



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO

---

---

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

APOYO EN EL DIAGNÓSTICO Y DETECCIÓN DE ORGANISMOS  
PATÓGENOS EN MATRICES VEGETALES Y CÁRNICAS DENTRO DEL  
CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA DE PLAGUICIDAS Y  
CONTAMINANTES/LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO Y DETECCIÓN DE  
ORGANISMOS PATÓGENOS.

QUE PRESENTA EL ALUMNO

**Girma Barreto Elías Yamil**

Matrícula

2162032404

ASESORES:

Dr. Gabriel Ricardo Campos Montes

Num. Eco. 34761

García López Linda Coatlicue

Ced. Prof. 1745396)

Ciudad de México, 20 de enero del 2024

## UBICACIÓN GEOGRÁFICA

La prestación del servicio social se realizó para el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), específicamente, en las instalaciones del Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos Patógenos (LDDOP), propio del Centro Nacional de Referencia de Plaguicidas y Contaminantes (CNRPyC) con ubicación en el kilómetro 37.5 de la Carretera Federal México-Pachuca, colonia Felipe de Villanueva Centro, con código postal 55740, municipio de Tecámac, Estado de México, México.



Figura 1. Ubicación del Centro Nacional de Referencia a Plaguicidas y Contaminantes/Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos Patógenos

## MARCO INSTITUCIONAL DEL PROGRAMA

El Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) es un órgano desconcentrado de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), quien, por otro lado, depende del Poder Ejecutivo Federal del Estado Mexicano. La SADER tiene por objetivo ejercer políticas de apoyo que permitan una mejor producción dentro del sector agropecuario, integrando las actividades rurales a las cadenas productivas del resto de la economía del país implementando el uso de proyectos y programas dirigidos para los productores mexicanos (SADER, s.f).

El SENASICA por su parte, tiene la misión de *“Proteger la agricultura nacional a través de la aplicación de medidas de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria, para contribuir a la seguridad alimentaria, al bienestar de productores y consumidores, así como al desarrollo de las cadenas productivas”* y la visión de *“tener reconocimiento nacional e internacional, generando valores hacia la sociedad mediante la mejora continua de las plataformas técnico-científicas, legal y*

administrativas que contribuya al abasto nacional y a la facilitación del comercio agroalimentario” tiene como (SENASICA, s.f). Este servicio se compone por diversas direcciones, entre las que se encuentran: La dirección en Jefe, La Dirección General de Inspección Fitozoosanitaria (DGIF), Dirección General de Salud Animal (DGSA), Dirección General de Administración e Informática (DGAI), Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), Dirección General Jurídica (DGJ), y la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera (DGI AAP), (SENASICA, s.f) siendo esta última dirección, a la que pertenece el Centro Nacional de Referencia de Plaguicidas y Contaminantes (CNRPyC), así como el Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos Patógenos (LDDOP).

El LDDOP, se conforma de un laboratorio central y 4 laboratorios móviles que tienen la función de apoyar con la ejecución de análisis sobre los programas de monitoreo y vigilancia de productos agropecuarios de consumo nacional, productos de importación y exportación para detectar esencialmente 6 organismos patógenos de importancia humana, entre los que se encuentran las bacterias: ***Escherichia coli O157:H7***, el **Grupo STEC (*E. coli* productora de Shiga-toxinas)**, ***Salmonella spp***, ***Shigella spp***, ***Listeria monocytogenes***, y el protozoario ***Cyclospora cayatanensis***, así como para la detección de contaminantes químicos (particularmente **Clenbuterol**) en fluidos de ganado bovino de producción primaria (SENASICA, 2021).

## **OBJETIVO GENERAL DEL PROGRAMA**

Optimizar la aplicación de técnicas analíticas confiables para la detección de organismos patógenos en productos de interés agropecuario.

## **DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES DESARROLLADAS**

**Preparación de medios de cultivo:** Para la preparación de medios de cultivo es necesario contar insumos y equipos como: una termoplancha, una autoclave, una balanza, agua destilada y en este caso, el medio de cultivo deshidratado. Para realizar dicha actividad primero se tienen que pesar en la balanza el medio deshidratado, (el peso del medio depende de cada medio, así como de la cantidad de medio que se quiera realizar), posteriormente, se hidrata y se lleva a la termoplancha para agitar y calentar hasta lograr hervir el medio, para luego llevarlo a esterilizar en la autoclave a 121°C por 15 minutos. Después de que se logre la esterilización, se debe vaciar en cajas Petri dentro de una campana de flujo laminar para evitar la contaminación del medio. Dentro de la campana se dejan secar las placas, se tapan y se almacenan.

**Procesamiento de muestras de origen vegetal y animal:** Durante esta actividad se requieren distintos procesos para poder hacer el procesamiento. Uno de estos

procesos es la realización de controles para hacer el análisis conforme al método, estos controles se realizan para 5 patógenos a analizar principalmente (*E. coli*, STEC, *Salmonella*, *Shigella* y *Listeria*).

El segundo proceso trata sobre el procesamiento de las muestras. Durante esta actividad dependiendo del tipo de matriz (vegetal o animal) o del tipo de cobertura natural que tenga la matriz, se procesa, por ejemplo, si se trata de una verdura con epicarpio duro y liso, se le hace un frotis con esponja buferada para posteriormente ingresar la esponja a una bolsa estéril a la que se le agrega medio de enriquecimiento (agua peptonada o caldo fraser). En el caso de que sea una matriz de capas como una lechuga, lo que se hace es deshojar y pasar dichas hojas a una bolsa estéril en la que se les adiciona medio de enriquecimiento. Para frutas o verduras del tipo rugosas como las piñas, se agrega parte de su epicarpio a una bolsa estéril y se enriquece. En el caso de que sea una matriz cárnica, se pone una pequeña porción de la matriz en bolsa estéril y se agrega medio de enriquecimiento. Aunque es más común que las muestras cárnicas lleguen en forma de frotis (esponjas) a las cuales solo se le ingresará a la bolsa estéril y se enriquecerá. Todas las matrices posteriormente se ponen a incubar junto con los controles entre 18 a 24 h. a 35 o 37° C dependiendo del patógeno que se requiera buscar. Posterior a la incubación, se realizan las alícuotas de las muestras con una micropipeta y se ingresan a microtubos que son transferidos al área de biología molecular.

**Apoyo en pruebas de biología molecular:** Las actividades en el área de biología molecular son consecutivas al procesamiento de las muestras, pues cuando el área de procesamiento de muestras transfiere las alícuotas, en biología molecular se reciben y se comienza con la lisis celular para exponer el material genético de los microorganismos adyacentes a las muestras, después se hace la mezcla de reactivos, donde, se mezcla el ADN expuesto de los microorganismos con las sondas, los fluoróforos, entre otros reactivos, con el fin de realizar una PCR. El último paso tiene que ver con la programación de los termocicladores para realizar la PCR en tiempo real, y así determinar la presencia o ausencia del patógeno en cuestión.

Los procedimientos para realizar una PCR son muy específicos para cada microorganismo patógeno que requiere de búsqueda, así como del equipo termociclador y kit de análisis que se utiliza para hacer la PCR, por lo que la descripción del método es muy general en cierto sentido.

**Pruebas bioquímicas en *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* *Listeria monocytogenes*, *Shigella sp* y *E. coli* productora de Shigatoxina (grupo STEC):**

Las pruebas bioquímicas durante la estadía dentro del laboratorio fueron en su mayoría para detectar *E. coli* y *Salmonella sp*, por su tasa de incidencia, sin embargo, también se hicieron algunas pruebas para *Listeria monocytogenes* y grupo STEC.

Las pruebas a las que se somete una muestra presuntiva de *E. coli* son la siembra en agar MacConkey y en agar cromogénico O157:H7, y dependiendo de si las características que se presentan en ambos agares son del tipo característico de *E. coli*, se le somete a una prueba bioquímica automatizada, donde se utiliza el sistema llamado VITEK-2, al cual solo es necesario agregarle la cepa bacteriana además de una tarjeta de identificación para que trabaje por sí solo y emita un resultado.

En el caso de una muestra presuntiva a otros patógenos, por ejemplo, de *salmonella sp*, se le somete a un análisis bioquímico levemente más exhaustivo, puesto que, para comenzar, se debe de incubar en baño maría en 2 caldos de cultivo (Rappaport-vasiliadis y caldo Tetracionato, posterior a esto, se siembra en medio Hektoen Entérico y XLD y después de la incubación y si el crecimiento característico de *Salmonella sp* persiste, se pasan a medios inclinados, o con pico de flauta, dichos medios son LIA y TSI, si las características siguen confirmando que se trata de *Salmonella sp*, se procede a realizar las pruebas bioquímicas automatizadas para emitir un reporte.

En el caso de ser una muestra presuntiva a *Listeria monocytogenes*, se somete a un análisis en agar cromogénico llamado ALOA, igualmente, si la prueba sigue siendo positiva debido a las características y crecimiento en dicho agar, se le hace pruebas bioquímicas automatizadas.

Para los patógenos restantes, no existieron análisis presuntivos durante la estadía del servicio social, sin embargo, para el grupo STEC se realizaron algunas siembras en CHROMagar STEC, y pruebas de aglutinación de látex para determinar los serotipos que se tiene en el cepario propio del laboratorio.

**Revisión bibliográfica sobre microorganismos de origen animal y vegetal de interés agroalimentario:** Durante esta actividad se hizo una pequeña revisión bibliográfica de la importancia de cada patógeno de consideración para el laboratorio así como de los medios de cultivo que se utilizan para su análisis, sin embargo, se hizo una revisión más exhaustiva con relación a los *Enterococcus*, que a pesar de no ser aun de interés agroalimentario, comienzan a tener cierta relevancia en el área clínica y por ende, el laboratorio tiene una cantidad considerable de cepas para su análisis bioquímico, por lo tanto, en este último caso, se realizó un breve trabajo de investigación para revisión propia del personal del laboratorio.

**Análisis de pureza, viabilidad y pruebas bioquímicas en cepas de *Enterococcus sp*:** Las actividades realizadas para el análisis de los enterococos fue a partir del sometimiento de 247 cepas a enriquecimientos, pruebas bioquímicas en Agar Bilis-Esculina, tinciones de gram y tratamientos térmicos para su aislamiento, comprobando a su vez, su viabilidad y pureza (si estaban vivos y si venían o no contaminados con la presencia de otros microorganismos), posterior a la comprobación, se sometieron a análisis bioquímicos en el equipo VITEK-2 con la intención de determinar las especies a las que pertenecía. Cada cepa además de

ser aislada también se sometió a procedimientos de conservación en semi-stock, stock y como cepas de trabajo dentro del cepario del laboratorio.

**Actualización de la base de datos del cepario:** Mientras se mantuvo el análisis de los enterococos, se llevó a cabo la realización de una base de datos para tener el control de las cepas analizadas, así como de los resultados obtenidos. Esta base de datos se formuló con datos como la especie en cuestión, un número de registro para cada cepa, así como el número de registro para su ingreso al cepario, las características que presentó durante su aislamiento en los medios utilizados y si se tuvieron observaciones.

**Apoyo en el proceso de compostaje:** El compostaje se realiza con la materia orgánica que sobra de los análisis que se realizan en el laboratorio, este proceso se hace conforme las necesidades de desechar la materia que se va juntando en contenedores especiales. Para realizar dicha actividad, primero se deben de poner en conjunto toda la materia dentro de una pila hecha en un área destinada a la composta dentro de la unidad en la que se encuentra el laboratorio, ya con la materia depositada en el área, se comienza a picar con palas hasta dejar trozos pequeños con la intención de que su descomposición sea más rápida, y el proceso de composta se aceleré, a su vez, también se le va agregando otro tipo de materia orgánica como hojarasca y tierra, al finalizar de agregar estos componentes, lo último que se hace es taparlo con un plástico que la mantenga protegida. El resultado de este proceso se utiliza en la reparación y mantenimiento de las áreas verdes con las que cuenta el centro.

**Monitoreo ambiental:** Esta actividad se realiza con la intención de asegurar la sanidad dentro del laboratorio, por lo que primero se hace un hisopado sobre las superficies de las áreas de trabajo como mesas de trabajo, gabinetes de seguridad, incubadoras, entre otros, después los hisopos se meten en un medio de transporte para ser vaciado en una placa Petrifilm que se incuba para determinar si existe la presencia de, *Listeria monocytogenes*, hongos y levaduras, enterobacterias y mesófilos aerobios. Posterior a la incubación, se hace el conteo de las colonias que hayan o no crecido en dichas placas y se emite un informe donde se integra el número de UFC. Además, también se realiza un monitoreo ambiental del aire, en este caso, el procedimiento es más sencillo debido a que solo se requiere dejar las placas abiertas al aire durante 15 minutos, cerrar e incubar el tiempo y a la temperatura que sea necesario dependiendo del tipo de placa y el microorganismo que se busca hacer crecer.

## **DESCRIPCION DEL VINCULO DE LAS ACTIVDADES DESARROLLADAS CON LOS OBJETIVOS DEL PALN DE ESTUDIOS.**

La licenciatura en Biología en la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) unidad Xochimilco, tiene como misión “*formar biólogos cuyas habilidades, competencias y*

*conocimientos les permitan participar en el diagnóstico, gestión y planeación del uso, conservación y restauración de los recursos naturales”* (UAM, s.f). A razón de lo anterior se puede inferir que las actividades que se realizarán como servicio social en el SENASICA, están relacionadas específicamente con el diagnóstico de la sanidad de los recursos naturales (vegetales y productos cárnicos), para gestionar la importación, exportación y el correcto desarrollo de los campos agrícolas de México. Sin embargo, las actividades a realizar en SENASICA también pueden relacionarse especialmente con el programa de estudios de la licenciatura en Biología en la UAM Xochimilco, ya que el objetivo del módulo de nombre “Procesos Celulares Fundamentales” impartido durante el 2.º trimestre de la licenciatura, busca que se desarrollen conocimientos sobre las metodologías que se siguen en las ciencias biológicas en el estudio de los procesos tanto de células eucariotas como procariontas, además de también vincularse con el módulo 6.º de nombre “Plagas y Enfermedades de un Recurso Natural”, donde el objetivo es buscar e interpretar a las plagas y enfermedades de los recursos como un suceso natural o antrópico para consecuentemente evaluarlo y proponer estrategias para su solución o regulación. (UAM, 2019).

## REFERENCIAS

- SADER. (s.f). *Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. ¿Qué hacemos?* Recuperado el 6 de junio del 2022, de <https://www.gob.mx/agricultura/que-hacemos>
- SENSAICA (s.f). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria ¿Qué hacemos?. Recuperado el 18 de octubre del 2022 de, <https://www.gob.mx/senasica/que-hacemos>
- SENASICA (s.f). *Directorio*. Recuperado el 6 de junio del 2022 de, <https://www.gob.mx/senasica#2092>
- SENASICA. (abril de 2021). *Servicios del Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos Patógenos*. Catálogo de Servicios del Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos Patógenos. Recuperado el 6 de junio del 2022, de <https://www.gob.mx/senasica/documentos/catalogo-de-servicios-del-laboratorio-de-diagnostico-para-la-deteccion-de-organismos-patogenos?state=published>
- UAM (s.f). *Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco*. Misión y Visión. Recuperado el 6 de junio del 2022 de, <http://www2.xoc.uam.mx/oferta-educativa/divisiones/cbs/licenciaturas-posgrados/pplic/biologia/mision/>
- UAM. (2019). *Plan y Programas de Estudio*. Programa de estudios. Recuperado el 6 de junio del 2022, de <http://www2.xoc.uam.mx/oferta-educativa/divisiones/cbs/licenciaturas-posgrados/pplic/biologia/plan/>