml por tubo.

Marcar los tubos con el número de muestra con que se van a infectar y la fecha del día de la infección.

Infectar por duplicado y con una cantidad de 0.3 ml de la muestra concentrada por tubo.

Tapar y meter a incubar por un mínimo de siete días.

Observar diario durante los siete días de incubación al microscopio con el fin de detectar el efecto citopático. Los tubos que salgan positivos se procesan a través de la prueba llamada Pase Ciego.

#### 7.3.1 PASE CIEGO (PRUEBA CONFIRMATIVA)-

El Pase Ciego ayuda a descartar la posibilidad de que por algún tipo de contaminación de algunas sustancias o por algún microorganismo causen el efecto citopático en los tubos inoculados con las muestras. Este Pase Ciego se hace como la Técnica de Detección de Virus por Efecto Citopático solo que, en lugar de infectar con las muestras, infectar con esos dos tubos hechos en dicha técnica, hacer una mezcla de los dos; homogeneizar e infectar nuevos tubos con 0.3 ml de mezcla.

El Pase Ciego es una prueba confirmativa que va a apoyar y reforzar a la prueba de ensayo en placa.

## GLOSARIO DE TERMINOS

**ABONO:** Aquellas sustancias que se aplican al suelo para mejorarlo al proporcionar uno o más de los nutrientes necesarios a los vegetales. Por su naturaleza y composición se denominan abonos orgánicos a los productos orgánicos y fertilizantes químicos a los inorgánicos. Los abonos más importantes, de acuerdo con su procedencia, son: estiércol, gallinaza, gusano, turba y composta. Están constituidos por cierta cantidad de materia orgánica cuyas principales características son:

- a) Aportar macro y micro nutrientes al reducirse compuestos orgánicos complejos en otros que son asimilados por las plantas y microorganismos presentes.
- b) Mejorar las condiciones del suelo tales como la estructura, la capacidad de retención de humedad, la aireación, la capacidad de intercambio catiónico.
- c) Contribuye a la capacidad amortiguadora del pH del suelo.

### **AGUA RENOVADA:**

Son aguas residuales que después de haber sido sometidas a algún proceso de tratamiento, cumplen con

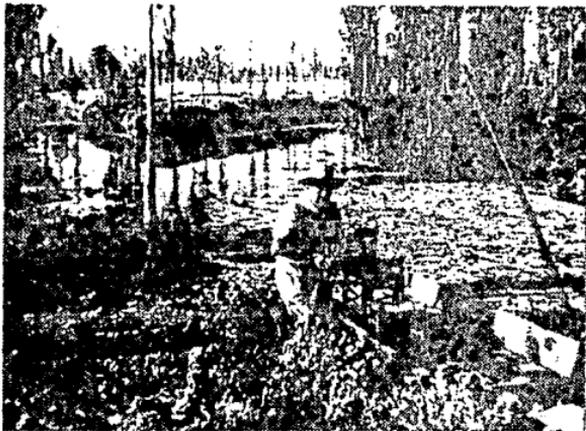
los requisitos de calidad físico, químico y biológico para algún uso benéfico pudiendo emplearse sin riesgo alguno para los usuarios (20).

**EFEECTO CITOPATICO:**

Muerte de las células al ser infectadas por virus o cualquier otro tipo de microorganismo patógeno.

XOCHIMILCO

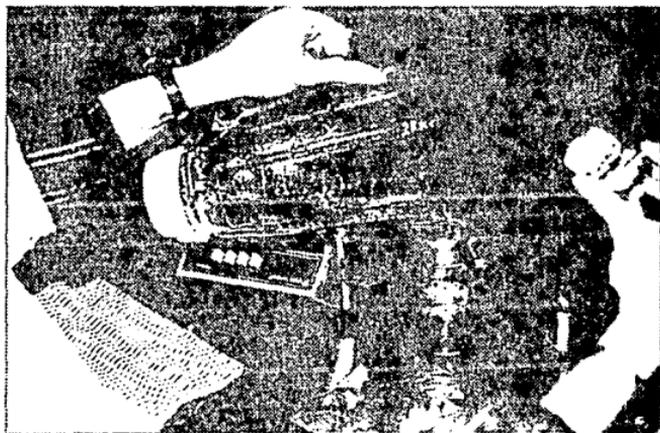
RECOLECCION DE LA MUESTRA



XOCHIMILCO  
RECOLECCION DE LA MUESTRA



PREPARACION DE LA MUESTRA DE RABANO



TECNICA DE FILTRACION DE MEBRANA PARA COLIFORME TOTAL Y FECAL



LECTURA DE COLIFORME TOTAL Y FECAL

