

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**Microflora de Enterobacteriaceae presente en el fruto de  
melón (*Cucumis melo* L.) en la Comarca Lagunera**

**POR  
JOSÉ ALFREDO HERNÁNDEZ CALDERÓN**

**TESIS  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

TESIS QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO  
EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:

## INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

### JURADO EXAMINADOR

**PRESIDENTE**

  
\_\_\_\_\_  
**Ph. D. FLORENCIO JIMÉNEZ DÍAZ**

**VOCAL**

  
\_\_\_\_\_  
**ING. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ**

**VOCAL**

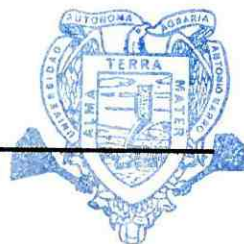
  
\_\_\_\_\_  
**ING. JOSÉ ALONSO ESCOBEDO**

**VOCAL  
SUPLENTE**

  
\_\_\_\_\_  
**DR. ADRIÁN VEGA PIÑA**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE  
CARRERAS AGRONÓMICAS**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO**



Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO" UNIDAD LAGUNA

## DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Microflora de Enterobacteriaceae presente en el fruto de melón  
(*Cucumis melo* L.) en la Comarca Lagunera.

**POR**  
**JOSÉ ALFREDO HERNÁNDEZ CALDERÓN**

**APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA**

**ASESOR  
PRINCIPAL**

  
\_\_\_\_\_  
**Ph. D. FLORENCIO JIMÉNEZ DÍAZ**

**ASESOR**

  
\_\_\_\_\_  
**DR. ADRIÁN VEGA PIÑA**

**ASESOR**

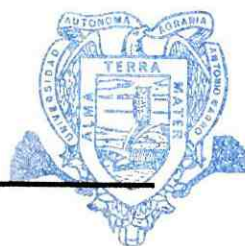
  
\_\_\_\_\_  
**ING. JOSÉ ALONSO ESCOBEDO**

**ASESOR**

  
\_\_\_\_\_  
**ING. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE  
CARRERAS AGRONÓMICAS**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO**



Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

## AGRADECIMIENTOS

**A mi padre Dios** por prestarme la vida e iluminar siempre mi camino y darme una oportunidad de vivir, por que sin él nada seria posible. Gracias por estar conmigo y permitirme alcanzar uno de los logros más importantes.

**A mi Alma Mater** por brindarme todo lo necesario durante mi estancia dentro de ella y por darme la dicha de ser un profesionista.

**Al Dr. Florencio Jiménez Díaz** por ser el asesor principal y por brindarme su valioso apoyo, asesoria, amistad y darme la oportunidad de participar en este trabajo.

**Al Dr. Adrián Vega Piña** por su valioso apoyo y permitirme colaborar con ellos en este trabajo de investigación.

**Al Ing. Alonso Escobedo** por su valiosa colaboración en la revisión de este trabajo de investigación y por la amistad que siempre mantuvimos.

**Al Ing. Javier López Hernández** por su valiosa ayuda y participación en el presente trabajo, por brindarme su amistad durante mi estancia dentro de la universidad.

**A todos mis maestros;** Ph. D. Florencio Jiménez Díaz, Ph D. Teodoro Herrera Pérez, Ph. D. Vicente Hernández Hernández, Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores, M. Sc. Ma. Teresa Valdez Perezgasga, Dr. Fco. Javier Sánchez Ramos, MC. Biol. Claudio Ibarra Rubio, Ing. José Alonso Escobedo, Ing. Javier López Hernández, a todos ellos gracias por haberme brindado sus enseñanzas, las cuales me permiten graduarme como Ing. Agrónomo Parasitólogo, sigan dando lo mejor de ustedes.

**A mis compañeros de carrera:** Yohana, Elvia, Candelario, Juan Pablo, Herminio, Alejandro, Juan José, Jesús Antonio, Alberto, Carlos Gabriel, Miguel, Julio, Oscar, Mariano, Bardomiano, Brigido, Cesar, José y Evaristo. Gracias por la amistad que me brindaron durante el tiempo que estuvimos juntos.

## DEDICATORIAS

**A mi madre la Sra. Florinda Calderón Cruz** con amor, cariño y aprecio; por tu enseñanza moral, intelectual y física, por ser la fuerza y templanza, por apoyarme en todo momento, por tu inquebrantable fé que siempre has tenido en mí; en agradecimiento a lo mas grande que tu me has dado la "Vida".

**A mi padre el Sr. Lorenzo Hernández España** con amor y afecto; por darme la oportunidad y confianza de poder verme realizado en la culminación de mi carrera profesional, por enseñarme que la vida sigue, por darme un ejemplo como padre para salir adelante en mis metas; por apoyarme en este proceso de mi formación profesional y sobre todas las cosas gracias por ser mi padre!

**A mis hermanos Asbeidy, Miguel Ángel, Carlos Alberto, Juan Carlos,** con cariño y respeto, por ser parte fundamental en este proceso; por todo el apoyo moral, físico y mental; por compartir alegrías, tristezas y felicidad, por darme las fuerzas para salir adelante; por todos los momentos compartidos y por haber contribuido en mi formación profesional.

**A Maria Guadalupe** con amor y cariño, por todo tu infinito apoyo para poder verme realizado, por contar contigo, por saber escucharme y por todos tus consejos.

¡A todos ellos, muchas gracias por el apoyo, la paciencia y el tiempo dedicado durante mi estancia dentro de la universidad!

**Sinceramente**

José Alfredo Hernández Calderón.

## RESUMEN

La presencia de microorganismos causantes de enfermedades representa un riesgo biológico de contaminación en la fruta de hortalizas, considerándose el melón como un producto con un mayor potencial de contaminación, ya que el fruto se encuentra durante todo su desarrollo en contacto con el suelo y en ocasiones con el agua de riego donde los canales pueden ser portadores de microorganismos. Otro factor que influye en elevar el riesgo es la presencia de retícula cerosa en la cáscara de la fruta lo que favorece la adherencia y conservación de microflora. Algunos géneros de bacterias de la familia Enterobacteriaceae representan un riesgo potencial de contaminación de la fruta de melón en la mayoría de las regiones del mundo donde se cultiva. El objetivo principal del presente trabajo fue la identificación de posibles bacterias de la familia Enterobacteriaceae presente en el fruto de melón cultivado en la Comarca Lagunera durante el ciclo agrícola primavera - verano 2006, para lo cual se seleccionaron cuatro huertas de melón en donde se tomaron muestras de fruto en planta y cosechado, así como agua de riego, suelo y manos de manipuladores, procesándose cada muestra en diferentes medios de cultivo con el fin de lograr la identificación de los géneros de bacterias presentes. Los principales géneros de bacterias de la familia Enterobacteriaceae presentes en el fruto de melón fueron *Proteus* sp, *Providencia* sp, *E. coli* y *Shigella* sp. En suelo se encontraron *Aerobacter* sp, *Providencia* sp y *E. coli*. En agua de riego *Providencia* sp y en manos de manipuladores *Providencia* sp, *Citrobacter* sp, *Shigella* sp y *E. coli*.

# ÍNDICE GENERAL

	<b>PAGINA</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>i</b>
<b>DEDICATORIAS</b>	<b>ii</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>iii</b>
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	<b>vi</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1 Objetivos	3
1.2 Hipótesis	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>4</b>
2.1 Importancia del problema	4
2.2 Estrategias de México en relación a inocuidad alimentaria	6
2.3 Normatividad	7
2.4 Características generales de los microorganismos contaminantes	8
2.4.1 Morfología	8
2.4.2 Fisiología	9
2.4.3 Resistencia	10
2.4.4 Cultivo	11
2.4.5 Características de crecimiento	12
2.5 Características del género <i>Shigella</i>	12
2.5.1 Taxonomía	13
2.5.2 Determinantes de la patogenicidad	13
2.5.3 Toxinas	15
2.5.4 Epidemiología	15
2.5.5 Patogenia	16
2.5.6 Control	16
2.6 Características del género <i>Salmonella</i>	17
2.6.1 Morfología	18
2.6.2 Patogénesis	18
2.6.3 Aspectos clínicos	19
2.6.4 Ecología	19

2.7 Características de <i>Escherichia coli</i>	20
2.7.1 Grupo Ehec.	20
2.7.2 Patogénesis	20
2.7.3 Aspectos clínicos	21
2.7.4 Epidemiología	22
2.8 Tribu proteceae	22
2.8.1 Taxonomía	22
2.8.2 Características bioquímicas	23
2.8.3 Infección clínica	23
2.9 Pruebas bioquímicas para la identificación de Enterobacteriaceas	24
2.10 Medios de cultivos usados para la detección de la fermentación de hidratos de carbono	25
2.11 Ecología y alimentos	31
2.12 Descripción de riesgos de contaminación	31
2.13 Contaminación del fruto de melón	31
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>33</b>
<b>IV. RESULTADOS Y CONCLUSIÓN</b>	<b>46</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>53</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA</b>	<b>54</b>



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Titulo	Pagina
Cuadro 1.	Composición del Agar-Hierro de Kligler.	26
Cuadro 2.	Pruebas usadas para la caracterización de <i>Salmonella enterica</i> subgrupo I) con importancia clínica.	28
Cuadro 3.	Pruebas usadas para la caracterización de <i>Salmonella enterica</i> subgrupo I) con importancia clínica.	29
Cuadro 4.	Reacciones bioquímicas para la identificación de <i>Proteus</i> .	30
Cuadro 5.	Medios de uso común para el aislamiento de bacilos entéricos.	30
Cuadro 6.	Información general de los huertos de melón seleccionados para la Identificación de bacterias de la familia Enterobacteriaceae 2006.	35
Cuadro 7.	Formula Aproximada del medio MIO para 1000 ml de agua purificada.	37
Cuadro 8.	Formula para la elaboración de agar citrato en 1000 ml de agua purificada.	37
Cuadro 9.	Formula para preparar Agar de Bilis y Rojo Violeta en 1000 ml de agua purificada.	38
Cuadro 10.	Formula para preparar TSI en 1000 ml de agua purificada.	39
Cuadro 11.	Formula para preparar LIA en 1000 ml de agua purificada.	39
Cuadro 12.	Formula para preparar Caldo Urea en 1000 ml de agua purificada.	40
Cuadro 13.	Formula para preparar Agar de Mac Conkey en 1000 ml de agua purificada.	41
Cuadro 14.	Formula para preparar un Litro de Agar Mac Conkey Sorbitol.	41

<b>Cuadro 15.</b>	Formula para preparar un litro de caldo de Tetracionato.	42
<b>Cuadro 16.</b>	Formula para preparar un litro de caldo Cistina-Selenita.	43
<b>Cuadro 17.</b>	Formula para preparar un litro del medio Agar <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> .	43
<b>Cuadro 18.</b>	Formula para preparar un litro de Agar XLD.	44
<b>Cuadro 19.</b>	Composición Tipica de Agar Bismuto (gr / litro).	45
<b>Cuadro 20.</b>	Bacterias de la familia Enterobacteriaceae en el cultivo de melón en planta y cosechado 2006.	47
<b>Cuadro 21.</b>	Bacterias de la familia Enterobacteriaceae en el suelo de huertos de melón 2006.	48
<b>Cuadro 22.</b>	Bacterias de la familia Enterobacteriaceae en muestras de agua de riego de huertas de melón en la Comarca Lagunera 2006.	49
<b>Cuadro 23.</b>	Bacterias de la familia Enterobacteriaceae en manos de manipuladores de fruto de melón en la Comarca Lagunera 2006.	50

## I. INTRODUCCIÓN

Las hortalizas han sido consideradas como alimentos que aportan los nutrimentos necesarios para una dieta adecuada, además de considerarse como complemento en la mayoría de alimentos preparados y por su aporte alimenticio se consideran como la mejor alternativa para combatir la desnutrición a nivel mundial (Yildis, 1994).

Tradicionalmente la característica mas deseada en la producción de hortalizas fue su alta productividad (ton/ha), considerándose la calidad y vida de anaquel como factores secundarios, sin embargo los consumidores actuales han incluido dentro de su demandas además de estos dos factores el aspecto de inocuidad como una característica alternante deseada (Salazar, 2000).

En años recientes los Tratados de Libre Comercio han favorecido el movimiento de productos agrícolas a través de los países, lo que ha ocasionado que a nivel mundial se registre un elevado índice de enfermedades transmitidas por los alimentos, repercutiendo en daños a la salud, elevado índice de gastos hospitalarios, ausencia a las fuentes de empleos y en muchas ocasiones la muerte de las personas (Brackett, 1994).

Los países importadores de alimentos han establecido regulaciones tendientes a definir estrategias con el fin de lograr una producción libre de riesgos para la salud humana mediante la aplicación de reglamentaciones oficiales en cada país productor, o bien mediante el uso de pliegos de condiciones voluntarios que enmarcan los protocolos tendientes a la aplicación de programas de "Buenas Prácticas Agrícolas", encaminadas a

prevenir o minimizar los posibles riesgos de contaminación en todo el proceso de producción correspondiente a la fase de producción primaria en campo, manejo del producto en cuartos fríos, bodega y empaque (Brackett, 1994).

En México el melón se cultiva en algunas regiones de invierno, además de regiones de verano con clima adecuado para su desarrollo, logrando una producción de fruta que generalmente se destina tanto para mercado nacional como a exportación, sin embargo durante tres ciclos consecutivos de producción, al melón enviado a Estados Unidos se le detectó la presencia de bacterias de la familia Enterobacteriaceae, por lo cuál la frontera de ese país fue cerrada para el melón mexicano, lo que repercutió directamente en la economía de las zonas productoras y a nivel nacional ante la imposibilidad de absorber esa fruta tradicionalmente exportable ahora dedicada también al consumo nacional (Salazar, 2000).

La Comarca Lagunera produce fruta de melón de la mejor calidad, lo cual permite asumir que mediante la adopción de un paquete de manejo que incluye las Buenas Prácticas Agrícolas será posible solicitar la certificación de lotes productores para inocuidad alimentaría, considerándose importante la posible identificación de contaminantes microbiológicos para el conocimiento de los puntos críticos de control que facilitan la adopción de Buenas Prácticas Agrícolas (Salazar, 2000).

## **1.1 Objetivos**

Conocer e identificar las posibles bacterias de la familia Enterobacteriaceae presentes en el fruto de melón cultivado en la Comarca Lagunera.

## **1.2 Hipótesis**

Existen algunas bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae presente en el fruto de melón cultivado en la Comarca Lagunera.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Importancia del Problema

En años recientes la preocupación debido al consumo de alimentos contaminados se ha incrementado a nivel mundial. En los Estados Unidos, el Consejo de Tecnología y Ciencia Agrícola estimó que en 1994 ocurrieron 9,000 muertes y de 6.5 a 33 millones de enfermos relacionados al consumo de alimentos en ese país. El Departamento de Agricultura estimó los costos médicos y pérdidas en productividad debido a 7 patógenos específicos en un rango \$ 6.5 billones a \$ 34.9 billones de dólares anualmente (Anónimo, 2000).

Para los países desarrollados con una alta demanda de alimentos como es el caso de los Estados Unidos, el consumidor exige una mayor cantidad de productos frescos todo el año, lo cual desaparece el concepto de productos de estación, aparecen alimentos exóticos y la generalidad de los productos son traídos de regiones agrícolas con diferentes practicas de producción, lo que durante la década de 1990 duplicó los casos de enfermedades causados por alimentos asociados con frutas y vegetales frescos (Saltsman, 1999).

El Centro para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos determinó la magnitud del problema de la contaminación de los alimentos, consignando la ocurrencia en ese país, de 98 brotes de enfermedades relacionados al consumo de alimentos durante 1990 a 1999, siendo los productos más frecuentemente afectados los germinados de alfalfa, jugos sin

pasteurizar, lechuga, tomates, ensaladas verdes, melones y repollo, siendo los organismos presentes *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Cyclospora cayetanensis* y el virus A de la hepatitis (Sapers, 1999).

En el caso de México para 1993 estimó una incidencia de 2.2 niños menores de 5 años con casos de enfermedades diarreicas agudas en el hogar, como 634,316 consultas por enfermedades diarreicas agudas para niños menores de 5 años y 24'007,000 casos de enfermedades diarreicas agudas por año de niños menores de 5 años (Hernández *et al.*, 2000). Asimismo, el INEGI reporta la ocurrencia de 9,585 muertes por enfermedades infecciosas intestinales por cada 100,000 habitantes durante el año 1995 (Cisneros, 1999).

Las organizaciones mundiales relacionadas con los alimentos, como es el caso de FAO y OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y Organización Mundial de la Salud) estiman que aun cuando la inocuidad de los alimentos siempre había sido un tema importante, actualmente ocupa un lugar preponderante en el programa político de muchos países, esto debido al mayor conocimiento de los consumidores sobre el tema, así como los riesgos y desafíos emergentes en el ámbito de la inocuidad de los alimentos, uno de los cuales son los peligros microbiológicos que presentan los mismos. Los factores que han contribuido a esta situación son los agentes patógenos emergentes y reemergentes, las innovaciones en los métodos de producción de alimentos, cambios en el procesamiento y altas exigencias del consumidor (FAO, 2000).

En Octubre de 1999, OMS, FAO y OMC organizaron el evento titulado "Producción de Alimentos más allá del 2000", con la participación de más de 140 países y que tuvo como objeto establecer los principios que deben aplicarse para la producción y comercio de alimentos que no presenten un riesgo para la salud, definiendo como principales conclusiones las siguientes:

(1) Los países toman como referencia la metodología del CODEX para determinar sus niveles de protección, (2) Convocar a los países para que establezcan sus regulaciones en inocuidad con base a principios científicos, (3) Encomendar al CODEX el desarrollo de lineamientos para determinar la equivalencia en sistemas de inspección y certificación, (4) Prevenir que la inocuidad se utilice injustificadamente como una barrera técnica al comercio y (5) Adaptar prácticas agrícolas y de manufactura para producir alimentos seguros (Frías,2000).

## **2.2 Estrategias de México en Relación a Inocuidad Alimentaria**

En base a los acuerdos internacionales, México definió su estrategia sobre inocuidad y calidad alimentaria, la cual está basada en el desarrollo de un Proyecto Integral de Desarrollo Tecnológico para la Calidad Alimentaria (PIDTCA), el cual contempla entre sus actividades los siguientes aspectos: (1) Programa de información y difusión, (2) Programa de infraestructura y equipamiento rural, (3) Programa de investigación, (4) Programa de atención a jornaleros agrícolas, (5) Programa de calidad de agua, (6) Programa de



coordinación con organismos internacionales y (7) Programa de adecuación y marco logístico y normativo en el sector (SAGAR, 2000).

### **2.3 Normatividad**

En relación al marco normativo, la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural emitió la Norma Oficial Mexicana (con carácter de emergente) NOM-EM-034-FITO-2000, requisitos y especificaciones para la aplicación y certificación de Buenas Prácticas Agrícolas en los procesos de producción de frutas y hortalizas frescas, la cual comprende la calidad de agua, manejo de cultivo, manejo de plagas, empacadora, transporte y trabajadores (SAGAR, 2000).

El FDA publicó en Estados Unidos las “Reglas para Reducir al Mínimo el Riesgo Microbiano en los Alimentos en Caso de Frutas y Vegetales Frescos”, la cual contiene lineamientos relacionados con la aplicación de Buenas Prácticas Agrícolas relacionados con agua, estiércol animal y desechos orgánicos municipales sólidos, salud e higiene de los trabajadores, instalaciones sanitarias, sanidad en el campo, limpieza de las instalaciones de empaque y transporte, lo cual está dirigido a lograr la producción de frutas y hortalizas libres de riesgos para la salud humana (FDA, 1999).

## 2.4 Características generales de los microorganismos contaminantes

La familia Enterobacteriaceae esta compuesta por un gran número de especies estrechamente relacionadas que se encuentran en el suelo, el agua, la materia en descomposición y en el intestino grueso del hombre, los animales y los insectos. Esta familia incluye muchos géneros como *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* y otros. Debido a su hábito natural en los seres humanos, estos microorganismos reciben el nombre de "bacilos entéricos". Dentro de esta familia se encuentran algunos de los agentes causales más importantes de enfermedades gastrointestinales tales como los agentes de la fiebre tifoidea y de la disentería bacilar. No obstante la mayor parte de las especies no son patógenos intestinales, sino microorganismos oportunistas que pueden infectar cualquier sitio del organismo cuando se encuentran un huésped alterado. Los bacilos entéricos son responsables de la mayor parte de las infecciones nosocomiales (adquiridas en el hospital) que se observan en la actualidad. El problema se complica más por el hecho de que muchos de los microorganismos aislados son resistentes a múltiples agentes antimicrobiales (Alianza Internacional de HACCP, 1998).

### 2.4.1 Morfología

La familia Enterobacteriaceae son bacilos gram negativos pequeños (0.5 por 0.3 milimicras) que no forman esporas. Pueden ser móviles o inmóviles. Cuando son móviles la locomoción se realiza por medio de los flagelos

peritricos. Una propiedad que ayuda a diferenciarlos de las Pseudomonadaceae y las Vibrionaceae, son flagelos polares. Dos géneros *Shigella* y *Klebsiella*, son típicamente inmóviles (Madigan *et al.*, 1997).

Se asume que los bacilos entéricos pueden poseer una cápsula bien definida, como se ve en el caso del género *Klebsiella*, o una cubierta laxa y mal definida conocida como cubierta mucosa, o pueden carecer de cualquiera de estas estructuras. Las fimbrias o Pili están presentes en casi todas las especies y son responsables de la fijación de células bacterianas a otras bacterias, a las células huéspedes y a los bacteriófagos. La pared celular está compuesta por lipoproteína, fosfolípido proteína y lipopolisacáridos (LPS) y tienen una disposición laminar (Joklik *et al.*, 1994).

La cepa lipoproteína-mureína constituye alrededor del 20% de la pared de la célula y es responsable de la rigidez celular. El 80% restante de la pared celular se une con los lípidos de la lipoproteína para formar la bicapa lipídica. El LPS contiene las cadenas laterales polisacáridos específicos que determinan la antigenicidad de las diversas especies y es la porción de la célula responsable de la actividad endotóxica (Madigan *et al.*, 1997)

#### **2.4.2 Fisiología**

La familia Enterobacteriaceae está compuesta por microorganismos facultativos con diversidad bioquímica. Cuando se desarrollan en anaerobiosis o en atmósfera con baja tensión de oxígeno, fermentan los hidratos de carbono, pero cuando se les ofrece suficiente cantidad de oxígeno utilizan el

ciclo del ácido tricarboxílico y el sistema de transporte de electrones para la producción de energía. Por definición, todos los miembros de la familia fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos pero no licuan el alginato y son oxidasa-negativos. Casi todos los bacilos entéricos fermentan la glucosa por la vía ácido mixto, pero los miembros de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia* utilizan la vía fermentativa del butanodiol. Las distintas especies difieren en los hidratos de carbono que fermentan y estas diferencias, junto con las variaciones en la producción del producto terminal y en la utilización del sustrato, constituyen la base para la determinación de las especies dentro de esta familia (Dunlop y Wang, 1961).

En medios no diferenciales o no selectivos, como por ejemplo agar sangre o agar infusión, las diversas especies no pueden ser distinguidas entre sí y se desarrollan como colonias húmedas, lisas y grises. Es posible que se produzca variaciones de lisas a rugosas. Algunas cepas de ciertos géneros son B. hemolíticas (Joklik *et al.*, 1994).

### **2.4.3 Resistencia**

Los bacilos entéricos no producen esporas, son destruidos con relativa facilidad por el calor y por concentraciones bajas de germicidas y desinfectantes comunes. Los compuestos fenólicos, el fenoaldehido, el B-glutaraldehido y los compuestos halogenados son bactericidas, pero los compuestos de amonio cuaternario pueden actuar sólo como bacteriostáticos, lo que depende de la fórmula particular y de la situación en la cual se les

utiliza. La cloración del agua ha resultado efectiva para el control de la diseminación de los patógenos intestinales, por ejemplo el agente de la fiebre tifoidea. Los bacilos entéricos también son relativamente sensibles a la desecación y pueden sobrevivir durante periodos prolongados si se les proporciona una humedad adecuada. Los equipos de asistencia respiratoria y de anestesia han servido como fuentes de infección por enterobacterias en los hospitales y los microorganismos han sido aislados de la nieve y del hielo después de varios meses, lo que proporciona un mecanismo de contaminación de los suministros de agua durante los deshielos de la primavera. El control de estos microorganismos en los alimentos puede lograrse por pasteurización, por cocción y por refrigeración apropiada (Madigan *et al.*, 1997).

#### **2.4.4 Cultivo**

La *E.coli* y la mayor parte de las bacterias entéricas forman colonias lisas, circulares, convexas, con bordes bien diferenciados.

Las colonias de *enterobacter* son similares pero un poco más mucoides. Las colonias de *Klebsiella* son grandes, muy mucoides y tienden a confluir cuando la incubación se prolonga. Las *Salinellas* y las *Shigellas* producen colonias similares a la *E. coli*, pero no fermentan la lactosa. Algunas cepas de *E.coli* producen hemólisis en agar sangre (Alianza Internacional de HACCP, 1998).

### **2.4.5 Características de crecimiento**

En la diferenciación bioquímica puede emplearse los patrones de fermentación de los carbohidratos y la actividad de los aminoácidos, descarboxilasas y otras enzimas. Algunas pruebas, por ejemplo, producción de indol a partir de triptofano, se emplean con regularidad en sistemas de identificación rápida, en tanto que otras, como la reacción de Voges-Proskauer (producción de acetilmetilcarbinol a partir de la glucosa) se utiliza con menor frecuencia. Los cultivos sobre medios "diferenciales" con colorantes especiales y carbohidratos (por ejemplo, eosina-azul de metileno EMB, de MacConkey o medio de desoxicolato), distinguen las colonias fermentadoras de lactosa (pigmentada) de las no fermentadoras de lactosa (no pigmentada) y permiten una identificación presunta rápida de las bacterias entéricas (Madigan *et al.*, 1997).

### **2.5 Características del género *Shigella***

Las especies *Shigella* constituyen las causas más importantes de la disentería bacilar, una enfermedad que se caracteriza por cólicos abdominales y la deposición frecuente y dolorosa de un escaso volumen de heces que contiene sangre y moco. La mayor parte de los casos se presentan en el grupo etario pediátrico y el porcentaje más alto de infecciones ocurre entre los niños de 1 a 10 años. Se ha estimado que en los Estados Unidos las *shigellas* causan el 15 % de las diarreas pediátricas, en tanto que en los

países en desarrollo estos microorganismos son la causa primaria de diarrea y mortalidad infantil (Fernández *et al.*, 1989).

### **2.5.1 Taxonomía**

Desde el punto de vista las *Shigella* son indistinguibles de la *Escherichia coli* y la mayoría de los taxónomos considera que se trata de la misma especie. No obstante, que casi todas las cepas de *Shigella* producen disentería bacilar y la mayor parte de las *E. Coli* no lo hacen, una alta porción de microorganismos clínicos continúan empleando las dos designaciones de género. Las *Shigella* se dividen en cuatro serogrupos mayores que han recibido nombres de especies (Espinoza y Lozano, 2002).

Serogrupo A *Shigella dysenteriae*

Serogrupo B *Shigella flexneri*.

Serogrupo C *Shigella boydii*.

Serogrupo D *Shigella sonnei*.

Los serogrupos A, B y C tienen propiedades bioquímicas similares, en tanto que el serogrupo D es bioquímicamente diferente. Todas las *Shigella* pueden causar disentería bacilar, pero la gravedad de la enfermedad, la mortalidad y la epidemiología varían para cada especie (Fernández *et al.*, 1989).

### **2.5.2 Determinantes de la Patogenicidad**

Los microorganismos patógenos deben sobrevivir al pasaje a través del tracto gastrointestinal superior, unirse a las células del colon y penetrar en las células epiteliales. Una vez dentro de las células, se multiplican y pasan de

una célula a otra. La multiplicación bacteriana produce inflamación, muerte de las células epiteliales, ulceración, deficiencia de la absorción del líquido por el colon y evacuación de sangre, moco y pus. Durante las primeras 24 a 48 horas alrededor del 50 % de los pacientes se presentan con diarrea acuosa y fiebre (Farmer *et al.*, 1991).

La *Shigella* virulentas penetran en la mucosa y en las células epiteliales del colon en forma irregular. Rara vez lo hacen más allá de las células epiteliales hacia la lámina propia. La fijación de los microorganismos puede involucrar a cationes divalentes como el calcio. El ingreso de las bacterias puede ser consecuencia de una endocitosis mediada por receptores o de la producción de algún producto bacteriano que provoque una respuesta en la célula huésped. Tanto las células huésped como las bacterias deben estar metabólicamente activas para que se produzca la internalización de las *Shigella*. Al principio los microorganismos están contenidos en los fagosomas, pero los microorganismos virulentos los rompen y se multiplican en el citoplasma. Esto se contrapone con la situación que se observa en el caso de las *Salmonella*, las que permanecen dentro de las vacuolas del huésped. Es probable que las *Shigella* rompan la membrana fagosómica con la hemolisina de contacto codificada por el plasmido, un componente hemolítico que exige que el microorganismo esté en contacto directo con las membranas de la célula huésped (Brackett, 1994).



### 2.5.3 Toxinas

Es probable que la muerte de la célula sea consecuencia de las propiedades citotóxicas de la toxina Siga, la cual interviene en la síntesis protéica. Las *Shigella* transportan un gen para la toxina en el cromosoma y los microorganismos que producen mayores niveles de toxina son los que causan una enfermedad más grave. Esta toxina posee una multiplicidad de efectos y es neurotóxica, citotóxica y enterotóxica (Espinoza y Lozano, 2002).

### 2.5.4 Epidemiología

Solo los primates superiores son infectados de forma natural por *Shigella*, por consiguiente, la diseminación de *Shigella* se produce de persona en persona a través de la vía fecal-oral. El reservorio es el portador que elimina el microorganismo en sus heces. Habitualmente el estado del portador dura de 1-4 semanas, aunque se han descrito portadores por periodos prolongados en ambientes cerrados. Desde los portadores los microorganismos pueden ser diseminados por moscas, dedos, alimentos o heces. Las *Shigella* pueden aislarse de las vestimentas de asientos de inodoros o de aguas contaminadas por individuos infectados. Debido a sus hábitos orales los niños menores de 5 años dan cuenta de casi la mitad de los casos y los dos tercios del total de los casos notificados corresponden a niños menores de 10 años (Ferreccio *et al.*, 1991).

Los brotes que afectan a muchas personas se producen en grupos cerrados como familias, hospitales para enfermos mentales, reservaciones

indígenas, guarderías, prisiones o cruceros. La transmisión secundaria es elevada y los niños menores de 1 año son los más susceptibles y los que presentan una tasa de infección del 60% en comparación con el 20% para otras edades. La transmisibilidad elevada es atribuible a la baja dosis infectante necesaria para provocar la infección. Algunos estudios realizados en voluntarios humanos sanos indican que algunos individuos necesitan apenas 200 microgramos para producir la enfermedad. El porcentaje de individuos infectados aumenta a medida que se incrementa el número de microorganismos infectantes (CDC, 2003).

### **2.5.5 Patogenia**

Como ocurre en casi todas las enfermedades el espectro de síntomas en la shigelosis varía desde la infección asintomática, hasta la disentería bacilar grave con fiebre alta, escalofríos, convulsiones, cólicos abdominales, tenesmo y deposiciones sanguinolentas frecuentes. El paciente típico presenta al comienzo fiebre y diarrea acuosa que cambia al segundo día a deposiciones frecuentes pero de poco volumen con sangre y moco (Fernández *et al.*, 1989).

### **2.5.6 Control**

Dado que los seres humanos representan el único reservorio para la *Shigella* las normas sanitarias adecuadas, la detección y el tratamiento de los portadores continúan siendo las únicas medidas efectivas para controlar

la enfermedad. De ser posible, los pacientes deben ser mantenidos en aislamiento entérico hasta que los cultivos resulten negativos. Los portadores deben ser tratados y no se les debe permitir que manipulen los alimentos. Para controlar la diseminación de las *Shigella* y de otros patógenos intestinales gram negativos la eliminación apropiada de las aguas servidas y la cloración del agua son medidas importantes. El amamantamiento durante el primer año de vida también ha resultado efectivo para la reducción de la Shigelosis en los niños. Se han desarrollado varios tipos de vacunas, que incluyen híbridos con otros microorganismos y que se encuentran en distintas etapas de ensayo. Sin embargo hasta la fecha no se dispone de una vacuna efectiva para la prevención de la Shigelosis (Boeheme *et a.*, 1992).

## **2.6 Características del género *Salmonella***

En la mayor parte del mundo, *Salmonella* es el microorganismo más reportado como causante de daño por ingesta de alimentos contaminados, mientras que en países desarrollados, no son frecuentes los alimentos contaminados con *E. coli*, donde los estándares de calidad en higiene y sanidad son normalmente altos. Sin embargo la incidencia de daño por consumo de alimentos contaminados con *E. coli* 0157:H7, se ha incrementado desde 1980 incluso en estos países. Otros organismos frecuentemente encontrados en carnes son *S. aureus* y *L. monocytogenes*, el primero como consecuencia de contaminación a partir de manipuladores y animales y el segundo proveniente de una gran diversidad de fuentes debido

a su hábitat cosmopolita, capaz de crecer y multiplicarse a bajas temperaturas (4°C), por lo cual es de gran importancia para alimentos que se conservan en refrigeración (Benenson, 1996).

### **2.6.1 Morfología**

Bacilos pequeños, gram negativos, anaerobios facultativos no esporulados, presentan más de 2000 serotipos acorde al sistema basado en antígenos somáticos (O) y flagelar (H), conocido como el esquema Kauffmann-White. Distribuidos ampliamente en la naturaleza y que tiene como reservorio tanto al hombre como a los animales. La enfermedad que ocasiona es consecuencia de la ingestión de alimentos inadecuadamente almacenados o preparados y por lo cual el microorganismo alcanza la dosis de infección adecuada (Benenson, 1996).

### **2.6.2 Patogénesis**

Después de la ingestión y paso a través del estómago, la bacteria se multiplica y adhiere al borde de las células epiteliales al final del intestino delgado y del colon. Después de multiplicarse en el folículo linfóide en el desarrollo de la respuesta de leucocitos, siguen una hiperplasia linfóidee hipertrofia. Esta respuesta inflamatoria media la liberación de prostanglandinas, las cuales estimula el CAMP y producen secreción activa de fluido, resultando en diarrea (Ewing, 1986).

### 2.6.3 Aspectos clínicos

El síndrome por *Salmonella* se presenta de 12 a 14 hrs. después de la ingestión del alimentos infectante y básicamente consiste de nauseas, vomito, dolor abdominal, dolor de cabeza, calambres y diarrea. Se puede acompañar por postración, fiebre moderada o fatiga. Generalmente se recuperan a los 7 días y el antibiótico no se prescribe si solo presentan síntomas gastrointestinales. La mortalidad es baja (4.1%) aunque *S. cholerae suis* se ha reportado hasta con un 21%. Algunas complicaciones por *S. enteritidis* son fallo renal, osteomielitis y meningitis, que requieren de una terapia apropiada con antimicrobianos (Espinoza y Lozano, 2002).

### 2.6.4 Ecología

El hábitat de *Salmonella* es el tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente, ocasionalmente insectos, los cuales pueden transportarla a otros lugares, por lo que es común encontrarla en agua, especialmente las muy contaminadas. Crece y se multiplica en un rango amplio de temperaturas y alimentos, es fácil de diseminar y pasarse de persona a persona; existe un prolongado periodo de excreción después de adquirirse. La frecuencia de esta bacteria en las poblaciones se debe en parte a la presencia de individuos portadores infectados por el microorganismo. Huevos, aves, carne y productos cárnicos son los alimentos más frecuentes involucrados como vehículos de la enfermedad (Blustein, 1993).

## **2.7 Características de *Escherichia coli***

Es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo y no formador de esporas. Habitualmente la *E. coli* es empleada como indicador de contaminación fecal en alimentos y agua debido a su hábitat intestinal en humanos y animales. No se considera patógena, sin embargo algunas cepas han adquirido la capacidad de producir enfermedad como consecuencia de la adquisición de plásmidos codificantes para los factores de virulencia. Algunas de estas cepas son conocidas como enteropatógenas (EPAC), enteroinvasivas (EIEC); enterotoxigénicas (ETEC) y enterohemorrágicas (EHEC) que son de las más estudiadas (Drasar y Hill, 1999).

### **2.7.1 Grupo Ehec**

En este grupo las cepas de *E. coli* ocasionan una enfermedad que tiene como complicación la colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico. Por lo tanto se le conoce a la *E. Coli* 0157:H7 como el agente causal de dichos padecimientos y es de las más estudiadas. Presenta tres características importantes que las diferencian de la *E. Coli* típica y que corresponden a la incapacidad para fermentar sorbitol en 48% , no produce B-gluconidasa no fluorescencia de la colonia y no crece a 42°C (Novier *et al.*, 2000).

### **2.7.2 Patogénesis**

La enfermedad es consecuencia de la acción a nivel intestinal de una o más toxinas (verotoxinas) codificadas por un plásmido y que es responsable

de su producción. Los efectos patológicos incluyen cambios morfológicos en células epiteliales, incremento en la actividad mitótica de criptas, falta de mucina y de infiltración de células polimorfonucleares en la mucosa. Estos cambios son asociados a la presencia de verocitotoxinas libres en colon y resulta en diarrea acuosa y/o sanguinolenta, toleran acidez y se adhiere a células epiteliales ocasionando pérdida de micro vellosidades. Produce verotoxina 1 y 2 las cuales probablemente abandonan el lumen intestinal para causar efectos sistémicos (CDC, 2003).

### **2.7.3 Aspectos clínicos**

Se produce colitis hemorrágica (CH) o Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). En la CH se presenta diarrea acuosa y sanguinolenta acompañada de dolor abdominal, el cual causa confusión con apendicitis, poco vomito y fiebre baja, después de 2 a 8 días de incubación, que varia alargándose hasta los 12. En el SUH la diarrea sanguinolenta se observa que en el 90% de los casos, hay anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y nefropatia aguda. Estos síntomas son muy similares a la púrpura trombocitopenia trombótica en donde el sistema nervioso llega a involucrarse. Aunque en la mayoría de los pacientes se presenta la recuperación después de los ocho días, se han reportado casos de mortalidad en niños y ancianos con problemas médicos. La terapia antimicrobiana es poco efectiva pero en casos serios la ciprofloxacina es la droga de elección (CDC, 2003).

#### 2.7.4 Epidemiología

El primer reporte de CH causado por EHEC fue en 1982 en los Estados Unidos de Norteamérica (USA). Subsecuentemente se han presentado epidemias y casos esporádicos en Canadá, Japón, y Reino Unido (UK). Entre 10, 000 y 20, 000 infecciones por *E. coli* 0157:H7 ocurren cada año en USA. Se reportaron 16 epidemias en 1993 y otras 11 durante los primeros 6 meses de 1994. Su aspecto epidemiológico no es muy claro, ya que es muy raro aislar *E. coli* 0157:H7 de alimentos (CDC, 2003).

### 2.8 Tribu Proteceae

Ewing dividió a las Enterobacteriaceae en tribus integradas por géneros estrechamente relacionados. Aunque en la actualidad la mayoría de los taxónomos no acepten esta división, el concepto resulta útil para la descripción de los géneros *Proteus*, *Morganella* y *Providencia*. La mayor parte de los aislamientos de esta tribu provienen de la orina, si bien a menudo se producen infecciones en otras partes del cuerpo (Joklit *et al.*, 1994).

#### 2.8.1 Taxonomía

El género *Proteus* esta constituido por dos patógenos de aislamiento frecuente, *P. mirabilis* y *P. vulgaris*, por un patógeno humano muy raro, *P. penneri*, y por *P. myxofaciens* aislada de mariposas de los árboles (Joklit *et al.*, 1994).



### 2.8.2 Características Bioquímicas

*Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris* tienen una activa movilidad a 37°C, lo que produce una cepa de desarrollo traslúcido en medios no selectivos como agar - sangre. Este fenómeno se conoce como "swarming" (hormiguelo). Estas dos especies también producen sulfuro de hidrógeno a partir de tiosulfato sódico, lo que puede ocasionar que las colonias de estos microorganismos sean confundidos con las de los bacilos entéricos patógenos de *Salmonella*. Todos los miembros de la tribu pueden diferenciarse de otros bacilos entéricos por su capacidad para producir fenilalanina desaminasa. Todas las especies de *Proteus* producen una ureasa poderosa que hidrolizan rápidamente la urea a amoníaco y dióxido de carbono. En contraste con otros miembros de la tribu proteae. *P. mirabilis* no hidroliza el triptofano a indol y esta característica ha sido utilizada en la literatura médica para dividir a los microorganismos en *Proteus* indol-positivos e indol-negativos (Joklit *et al.*, 1994).

### 2.8.3 Infección Clínica

*Proteus mirabilis* es responsable de la mayor parte de las infecciones humanas. Es la segunda causa en importancia de las infecciones de las vías urinarias adquiridas en la comunidad y una causa principal de las infecciones nosocomiales. Todos los miembros de la tribu pueden provocar infecciones del tracto urinario y de heridas, neumonía y septicemia. La mayor parte de los aislamientos son resistentes a múltiples antibióticos, aunque *P. mirabilis* es

sensible a los antibióticos ampicilina y cefalosporina. Todas las Proteae son resistentes a la tetraciclina (Joklit *et al.*, 1994).

## 2.9 Pruebas bioquímicas para la identificación de Enterobacteriaceas

La identificación definitiva de miembros de las Enterobacteriaceas puede requerir una batería de pruebas bioquímicas. Es posible evitar una considerable pérdida de tiempo e identificaciones probablemente erróneas si se hacen algunas observaciones preliminares para asegurar que el microorganismo pertenece a este grupo. Si el microorganismo es un bacilo gram negativo de otro grupo, puede ser necesario utilizar un conjunto de características diferentes del que se utiliza para la identificación de Enterobacteriaceae. Con pocas excepciones, todos los miembros de Enterobacteriaceae muestran las siguientes características (Espinoza y Lozano, 2002).

- a)- la glucosa es metabolizada en forma fermentativa.
- b)- no hay actividad de citocromooxidasa.
- c)- los nitratos son reducidos a nitritos.

Sin embargo, la diferenciación de las Enterobacteriaceae se basa principalmente en la presencia o ausencia de diferentes enzimas codificadas por el material genético de los microsomas bacterianos. Estas enzimas dirigen el metabolismo bacteriano a lo largo de una de diversas vías que pueden detectarse en medios especiales usadas en técnicas de cultivo *in vitro* (Koneman *et al.*, 1998).

Los substratos con los cuales pueden reaccionar estas enzimas se incorporan al medio de cultivo junto con un indicador que puede detectar la utilización del substrato o la presencia de productos metabólicos específicos. Eligiendo una serie de medios que evalúan diferentes características metabólicas de los microorganismos, es posible establecer un perfil bioquímico para hacer la identificación de especie (koneman *et al.*, 1998).

Los bacilos de la familia Enterobacteriaceae crecen sobre peptona o medios con extracto de carne sin adición de cloruro de sodio ni otros suplementos, crecen bien en agar Mac Conkey, crecen en condiciones aerobias y anaerobias (son anaerobio facultativos), fermentan la lactosa en vez de oxidarla y con frecuencia producen gas, son catalasa-positivos y oxidasa-negativos y reducen el nitrato y nitrito, poseen un contenido de 39-59% G + C en el DNA (koneman *et al.*, 1998).

## **2.10 Medios de cultivos usados para la detección de la fermentación de hidratos de carbono**

En la práctica, microorganismos que son incapaces de fermentar glucosa por lo común se detectan por las reacciones que producen al crecer en Agar Hierro de Kligler (KIA) o el Agar-Hierro-Triple Azúcar (TSI). Una reacción de pico de flauta alcalino/profundidad alcalina (no cambio) en cualquiera de estos medios indica ausencia de producción ácida y una incapacidad del microorganismo para fermentar la glucosa y otros hidratos de carbono presentes. Esta reacción solo es suficiente para excluir un microorganismo de la familia Enterobacteriaceae (koneman *et al.*, 1998).

La formula de KIA es la siguiente (se notará que la formula del Agar-TSI es idéntica excepto por el agregado de 10 gramos de sacarosa):

**Cuadro 1. Composición del Agar-Hierro de Kligler (Koneman *et al.*, 1998).**

<b>INGREDIENTE</b>	<b>CANTIDAD (GR)</b>
<b>Extracto de carne</b>	<b>3</b>
<b>Extrarcto de levadura</b>	<b>3</b>
<b>peptona</b>	<b>15</b>
<b>Proteosa peptona</b>	<b>5</b>
<b>Lactosa</b>	<b>10</b>
<b>Glucosa</b>	<b>1</b>
<b>Sulfato ferroso</b>	<b>0.2</b>
<b>Cloruro de sodio</b>	<b>5</b>
<b>Tiosulfato de sodio</b>	<b>0.3</b>
<b>Agar</b>	<b>12</b>
<b>Rojo de fenol</b>	<b>0.0024</b>
<b>Agua destilada hasta completar</b>	<b>1.0 lt.</b>
<b>PH final 7.4</b>	

La incorporación de ambas formulas (KIA Y TSI) de cuatro derivados protéicos: extracto de carne, extracto de levadura, peptona y proteasa peptona, hacen que los medios sean muy ricos nutricionalmente. La ausencia de inhibidores permite el crecimiento de todas las especies bacterianas excepto aquellas más exigentes y anaeróbicos obligados. Por este motivo el, KIA y agar TSI pueden usarse solo cuando se estudia una especie bacteriana seleccionada de una colonia única recuperada en medios primarios o selectivos. La concentración de lactosa es 10 veces superior a la de glucosa (asimismo, la reacción entre sacarosa y glucosa es 10:1 en el agar TSI). El sulfato ferroso como detector de  $H_2 S$  entre el KIA o agar-TSI y otros medios prueba. El indicador rojo fenol es amarillo con un pH menor de 6.8. Dado que el pH del medio no inoculado está estabilizado en 7.4, cantidades relativamente pequeñas de productos ácidos, dan como resultado un visible cambio de color (Koneman *et al.*, 1998).

En el cuadro 2 se enlistan las pruebas utilizadas para la caracterización de *Salmonella*. En el cuadro 3 se presenta el patrón de reacciones bioquímicas en pruebas primarias para Enterobacteriaceas. El cuadro 4 ilustra las reacciones bioquímicas para la identificación de *Proteus*. Y el cuadro 5 muestra los medios de uso común para bacilos Entericos (Jawetz *et al.*, 1998).

**Cuadro 2. Pruebas usadas para la caracterización de *Salmonella enterica* subgrupo I) con importancia clínica (Koneman *et al.*, 1998).**

Prueba	Bioserotipo chloerasuis	Biosetipo typhi	Otros bioserotipos comunes
Citrato	-a	-	+
Ornitina decarboxilasa	+	-	+
Gas a partir de glucosa	+	-	+
Fermentación			
Dulcitol	-	-	+
Trehalosa	-	+	+

a= reacciones después de 1 - días de incubación.

**Cuadro 3. Patrones de reacción bioquímica en pruebas primarias para Enterobacteriaceas comunes de importancia clínica. (Koneman et al., 1998).**

Sustancia	<i>Citrobacter</i>		<i>Enterobacter</i>		<i>Escherichia</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Morganella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Shigella</i>
	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Arginina	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Citrobacter	+		+		-	+	-	+	-	+	-	+
Dnasa	-		-		-	-	-	-	-	-	+	-
Gas	-		+		+	+	-	+	-	+	-	+
Glucosa	+		+		+	+	+	+	+	+	+	+
H <sub>2</sub> S	+	-	-		-	-	-	+	-	+	-	-
Indol	+	-	-		+	+	-	+	-	+	-	+
Lisina	-		+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
Motilidad	+		+		+	-	-	+	+	+	+	-
Ornitina	+	-	+		+	-	-	+	-	+	+	+
Fenilalanina	-		-		-	-	-	+	-	+	+	+
Sacarosa	+	-	+		+	-	+	+	-	+	+	-
Ureasa	-		-		-	+	-	+	+	-	-	-
VP <sup>2</sup>	-		+		+	+	+	-	-	-	+	-
TSI <sup>3</sup> parte	Alc		A		(A)	(A)	Alc	Alc	Alc	Alc	Alc	Alc
	(A)											
Inclinada					Alc						(A)	
Fondo	AG		AG		AG	(A)	AG	AG	AG	A;G+-	A	A

<sup>1</sup>Resultado de aislamiento clínicos comunes: + - = variable; + a la mayor parte de las cepas positivas (habitualmente  $\geq 90\%$ ); - = escasas cepas positivas (habitualmente  $\leq 10\%$ ); A= Ácido (Amarillo); G= gas; Alc= Alcalino. Nota; existen excepciones a casi todos los resultados mencionados.

<sup>2</sup>VP = reacción Voges-Proskauer.

<sup>3</sup>TSI = Agar hierro triple azúcar.

**Cuadro 4. Reacciones bioquímicas para la identificación de *Proteus* (Koneman *et al.*, 1998).**

Prueba	<i>Pmirabilis</i>	<i>Pvulgaris</i>	<i>Ppenneri</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Providencia a</i>	<i>alcalifaciens</i>	<i>Providencia a</i>	<i>stuartii</i>	<i>Providencia a</i>	<i>rattneri</i>	<i>Providencia a</i>	<i>rustigianii</i>
Ureasa	+	+	+	+	-		+		+			-
Ornitina descarboxilasa	+	-	-	+	-		-		-			-
Indol	-	+	-	+	+		+		+			+
Fermentación Adonitol	-	-	-	-	+		+		+			-
Trehalosa	+	+-	+-	+-	-		+		-			-

**Cuadro 5. Medios de uso común para el aislamiento de bacilos entéricos (Koneman *et al.*, 1998).**

Medios	Hidratos de carbono	Detección de H <sub>2</sub> S
<b>Medios diferenciales:</b>		
permiten el desarrollo de la mayor parte de las especies		
Agar de Mac Conkey	Lactosa	No
Agar eosina-azul de metileno	Lactosa, Sacarosa	No
<b>Medios para el aislamiento de patógenos intestinales</b>		
Agar entérico Hektoen	Lactosa, Sacarosa, Salicina	Si
Agar xilosa - lisina desoxicolato (XLD)	Lactosa, Sacarosa, Xilosa	Si



## **2.11 Ecología y alimentos**

Se considera a los bovinos como principales reservorios de la bacteria a partir de los cuales la infección puede llegar al hombre como consecuencia del consumo de carne contaminada inadecuadamente cocida. Las hamburguesas han sido involucradas en varios brotes de este microorganismo, aunque la sidra, salami y agua entre otros productos, también han quedado establecidos como causantes de tal enfermedad (Espinoza y Lozano, 2002).

## **2.12 Descripción de riesgos de contaminación**

El factor que causa que una fruta no sea apta para consumo humano es la presencia de riesgos biológicos, químicos y físicos. Los riesgos biológicos son ocasionados por la presencia de microorganismos que causan enfermedades en el consumidor, mientras que los riesgos químicos están dados por la presencia de productos químicos contaminantes que resultan tóxicos para la salud humana. Un riesgo físico es cualquier materia extraña que resulta peligrosa para la salud humana (Alianza Internacional de HACCP, 1998).

## **2.13 Contaminación del fruto de melón**

En el caso del fruto de melón, durante los últimos años se les asoció a la contaminación ocasionada por microorganismos. En reportes de Estados

Unidos el consumo de melón ha sido asociado a la ocurrencia de ataques de salmonelosis en los consumidores, siendo las especies identificadas *S. miami* y *S. bareilly*, observando que la bacteria se encontraba presente en la cutícula de la fruta, sin embargo la operación de corte de la misma favoreció la introducción de la bacteria, lo cual ocasionó la contaminación de la parte comestible (Gayles *et al.*, 1995).

En Estados Unidos también se asoció a la especie *Salmonella poona* con brotes de gastroenteritis, la cual ocasionó 185 casos en ese país y 56 casos en Canadá, todos estos brotes de enfermedad se asociaron al consumo de melón (CDC, 1991). Otros dos brotes más fueron asociados epidemiológicamente al consumo de melón, determinando la presencia de *S. chester* y *S. poona* presentes en esos casos, los cuales ocurrieron en 30 estados de la unión americana, siendo afectados mas de 25,000 individuos (Ries *et al.*, 1990).

Durante los ciclos agrícolas 2001 y 2002 varios cargamentos de melón mexicano fueron detenidos en la frontera de los Estados Unidos debido a la presencia de la bacteria *Salmonella*, lo cual ocasionó que el USDA colocara al melón mexicano en una posición de "alerta", la cual debe de ser subsanada mediante una producción de melón libre de contaminantes (FDA/CFSAN, 1999 y 2002).

### III. MATERIALES Y METODOS

La Comarca Lagunera se localiza en la parte central de la porción norte de los Estados Unidos Mexicanos. Se encuentra ubicada entre los meridianos 102° 50' y 103° 40' longitud Oeste, y los paralelos 25° 25' y 26° 30' latitud Norte; en los Estados de Durango y Coahuila. Sus límites son, al norte, la Sierra de Baicuco y la ahora extinta Laguna de Mayrán, las sierra de las Delicias, Tlahualilo y de la Campana; al sur la Sierra de Jimulco y sierras de menor importancia como son las de San Carlos, España y las Noas; al este, por las sierras del Rosario, del Sarnoso y de Vinagrillo, y al oeste, por las sierras de Bermejillo y Mapimí. Esta región está conformada por lo municipios de Torreón, Matamoros, Francisco I. Madero, San Pedro de Las Colonias y Viesca en el estado de Coahuila y Gómez Palacio, Lerdo, Cd. Juárez, Tlahualilo, Mapimi y Nazas, Rodeo, Simón Bolívar, San Juan de Gpe., San Juan Luís del Cordero y San Pedro del Gallo por el Estado de Durango (Garza, 1992).

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Inocuidad Alimentaría del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias en el ciclo agrícola primavera-verano 2006 del Municipio de Matamoros Coahuila. La metodología aplicada fue descrita por el INIFAP-Laguna (Vega, 2004).

Se seleccionaron 4 huertos de melón sembradas en el ciclo agrícola primavera-verano del Municipio de Matamoros Coahuila, en los cuales mediante encuesta se obtuvo información de cada una de ellas relacionada a fecha de siembra, superficie sembrada, variedad, tipo de riego, origen del agua y sistema de siembra (Cuadro 6).

En cada huerta se tomaron muestras de fruto de melón en planta y cosechado, así como muestras de suelo, agua y manos de manipuladores.

Para la toma de muestras de melón en planta se dividió la huerta en 5 cuadrantes tomándose un melón en cada uno de ellos utilizando guantes para cubrirse las manos, cada fruto se colocó en una bolsa de plástico previamente esterilizada y etiquetada, agregándose 90 ml de agua amortiguadora de peptona al 0.1 %, procediendo a lavar y juntar el agua en una sola muestra para ser transportada al laboratorio de inocuidad del Campo Experimental La Laguna para su procesado. El mismo procedimiento de lavado se utilizó para la fruta ya cosechada, para la cual se seleccionaron 5 frutos de melón ya cosechados y colocados en una carretilla para ser transportados a la camioneta para su traslado al empaque.

La muestra de agua se tomó directamente del tubo de descarga de la noria, para lo cual se utilizaron frascos de vidrio previamente esterilizados de 500 ml de capacidad, llenándose de agua y colocándose en una hielera para conservarse a una temperatura de aproximadamente 10 °C y luego ser transportados al laboratorio para su procesado.

**Cuadro 6. Información general de los huertos de melón seleccionados para la Identificación de bacterias de la familia Enterobacteriaceae 2006.**

Nombre del propietario	Ubicación (Municipio)	Fecha de siembra	Superficie (Has)	Variedad	Tipo de Riego	Origen del Agua	Sistema de Siembra
<b>1.- Isidro Vélez.</b>	Ejido Benito Juárez, Municipio de Matamoros Coahuila.	20 de Junio.	4.5	Crusier	Cintilla y Acolchado	Noria	Cama Melonera.
<b>2.- Juan Manuel Salinas Mendoza.</b>	Ejido Petronilas, Municipio de Matamoros Coahuila	09 de Enero.	1.650	Crusier	Surco	Noria	Cama Melonera
<b>3.- Francisco Rodríguez.</b>	Ejido Benito Juárez, Municipio de Matamoros Coahuila.	26 de Junio.	4.0	Crusier	Cintilla y Acolchado	Noria	Cama Melonera
<b>4.- Refugio Rodríguez.</b>	Ejido Benito Juárez, Municipio de Matamoros Coahuila.	20 de Junio.	4.0	Crusier	Cintilla y Acolchado	Noria	Cama Melonera

Se tomaron 5 muestras representativas de suelo de aproximadamente 100 gr en cada predio, a una profundidad de 0 - 30 cm, formando una sola muestra compuesta en sola bolsa de plástico, se etiquetaron y colocaron en una hielera para su traslado al laboratorio de inocuidad del CELALA.

Se seleccionaron 3 trabajadores en cada huerta de melón a los cuales se les tomaron muestras de la superficie de las manos utilizando un hisopo de algodón previamente esterilizado, el cual se humedeció en un medio de cultivo agar STUART en un frasco de vidrio 10 ml de capacidad con tapa de rosca, el hisopo de algodón se puso en contacto con la piel en varios puntos de la mano y luego se colocó en el frasco para ser transportado al laboratorio.

Todas las muestras fueron procesadas en el laboratorio para la determinación de coliformes totales mediante el método NOM-113-SSA1-1994 Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa y determinación de coliformes fecales utilizando la metodología en base a NOM-000-SSA1-1995 Método para la determinación de coliformes fecales por la técnica del número más probable (Presuntiva *Escherichia coli*).

Para la identificación de géneros de bacterias de la familia Enterobacteriaceae se utilizaron una serie de medios de cultivos basados en pruebas bioquímicas para determinar y reconocer la reacción de cada muestra en dichos medios de cultivo. A continuación se encuentran los medios de cultivos utilizados para este fin.

### **MIO (Movilidad Indol Ornitina)**

El medio MIO se utilizó para la identificación de Enterobacterias sobre la base de movilidad, la producción de ornitina descarboxilasa y de indol.

Cuadro 7. Formula Aproximada del medio MIO para 1000 ml de agua purificada.

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (gr)</b>
Extracto de Levadura	3.0
Pectona de Gelatina	10.1
Pectona de Caseína	10.0
L – Ornitina	5.0
Dextrosa	1.0
Agar	2.0
Púrpura de Bromocresol	0.02
PH final: 6.5 ± 0.2.	

Método de preparación.

Se disolvieron 31 gr. del polvo deshidratado en un litro de agua purificada, se calentó hasta disolver completamente y colocándose en tubos de 13 x 100 mm con tapón rosca, esterilizar a 121 °C de presión durante 15 minutos.

### **Agar citrato de simmons**

Se utilizó para la diferenciación de bacterias Gram Negativas.

Cuadro 8. Formula para la elaboración de agar citrato en 1000 ml de agua purificada.

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (gr)</b>
Fosfato Deshidrogenado de Amonio	10
Fosfato Dipotasico	1.0
Cloruro de Sodio	5.0
Citrato de Sodio	2.0
Sulfato de Magnesio	0.2
Agar	15.0
Azul de Bromotimol	0.08
PH final: 6.9 ± 0.2.	

### Método de preparación.

Se suspendieron 24.2 gr. del polvo en un litro de agua purificada. Se Mezcló perfectamente, se calentó con una agitación frecuente y se hirvió durante 1 minuto hasta disolución completa. Se distribuyó y esterilizó a 12 ° C por 15 minutos. Se puso a enfriar en posición inclinada. Este medio también puede ser utilizado en placas.

### Agar de bilis y rojo violeta

Se utilizó para la detección de microorganismos coliformes en agua, productos lácteos y otros alimentos.

Cuadro 9. Formula para preparar Agar de Bilis y Rojo Violeta en 1000 ml de agua purificada.

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (gr)</b>
Extracto de Levadura	3.0
Peptona de Gelatina	7.0
Mezcla de sales Biliares	1.5
Lactosa	10.0
Cloruro de Sodio	5.0
Agar	15.0
Rojo Neutro	0.03
Cristal Violeta	0.002
PH final: 7.4 ± 0.2.	

### Método de preparación.

Se Suspendieron 41.5 gr. de polvo en un litro de agua purificada. Se Mezcló perfectamente, se calentó con agitación frecuente y se hirvió por un minuto hasta disolución completa. Se colocó a enfriar de 42 a 44 °C aproximadamente, el cual al estar frío se usó de inmediato.



### TSI (Agar de hierro y triple azúcar)

Se utilizó para la identificación y diferenciación de Enterobacterias.

Cuadro 10. Formula para preparar TSI en 1000 ml de agua purificada.

Ingrediente	Cantidad (gr)
Peptona de Caseína	10.0
Peptona de Carne	10.0
Cloruro de Sodio	5.0
Lactosa	10.0
Sacarosa	10.0
Dextrosa	1.0
Sulfato de Hierro y Amonio	0.2
Tiosulfato de Sodio	0.2
Rojo de Fenol	0.025
Agar	13.0
PH final: 7.3 ± 0.2.	

#### Método de Preparación.

Se suspendieron 59.4 gr. del polvo en un litro de agua purificado. Se mezcló perfectamente, calentándolo con agitación frecuente colocándolo a hervir durante 1 minuto hasta disolución. Se distribuyó y se esterilizó a 118 °C durante 15 minutos, colocándolo a enfriar en posición inclinada.

### LIA (Agar de hierro y lisina)

Se utilizó para la diferenciación temprana de *Salmonella* y *Shigella*.

Cuadro 11. Formula para preparar LIA en 1000 ml de agua purificada.

Ingrediente	Cantidad (gr)
Peptona de Galetina	5.0
Extracto de Levadura	3.0
Dextrosa	1.0
L – Lisina	10.0
Citrato de Hierro y Amonio	0.50
Tiosulfato de Sodio	0.04
Purpura de Bromocresol	0.02
Agar	13.5
PH final: 6.7 ± 0.2.	

### Método de Preparación.

Se suspendieron 33 gr. de polvo en un litro de agua purificada. Se disolvió y se colocó a calentar para que hirviera durante 1 minuto, al término se distribuyó en tubos con tapón de rosca esterilizados a 121 °C durante 12 minutos; se colocó a enfriar en posición inclinada.

### Caldo urea

Se utilizó para diferenciar *Proteus* de *Salmonella* y *Shigella*.

Cuadro 12. Fórmula para preparar Caldo Urea en 1000 ml de agua purificada.

Ingrediente	Cantidad (gr)
Urea	20.0
Fosfato Monopotásico	9.10
Fosfato Disódico	9.50
Extracto de Levadura	0.10
Rojo Fenol	0.01
PH final: 6.8 ± 0.2.	

### Método de Preparación.

Se disolvieron 3.87 gr. en 100 ml de agua purificada, esterilizado por filtración. Se distribuyó en cantidades de 0.5 a 1.0 ml en tubos pequeños estériles.

Se pueden emplear cantidades más grandes pero las reacciones son más lentas. En lugar de ser esterilizado por filtración el medio puede esterilizarse, colocando los tubos sin apretar a 108 °C de 7 a 10 minutos. Si se prepara e inocular inmediatamente este medio da resultados confiables sin esterilizar.

### Agar de Mac Conkey

Este medio fue empleado para aislar e identificar Enterobacterias y coliformes a partir de heces fecales, orinas, aguas, negras y diversos alimentos.

Cuadro 13. Formula para preparar Agar de Mac Conkey en 1000 ml de agua purificada.

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (gr)</b>
Peptona de Caseina	1.5
Peptona de Gelatina	17.0
Peptona de Carne	1.5
Lactosa	10.0
Sales Biliares	1.5
Cloruro de Sodio	5.0
Agar	13.5
Rojo Neutro	0.03
Cristal Violeta	0.001
PH final: 7.1 ± 0.2.	

Método de preparación.

Se suspendieron 50 gr. del medio deshidratado en un litro de agua purificada, mezclándolo bien hasta que se obtuvo una suspensión uniforme. Se dejó reposar de 10 a 15 minutos, después se procedió a calentar suavemente agitándolo frecuentemente y dejándolo hervir durante 1 minuto. Se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

### **Agar Mac Conkey sorbitol**

Base que se utilizó para el aislamiento y la diferenciación de serotipos de *E. coli* enteropatogénicos.

Cuadro 14. Formula para preparar un Litro de Agar Mac Conkey Sorbitol

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (gr)</b>
Peptona	15.5
Peptona de Proteosa	3.0
d – sorbitol	10.0
Sales Biliares	1.5
Cloruro de Sodio	5.0
Agar	15.0
Rojo Neutro	0.03
Violeta Cristal	0.001
PH final: 7.1 ± 0.2.	

### Método de Preparación.

Se suspendieron 50 gr. del polvo en 1 litro de agua purificada caliente, agitándolo frecuentemente y colocándolo a que hierva durante 1 minuto para disolver completamente el polvo. Se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

### Base de caldo de tetracionato

Base que se empleo para medio de enriquecimiento en el aislamiento de *Salmonella*.

Cuadro 15. Formula para preparar un litro de caldo de Tetracionato.

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (gr)</b>
Peptona de Proteosa	2.5
Digerido Pancreático de Caseína	2.5
Bilis de buey	2.5
Tiosulfato Sodico	3.0
Carbonato Calcio	10.0
PH final: 8.4 ± 0.2.	

### Método de preparación.

Se disolvieron 4.6 gr. de polvo en 100 ml de agua purificada, calentando la mezcla hasta llevarla a ebullición. Se colocó a enfriar la mezcla por debajo de 60 °C, añadiendo 2 ml de solución de Yodo (6 gr. de cristales de Yodo y 5.0 gr. de Yoduro de Potasio en 20.0 ml de agua).

### Caldo cistina – selenita

Base utilizada para el enriquecimiento selectivo de *Salmonella* en alimentos y agua.

Cuadro 16. Formula para preparar un litro de caldo Cistina- Selenita.

Ingrediente	Cantidad (gr)
Digerido Pancreático de Caseína	5.0
Lactosa	4.0
Fosfato di sódico	10.0
Selenito de Sodio	4.0
L – Cistina	0.01
PH final: 7.0 ± 0.2.	

Método de preparación.

Se suspendieron 23 gr, del polvo en 1 litro de agua purificada y se calentó hasta ebullición.

### Agar *Salmonella* y *Shigella*

Medio diferencial selectivo que se utilizó para el aislamiento de *Shigella* y *Salmonella* ssp a partir de heces, orina y alimentos diversos, tanto frescos como enlatados.

Cuadro 17. Formula para preparar un litro del medio Agar *Salmonella* y *Shigella*.

Ingrediente	Cantidad (gr)
Peptona de Carne	2.5
Extracto de Carne	5.0
Peptona de Caseína	2.5
Lactosa	10.0
Sales Biliares	8.5
Citrato de Sodio	8.5
Tiosulfato de sodio	8.5
Citrato Ferrico	1.0
Agar	13.50
Rojo Neutro	0.025
Verde Brillante	0.0330
PH final: 7.0 ± 0.2.	

### Método de Preparación.

Se suspendieron 60 gr, del polvo en un litro de agua purificada mezclando bien hasta que se obtuvo una suspensión homogénea. Se calentó agitando frecuentemente y se hirvió durante 1 minuto. Se colocó a enfriar entre 45 y °C distribuyendolo en cajas de petri empleando 20 ml de placa.

### Agar XLD

Base utilizada para el aislamiento y diferenciación de patógenos entéricos, especialmente *Shigella*.

Cuadro 18. Formula para preparar un litro de Agar XLD.

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (gr)</b>
Extracto de Levadura	3.0
L – Lisina	5.0
Xilosa	3.75
Lactosa	7.5
Sacarosa	7.5
Desoxicolato Sodico	2.5
Citrato Ferrico de Amonio	0.8
Tiosulfato Sodico	6.8
Cloruro de Sodio	5.0
Agar	15.0
Rojo Feno	0.08
PH final: 7.4 ± 0.2.	

### Método de preparación.

Se disolvieron 57 gr, del polvo en 1 litro de agua purificada mezclándolo bien. Se calentó y agitó hasta que el medio hirvió.

### Agar bismuto – sulfito

Medio que se utilizó para el aislamiento y diferenciación de *Salmonella Typhi*

Cuadro 19. Composición Típica de Agar Bismuto (gr / litro).

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (gr)</b>
Extracto de Carne	5.0
Peptona de Carne	10.0
D (+) – glucosa	5.0
Hidrogenofosfato di - sodico	4.0
Sulfato de Hierro (II).	0.3
Verde Brillante	0.025
Indicador bismuto – sulfito	8.0
Agar – agar	15.0

#### Método de Preparación.

Se disolvieron 56 gr, en 1 litro de agua desmineralizada, calentando en un baño de agua hirviendo, distribuyéndolo uniformemente el precipitado formado en capas espesas sobre placas.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Bacterias de melón en planta y cosechado**

Los géneros de bacterias de la familia Enterobacteriaceae presentes en la fruta tanto en planta como cosechado fueron *Proteus* sp, *Providencia* sp, *E.coli* y *Shigella* sp. (Cuadro 20).

Al realizar la determinación de coliformes totales en fruto de melón en planta en cada uno de los predios. Se encontró que en el predio propiedad del Sr. Juan Manuel Salinas (número 1) se realizaron 2 muestreos resultando con un conteo de 170'000,000 y 139'000,000 coliformes respectivamente. En el lote del Sr. Francisco Rodríguez (número 2) se realizaron tres muestreos con resultados de 220,000, 15'000,000 y 1'580,000 coliformes respectivamente. En el lote del Sr. Isidro Vélez (número 3) se realizaron 2 muestreos con 3'000,000 y 1'200,000 coliformes respectivamente. En el lote del Sr. Refugio Rodríguez (número 4) se realizó un solo muestreo resultando con un total de 946'000, 000.

Los coliformes totales en melón cosechado estuvieron presentes en todos los huertos de melón muestreados, variando en cantidades desde 100,000 el mas bajo en el lote número 1, hasta el más alto (188'000, 000) en el lote número 2.

Los coliformes fecales se encontraron presentes en el fruto de melón en planta en todos los lotes y todas las fechas de muestreo, en cantidades variando desde 480,000 el más bajo hasta 379,000 el más alto, lo mismo



sucedió en los coliformes fecales en melón cosechado estando presente desde 30, 000 el más bajo hasta 124, 000 el número mas alto.

**Cuadro 20. Bacterias de la familia Enterobacteriaceae en el cultivo de melón en planta y cosechado. 2006.**

Huerta	Fecha de Muestreo	Tipo de Muestra	Coliformes Totales (Miles)	Coliformes Fecales (Miles)	Bacteria
		En planta	170000	48000	
<b>1.-</b>	22/05/2006				<i>Proteus sp.</i>
<b>Juan</b>		Cosechado	2160	2240	
<b>Manuel</b>		En planta	139,00	600	<i>Providencia sp.</i>
<b>Salinas</b>	05/06/2006				
		Cosechado	100	30	<i>E. coli.</i>
<b>2.-</b>	19/06/2006	En planta	220	480	<i>E. coli</i>
<b>Francisco</b>					
<b>Rodríguez</b>		Cosechado	2250	1300	<i>Providencia sp.</i>
	26/06/2006	En planta	15700	2100	<i>Providencia sp.</i>
		Cosechado	188000	124000	
	04/09/2006	En planta	1580	22100	<i>Proteus sp.</i>
		Cosechado	22700	13700	<i>Proteus sp.</i>
<b>3.-</b>	04/09/2006	En planta	3000	2900	<i>Providencia sp.</i>
<b>Isidro</b>					
<b>Vélez</b>		Cosechado	3200	3060	<i>Shigella sp.</i>
	18/09/2006	En planta	1200	1910	<i>Shigella sp.</i>
		Cosechado	2180	600	<i>Shigella sp.</i>
<b>4.-</b>	04/09/2006	En planta	946000	379000	
<b>Refugio</b>					
<b>Rodríguez</b>	18/09/2006	En planta	680	16100	<i>Providencia sp.</i>

### Bacterias en suelo de huertos de melón

Los géneros de bacteria de la familia Enterobacteriaceae presentes en los muestreos de suelo fueron *Aerobacter* sp, *Providencia* sp y *E. coli*. (Cuadro 21).

**Cuadro 21. Bacterias de la familia Enterobacteriaceae en el suelo de huertos de melón. 2006**

Huerta	Fecha de Muestreo	Coliformes Totales (Miles)	Coliformes Fecales (Miles)	Bacteria
1.- Juan Manuel	22/05/2006	170	10	<i>Aerobacter</i> sp.
Salinas	05/06/2006	0	290	<i>Providencia</i> sp.
2.- Francisco	19/06/2006	700	0	
Rodríguez	04/09/2006	1700	300	<i>Providencia</i> sp.
3.- Isidro Vélez	04/09/2006	80	13300	<i>Providencia</i> sp.
	18/09/2006	1390	5200	<i>E. coli</i>
4.- Refugio	04/09/2006	470	500	
Rodríguez	18/09/2006	660	1210	

El conteo de coliformes totales en suelo desarrollado en el primer muestreo de cada lote varió desde 80,000 el número más bajo hasta 700, 000 la población más alta, en el segundo muestreo un suelo presentó ausencia de coliformes totales, mientras que el de mayor población fue de 1'700, 000. Los coliformes fecales estuvieron presentes en la mayoría de muestras del suelo a excepción del primer muestreo realizado en la huerta número 2.

Los coliformes totales estuvieron presentes en muestras de agua de riego tomadas en 4 lotes muestreados, presentándose de igual manera presencia de coliformes fecales.

### Bacterias en agua de riego

El género de bacteria identificado en agua de riego fue *Providencia* sp (Cuadro 22).

**Cuadro 22. Bacterias de la familia Enterobacteriaceae en muestras de agua de riego de huertas de melón en la Comarca Lagunera. 2006.**

Huerta	Fecha de Muestreo	Coliformes Totales (Miles)	Coliformes Fecales (Miles)	Bacteria
1.- Juan Manuel Salinas	22/05/2006	880	215	<i>Providencia</i> sp.
2.- Francisco Rodríguez	26/06/2006	180	420	
4.- Refugio Rodríguez	04/09/2006	230	1400	<i>Providencia</i> sp.
Cintilla Canal	04/09/2006	4200	300	
		680	740	

### Bacterias en manipuladores de plantas de melón

Los géneros de bacterias identificados en las manos de los manipuladores fueron *Providencia* sp, *Citrobacter* sp, *Shigella* sp y *E. coli*. (Cuadro 23).

**Cuadro 23. Bacterias de la familia Enterobacteriaceae en manos de manipuladores de fruto de melón en la Comarca Lagunera. 2006.**

Huerta	Fecha de Muestreo	Coliformes		Bacteria				
		Totales (Miles)	Fecales (Miles)					
1.- Juan Manuel Salinas	22/05/2006	1.-	0	20	<i>Providencia</i> sp.			
		2.-	4300	90				
		3.-	40	0				
	05/06/2006	1.-	0	100				
		2.-	0	1000				
		3.-	40	0				
		2.- Francisco Rodríguez	19/06/2006	1.-		720	900	
				2.-		80	0	<i>Citrobacter</i> sp.
				3.-		110	10	<i>Shiguella</i> sp.
3.- Isidro Vélez	26/06/2006	1.-	20	180				
		2.-	20	30				
		3.-	370	80				
	04/09/2006	1.-	306000	335000	<i>Providencia</i> sp.			
		2.-	1300	12500	<i>Shiguella</i> sp.			
		3.-	9300	10000	<i>Providencia</i> sp.			
04/09/2006	1.-	100	0	<i>Shiguella</i> sp.				
	2.-	11360	12840	<i>Providencia</i> sp.				
	3.-	700	480	<i>Providencia</i> sp.				
18/09/2006	1.-	860	1920	<i>Providencia</i> sp.				
	2.-	9680	13780	<i>Shiguella</i> sp.				
	3.-	4280	220	<i>E. coli</i> .				

En dos muestreos de manos de manipuladores en la huerta número 1 se encontró presencia de coliformes totales en el primer muestreo, mientras que el segundo muestreo del mismo lote se encontró presencia de una sola muestra de manos. En el lote número 2, se detectaron coliformes totales en todas las manos de los manipuladores en todas las muestras. Lo mismo sucedió en el lote número tres muestreado.

Se encontró presencia de coliformes fecales en las manos de 2 manipuladores en las dos fechas de muestreo de la huerta número uno, mientras que en la huerta número dos, de los tres manipuladores muestreados en las tres fechas solo en las manos de uno de ellos se detectó coliformes fecales.

En la huerta número tres en los dos muestreos realizados solo en las manos de un manipulador no se encontró presencia de coliformes fecales.

### **Bacterias más comunes**

Dentro de las bacterias de la familia Enterobacteriaceae aisladas en los diferentes componentes de la producción de melón en la Comarca Lagunera se encontraron *Citrobacter* sp, *Aerobacter* sp y *Providencia* sp, los cuales no se consideran como microorganismos que representan un riesgo para la salud del consumidor, sin embargo las bacterias *Shigella* sp, *E. coli* y *Proteus* sp si se consideran como un riesgo para la salud pública.

Es notorio que de las tres muestras de agua tomadas de cada una de las norias en una no se presentan bacterias, mientras que en dos se presentó el género *Providencia* sp, lo cual demuestra la buena calidad del agua proveniente de pozos profundos en relación a la inocuidad, eliminando la fuente de agua como un riesgo de contaminación.

De la totalidad de muestras de suelo solo una resultó positiva para la presencia de *E. coli*, la cual es representativa de la presencia de coliformes fecales y se encuentra generalmente presente en el tracto digestivo de los animales de sangre caliente.

La mayoría de los géneros de bacterias de la Familia Enterobacteriaceae que se consideran como riesgos para la salud humana se presentaron en las manos de manipuladores siendo estas *Shigella* sp y *E. coli*, los cuales ocurrieron posteriormente tanto en la fruta de melón en planta como cosechado, lo cual puede ser un indicador del papel que juega el manipulador en el desarrollo de la fruta, ya que el "volteo" de la fruta es una práctica común para evitar el manejo de la misma, al mismo tiempo que el contacto de las manos con el fruto al momento de la cosecha puede considerarse como mecanismo de transmisión de patógenos por falta de lavado de manos de los cosechadores.

## V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del presente trabajo se obtuvieron las siguientes conclusiones:

1. En la parcela de melón tanto en planta como cosechado se encuentran presentes las bacterias *Proteus* sp, *Providencia* sp, *E. coli* y *Shigella* sp.
2. En el suelo de las huertas de melón se encontraron *Aerobacter* sp, *Providencia* sp y *E. coli*.
3. En el agua de riego solo se identificó a *Providencia* sp.
4. En las manos de los manipuladores se identificó a *Providencia* sp, *Citrobacter* sp, *Shiguella* sp y *E. coli*.

## VI. LITERATURA CITADA

- Alianza Internacional de HACCP, 1998. Curso de HACCP. Entrenar al entrenador. México D.F. p. 186.
- Anónimo. 2002. NOM-EM-038-FITO-2002, por la que se establecen los requisitos para acreditar Buenas Prácticas Agrícolas en México. p.21.
- Brackett, R.E. 1994. Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables: in. Wiley, R.C. (Ed.). Chapman and Hall, N. Y. pp. 269 – 321.
- Benenson A. 1996. *Salmonellosis*. Control of Communicable Diseases Manual. American Public Health Association. pp. 410-414.
- Boheme C, Rodriguez G, Illesca V, Reydet P, Serra J. 1992. Shigellosis infantil en la IX región: aspectos clínicos, epidemiológicos y estudio de sensibilidad. Rev, Méd, Chile; 120: 1261-6.
- Blostein, J.,1993. An outbreak of *Salmonella javiana* associated with consumption of watermelon. J. Environ. Health 56:29-31.
- Center for Disease Control. 2003. Characteristic of *Escherichia coli* 0157: H7. [En línea] Department of Health and Human Services. Division of Bacterial and Mycotic Diseases. (Fecha de consulta 06/10/2006). [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov).
- Cisneros, O.Y. 1999. Calidad del agua. Memorias sobre Inocuidad Alimentaria. SAGAR.BANCOMEXT. pp. 15-16.
- Drasar, B. S. and M. J. Hill. 1999. Survey of imported fresh produce. Imports branch. Human intestinal flora. Academia Press, London, U. K. FDA – CFSAN.
- Dunlop, S.G. and W.L.L. Wang. 1961. Studies on the use of sewage effluent for irrigation of truck crops. J. Milk Food Technol. 24:44-47.
- Espinoza, M.A. y S. Lozano. 2002. Patógenos de Alimentos. Memorias del primer curso-taller Internacional diagnóstico de patógenos en alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Cd. Guadalupe N.L 7-11 Octubre de 2002. p. 146.



- Ewing WH. 1986 Identification of Enterobacteriaceae. 4th. ed. Elsevier. pp.17-32.
- Farmer J. Chapter.1991. Enterobacteriaceae. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. Fifth edition. pp. 360-83.
- FAO. 2000. Consulta de expertos ADHOC sobre la evaluación de riesgos asociados a los peligros microbiológicos en los alimentos. Documento de trabajo. 17-21 de julio. p. 55.
- Ferreccio C, Prado V, Ojeda A.1991. Epidemiologic patterns of acute diarrhea and endemic *Shigella* infections in children in a poor periurban setting in Santiago, Chile. pp. 614-27.
- Fernandez E. E., Castillo Ayala y Saldaña Lozano, J.1989. Survival and growth of *Salmonella* and *Shigella* on sliced fresh fruit. J. Food Prot. 52: 47-473.
- FDA. 1999. Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos en el caso de frutas y vegetales frescos. p. 48.
- FDA/CFSAN. 1999. Survey of Imported Fresh Produce. Imports Branch. Documento Web. (Fecha de consulta 20/10/2006) <http://www.cfsan.fda.gov-ear/net.mlmhtml>.
- Frías, T.G.2000. Estrategia Mexicana sobre Inocuidad Alimentaria. 7ª.Reunión Anual del CONACOFI; 1ª Semana Nacional de Sanidad Agropecuaria. 24-26 de Octubre. Puebla, Puebla. pp. 66-68
- Gayler, G.E. R.A. Mac. Cready, J.P. Retardon and B.F. Mackeraan. 1995. An outbreak of Salmonellosis Traced to Watermelon. Public health rep. 70:311-313.
- Hernández, J.L., G. Valdéz., M. Lagorreta y J.L. Flores. 2000. Contaminantes microbiológicos y físicos en frutas y hortalizas. Curso de capacitación sobre Buenas Prácticas Agrícolas. 26 de Noviembre – 1 de Diciembre. Boca del Rio , Veracruz. pp. 31-35.
- Joklit W.K., H.P. Millett, D.B. Amos and C.M. Wilfert. 1994. Zinsser Microbiology. 20ª Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina. p.1610

- Koneman E.W., S. D. Allen., U. R. Dowel (h). W. M. Janda., H., M. Sommers and W, C. Winn. 1998. Diagnóstico Microbiológico. 3a ed. Ed. Medica Panamericana. México. p. 976.
- Madigan, M.; Martinku, J. Y Parker, J. 1997. "Biología de los microorganismos". Prentice Hall. Octava edición. Madrid. pp. 9-86.
- Novier, T. J, J.A. Daly, S.L.Mottice, K.C. Caroll. 2000. A study on selective broths and agar media for the isolation of *Escherichia coli* 0157:H7 serotype. Turk J. Vet Anim Sci. 24: 459-464.
- Ries, A.A, Zaza, C. Langkop, R.V. Tauxe and P.A. Balke. 1990. A Multiestate Outbreak of Salmonella Chester Linked to Imported Cantaloupe. Abst. 30<sup>th</sup> Interscience Conf. Antimicrob. Agents Chemother. American Society of Microbiology. Washington. p. 238.
- SAGAR. 2000. Estrategia sobre Inocuidad y Calidad Alimentaria. Memoria de Primera reunión sobre Investigación en materia de Inocuidad Alimentaria México – E.U: p. 40.
- Saltsman, J. 1999. Iniciativa de Seguridad de Productos Agrícolas (PSI): Perspectiva Regalmentaria. 1<sup>a</sup> Conferencia Regional de Salud Alimentaria para Norte y Centroamérica. 22 – 23 de Sept. México, D.F. pp.9 – 22.
- Salazar, A.C., 2000. Memorias del curso de Capacitación sobre BPA. Veracruz, Ver. p. 29.
- Sapers, G.M. 1999. Interventions to prevent contamination of fresh produce with pathogenic microorganims. Memorias Sobre Inocuidad Alimentaria. PIDTCA. pp. 1-6.
- Vega P.A., Chew M.Y., Nava C.U. y Cano R.P.2004. Diagnóstico e identificación de riesgos físicos, químicos y microbiológicos en pre y poscosecha que afectan la calidad sanitaria de melón, sandía y chile. Informe Anual 2004. p. 24
- Yildis, F., 1994. Initial preparation, handling, and, distribution of minimally processed refrigeration fruits and vetables. p. 95.



