



**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C.**

**SUPERVIVENCIA DE *Salmonella* Typhimurium EN  
SOLUCIONES PLAGUICIDAS DE APLICACIÓN FOLIAR  
UTILIZADAS EN LA PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS EN  
SINALOA**

---

Por:

**Cecilia del Carmen Sánchez Armenta**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN CULIACÁN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTOS  
AGRÍCOLAS DE ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS**

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Cecilia del Carmen Sánchez Armenta, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que se acepte comorequisito parcial para obtener el grado de maestra en ciencias.

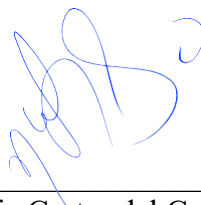


---

Dr. Cristóbal Chaidez Quiroz  
Director de Tesis

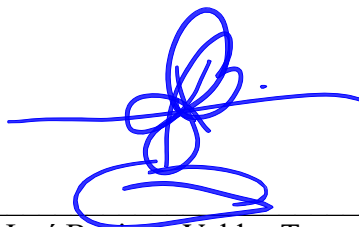
LÓPEZ CUEVAS OSVALDO

Dr. Osvaldo López Cuevas  
Integrante del comité



---

Dra. Nohelia Castro del Campo  
Integrante del comité



---

Dr. José Benigno Valdez Torres  
Integrante del comité


## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Supervivencia de *Salmonella* Typhimurium en Soluciones Plaguicidas de Aplicación Foliar Utilizadas en la Producción de Hortalizas en Sinaloa” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Cecilia del Carmen Sánchez Armenta, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN  
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.**  
Coordinación de Programas Académicos

  
Dr. Pablo Wong Gonzalez  
Director General

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por otorgarme el apoyo económico para la realización de mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Coordinación Culiacán, por todas las facilidades otorgadas para realizar mis estudios de maestría. Gracias por abrirme las puertas y otórgame la gran oportunidad de formar parte de su institución. Ha sido todo un honor y un privilegio.

A mi director de tesis el Doctor Cristóbal Chaidez Quiroz por haber confiado en mí y por su paciencia. Gracias por sus orientaciones. A los miembros de mi comité Dr. José Benigno Valdez Torres, Dr. Osvaldo López Cuevas y la Dra. Nohelia Castro del Campo por toda la ayuda brindada y por guiarme en este proyecto en base a su experiencia y conocimiento.

Un agradecimiento muy especial a todo el cuerpo docente de CIAD por su dedicación, perseverancia, sus sabias palabras, por compartir sus conocimientos y aclarar cualquier clase de duda que me surgiera.

A todo el personal administrativo, de mantenimiento y de todas las áreas que conforman a CIAD, por brindarnos siempre las mejores condiciones para el aprendizaje.

Al M.C. Armando Carrillo Fasio, al M.C. Pedro Rojas y a Eduardo García por su ayuda en la obtención de las muestras de productos plaguicidas que se utilizaron en esta investigación.

Un agradecimiento muy grande al M.C Pedro Bastidas por su disposición a responder todas mis dudas y por sus asesorías. A los ingenieros Alexis Mendoza, Ramsés Acosta y Rosaura Valenzuela por las entrevistas brindadas, por sus valiosos asesoramientos y disposición a responder mis dudas en temas técnicos.

A los compañeros del laboratorio LANIIA por brindarme su apoyo y compartir sus conocimientos en todo momento, especialmente a Q.F.B. Miriam Vega y Q.F.B Celida Martínez. Quiero agradecer de manera especial a mis compañeros Hilary Beltrán, Edgar Reza, Alejandro Osuna, Alejandro Camacho, Alondra Acosta, Valeria Gurrola, Mónica Osuna cuya valiosa ayuda fue indispensable a lo largo de este proceso. Gracias por su tiempo, compañía y por ayudarme en el momento que más lo necesite.

A mis compañeros de generación por el apoyo y ánimo brindado a lo largo de esta etapa.

A la Dra. María de los Ángeles Félix por tener la palabra precisa en el momento adecuado.

## DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada a mi familia que toda mi vida me ha brindado su amor y comprensión incondicional. A mi papá Miguel Sánchez Breceda, por apoyarme en cada momento de mi vida y alentarme a seguir adelante siempre que sentía que me quedaba sin fuerzas, siempre voy a ser como una amenaza en tu vida. A mi mamá Carmen Elena Armenta Armenta, por siempre recordarme que soy capaz de lograr todo lo que me propongo y cuidar siempre de mí, aunque no siempre estemos cerca. A mi hermano Miguel, por siempre ofrecerme su ayuda. A mi hermana Claudia Elena, por estar ahí para alentarme en cada una de mis aventuras. A mi padrino Raúl Madrid Sánchez, por ser mi segundo padre y siempre cuidarme y quererme. A mi madrina María Brenda Aranda Flores, por ser una de las mujeres más fuertes e inteligentes que conozco. Agradezco a Dios que usted cuide mi camino, gracias por quererme como una hija más. A todos y cada uno de los miembros de mi familia, gracias. Los amo.

Dedico este trabajo a mis amigos que me han brindado su compañía, cariño y comprensión de manera incondicional y cuando más la he necesitado, especialmente a Misael Angulo, Alonso Niebla, Diana Carillo, Claudia Salazar, Mary Laura Anaya, Cristina Serrano por todos los buenos momentos; a Daniel Armenta por darle los colores más bonitos a mi vida; a Itzel Ruíz por ser esa luz que me recuerda que la vida es buena; a Elizabeth Salmón por siempre estar para mí aunque no estemos cerca; a Mariel García por ser confidente, complica, compañera y parte de mi corazón; a Abigail Valenzuela por siempre reconformar mi alma cuando más lo necesito. Quiero dedicar este trabajo de manera muy especial a Leslie Magaña, a quien le debo mucho, si no me hubieras agarrado la mano con esa puerta yo no sería la persona que soy ahora. Y al Dr. Jesús Estrada Manjarrez, que con el paso de los años se convirtió en más que un mentor y paso a ser parte de mi vida como un buen amigo, gracias por sus consejos, por confiar en mí y transmitirme el gusto por nunca dejar de aprender cosas nuevas.

Especialmente quiero dedicar este trabajo a José Luis Vidales Carrillo, por apoyarme desde el primer momento y por seguir haciéndolo. Te agradezco por haberme acompañado en el camino con paciencia, cariño y sobre todo con entusiasmo. Por celebrar mis logros, confiar en mis sueños y ayudarme a lograr mis metas. Gracias por siempre creer que soy más inteligente de los que realmente soy.

## CONTENIDO

<b>APROBACIÓN</b> .....	2
<b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b> .....	3
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	4
<b>DEDICATORIA</b> .....	5
<b>CONTENIDO</b> .....	6
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	8
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	9
<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	12
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	15
2.1. Contaminación Microbiológica Durante la Producción Agrícola .....	15
2.2. <i>Salmonella</i> spp.....	16
2.2.1. Incidencia de Casos de Infección Causados por <i>Salmonella</i> .....	17
2.3. Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano .....	18
2.3.1. Componentes del QMRA .....	19
2.3.2. Variabilidad e Incertidumbre en la Estimación del Riesgo .....	20
2.3.2.1. Incertidumbre en la etapa de evaluación de la exposición. ....	22
2.4. Contaminación Microbiológica por Aplicaciones Foliars de Soluciones Plaguicidas.....	23
2.5. Supervivencia de Microorganismos Patógenos en Soluciones Plaguicidas .....	26
<b>3. HIPOTESIS</b> .....	30
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	31
4.2. Objetivo General.....	31
4.3. Objetivos Específicos .....	31
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	32
5.1. Plaguicidas.....	32
5.2. Evaluación de Esterilidad de los Plaguicidas .....	33
5.3. Preparación y Purificación del Inóculo de <i>Salmonella</i> .....	33
5.4. Evaluación de la Supervivencia de <i>Salmonella</i> Typhimurium en Soluciones Plaguicidas.....	34
5.5. Cálculo de Resultados .....	35
5.6. Análisis Estadístico.....	35
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	37
6.1. Esterilidad y pH de los Productos Plaguicidas .....	37
6.2. Evaluación de la Supervivencia de <i>Salmonella</i> Typhimurium en Soluciones Plaguicidas.....	38

## CONTENIDO (continuación)

6.2.1. Supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> a Controla 480 CE (clorpirifos) .....	38
6.2.2. Supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> a Plenum 50GS (pimetrozina).....	41
6.2.3. Supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> a Versys (afidopiropen) .....	44
6.2.4. Supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> a Palvec T-L (tiametoxam + lambda cihalotrina) .....	46
6.2.5. Discusión General de los Plaguicidas Evaluados .....	49
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>51</b>
<b>8. RECOMENDACIONES</b> .....	<b>52</b>
<b>9. REFERENCIAS</b> .....	<b>53</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1.	Evaluación de la esterilidad de los productos plaguicidas en estudio por 48 h a 35-37 °C. A) Palvec T-L, B) Controla 480 CE, C) Versys, D) Plenum 50 GS.....	38
2.	Gráfica de interacción entre la concentración de la solución plaguicida Controla 480 CE y el tiempo de exposición.....	41
3.	Gráfica de interacción entre la concentración de la solución plaguicida Plenum 50 GS y el tiempo de exposición.....	43
4.	Gráfica de interacción entre la concentración de la solución plaguicida Versys y el tiempo de exposición.....	46
5.	Gráfica de interacción entre la concentración de la solución plaguicida Palvec T-L y el tiempo de exposición.....	48



## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Casos de Salmonelosis asociados al consumo de productos agrícolas frescos producidos en México.....	16
2. Lista de plaguicidas comerciales utilizados en este estudio.....	34
3. Concentraciones (ppm) de los plaguicidas en estudio.....	36
4. Valores iniciales de pH de las soluciones plaguicidas en estudio.....	39
5. ANOVA del producto Controla 480 CE.....	40
6. Supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> en la solución plaguicida Controla 480 CE.....	41
7. ANOVA del producto Plenum 50GS.....	43
8. Supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> en la solución plaguicida Plenum 50 GS.....	44
9. Porcentaje de supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> en la solución plaguicida Plenum 50 GS.....	44
10. ANOVA del producto Versys.....	45
11. Supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> en la solución plaguicida Versys.....	46
12. Porcentaje de supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> en la solución plaguicida Versys.....	47
13. ANOVA del producto Palvec T-L.....	48
14. Supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> en la solución plaguicida Palvec T-L.....	49
15. Porcentaje de supervivencia de <i>S. Typhimurium</i> en la solución plaguicida Palvec T-L.....	49

## RESUMEN

La producción de frutas y hortalizas se encuentra expuesta a contaminación por agentes físicos, químicos y biológicos. Los agentes biológicos son microorganismos patógenos que pueden afectar la salud de los consumidores, ocasionar brotes epidemiológicos y hacer necesario la evaluación y el control de los riesgos a la salud asociados con estos patógenos. La evaluación cuantitativa del riesgo microbiano es una herramienta ampliamente utilizada para estudiar la problemática de salud asociada con microorganismos patógenos que se transmiten por el agua y alimentos. Sin embargo, esta metodología depende fuertemente de información empírica acerca de las tasas de supervivencia, muerte y crecimiento de microorganismos patógenos a lo largo de las etapas de la cadena de producción, por lo que es imprescindible la generación de datos precisos y confiables para su implementación. Usar agua no potable para las actividades agrícolas puede provocar contaminación biológica, pues esta agua puede tener contacto directo con la porción comestible del cultivo, como ocurre durante la aplicación foliar de plaguicidas. Con frecuencia, los plaguicidas son diluidos con agua de calidad microbiológica inadecuada, comprometiendo la inocuidad de los productos hortofrutícolas. El propósito de esta investigación fue determinar la supervivencia de *S. Typhimurium* en 4 plaguicidas comerciales: Controla 480 CE, Palvec T-L, Versys y Plenum 50 GS. Los plaguicidas fueron diluidos con agua destilada estéril a tres dosis (alta, media y baja) e inoculados con  $9 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/mL}$  de *S. Typhimurium* para ser evaluados a los tiempos 0, 1 y 24 h. Tras una incubación por 24 h a  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$  *S. Typhimurium* tuvo un porcentaje de supervivencia promedio de 98.129 % en Versys, 90.876 % en Plenum 50GS y 96.687 % en Palvec T-L. La dosis de producto plaguicida y el tiempo de exposición no tuvieron un efecto significativo ( $P > 0.05$ ) en la supervivencia. Esta investigación demuestra que las soluciones plaguicidas permiten la supervivencia de bacterias patógenas para los humanos, convirtiéndose en un peligro para la salud de los consumidores, por lo que es imperativo que las investigaciones en esta área continúen y se amplíen.

**Palabras claves:** *Salmonella Typhimurium*, supervivencia, solución plaguicida, hortalizas.

## ABSTRACT

Fruit and vegetable production is exposed to contamination by physical, chemical, and biological agents. Biological agents are pathogenic microorganisms that can affect the health of consumers, cause epidemiological outbreaks, and make it necessary to assess and control the health risks associated with these pathogens. The quantitative assessment of microbial risk is a widely used tool to study the health problems associated with pathogenic microorganisms that are transmitted through water and food. However, this methodology strongly depends on empirical information about the survival, death, and growth rates of pathogenic microorganisms throughout the stages of the production chain, making it essential to generate accurate and reliable data for their implementation. Using non-potable water for agricultural activities can cause biological contamination, since it frequently has direct contact with the edible portion of the crop, as occurs during foliar application of pesticides. Frequently, these products are diluted with water of inadequate microbiological quality, compromising the safety of fruit and vegetable products. The purpose of this research was to determine the survival capacity of *S. Typhimurium* in 4 commercial pesticides were evaluated: Control 480 CE, Palvec T-L, Versys, and Plenum 50 GS. The pesticides were diluted with sterile distilled water at three doses (high, medium, and low) and inoculated with  $9 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$  of *S. Typhimurium* to be evaluated at times 0, 1, and 24 h. After incubation for 24 hours at  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , *S. Typhimurium* had an average survival percentage of 98.129 % in Versys, 90.876 % in Plenum 50 GS, and 96.687 % in Palvec T-L. The dose of the pesticide product and the exposure time did not have a significant effect ( $P > 0.05$ ) on the survival capacity. This research shows that the evaluated pesticide solutions could incorporate microbiological contamination during vegetable production, becoming a health hazard for consumers, so research in this area must continue and expand.

**Keywords:** *Salmonella Typhimurium*, survival, pesticide solution, vegetables.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los mercados nacionales e internacionales son cada vez más exigentes con la inocuidad de frutas y hortalizas frescas debido a la frecuente incidencia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), las cuales se derivan de un manejo inadecuado durante las etapas primarias de producción agrícola.

Durante las primeras etapas de producción, las frutas y hortalizas pueden estar expuestas a contaminación química y biológica. Esta contaminación puede ocurrir a través del agua y/o superficies de contacto y representa un riesgo potencial de ocasionar efectos adversos en la salud de los consumidores. Dentro de los contaminantes biológicos se encuentran microorganismos patógenos como *Salmonella entérica*, identificada en los últimos años como una de las principales bacterias que afectan la inocuidad de frutas y hortalizas destinadas al mercado nacional e internacional (SENASICA, 2019a).

El agua de uso agrícola es reconocida como una de las principales fuentes de contaminación del producto en campo, principalmente cuando el agua tiene contacto directo con la porción comestible del cultivo, lo cual puede ocurrir durante las actividades de riego, fertilización y aplicación de productos plaguicidas. En años recientes se ha cuestionado la contribución de los plaguicidas a la contaminación microbiológica de los cultivos durante la cadena de producción (Guan *et al.*, 2001; Ng *et al.*, 2005), lo cual se atribuye principalmente al uso de agua de calidad microbiológica inapropiada (Guan *et al.*, 2001), y a que la combinación de factores como la temperatura del agua, ingredientes activos, inertes y concentración de algunos plaguicidas reconstituidos pueden presentar un entorno adecuado para la supervivencia y el crecimiento de organismos patógenos como *Salmonella enterica*, *Shigella*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes*. (Guan *et al.*, 2005; Ng *et al.*, 2005; López-Velasco *et al.*, 2013; Dobhal *et al.*, 2014).

El creciente volumen y globalización en el comercio de frutas y hortalizas, los cambios en las prácticas agrícolas, los cambios en el comportamiento humano y la ecología, así como mayores exigencias gubernamentales de protección a la salud, hacen necesaria una mayor atención a la

inocuidad de los alimentos y la implementación de sistemas más sofisticados de detección y gestión de peligros presentes de los alimentos (FAO/OMS, 2007).

El uso de herramientas predictivas, como el análisis de riesgo, otorga la información y las pruebas necesarias para tomar decisiones y permite establecer criterios de acción de manera eficaz y transparente para el control de peligros microbiológicos presentes en alimentos. El análisis de riesgo está conformado por tres elementos: la evaluación de riesgo, la gestión de riesgo y la comunicación de riesgo. Este análisis permite estimar los riesgos potenciales para la salud y la seguridad humana, se identifican y se aplican medidas adecuadas para controlar los riesgos y se comunican con las partes interesadas para notificar los riesgos y las medidas aplicadas (FAO/OMS, 2007).

La evaluación cuantitativa del riesgo microbiano (QMRA, por sus siglas en inglés) es el componente científico empleado en el análisis de riesgo en la inocuidad alimentaria. La evaluación de riesgo puede describirse como la determinación de los posibles efectos adversos para la vida y la salud resultantes de la exposición a peligros durante un determinado período de tiempo (FAO/OMS, 2007). El QMRA tiene una base científica sólida y su proceso consta de un enfoque estructurado compuesto por cuatro etapas: identificación del peligro, evaluación de la exposición, evaluación dosis-respuesta y caracterización del riesgo. Cabe señalar que los modelos matemáticos empleados en un QMRA requieren de información precisa de lo que puede ocurrir al microorganismo de interés en cada paso durante el proceso de producción del alimento de interés y las variaciones que el microorganismo puede sufrir en cada paso. Por tanto, estos modelos matemáticos se estiman con información científica sólida, previamente publicada u obtenida experimentalmente para cada caso en estudio. Sin embargo, una de las grandes limitaciones en el uso de estos modelos es la frecuente falta de información científica para los modelos que constituyen el QMRA. Por ejemplo, las tasas de crecimiento, supervivencia y muerte de los microorganismos presentes en un alimento a lo largo de cada una de las etapas del sistema agroalimentario, lo cual genera una gran incertidumbre es las estimaciones realizadas (Haas *et al.*, 2014).

En México, la agricultura es una de las actividades económicas con mayor relevancia con más del 23 % del territorio nacional se destinado a actividades agrícolas (CONAGUA, 2018). Uno de los principales productores agrícolas de México es Sinaloa, el cual cultiva más de un millón de hectáreas mediante un sistema productiva altamente tecnificado (CODESIN, 2020). Por otro lado, la agricultura sinaloense utiliza extensivamente plaguicidas en el combate de plagas y enfermedades que afectan sus cultivos, lo cual ocasiona diversos problemas al medio ambiente y a la salud de la población. El uso extensivo de plaguicidas puede ocasionar resistencia de microorganismos patógenos y estudios previos demuestran que la aplicación de algunas soluciones plaguicidas no afecta su supervivencia (Guan *et al.*, 2005; Ng *et al.*, 2005; López-Velasco *et al.*, 2013; Dobhal *et al.*, 2014), lo cual las convierte en una posible fuente de contaminación durante la producción en campo.

Hasta el momento no se ha encontrado información sobre evaluaciones de la supervivencia de microorganismos patógenos en soluciones plaguicidas de uso agrícola realizadas en Sinaloa y debido a que la presencia de microorganismos patógenos en la superficie de hortalizas es un motivo de preocupación para la seguridad alimentaria y la salud de los consumidores, es imprescindible la generación de información científica que pueda ser utilizada en modelos predictivos que puedan ayudar a evaluar y controlar los riesgos potenciales asociados al consumo de productos agrícolas. Por lo que es imperativa la generación de datos que puedan ser empleados en la estimación del riesgo asociada al consumo de hortalizas producidas en la región, por lo cual, la presente investigación tuvo como propósito determinar la supervivencia de *Salmonella* Typhimurium en soluciones plaguicidas de aplicación foliar que se utilizan en la agricultura de Sinaloa.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Contaminación Microbiológica Durante la Producción Agrícola

Los productos agrícolas se pueden contaminar por el manejo inadecuado por parte de los operarios, calidad inadecuada del agua, excretas de animales, el suelo, equipos contaminados y el ambiente en general (Chen *et al.*, 2021). El agua de uso agrícola se reconoce como la fuente más constante de contaminación de los productos agrícolas en todo el mundo, especialmente las fuentes de agua superficial no tratadas o de calidad microbiológica insuficiente, como lo son los ríos y los sistemas de canales (Berger *et al.*, 2010). El entorno de los campos de producción agrícola ofrece muchas oportunidades para que los vegetales se contaminen durante las actividades de producción con virus, parásitos y bacterias (Berger *et al.*, 2010), que detonan cuadros gastrointestinales severos, a veces en poblaciones numerosas de personas (OMS, 2020).

Las infecciones diarreicas, son las enfermedades más comúnmente asociadas al consumo de alimentos contaminados con microorganismos patógenos. Cada año se presentan unos 550 millones de personas con infecciones diarreicas y provocan 230 000 muertes a nivel mundial (OMS, 2020). Las bacterias son uno de los principales agentes causales de estas enfermedades (Berger *et al.*, 2010), y se puede destacar a *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Listeria* entre los patógenos de transmisión alimentaria más comunes (OMS, 2020). De éstos, *Salmonella* es el patógeno bacteriano más comúnmente reportado, y representa casi la mitad de los brotes asociados al consumo de productos agrícolas frescos debidos a bacterias (Berger *et al.*, 2010). En los últimos diez años, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) en Estados Unidos han identificado a frutas y hortalizas producidas en los campos mexicanos como fuentes de contaminación en una serie de brotes diarreicos, en los que *Salmonella* ha sido identificada como el agente causal (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Casos de Salmonelosis asociados al consumo de productos agrícolas frescos producidos en México.

Producto	Año	Agente causal	Casos reportados	Hospitalizaciones	Muertes	Retiro del mercado	Referencia
Papaya	2011	<i>S. Agona</i>	106	10	0	Si	CDC, 2011
Papaya	2017	<i>S. Urbana</i>	7	4	0	No	CDC, 2017a
Papaya	2017	<i>S. Newport</i> y <i>S. Infantis</i>	4	2	0	No	CDC, 2017b
Papaya	2017	<i>S. Anatum</i>	20	5	1	Si	CDC, 2017c
Papaya	2019	<i>S. Uganda</i>	81	27	0	No	CDC, 2019b
Mango	2012	<i>S. Braenderup</i>	127	33	0	Si	CDC, 2012
Pepino	2013	<i>S. Saintpaul</i>	84	17	0	No	CDC, 2013
Pepino	2016	<i>S. Poona</i>	907	204	6	Si	CDC, 2016
Cebolla	2021	Serotipo sin identificar	808	157	0	Si	CDC, 2021

## 2.2. *Salmonella* spp

*Salmonella* es una bacteria Gram negativa de la familia Enterobacteriaceae con forma de bacilo, es móvil, y no forma esporas. Esta bacteria está ampliamente distribuida y es resistente a condiciones adversas, pudiendo sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y durante varios meses en agua (OMS, 2018). Hasta la fecha más de 2 500 serotipos han sido identificados, de los cuales menos de 100 causan infecciones humanas de manera frecuente (CDC, 2020a). El género *Salmonella* se divide en dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella entérica*. Esta última es la especie que representa un mayor problema de salud pública (FDA, 2012). La mayoría de los serotipos se encuentran en una diversidad de huéspedes, como animales domésticos y salvajes, y son prevalentes en animales de consumo como las aves de corral, porcinos y vacunos, pero también son frecuentemente reportados en mascotas como gatos, perros, pájaros y reptiles como las tortugas (OMS, 2018).

La mayoría de los serotipos de *Salmonella* causan una enfermedad llamada salmonelosis, algunos otros serotipos causan fiebre tifoidea o fiebre paratifoidea. Generalmente la salmonelosis se



caracteriza por la aparición brusca de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos. Los síntomas de la enfermedad comienzan a manifestarse entre 6 y 72 h después de la ingesta de *Salmonella*, y la enfermedad dura entre 2 y 7 días. En la mayoría de los casos, la enfermedad es autolimitante, los síntomas son relativamente leves y los pacientes se recuperan sin tratamiento específico. Sin embargo, en algunos casos, particularmente en niños pequeños, personas inmunocomprometidas y ancianos, la deshidratación causada por la enfermedad puede ser grave y poner en peligro la vida (OMS, 2018). Por otra parte, los serotipos Typhi y Paratyphi son los agentes causales de la fiebre tifoidea y fiebre paratifoidea respectivamente, las cuales son enfermedades potencialmente mortales. Estas enfermedades tienen síntomas similares. Las personas suelen tener una fiebre sostenida que puede llegar a los 39 a 40 ° C. Otros síntomas incluyen: debilidad, dolor de estómago, dolor de cabeza, diarrea o estreñimiento, tos y pérdida del apetito. La fiebre tifoidea y paratifoidea se tratan con antibióticos, y los casos graves pueden llegar a complicarse y causar la muerte (CDC, 2019c).

*Salmonella* habita de manera natural en los intestinos de animales y personas, por lo tanto, su forma de transmisión es por la ruta fecal-oral. Las personas pueden contraer la infección por *Salmonella* de una variedad de fuentes, que incluyen comer alimentos contaminados, beber agua contaminada, tocar animales infectados, sus heces o su entorno y después ingerirla por accidente (CDC, 2019a). Por lo general, la transmisión de la salmonelosis no tifoidea hacia los humanos se relaciona con el consumo de productos de origen animal contaminados con *Salmonella*; sin embargo, los productos agrícolas frescos, como las hortalizas, también se han vinculado a la transmisión de esta bacteria (OMS, 2018; CDC; 2013; CDC, 2016; CDC, 2021). Por su parte, *S. Typhi* y *S. Paratyphi* solo viven en el intestino de los seres humanos, por lo que la fiebre tifoidea y paratifoidea se transmiten a través del contacto con heces humanas contaminadas. Las principales fuentes de contaminación son los alimentos o el agua contaminadas, las aguas residuales y por el contacto de persona a persona (CDC, 2020b).

### **2.2.1. Incidencia de Casos de Infección Causados por *Salmonella***

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año a nivel mundial,

aproximadamente una de cada 10 personas enferma por *Salmonella* (OMS, 2018). En el territorio de los Estados Unidos, la CDC estima que cada año ocurren cerca de 1.35 millones de casos de salmonelosis, y de estos, aproximadamente 1 millón de los casos son causados por alimentos contaminados con esta bacteria. Por otra parte, aproximadamente 350 personas son diagnosticadas con fiebre tifoidea y 90 personas son diagnosticadas con fiebre paratifoidea cada año (CDC,2020b). En México, la Dirección General de Epidemiología (DGE) reportó hasta la semana epidemiológica 37 del 2021, un total de 30 286 casos de salmonelosis a nivel nacional (DGE, 2021). Cabe resaltar que las estadísticas nacionales no vinculan los casos con algún alimento o serotipo en específico, por lo que se carece de información precisa para atribuir los casos de salmonelosis a los grupos de alimentos que son vulnerables de contaminación por esta bacteria.

Actualmente se desconoce el número exacto de casos de salmonelosis que ocurren al año. Al ser *Salmonella* una de las cuatro causas principales de enfermedades diarreicas a nivel mundial (OMS, 2018) es importante aplicar medidas que ayudan a disminuir los casos de infección. Los modelos predictivos son una herramienta para la estimación y control de los peligros asociados al consumo de alimentos. Sin embargo, para llevar a cabo estas metodologías es necesario una gran cantidad de información que pueda alimentar los modelos.

### 2.3. Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano

Los microorganismos patógenos están omnipresentes en la cadena alimentaria y, a pesar de los esfuerzos por controlarlos, muchas veces los microorganismos patógenos llegan hasta el punto de consumo en cantidades suficientes para vulnerar la salud humana. Los peligros microbiológicos pueden introducirse en los alimentos a lo largo de las etapas del continuo proceso de producción-consumo, donde la prevalencia y la concentración del peligro cambian notablemente en los diferentes puntos de la cadena de distribución (FAO/OMS, 2007).

El análisis cuantitativo del riesgo microbiológico (QMRA, por sus siglas en inglés) se basa en un modelo conceptual general de las relaciones previstas entre el peligro y las poblaciones expuestas. Cada modelo particular debe describir el movimiento del agente peligroso desde la fuente hasta el anfitrión (por ejemplo, modelo fuente-vía-receptor; modelo “de la granja a la mesa”). En algunos

casos, un patógeno puede estar disponible en múltiples medios y causar diferentes enfermedades según la vía de exposición. Durante la planificación y la determinación del alcance, el evaluador de riesgo debe evaluar el medio y la vía de exposición (EPA/USDA, 2012).

Dos conceptos centrales del QMRA son peligro y riesgo. La Comisión del Codex Alimentarius define peligro como “agente biológico, químico o físico o propiedad de un alimento, capaz de provocar un efecto nocivo para la salud” y riesgo como "una función de la probabilidad de un efecto adverso para la salud y la gravedad de ese efecto, como consecuencia de un peligro en los alimentos" (Comisión del Codex Alimentarius, 1999).

La evaluación del riesgo microbiológico es el componente científico central del análisis de riesgo microbiológicos y surgió fundamentalmente como consecuencia de la necesidad de tomar decisiones para proteger la salud de la población en un contexto de incertidumbre científica. La evaluación del riesgo microbiológico puede describirse, de manera general como la determinación de los posibles efectos adversos para la salud y la vida, resultantes de la exposición a peligros (microorganismos patógenos) durante un determinado período de tiempo (FAO/OMS, 2007). Dicho de otra manera, la metodología QMRA, tiene como objetivo establecer los vínculos entre las concentraciones de microorganismos patógenos y las probabilidades de desarrollo de enfermedades, siendo una herramienta predictiva eficaz para evaluar y controlar los riesgos potenciales asociados con los patógenos transmitidos por los alimentos (Hamilton *et al.*, 2006; Haas *et al.*, 1999; Pag *et al.*, 2017). El modelo QMRA tiene como cualidad predecir un episodio de infección mediante la inclusión de datos a modelos de predicción.

### **2.3.1. Componentes del QMRA**

Una aplicación del QMRA debe considerar explícitamente los siguientes aspectos: (1) la dinámica del alimento desde su producción hasta el consumo; (2) la dinámica de crecimiento, supervivencia y muerte de los microbios en los alimentos; y (3) la complejidad de la interacción entre el ser humano y el agente (incluidas las secuelas) después del consumo (FAO/OMS, 1999).

El QMRA sigue una metodología específica que consta de cuatro pasos: identificación del peligro, evaluación de la exposición, evaluación dosis-respuesta y la caracterización del riesgo. (1) La identificación del peligro es el paso utilizado para describir con detalle las características intrínsecas del peligro (el microorganismo) en estudio, así como los efectos agudos y crónicos en la salud humana asociados con ese peligro particular. (2) La evaluación de la exposición es el paso para determinar el tamaño y la naturaleza de la población expuesta a algún peligro; esto incluye la cantidad, la ruta del peligro, todos los factores que pueden potenciar o mitigar su presencia en la matriz alimentaria y la duración de la exposición. (3) La evaluación dosis-respuesta es el paso utilizado para caracterizar la relación entre varias dosis administradas a los sujetos y la incidencia del efecto sobre la salud. Por último, (4) la caracterización del riesgo es el proceso que integra el conocimiento sobre el peligro y la exposición con la dosis-respuesta para predecir la probabilidad de un resultado adverso.

### **2.3.2. Variabilidad e Incertidumbre en la Estimación del Riesgo**

La magnitud, la variabilidad y la incertidumbre son conceptos clave asociados con la etapa de caracterización del riesgo (Haas *et al.*, 2014), ya que la precisión de los riesgos estimados es muchas veces limitada debido a la incertidumbre en la información (FAO/OMS, 2007).

Cualquier evaluación de riesgo no consiste simplemente en un número (una estimación puntual) sino en una distribución de ese riesgo. Al calcular esa distribución, es necesario diferenciar varias características de las distribuciones de insumos que pueden conducir a una "dispersión" mayor o menor en la distribución de la estimación del riesgo. Los términos "variabilidad" e "incertidumbre" se utilizan para definir dos de esas características. La variabilidad es una función del sistema y es inherente a cualquier población biológica o parámetro. Por lo general, la variabilidad no se puede reducir mediante mediciones o estudios adicionales, aunque se puede caracterizar mejor. La incertidumbre está relacionada con la falta de, esta depende de la calidad, cantidad y relevancia de los datos, así como de la confiabilidad y relevancia de los modelos y supuestos (EPA/USDA, 2012). La precisión de los riesgos estimados es muchas veces limitada debido a la incertidumbre en la información provista a los modelos matemáticos, por lo que, con el gasto de más tiempo, esfuerzo

y dinero (quizás para desarrollar mejores métodos analíticos o para tomar más muestras), pueden caracterizarse cada vez con mayor precisión (Haas *et al.*, 2014).

La información incompleta y las lagunas en los datos son un desafío importante en toda la disciplina de evaluación de riesgo. Además de los datos faltantes, los evaluadores de riesgo deben evaluar si los datos disponibles son representativos de las condiciones reales. A corto plazo pueden utilizar los datos existentes para satisfacer las necesidades de información; a medio plazo, se deben realizar pruebas con los métodos de prueba disponibles para proporcionar datos sobre el tema de interés; y a largo plazo, se debe desarrollar una comprensión mejor y más realista de la exposición y los efectos, con el fin de construir métodos de prueba más realistas para evaluar los patógenos de interés. (EPA/USDA, 2012).

En el desarrollo de un modelo QMRA es fundamental reconocer las fortalezas y debilidades de los métodos de recopilación y la calidad de los datos utilizados, y expresar cualquier incertidumbre que exista (Brown y Stringer, 2002). La falta de información pertinente al sistema alimentario que se está modelando es una limitación significativa en el desarrollo de un modelo QMRA. Las lagunas de datos se pueden clasificar en dos categorías: 1) datos no locales y 2) datos no optimizados. La primera categoría indica la necesidad de recopilar datos de fuentes locales que no han sido creados y la segunda categoría se refiere a datos recopilados de sistemas similares pero diferentes al modelado en estudio (Ortúzar *et al.*, 2020).

Todas las etapas de una evaluación de riesgo tienen algún nivel de variabilidad e incertidumbre, generalmente debido a la falta de datos y al conocimiento incompleto. Para la identificación de peligros se necesitan investigaciones de enfermedades endémicas y epidémicas, estudios de casos, estudios de hospitalización y otros datos epidemiológicos. Para completar este paso en la evaluación de riesgo los datos se obtienen de la literatura clínica, epidemiológica y microbiológica (Haas *et al.*, 2014).

Para la evaluación dosis-respuesta, los modelos de respuesta a la dosis se basan en datos experimentales en su mayor parte (Haas *et al.*, 2014). Una dificultad específica se refiere a la falta de datos para caracterizar la infección: la traducción de la infección en enfermedad y de la

enfermedad en diferentes resultados. En muchos casos, los datos disponibles pueden solo permitir la descripción de una relación entre una dosis y una enfermedad clínica. Otras dificultades surgen de las numerosas fuentes de variabilidad que deben tenerse en cuenta (por ejemplo, en la virulencia y patogenicidad de los patógenos, en las tasas de ataque y en la susceptibilidad del huésped). Por lo tanto, es fundamental que el análisis de dosis-respuesta identifique claramente qué información se ha utilizado y cómo se ha obtenido. En el enfoque tradicional de la evaluación de riesgo microbiológicos, el análisis de la relación dosis-respuesta se basa en la recopilación de la información clínica o epidemiológica disponible. En la actualidad, existe una tendencia a desarrollar modelos matemáticos para hacer esas estimaciones (Brown y Stringer, 2002).

En la evaluación de la exposición se requiere la integración de diferentes tipos de información. Se necesita conocimiento sobre la ecología de estos microorganismos, las fuentes en el medio ambiente, el transporte y el destino, incluidas las tasas de inactivación y la supervivencia en el medio ambiente, la capacidad de volver a crecer como en el caso de algunas bacterias y la resistencia a los factores ambientales (temperaturas, humedad, luz solar, etc), y movimiento a través del suelo, el aire y el agua (Haas *et al.*, 2014).

En la caracterización del riesgo, el objetivo final es obtener una distribución de probabilidades (análisis de Monte Carlo), que se logra utilizando un método de cálculo en el que el muestreo aleatorio repetido proviene de las distribuciones de los datos asociados con las entradas numéricas en muchas simulaciones (Haas *et al.*, 2014). La caracterización del riesgo debe incluir dos componentes: (1) una estimación del riesgo que sea objetiva, realista, creíble y científicamente equilibrada y (2) una descripción que explique el grado de confianza en la evaluación de riesgo, delineando claramente las incertidumbres y sus fuentes, los supuestos, junto con su impacto en la evaluación general (Brown y Stringer, 2002).

2.3.2.1. Incertidumbre en la etapa de evaluación de la exposición. En evaluaciones cuantitativas del riesgo microbiano se ha estudiado el agua de uso agrícola como fuente de contaminación durante la etapa de evaluación de la exposición, siendo el riego de los cultivos por aspersión uno de los escenarios más importantes a considerar, donde el agua se pone en contacto directo con las

partes aéreas de la planta, incluyendo frutos (Hamilton *et al.*, 2006; Pang *et al.*, 2017). Sin embargo, en los sistemas de riego tecnificados, normalmente el agua se distribuye por los cultivos por medio de cintillas, que dosifican directamente el agua por goteo en la base del tallo de las plantas, y donde el contacto directo con los frutos no es frecuente. No obstante, existen otras formas de contacto directo entre agua-fruto mediante otras actividades básicas durante el proceso de producción, por ejemplo, la aplicación de productos plaguicidas o fertilizantes de manera foliar. Esto crea una brecha de información faltante, que se requieren para alimentar datos precisos dentro de los escenarios de exposición de un QMRA.

#### 2.4. Contaminación Microbiológica por Aplicaciones Foliarias de Soluciones Plaguicidas

Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias cuyo objetivo es: prevenir, destruir, repeler o controlar una plaga. Para su aplicación en campo, los plaguicidas se diluyen en un volumen específico de agua para lograr la tasa de uso recomendada de ingrediente activo y luego se aplican como aerosoles terrestres o aéreos a los cultivos (Dobhal *et al.*, 2014). Los plaguicidas se utilizan en la agricultura para controlar las malezas, la infestación de insectos y las enfermedades ocasionadas por microorganismos. Los plaguicidas se pueden clasificar por la plaga que controlan (insecticida, acaricida, herbicida, nematocida, bactericida, fungicida, molusquicida, rodenticida, etc.), de acuerdo con su formulación (sólidos, líquidos, etc), por su grupo químico (organoclorados, organofosforados, carbamatos, biológicos, etc), por su modo de acción (contacto, ingestión, sistémicos, defoliantes, repelentes, etc), según su grado de toxicidad, entre otras (SENASICA, 2019b).

Los plaguicidas generalmente consisten en un ingrediente específico que es activo contra un grupo particular de plagas, y además incluye otros aditivos, o adyuvantes en su formulación, a menudo denominados inertes, que promueven la eficacia y estabilidad del producto. Muchos de los inertes funcionan como tensoactivos, emulsionantes, dispersantes, solubilizantes, disolventes, vehículos / diluyentes, conservantes y espesantes o agentes de suspensión. En algunas circunstancias, el agricultor puede agregar los ingredientes inertes a la mezcla al reconstituir el plaguicida con agua.

Por lo general, la composición química precisa de las preparaciones de plaguicidas es información confidencial o patentada y no está disponible públicamente. Aunque generalmente no se considera que el uso de productos plaguicidas en la producción de alimentos represente un riesgo microbiológico para la salud pública, estudios recientes han brindado evidencias para que este punto de vista se reconsidere.

Los plaguicidas por sí mismos, no se consideran una fuente de contaminación microbiana (Ng *et al.*, 2005; Dobhal *et al.*, 2014) ya que pasan por un estricto control de calidad durante su fabricación; sin embargo, una vez en suspensión con agua, puede ocurrir crecimiento microbiano debido a la combinación de factores como calidad del agua utilizada para llevar a cabo las diluciones, los ingredientes activos e inertes del producto, el intervalo de tiempo entre la dilución y la aplicación en campo, la temperatura a la que son mantenidas las soluciones, así como la concentración a la cual se aplican (Guan *et al.*, 2001; 2005; Ng *et al.*, 2005; López-Velasco *et al.*, 2013; Dobhal *et al.*, 2014). La combinación de estos factores puede llegar a tener el efecto de inhibir, o bien, estimular el crecimiento de los microorganismos patógenos presentes en la solución plaguicida (Dobhal *et al.*, 2014). Esto puede ocasionar que las soluciones plaguicidas se conviertan en una fuente de contaminación microbiológica para los productos en campo y un peligro de salud para los consumidores.

El agua aplicada a la parte aérea de la planta (aplicación foliar) entra en contacto con las porciones comestibles del cultivo, por lo que ésta se considera una fuente potencial de contaminación de los productos, especialmente si se utilizan fuentes de agua inadecuadas y microbiológicamente no caracterizadas. La fuente y la calidad del agua para la reconstitución de los productos plaguicidas es fundamental para prevenir la contaminación con microorganismos (López-Velasco *et al.*, 2013). De acuerdo con SENASICA, en sus lineamientos generales para la implementación de Sistemas de Reducción de Riesgos de Contaminación (SRRC) durante la producción primaria de vegetales el agua para uso de aspersión de productos químicos debe ser potable al momento del uso, libre de organismos patógenos, Coliformes totales y fecales según lo dispuesto en la modificación de la NOM-127-SSA1-1994 (SSA, 2000); sin embargo, en la práctica puede llegar a utilizarse agua de baja calidad microbiológica, como agua de canal (Comunicación personal con encargados de campo de la región centro de Sinaloa, 2020), lo que puede representar una fuente de contaminación para el producto en campo.



Si bien los fabricantes de plaguicidas recomiendan la aplicación de las soluciones en campo inmediatamente después de la dilución, en situaciones prácticas los plaguicidas reconstituidos pueden almacenarse durante varias horas a temperaturas cálidas en la granja antes de su aplicación y en ocasiones un plaguicida es aplicado al día siguiente de su dilución (Comunicación personal, 2020), lo que puede favorecer crecimiento de microorganismos presentes en el agua utilizada para la reconstitución (Ng *et al.*, 2005).

Los productores deben garantizar y verificar el uso de fuentes de agua adecuadas en la suspensión de los plaguicidas para que éstos puedan aplicarse directamente o entrar en contacto con las partes comestibles de los alimentos hortícolas. La aplicación de ciertos plaguicidas diluidos con agua contaminada puede permitir la persistencia o favorecer el crecimiento de microorganismos patógenos, lo que puede elevar el riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos como resultado de la aplicación de soluciones plaguicidas de contacto foliar. (López-Velasco *et al.*, 2013).

En un estudio realizado por Kapeleka y colaboradores (2020) para investigar los riesgos de exposición simultánea a residuos de plaguicidas y bacterias contaminantes en frutas y verduras frescas, se reportó que las frutas y verduras frescas con residuos plaguicidas tenían 2.231 veces más probabilidad de tener bacterias contaminantes. Sin embargo, se han realizado pocas evaluaciones de riesgo en los que se considere a la aplicación de plaguicidas como una de las fuentes iniciales de contaminación microbiológica en campo. Tal es el caso de las evaluaciones realizadas por Stine y colaboradores (2011) y Ortúzar y colaboradores (2020), quienes, en sus modelos publicados emplearon datos no optimizados para complementar los datos faltantes del efecto de los plaguicidas sobre la tasa de inactivación microbiana en la superficie de los cultivos, siguiendo la suposición de que las tasas de inactivación microbiana no se ven afectadas por la presencia de plaguicidas.

La información antes mencionada pone en manifiesto la importancia de generar datos relacionados con el uso de productos plaguicidas diluidos con agua de calidad microbiológica deficiente, donde se precise la tasa de muerte/supervivencia del microorganismo a través del tiempo, y que nos permita finalmente incorporar datos precisos en la etapa de la evaluación de la exposición en los modelos QMRA.

## 2.5. Supervivencia de Microorganismos Patógenos en Soluciones Plaguicidas

Guan y colaboradores (2001) publicaron los primeros resultados significativos sobre el riesgo microbiológico asociado con el uso de plaguicidas en la producción de alimentos. Estos investigadores inocularon 7 microorganismos patógenos (*Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri* y *Listeria monocytogenes*) en 15 plaguicidas comerciales: 5 herbicidas (glifosato, sethoxydim, paraquat, linurón y 2,4-diclorofenoxiacético); 5 fungicidas (mancozeb, benomilo, clorotalonil, metalaxilo y tiram) y 5 insecticidas (carbarilo, clorpirifos, diazinon, permetrina y dimetoato) utilizados en la agricultura en Canadá, los cuales fueron diluidos con agua potable para su evaluación. Después de 24 y 96 h de incubación a temperatura ambiente (20-22 °C) encontraron que estos patógenos podían llegar a sobrevivir (carbarilo, glifosato y paraquat) e incluso aumentar su población (linurón clorotalonil, clorpirifos y permetrina), tanto a corto plazo (24 h de incubación), como a largo plazo (96 h de incubación). Dentro de los patógenos evaluados por este grupo de trabajo, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* fueron capaces de sobrevivir en un producto (carbarilo) y presentaron un crecimiento de su población inicial en otras cuatro soluciones plaguicidas (linurón, clorotalonil, permetrina y clorpirifos) con un aumento promedio de la población de 4 Log<sub>10</sub> UFC/mL.

Ng y colaboradores (2005) demostraron que algunas preparaciones de plaguicidas, comúnmente utilizadas durante el cultivo de lechuga, podrían aumentar la contaminación microbiana de dichos productos. Este equipo de trabajo evaluó la supervivencia y crecimiento de *Escherichia coli* O111:NM, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium en 10 plaguicidas comerciales entre los que se encontraban 2 herbicidas (pendimetalina y fluazifop-P-butil), 4 fungicidas (azufre elemental, hidróxido de cobre, sulfato de cobre tribásico y mancozeb) y 4 insecticidas (alfa-cipermetrina, metomilo, permetrina y pirimicarb). Estos productos fueron diluidos con agua de diferentes fuentes (agua destilada, de río, pozo y presa) a la concentración recomendada por los fabricantes e incubados a 30 °C por 48 h. Posteriormente se observaron 3 variables de respuesta: inhibición, supervivencia y crecimiento, dependiendo del microorganismo y solución plaguicida a la que fue expuesto. De los 10 plaguicidas en estudio, solo 2 permitieron la

supervivencia y crecimiento de *Salmonella*. Por su parte, *S. Enteritidis* fue capaz de sobrevivir en azufre elemental y en pirimicarb, mientras que *S. Typhimurium* presentó un aumento promedio de su población de 3 Log<sub>10</sub> UFC/mL en estos mismos plaguicidas. En los otros 8 plaguicidas evaluados, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* fue inhibida tras 12 h de exposición.

Guan y colaboradores (2005) evaluaron la influencia de la temperatura, el tipo de plaguicida y la concentración del inóculo en la capacidad de *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Heidelberg, *Listeria monocytogenes*, *Shigella sonnei* y *Shigella flexneri* para sobrevivir o crecer en 7 soluciones plaguicidas (permetrina, óxido de fenbutatin, benomilo, dicloran, clorotalonil, hidróxido de cobre y captan) utilizadas por la industria hortícola. Los plaguicidas fueron diluidos con solución salina estéril a las concentraciones de aplicación recomendadas más bajas, e incubadas a 21 °C durante 96 h. Además, se evaluaron el efecto de la temperatura y la concentración de plaguicida en la capacidad de las cepas bacterianas para sobrevivir en plaguicidas reconstruyéndolos al doble de la concentración mínima recomendada, e incubándolos a 25 o 30 °C por hasta 96 h. Entre los patógenos probados, *Salmonella* fue capaz de sobrevivir mejor en 3 de las soluciones evaluadas (óxido de fenbutatin, benomilo y dicloran) y de aumentar en promedio 1 Log<sub>10</sub> UFC/mL su población inicial en 2 productos (permetrina, y clorotalonil). Al igual que con la temperatura, el efecto de la concentración de plaguicidas en la supervivencia de las bacterias varió con el tipo de plaguicida. El aumento de la temperatura de 21 a 25 o 30 °C tuvo efectos variables en la supervivencia de *Salmonella*, dependiendo del plaguicida. El aumento de la temperatura de incubación de 21 °C a 25 °C promovió el crecimiento de la población de *Salmonella* presente en clorotalonil, dicloran, benomilo y permetrina. Para el caso del óxido de fentabutatin se observó una disminución de la concentración presente de la bacteria. Por otro lado, el aumento de la temperatura de 25 °C a 30°C promovió el crecimiento de la población de *Salmonella* presente en óxido de fentabutatin y no se observaron cambios en la concentración bacteriana en dicloran. Para el caso de clorotalonil, benomilo y permetrina se observó una disminución en la concentración de *Salmonella* tras 96 h de incubación.

En un estudio realizado por López-Velasco y colaboradores (2013) se evaluó *in vitro* la cinética de crecimiento de *Salmonella* serotipos Newport, Poona y Michigan en soluciones plaguicidas etiquetadas para uso en la producción de tomate. Este estudio proporcionó más evidencia sobre la

capacidad de las soluciones plaguicidas para apoyar el crecimiento de *Salmonella*, y los autores señalan la importancia de la calidad microbiológica del agua de contacto foliar como un punto crítico para prevenir la contaminación de frutas y verduras desde las primeras etapas de producción en el campo. Estos autores evaluaron 12 plaguicidas, 7 insecticidas (imidacloprid, esfenvalerato, indoxacarb, clorantraniliprol, metoxifenoza, spinetoram y spinosad) y 5 funguicidas (miclobutanil, clorotalonil, pyraclostrobin, mefenoxam y azufre elemental). Los plaguicidas se reconstituyeron a partir de formulaciones comerciales concentradas a dosis sugeridas en la etiqueta. La disolución se realizó en agua potable no estéril, agua suplementada con 10 mL/L de suero bovino filtrado estéril (como una matriz de carga biológica orgánica controlada), o en agua superficial para riego recolectada de un canal de distribución en la región del Valle de San Joaquín de California. La concentración del plaguicida se estableció de acuerdo con el etiquetado de registro de la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. (US-EPA) y la Agencia de Protección Ambiental de California (CALEPA). Las soluciones plaguicidas inoculadas se incubaron en la oscuridad a 10, 25 y 37 °C. La cuantificación y confirmación de colonias de la población de *Salmonella* se determinó después de 0, 24, 48, 72 y 96 h. En general, el efecto de la composición del agua, la temperatura y el tiempo de almacenamiento, así como sus respectivas interacciones, fueron significativos con relación a la cinética de crecimiento de *Salmonella* en presencia de concentraciones aprobadas de agroquímicos comúnmente aplicados a tomates. De acuerdo con el patrón de comportamiento (muerte-supervivencia-crecimiento) de *Salmonella* en las diversas soluciones plaguicidas, los plaguicidas evaluados se clasificaron en dos grandes grupos. En el grupo 1, se clasificaron a los plaguicidas que apoyaban la viabilidad sostenida de los serovares de *Salmonella entérica* introducidas, pero no contribuyen a un potencial de crecimiento significativo. En este grupo se asignaron la mayoría de los plaguicidas (esfenvalerato, indoxacarb, clorantraniliprol, metoxifenoza, spinetoram, clorotalonil, mefenoxam). Por el contrario, en el grupo 2 se clasificaron a los plaguicidas que apoyaron el crecimiento de *Salmonella* (imidacloprid, spinosad, miclobutanil, pyraclostrobin y azufre elemental). El aumento promedio de *Salmonella* fue de 4 Log<sub>10</sub> UFC/mL. El efecto de la calidad del agua utilizada para llevar a cabo las diluciones fue significativo, pero la interacción con la temperatura fue el factor dominante. La presencia de materia orgánica y cantidades potencialmente pequeñas de nutrientes inorgánicos disueltos pueden favorecer el mantenimiento de las células microbianas, aunque no parecen proporcionar ninguna fuente de nutrientes significativa para el crecimiento. Por lo tanto, la presencia de productos

químicos agrícolas, la composición del agua y las condiciones en las que se mantienen estas soluciones durante el uso pueden contribuir significativamente al crecimiento de patógenos para los humanos.

Dobhal y colaboradores (2014) evaluaron la supervivencia y crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* spp en 3 fungicidas (hidróxido de cobre, clorotalonil y azoxistrobina) y 5 insecticidas (acetamiprid, flonicamida, cipermetrina, permetrina y metoxifenoza) que se utilizan comúnmente para el control de enfermedades y plagas en vegetales de hojas verdes y tomate. Para llevar a cabo su evaluación, el equipo de trabajo diluyó los plaguicidas en estudio con agua destilada estéril inmediatamente antes de los experimentos. Cada plaguicida fue preparado y probado en 3 concentraciones diferentes (alta, media y baja) según la recomendación del fabricante. Las soluciones fueron incubadas a 35-37 °C por 24 h. Entre los plaguicidas evaluados, se encontró que *S. Typhimurium* fue capaz de sobrevivir en las 3 concentraciones de clorotalonil, flonicamida, azoxistrobina, acetamiprid y metoxifenoza, en el caso de permetrina, *S. Typhimurium* solo fue capaz de sobrevivir en la concentración baja; mientras que en cipermetrina *S. Typhimurium* sobrevivió en las concentraciones baja y media.

Hasta el momento se ha evaluado la supervivencia y crecimiento de microorganismos patógenos en soluciones plaguicidas usadas en la producción de hortalizas, y se han identificado que el tipo de plaguicida, el tipo de microorganismo presente, la concentración de producto, la calidad del agua utilizada en las diluciones y el tiempo y temperatura de exposición son factores que contribuyen en la supervivencia y crecimiento de microorganismos patógenos en soluciones plaguicidas. Además, se ha identificado a *Salmonella entérica* como uno de los microorganismos con mayor capacidad de supervivencia y crecimiento en soluciones plaguicidas.

### 3. HIPOTESIS

- 1.- *S. Typhimurium* es capaz de sobrevivir en las soluciones plaguicidas formuladas con clorpirifos, lambda cihalotrina y tiametoxam, y disminuye su población en soluciones con pimetrozina y afidopiropen.
- 2.- *S. Typhimurium* es capaz de sobrevivir en concentraciones muy similares en las dosis baja, media y alta recomendadas por los fabricantes de soluciones plaguicidas con clorpirifos, lambda cihalotrina, tiametoxam, pimetrozina y afidopiropen.
- 3.- *S. Typhimurium* tiene un porcentaje de supervivencia de 100 % en soluciones plaguicidas con clorpirifos, lambda cihalotrina y tiametoxam, y un porcentaje de supervivencia menor al 50 % en soluciones plaguicidas con pimetrozina y afidopiropen.

## **4. OBJETIVOS**

### 4.2. Objetivo General

Determinar la supervivencia de *S. Typhimurium* en soluciones plaguicidas de aplicación foliar utilizadas en la producción de hortalizas.

### 4.3. Objetivos Específicos

- 1.-Identificar el efecto (muerte/supervivencia/crecimiento) que tienen las soluciones plaguicidas en estudio sobre *S. Typhimurium*.
- 2.-Determinar el porcentaje de supervivencia de *S. Typhimurium* en las soluciones plaguicidas en estudio.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

En la presente investigación se determinó la supervivencia de *S. Typhimurium* en cuatro soluciones plaguicidas de tipo insecticida: Controla 40 CE (clorpirifos), Versys (afidopiropen), Palvec T-L (tiametoxam y lambda cihalotrina) y Plenum 50 GS (pymetrozina), los cuales son plaguicidas comerciales autorizados para su uso en el cultivo de hortalizas como chile, pimiento, berenjena, tomate y pepino. En cada plaguicida se evaluó la esterilidad y el pH iniciales antes de su evaluación. Para ello, los plaguicidas fueron diluidos a tres dosis (alta, media y baja) utilizando agua destilada estéril y evaluados al tiempo 1 min, 1 h y 24 h utilizando la técnica de conteo en placa. El serotipo *S. Typhimurium* se seleccionó como peligro para la aplicación del QMRA.

### 5.1. Plaguicidas

Los cuatro plaguicidas evaluados fueron obtenidos de empresas agrícolas de la región del valle de Culiacán. Estos productos cuentan con autorización por parte del Código Federal de Regulaciones de Estados Unidos (US Federal Government, 2020) y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios de México (COFEPRIS) para combatir plagas en hortalizas (Cuadro 2). La dilución de los productos plaguicidas se efectuó con agua destilada estéril antes de cada prueba y se realizaron mediciones del pH inicial antes de la inoculación utilizando un potenciómetro (Thermo Scientific, VSTAR50. EE.UU.).



**Cuadro 2.** Lista de plaguicidas comerciales utilizados en este estudio.

Nombre Comercial	Ingrediente Activo	Tipo	% de Ingrediente Activo	Dosis por Ha	Grupo Químico	Empresa
Versys	Afidopiropen	Insecticida	9.78	0.3-0.5 L	9 D Pyropenes	Basf
Controla 480 CE	Clorpirifos	Insecticida	44.5	1.0-1.5 L	1 B Organofosforados	Mezfer
Palvec T-L	Tiametoxam	Insecticida	12.61	200-300 g	4 A Neonicotinoides	Velsimex
	Lambda cihalotrina		9.48		3 A Piretroides	
Plenum 50 GS	Pymetrozina	Insecticida	50.0	400-800 g	9 B Derivados de piridina Azometina	Syngenta

### 5.2. Evaluación de Esterilidad de los Plaguicidas

Los productos plaguicidas fueron diluidos con agua destilada estéril y se mantuvieron a una temperatura de 35-37 °C. Para su evaluación, se tomaron muestras a los tiempos 0, 24 y 48 h. Se inoculó por duplicado 0.1 mL de muestra sobre la superficie de agar R2A y se llevaron a incubación a 35-37 °C por 48 h. Posteriormente se observaron las placas en busca de crecimiento microbiano.

### 5.3. Preparación y Purificación del Inóculo de *Salmonella*

Se seleccionó un cultivo puro de *Salmonella entérica*, serotipo Typhimurium (ATCC 14028), como representante del género *Salmonella*, el cual pertenece al cepario del Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA) del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD) Coordinación Culiacán. Para su activación se tomó una alícuota del cultivo puro con un asa estéril, y se estirió sobre agar de soya y tripticaseína (TSA), después se llevó a incubación a 35-37 °C por 24 h. Posteriormente, se tomó una colonia bacteriana con asa estéril y

se transfirió a un frasco de vidrio con 300 mL de caldo de soya y tripticaseína (TSB), el cual fue incubado a 35-37 °C por 24 h. Después, la mezcla se centrifugó a 10 864 xg por 10 minutos a 4 °C. Posteriormente, se recuperó la pastilla bacteriana y se le realizó un doble lavado al inóculo con 250 mL de buffer de fosfatos cada vez. Por último, se llevó a cabo su resuspensión en 30 mL de buffer de fosfatos y se mantuvo a 4 °C hasta su uso. Para llevar a cabo la cuantificación de la concentración del inóculo purificado se empleó la técnica de conteo en placa.

Para realizar la técnica de conteo en placa, la preparación y dilución de las muestras se llevó a cabo según la metodología de la NOM-110-SSA1-1994 (SSA, 1995). La muestra se diluyó tomando 1 mL y diluyéndola en 9 mL de buffer de fosfatos y se realizaron diluciones decimales. La cuantificación de *S. Typhimurium* se llevó a cabo siguiendo la NOM-092-SSA1-1994 (SSA, 1995), realizando la técnica de extensión en placa en agar XLD como medio de cultivo e incubando a las condiciones recomendadas (SSA, 1995c). Posterior a la incubación, se seleccionaron para conteo las placas Petri que tuvieron la presencia de 25 a 250 colonias típicas de *S. Typhimurium*. Los resultados fueron reportados de acuerdo con la NOM-092-SSA1-1994 (SSA, 1995) en Log<sub>10</sub> UFC/mL.

#### 5.4 Evaluación de la Supervivencia de *S. Typhimurium* en Soluciones Plaguicidas

Para evaluar la supervivencia de *S. Typhimurium* se siguió la metodología propuesta por Dobhal y colaboradores (2014) con algunas modificaciones. Los plaguicidas evaluados fueron diluidos con agua destilada estéril inmediatamente antes de realizar los experimentos. Cada solución plaguicida se preparó a tres dosis: alta, media y baja, siguiendo las recomendaciones de los fabricantes (Cuadro 3). En matraces con rosca, se inocularon 99 mL de cada una de las soluciones plaguicidas preparadas con 1 mL de inóculo purificado de *S. Typhimurium* a una concentración aproximada de 9 Log<sub>10</sub> UFC/mL para obtener una concentración final de  $\approx 7.6$  Log<sub>10</sub> UFC/mL por tratamiento. Las soluciones plaguicidas inoculadas se agitaron suavemente de manera manual y se llevaron a incubación a 35-37 °C por 24 h. Como control se utilizó un matraz con 99 mL de agua destilada estéril inoculado con 1 mL del inóculo purificado de *S. Typhimurium* para cada producto plaguicida en estudio. Para determinar la supervivencia de *S. Typhimurium* se tomaron muestras a los tiempos

de 1 min, 1 h y 24 h y se utilizó la técnica de conteo en placa para determinar la concentración de *S. Typhimurium* presente.

**Cuadro 3.** Dosis (ppm) de los plaguicidas en estudio.

<b>Plaguicida</b>	<b>Concentración Alta</b>	<b>Concentración Media</b>	<b>Concentración Baja</b>
Versys (afidopiropen)	1250 ppm	1000 ppm	750 ppm
Palvec T-L (tiametoxam)	3500 ppm	2950 ppm	2340 ppm
Plenum 50 GS (pymetrozina)	20 000 ppm	15 000 ppm	10 000 ppm
Controla 480 CE (clorpirifos)	4000 ppm	3300 ppm	2660ppm

### 5.5. Cálculo de Resultados

La variable de respuesta se midió como concentración (en Log<sub>10</sub> UFC/mL) y en porcentaje de supervivencia. El porcentaje de supervivencia se calculó modificando la fórmula propuesta en la NMX-BB-040-SCFI-1999.

$$\% \text{ de supervivencia} = \frac{S \times 100}{C.V}$$

donde S son las células sobrevivientes en Log<sub>10</sub> UFC/mL, y C.V. es la cuenta viable inicial en Log<sub>10</sub> UFC/mL.

### 5.6. Análisis Estadístico

Para cada plaguicida, se implementó un diseño de un factor cruzado (dosis de plaguicida) con

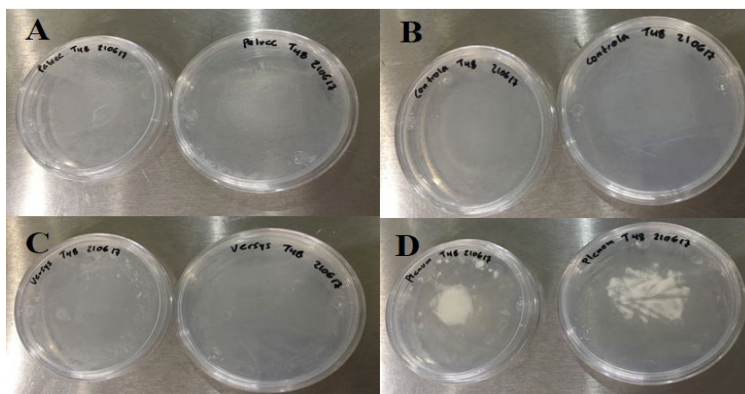
medidas repetidas en el tiempo de exposición. La dosis de plaguicida se evaluó en cuatro niveles: alta, media, baja y control. El factor tiempo se evaluó en tres niveles: 0 h, 1 h, 24 h. Como plaguicida control se utilizó agua destilada estéril inoculada con *S. Typhimurium*. La variable de respuesta registrada fue la concentración de *S. Typhimurium* ( $\text{Log}_{10}$  UFC/mL) presente en la muestra. La unidad experimental consistió en 100 mL de solución plaguicida con  $\approx 7.6 \text{ Log}_{10}$  UFC/mL de *S. Typhimurium*. Se realizaron tres réplicas de cada experimento y los resultados se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA), utilizando el software Minitab 18 (Minitab LLC, Inc., State College, Pennsylvania, EE. UU).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio se presentan en la siguiente forma, primero se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de la esterilidad y pH de los productos plaguicidas antes de su evaluación y después se presentan los resultados de la evaluación de la supervivencia de *S. Typhimurium* en las soluciones plaguicidas en estudio. Primero se hace una presentación general de los resultados obtenidos. Posteriormente, se presentan e interpretan los datos específicos para cada uno de los cuatro plaguicidas evaluados.

### 6.1. Esterilidad y pH de los Productos Plaguicidas

Posterior a una incubación por 48 h a 35-37 °C, no se observó crecimiento bacteriano en ninguna de las placas de los cuatro productos plaguicidas diluidos con agua estéril (Figura 1). Esto indica que los productos plaguicidas utilizados en este estudio estaban libres de contaminación bacteriana. El resultado obtenido coincide con lo reportado por Ng y colaboradores (2005) y Dobhal y colaboradores (2014), quienes reportaron que los productos plaguicidas por sí mismos no son una fuente de contaminación microbiológica.



**Figura 1.** Evaluación de la esterilidad de los productos plaguicidas en estudio por 48 h a 35-37 °C. A) Palvec T-L, B) Controla 480 CE, C) Versys, D) Plenum 50 GS.

Los valores iniciales de pH de las soluciones plaguicidas en estudio se muestran en el Cuadro 4. El rango de pH para el crecimiento de *Salmonella* spp oscila entre 4-9 con un óptimo entre 6.5 y 7.5 (González-Pedraza *et al.*, 2014). Los valores de pH inicial de las soluciones plaguicidas en estudio se encuentran dentro del rango de crecimiento de *Salmonella* spp.

Estudios previos han reportado que las soluciones plaguicidas con valores de pH más extremos, rara vez apoyan a la supervivencia o el crecimiento bacteriano (Guan *et al.*, 2001). Sin embargo, también se ha reportado que no todas las soluciones plaguicidas con pH cercanos a la neutralidad permiten la supervivencia de microorganismos (Ng *et al.*, 2005); por lo tanto, no puede considerarse que el pH de las soluciones plaguicidas sea el factor determinante en el crecimiento de los microorganismos presentes.

**Cuadro 4.** Valores iniciales de pH de las soluciones plaguicidas en estudio.

<b>Plaguicida</b>	<b>Media pH inicial</b>
Versys (afidopiropen)	5.85
Palvec T-L (tiametoxam)	7.17
Plenum 50 GS (pymetrozina)	7.83
Controla 480 CE (clorpirifos)	4.52

## 6.2. Evaluación de la Supervivencia de *S. Typhimurium* en Soluciones Plaguicidas

Los datos específicos para cada uno de los plaguicidas evaluados se presentan e interpretan de la siguiente manera: (1) resultados de ANOVA; (2) efectos de interacción; (3) valores de la concentración media ( $\text{Log}_{10}$  UFC/mL) de *S. Typhimurium*; y (4) porcentaje de supervivencia.

### 6.2.1. Supervivencia de *S. Typhimurium* a Controla 480 CE (clorpirifos)

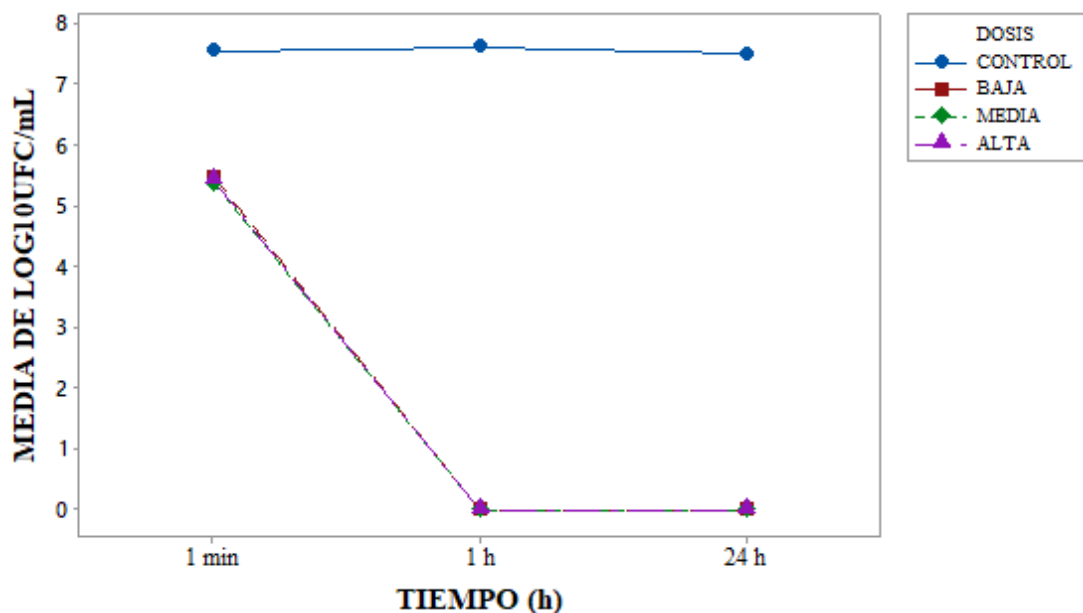
De acuerdo con el análisis estadístico realizado con los resultados de la solución plaguicida

Controla 480 CE, los factores dosis de plaguicida y tiempo de exposición, así como la interacción entre estos factores fueron estadísticamente significativos ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a la solución control (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** ANOVA del producto Controla 480CE

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Sec.</b>	<b>Contri- bución</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Dosis	3	223.149	55.57%	223.149	74.3828	544.39	0.000
Tiempo (h)	2	132.443	32.98%	132.443	66.2215	1969.98	0.000
Unidad experimental	8	1.093	0.27%	1.093	0.1366	4.06	0.008
Dosis*Tiempo (h)	6	44.353	11.04%	44.353	7.3922	219.91	0.000
Error	16	0.538	0.13%	0.538	0.0336		
Total	35	401.575	100.00%				

*S. Typhimurium* no fue capaz de sobrevivir en el plaguicida en los periodos de tiempo bajo estudio. En la Figura 2 se puede observar el comportamiento de *S. Typhimurium* en las tres dosis del plaguicida Controla 480 CE en los tiempos de exposición evaluados. La concentración del grupo control no mostró cambios a lo largo de los tiempos evaluados, mientras que las dosis tuvieron el mismo comportamiento de disminución de la población bacteriana.



**Figura 2.** Gráfica de interacción entre la concentración de la solución plaguicida Controla 480 CE y el tiempo de exposición.

En el Cuadro 6 se puede observar cómo después de una hora de exposición a la solución plaguicida Controla 480 CE, *S. Typhimurium* fue inhibida en su totalidad.

**Cuadro 6.** Supervivencia de *S. Typhimurium* en la solución plaguicida Controla 480 CE.

Dosis	Media Log <sub>10</sub> UFC/ mL ±ES <sup>a</sup>		
	Tiempo		
	1 min	1h	24 h
Control <sup>b</sup>	7.553±0.474	7.620±0.607	7.503±0.143
Baja	5.477±0.271	0.000±0.000	0.000±0.000
Media	5.373±0.280	0.000±0.000	0.000±0.000
Alta	5.433±0.225	0.000±0.000	0.000±0.000

<sup>a</sup> Los resultados son la media de 3 réplicas ( $n=3$ ) ± el error estándar

<sup>b</sup> Agua destilada estéril inoculada

Los resultados obtenidos en esta investigación difieren de lo publicado por Guan y colaboradores (2001), quienes reportaron aumento de 0.98 Log<sub>10</sub> (NMP mL<sup>-1</sup>) de *S. Typhimurium* a las 24 h de



exposición a un producto plaguicida con clorpirifos como ingrediente activo. La diferencia entre los resultados obtenidos puede deberse a la diferencia en los factores experimentales, los ingredientes inertes de cada producto y el uso de las diferentes cepas en cada estudio. El estudio realizado por estos autores se realizó a 22 °C, mientras que la presente investigación se llevó a cabo con una temperatura de incubación de 35-37 °C. Por otra parte, aunque el ingrediente activo evaluado en ambas investigaciones fue el mismo, no se trataba del mismo producto comercial ni el mismo laboratorio de fabricación, por lo que las concentraciones de ingrediente activo, así como los ingredientes inertes de cada producto pueden ser diferentes, lo que puede tener un efecto en la supervivencia de los microorganismos expuestos a estas soluciones plaguicidas. En la presente investigación se utilizó el producto comercial Controla 480 CE (44.5 %) y en el estudio realizado por Guan y colaboradores (2001) se utilizó el producto comercial Lorsban 4E (48 %). La diferencia en los resultados también podría deberse a las dosis recomendadas de aplicación en campo evaluadas en cada estudio (Lorsban 4E: 6.6 g kg<sup>-1</sup>; Controla 480 CE: 1.0-1.5 L/ha).

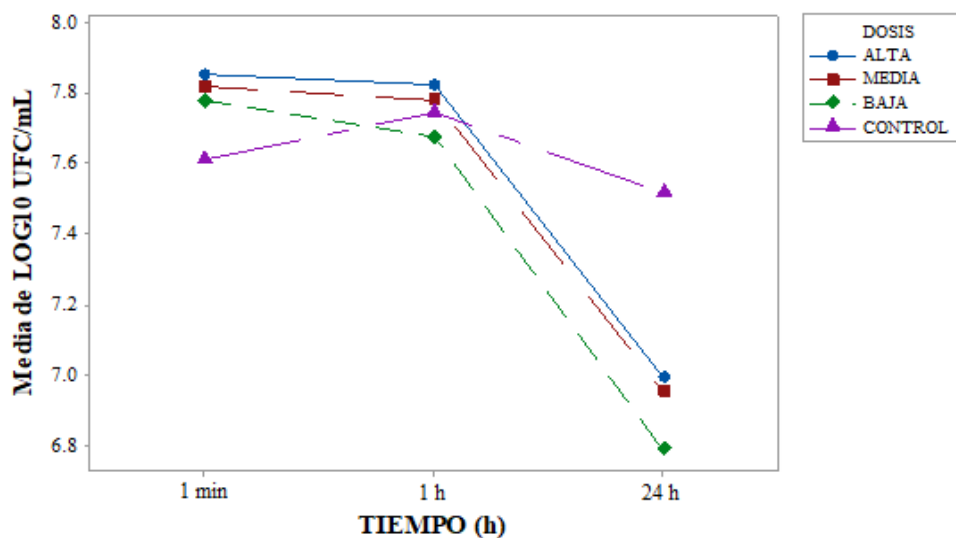
### **6.2.2. Supervivencia de *S. Typhimurium* a Plenum 50GS (pimetrozina)**

En el Cuadro 7 se muestra el análisis estadístico realizado con los resultados de la solución plaguicida Plenum 50 GS. De acuerdo con los resultados, el uso de diferentes dosis de la solución plaguicida en estudio no mostró tener un efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ) en la supervivencia de la bacteria. El factor tiempo de exposición resultó ser estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ). En cuanto a la interacción entre los factores dosis de plaguicida y tiempo de exposición, ésta no tuvo un efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ) en la supervivencia de *S. Typhimurium* con respecto a la solución control (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** ANOVA del producto Plenum 50GS.

Fuente	GL	SC Sec.	Contribución	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	3	0.2056	2.89%	0.2056	0.06854	0.42	0.742
Tiempo (h)	2	3.8416	53.95%	3.8416	1.92079	31.90	0.000
Unidad experimental	8	1.2964	18.21%	1.2964	0.16205	2.69	0.044
Dosis*Tiempo (h)	6	0.8141	11.43%	0.8141	0.13568	2.25	0.091
Error	16	0.9633	13.53%	0.9633	0.06021		
Total	35	7.1210	100.00%				

En la Figura 3 se muestra el comportamiento de *S. Typhimurium* en las tres dosis del plaguicida Plenum 50 GS en los tiempos de exposición evaluados. Las dosis evaluadas muestran un paralelismo a lo largo del tiempo. A pesar de que el valor P de la interacción entre la dosis y el tiempo no fue significativo en el ANOVA (Cuadro 7), en la Figura 3 se muestra una interacción a las 24 h en las dosis evaluadas. La concentración media de *S. Typhimurium* se mantuvo constante en los tiempos de exposición 1 min y 1 h, aunque a las 24 h se puede observar una ligera disminución de la concentración bacteriana de 0.842 Log<sub>10</sub> UFC/mL en promedio. Por otra parte, la dosis control no mostró cambios significativos.



**Figura 3.** Gráfica de interacción entre la concentración de la solución plaguicida Plenum 50 GS y el tiempo de exposición.

*S. Typhimurium* fue capaz de sobrevivir en la solución plaguicida Plenum 50 GS a una

concentración promedio de 6.915 Log<sub>10</sub> UFC/mL. Los valores de las medias de concentración de *S. Typhimurium* en Log<sub>10</sub> UFC/mL se muestran en el Cuadro 8.

**Cuadro 8.** Supervivencia de *S. Typhimurium* en la solución plaguicida Plenum 50 GS.

Dosis	Media Log <sub>10</sub> UFC/ mL ±DS <sup>a</sup>		
	Tiempo		
	1 min	1h	24 h
Control <sup>b</sup>	7.610±0.442	7.743±0.307	7.516±0.135
Baja	7.777±0.181	7.673±0.226	6.793±0.417
Media	7.817±0.439	7.780±0.164	6.957±0.192
Alta	7.850±0.227	7.820±0.387	6.997±0.325

<sup>a</sup> Los resultados son la media de 3 réplicas ( $n=3$ ) ± el error estándar

<sup>b</sup> Agua destilada estéril inoculada

El porcentaje de supervivencia de *S. Typhimurium* en la solución plaguicida Plenum 50 GS en promedio fue de 90.876 %. En el Cuadro 9 se observan los porcentajes de supervivencia de *S. Typhimurium* en las tres dosis evaluadas en este estudio.

**Cuadro 9.** Porcentaje de supervivencia de *S. Typhimurium* en la solución plaguicida Plenum 50 GS.

Dosis	% Supervivencia
Baja	89.2641 %
Media	91.4191 %
Alta	91.9448 %

Actualmente, no se ha encontrado información sobre una evaluación de la supervivencia de *S. Typhimurium* en un producto plaguicida con pimetrozina como ingrediente activo. La supervivencia de *S. Typhimurium* en este plaguicida puede deberse a la utilización del ingrediente activo y los ingredientes inertes como fuentes de carbono. El alto porcentaje de supervivencia por parte de *S. Typhimurium* muestra que este plaguicida puede convertirse en una fuente de

contaminación para las hortalizas en campos y un peligro para la salud de los consumidores.

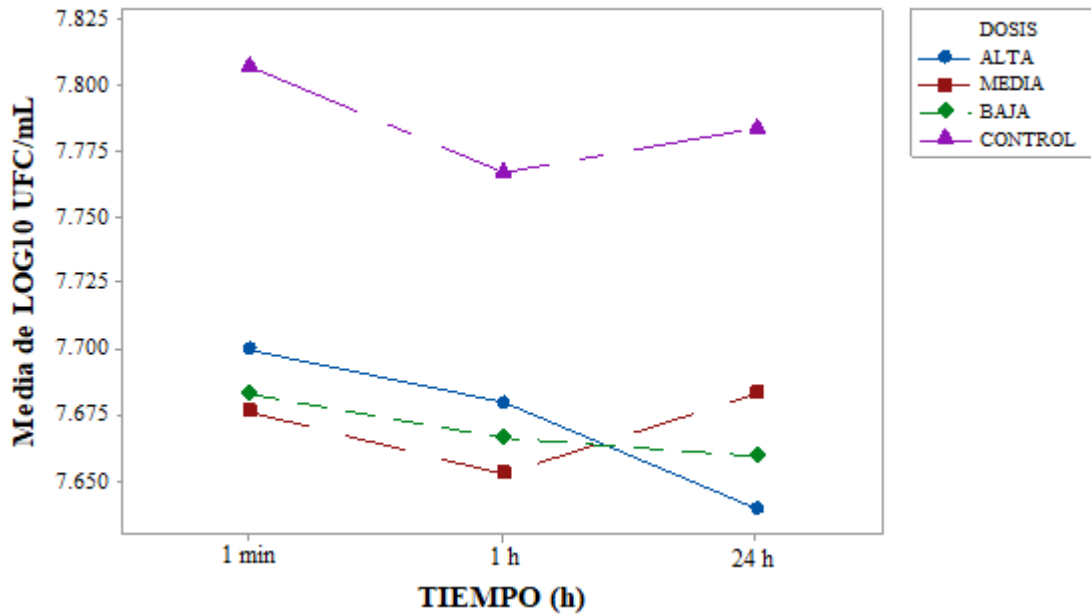
### 6.2.3. Supervivencia de *S. Typhimurium* a Versys (afidopiropen)

El análisis estadístico realizado con los resultados de la solución plaguicida Versys, mostró que los factores dosis de plaguicida y tiempo de exposición, así como la interacción entre estos factores fueron estadísticamente no significativo ( $P \geq 0.05$ ) en la supervivencia de *S. Typhimurium* con respecto a la solución control (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** ANOVA del producto Versys.

Fuente	GL	SC Sec.	Contri- Bución	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Dosis	3	0.087889	9.21%	0.087889	0.029296	0.32	0.812
Tiempo (h)	2	0.005000	0.52%	0.005000	0.002500	0.33	0.721
Unidad experimental	8	0.736778	77.18%	0.736778	0.092097	12.33	0.000
Dosis*Tiempo (h)	6	0.005378	0.56%	0.005378	0.000896	0.12	0.992
Error	16	0.119556	12.52%	0.119556	0.007472		
Total	35	0.954600	100.00%				

En la Figura 4 se puede observar el comportamiento de *S. Typhimurium* en las tres dosis del plaguicida Versys en los tiempos de exposición evaluados. El grupo control no mostró cambios a lo largo de tiempo. Por otra parte, las dosis tuvieron el mismo comportamiento y la concentración media de *S. Typhimurium* se mantuvo constante a lo largo de los tiempos de evaluación.



**Figura 4.** Gráfica de interacción entre la concentración de la solución plaguicida Versys y el tiempo de exposición.

Tras una incubación de 24 h a 35-37 °C, se observó que *S. Typhimurium* es capaz de sobrevivir en la solución plaguicida Versys a una concentración media de 7.661 Log<sub>10</sub> UFC/mL. En el Cuadro 11 se muestran los valores de las medias de concentración de *S. Typhimurium*.

**Cuadro 11.** Supervivencia de *S. Typhimurium* en la solución plaguicida Versys.

Dosis	Media Log <sub>10</sub> UFC/ mL ±ES <sup>a</sup>		
	Tiempo		
	1 min	1h	24 h
Control <sup>b</sup>	7.807±0.224	7.766±0.100	7.783±0.182
Baja	7.683±0.202	7.666±0.119	7.660±0.173
Media	7.677±0.269	7.653±0.263	7.683±0.160
Alta	7.700±0.095	7.680±0.166	7.640±0.214

<sup>a</sup> Los resultados son la media de 3 réplicas (n=3) ± el error estándar

<sup>b</sup> Agua destilada estéril inoculada

Después de una exposición a la solución plaguicida Versys durante 24 h, el porcentaje de

supervivencia de *S. Typhimurium* tuvo un promedio de 98.129 %, siendo la solución plaguicida con el valor de porcentaje de supervivencia más alto dentro en este estudio. En el Cuadro 12 se observan los porcentajes de supervivencia de *S. Typhimurium* en las tres dosis evaluadas.

**Cuadro 12.** Porcentaje de supervivencia de *S. Typhimurium* en la solución plaguicida Versys.

<b>Dosis</b>	<b>% Supervivencia</b>
Baja	98.1170 %
Media	98.4116 %
Alta	97.8601 %

El alto porcentaje de supervivencia de *S. Typhimurium* en este plaguicida, y planteando un escenario hipotético de exposición, muestra que puede ser una fuente de contaminación para las hortalizas durante su producción en campo. Por lo que es importante considerar este tipo de plaguicidas como fuente de contaminación en la etapa de evaluación de la exposición en un modelo QMRA, y así poder estimar y controlar el riesgo al que están expuestos los consumidores.

La supervivencia de *S. Typhimurium* en este plaguicida puede deberse a la utilización del ingrediente activo y los ingredientes inertes como fuente de carbono. Hasta el momento no se ha encontrado información en la que se haya evaluado la supervivencia de *S. Typhimurium* en un producto plaguicida con afidopiropen como ingrediente activo.

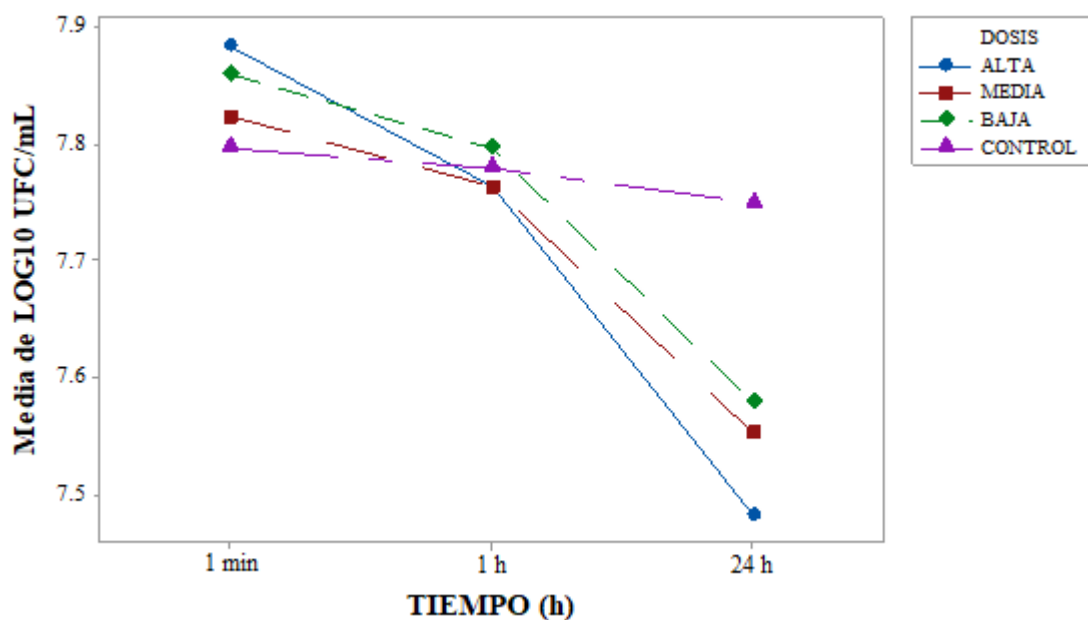
#### **6.2.4. Supervivencia de *S. Typhimurium* a Palvec T-L (tiametoxam + lambda cihalotrina)**

En el Cuadro 13 se muestra el análisis estadístico realizado con los resultados de la solución plaguicida Palvec T-L. El uso de diferentes dosis de este plaguicida no mostró un efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ) en la supervivencia de la bacteria. Por otra parte, el factor tiempo de exposición resultó estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ). Por último, la interacción entre los factores dosis de plaguicida y tiempo de exposición, no tuvo un efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ) en la supervivencia de *S. Typhimurium* con respecto a la solución control.

**Cuadro 13.** ANOVA del producto Palvec T-L.

Fuente	GL	SC Sec.	Contri- bución	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor P
Dosis	3	0.02561	1.23%	0.02561	0.008537	0.05	0.983
Tiempo (h)	2	0.40091	19.31%	0.40091	0.200453	13.59	0.000
Unidad experimental	8	1.30891	63.03%	1.30891	0.163614	11.09	0.000
Dosis*Tiempo (h)	6	0.10521	5.07%	0.10521	0.017534	1.19	0.361
Error	16	0.23602	11.37%	0.23602	0.014751		
Total	35	2.07666	100.00%				

A pesar de que el valor P no fue significativo en el ANOVA, la Figura 5 muestra una interacción a las 24 h. En los tiempos 1 min y 1 h la concentración media de *S. Typhimurium* tuvo valores muy similares en las tres dosis evaluadas, y para las 24 h de exposición se observa una ligera disminución bacteriana media de 0.234 Log<sub>10</sub> UFC/mL. Por otra parte, el grupo control no mostró cambios.



**Figura 5.** Gráfica de interacción entre la concentración de la solución plaguicida Palvec T-L y el tiempo de exposición.

De acuerdo con los valores obtenidos, *S. Typhimurium* es capaz de sobrevivir en la solución plaguicida Palvec T-L a una concentración media de 7.538 Log<sub>10</sub> UFC/mL por 24 h (Cuadro 14).

**Cuadro 14.** Supervivencia de *S. Typhimurium* en la solución plaguicida Palvec T-L.

Dosis	Media Log <sub>10</sub> UFC/ mL ±ES <sup>a</sup>		
	Tiempo		
	1 min	1h	24 h
Control <sup>b</sup>	7.797±0.333	7.780±0.252	7.750±0.304
Baja	7.860±0.127	7.797±0.292	7.580±0.456
Media	7.823±0.247	7.763±0.234	7.553±0.191
Alta	7.883±0.126	7.763±0.156	7.483±0.064

<sup>a</sup> Los resultados son la media de 3 réplicas ( $n=3$ ) ± el error estándar

<sup>b</sup> Agua destilada estéril inoculada

Después de una exposición por 24 h a la solución plaguicida Palvec T-L, el porcentaje de supervivencia de *S. Typhimurium* tuvo un promedio de 96.687 %. En el Cuadro 15 se observan los porcentajes de supervivencia de *S. Typhimurium* en las tres dosis evaluadas en este estudio.

**Cuadro 15.** Porcentaje de supervivencia de *S. Typhimurium* en la solución plaguicida Palvec T-L.

Dosis	% Supervivencia
Baja	97.2186 %
Media	96.8705 %
Alta	95.9728 %

El alto porcentaje de supervivencia de *S. Typhimurium* en Palvec T-L muestra que éste puede convertirse en una fuente de contaminación para las hortalizas en campo, por lo que es necesario estimar y controlar los riesgos a los que pueda estar asociado. Para lograrlo es necesario incluir la aplicación de plaguicidas dentro de la etapa de evaluación de la exposición en un modelo QMRA.



La supervivencia de *S. Typhimurium* en este plaguicida pudo deberse al uso de los ingredientes activos e inertes como fuente de carbono. Hasta el momento no se ha encontrado información sobre una evaluación de la supervivencia de *S. Typhimurium* en un producto plaguicida que tenga tiametoxam o lambda cihalotrina como ingrediente activo. Sin embargo, los grupos químicos a los que pertenecen estos ingredientes activos han sido evaluados previamente, y los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con lo reportado. Para el caso del grupo químico de los neonicotinoides (al cual pertenece tiametoxam), López-Velasco y colaboradores (2013), reportaron que *Salmonella entérica* es capaz de aumentar su población en el ingrediente activo imidacloprid. Por su parte Dobhal y colaboradores (2014) reportaron que *S. Typhimurium* es capaz de sobrevivir en acetamiprid. Para el caso del grupo químico de los piretroides (al cual pertenece lambda cihalotrina), Guan y colaboradores (2001; 2005), reportaron crecimiento de *S. Typhimurium* en permetrina, mientras que López-Velasco y colaboradores (2013), reportaron que *Salmonella entérica* es capaz de sobrevivir en esfenvalerato.

#### **6.2.5. Discusión General de los Plaguicidas Evaluados**

*S. Typhimurium* fue capaz de sobrevivir en concentraciones similares al control en tres de los productos plaguicidas evaluados (Versys, Palvec T-L, Plenum 50 GS). En el caso del producto Controla 480 CE, la población bacteriana fue inhibida una hora después de su exposición. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado en estudios previos, brindando mayor evidencia de la supervivencia de microorganismos patógenos de transmisión alimentaria en algunas soluciones plaguicidas de uso agrícola (Guan *et al.*, 2001;2005; Ng *et al.*, 2005; López-Velasco *et al.*, 2013; Dobhal *et al.*,2014).

*S. Typhimurium* fue capaz de sobrevivir en los productos Palvec T-L y Plenum 50 GS, que tienen valores cercanos al pH óptimo para el crecimiento de esta bacteria. También se observó supervivencia en el producto Versys, el cual tuvo un pH inicial más bajo al óptimo, por lo que se puede concluir que el pH de las soluciones plaguicidas no es el factor determinante para la supervivencia de los microorganismos presentes, coincidiendo con lo reportado anteriormente por

otros autores (Guan *et al.*, 2001; Ng *et al.*, 2005).

La supervivencia de *S. Typhimurium* en las soluciones plaguicidas podría deberse a la utilización de ingredientes activos o adyuvantes presentes en las formulaciones de plaguicidas, que proporcionan nutrientes para el crecimiento microbiano según lo reportado anteriormente (Guan *et al.*, 2001; 2005; Ng *et al.*, 2005; López-Velasco *et al.*, 2013; Dobhal *et al.*, 2014); o bien, debido a la degradación microbiana de plaguicidas (Sun *et al.*, 2019; Rodríguez-Castillo *et al.*, 2019; Foong *et al.*, 2020). Cepas de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* son capaces de degradar y utilizar como fuente de carbono, compuestos activos como pimetrozina (Sun *et al.*, 2019), clorpirifos (Foong *et al.*, 2020) y tiametoxam (Pandey *et al.*, 2009). En esta investigación no se evaluó la degradación o catabolismo de los ingredientes activos o compuestos inertes y adyuvantes de cada solución plaguicida por *S. Typhimurium*.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la dosis de producto plaguicida a la cual fue expuesta *S. Typhimurium* no tuvo un efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ) en su supervivencia. Este resultado difiere de lo reportado por Guan y colaboradores (2001), y Dobhal y colaboradores (2014), quienes observaron que la supervivencia de las bacterias evaluadas se veía afectada por la dosis de plaguicida a la que eran expuestas.

Los resultados de esta investigación demuestran que las soluciones plaguicidas en estudio pueden convertirse en una fuente de contaminación para las hortalizas en campo y un peligro para la salud de los consumidores. A pesar de que los plaguicidas son productos capaces de eliminar organismos que atacan a los cultivos (insectos, hongos, bacterias, etc.), estos productos no son capaces de eliminar todos los microorganismos presentes, y ya no están diseñados para el controlar la población microbiana del agua de uso agrícola, es de suma importancia que el agua utilizada para llevar a cabo las diluciones de estos productos cuente con la calidad microbiana adecuada.

Para estimar y controlar el riesgo asociado al consumo de hortalizas, es necesario incluir a las aplicaciones foliares de soluciones plaguicidas como fuente de peligros microbianos dentro de la etapa de evaluación de la exposición en modelos QMRA.

## 7. CONCLUSIONES

*S. Typhimurium* fue capaz de sobrevivir por 24 h a 35-37 °C en concentraciones muy cercanas al control en las soluciones plaguicidas: Versys (afidopiropen), Plenum 50 GS (pimetrozina) y Palvec T-L (tiametoxam y lambda cihalotrina). La población de *S. Typhimurium* fue completamente inhibida en Controla 480 CE.

*S. Typhimurium* fue capaz de sobrevivir con valores de concentración muy similares en las tres dosis evaluadas de los plaguicidas Versys, Palvec T-L y Plenum 50 GS.

*S. Typhimurium* fue capaz de tuvo un porcentaje supervivencia mayor a 90 % en Versys, Plenum 50 GS y Palvec T-L. El porcentaje de supervivencia promedio de *S. Typhimurium* fue de 90.876 % en Plenum 50 GS, 96.687 % en Palvec T-L y 98.129 % en Versys, siendo el plaguicida con el que se observó un mayor porcentaje de supervivencia.

Esta investigación demuestra que las soluciones plaguicidas evaluadas podrían permitir la supervivencia microbiológica durante la producción de hortalizas, convirtiéndose en un peligro para la salud de los consumidores, es imperativo que las investigaciones en esta área continúen y se amplíen. Los resultados obtenidos en esta investigación podrán servir como base para futuras investigaciones, contribuyendo con datos para ser utilizados en la etapa de evaluación de la exposición en futuros modelos QMRA.

## 8. RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar la supervivencia de microorganismos presentes en soluciones plaguicidas después de su aplicación en cultivos de hortalizas. Esto permitirá evaluar el efecto de los factores ambientales en la supervivencia de microorganismos patógenos en soluciones plaguicidas.

Para mejorar la comprensión de la supervivencia de microorganismos patógenos de transmisión alimentaria en soluciones plaguicidas, como *Salmonella spp*, es necesario generar información acerca de la capacidad de degradación y utilización de estos productos como fuente de carbono, para ayudar a la comprensión de este proceso adaptativo.

## 9. REFERENCIAS

- Brown M. and Stringer M. 2002. Microbiological risk assessment in food processing. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Inglaterra. 301 pp.
- Berger C. N., Sodha S. V., Shaw R. K., Griffin P. M., Pink D., Hand, N. 2010. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology*. 12(9): 2385–2397.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2011. Multistate Outbreak of Human *Salmonella* Agona Infections Linked to Whole, Fresh Imported Papayas (Final Update). EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/2011/papayas-8-29-2011.html>. Accesado el: 05/10/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2012. Multistate Outbreak of *Salmonella* Braenderup Infections Associated with Mangoes (Final Update). EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/braenderup-08-12/index.html>. Accesado el: 05/10/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2013. Multistate Outbreak of *Salmonella* Saintpaul Infections Linked to Imported Cucumbers (Final Update). EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/saintpaul-04-13/index.html>. Accesado el: 05/10/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2016. Multistate Outbreak of *Salmonella* Poona Infections Linked to Imported Cucumbers (Final Update). EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/poona-09-15/index.html>. Accesado el: 05/10/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017a. Brote multiestatal de infecciones por *Salmonella* Urbana asociado a papayas maradol importadas (actualización final). EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/urbana-09-17/es/index.html>. Accesado el: 05/10/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017b. Brote multiestatal de infecciones por *Salmonella* Newport y *Salmonella* Infantis asociado a papayas maradol importadas (actualización final). EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Recuperado de <https://www.cdc.gov/salmonella/newport-09-17/es/index.html>. Accesado el: 05/10/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017c. Brote multiestatal de infecciones por *Salmonella* Anatum asociado a papayas maradol importadas (actualización final). EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/anatum-9-17/es/index.html>. Accesado el: 05/10/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2019a. *Salmonella*, Questions and Answers. EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html>. Accesado el: 01/10/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2019b. Brote de infecciones por *Salmonella* vinculado a papayas frescas enteras de la marca Cavi. EU.: Centers for Disease Control and

- Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/uganda-06-19/index-esp.html>.  
Accesado el: 01/10/21.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2019c. Typhoid Fever and Paratyphoid Fever, Symptoms and Treatment. EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/typhoid-fever/symptoms.html>. Accesado el: 28/11/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2020a. Serotypes and the Importance of Serotyping *Salmonella*. EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/reportspubs/salmonella-atlas/serotyping-importance.html>.  
Accesado el: 01/10/21.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2020b. Typhoid Fever and Paratyphoid Fever, Questions and Answers. EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/typhoid-fever/sources.html>. Accesado el: 18/11/2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2021. *Salmonella* Outbreak Linked to Onions. EU.: Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/oranienburg-09-21/index.html>. Accesado el: 10/11/2021.
- Chen H., Kinchla A.J., Richard N., Shaw A. y Feng Y. 2021. Produce Growers' On-Farm Food Safety Education: A Review. *Journal of Food Protection*. 84(4): 704-716.
- CODESIN (Consejo para el Desarrollo Económico de Sinaloa). 2020. Sinaloa en números, Agricultura en Sinaloa al 2019. Disponible en <https://sinaloaennumeros.codesin.mx/wp-content/uploads/2020/06/Agricultura-en-sinaloa-2019-2.pdf>. Accesado el: 29/10/2020.
- COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios). Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR. México: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Disponible en: <http://siipris03.cofepris.gob.mx/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.asp>.  
Accesado el: 01/10/2021.
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2018. Estadísticas del Agua en México. Ciudad de México, México: Comisión Nacional del Agua. Disponible en: [http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/EAM\\_2018.pdf](http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/EAM_2018.pdf). Accesado el: 21/05/2020.
- DGE (Dirección General de Epidemiología). 2021. Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información. Ciudad de México, México: Dirección General de Epidemiología. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/636469/sem17.pdf>. Accesado el: 01/10/2021.
- Dobhal S., Zhang G., Royer T., Damiconic J. y Li MM. 2014. Survival and growth of foodborne pathogens in pesticide solutions routinely used in leafy green vegetables and tomato production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94(14): 2958-2964.
- EPA/USDA (U.S. Environmental Protection Agency/U.S. Department of Agriculture).2012. Microbial Risk Assessment Guideline: Pathogenic Organisms with Focus on Food and Water. EU.: Environmental Protection Agency. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2013-09/documents/mra-guideline-final.pdf>.  
Accesado el: 01/10/2021.

- FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/ Organización Mundial de la Salud). 2007. Análisis de riesgos relativos a la inocuidad de los alimentos. Guía para las autoridades nacionales de inocuidad de los alimentos. Roma, Italia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-a0822s.pdf>. Accesado el 07/10/2021.
- FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación / Organización Mundial de la Salud). 1999. Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment. Codex Alimentarius Commission. Disponible en: [http://www.codexalimentarius.net/web/standard\\_list.do?lang=en](http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=en). Accesado el: 07/10/2021.
- FDA (Food and Drug Administration). 2012. Bad Bug Book Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Segunda Edición. EU.: Food And Drug Administration. Disponible en: <https://www.fda.gov/files/food/published/Bad-Bug-Book-2nd-Edition-%28PDF%29.pdf>. Accesado el: 20/10/2021.
- Foong S.Y., Mac N.L., Lamb S.S., Peng W., Low F., Lee B.H.K., Alstrup A.K.O. and Sonnee C. 2020. A recent global review of hazardous chlorpyrifos pesticide in fruit and vegetables: Prevalence, remediation and actions needed. *Journal of Hazardous Materials*. 400: 123006.
- González-Pedraza J., Pereira-Sanandres N., Soto Varela Z., Hernández-Aguirre E. y Villareal-Camacho J. 2014. Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*. 30-1:73-94.
- Guan T.Y., Blank G., Ismond A. y Van Acker R. 2001. Fate of foodborne bacterial pathogens in pesticide products. *J Sci Food Agric*. 81(5): 503-512.
- Guan T. T. Y., Blank G. and Holley R.A. 2005. Survival of Pathogenic Bacteria in Pesticide Solutions and on Treated Tomato Plants. *Journal of Food Protection*. 68 (2):296–304.
- Hamilton A.J., Stagnitti F., Premier R., Boland A.M. and Hale G. 2006. Quantitative microbial risk assessment models for consumption of raw vegetables irrigated with reclaimed water. *Applied and Environmental Microbiology*. 72(5):3284–3290.
- Haas C.N., Rose J.B. and Gerba C.P. 2014. Quantitative microbial risk assessment. John Wiley & Sons, Inc. Segunda edición. Hoboken. 427pp.
- Kapeleka J.A., Sauli E., Sadik O. and Ndakidemi P.A. 2020. Co-exposure risks of pesticides residues and bacterial contamination in fresh fruits and vegetables under smallholder horticultural production systems in Tanzania. *PLOS ONE*. 15(7): e0235345.
- López-Velasco G., Tomas-Callejas A., Diribsa D., Wei P. and Suslow T.V. 2013. Growth of *Salmonella enterica* in foliar pesticide solutions and its survival during field production and postharvest handling of fresh market tomato. *Journal of Applied Microbiology* 114: 1547-1558.
- Ng P.J., Fleet G.H and Heard G.M. 2005. Pesticides as a source of microbial contamination of salad vegetables. *International Journal of Food Microbiology*. 101: 237– 250.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2018. *Salmonella* (no tifoidea). Organización Mundial de la Salud. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)). Accesado el: 02/10/2021.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2020. Inocuidad de los alimentos. Organización

Mundial de la Salud. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Accesado el: 05/10/2021.

Ortúzar J. E., Dogan O. B., Sotomayor G., Jiménez C., Clarke J., Flores R.A., Gray G.M., Rupnow J.H. and Wang B. 2020. Quantitative assessment of microbial quality and safety risk: A preliminary case study of strengthening raspberry supply system in Chile. *Food control*. 113.

Pandey G., Dorrian S.J., Russell R.J. and Oakeshott J.G. 2009. Biotransformation of the neonicotinoid insecticides imidacloprid and thiamethoxam by *Pseudomonas* sp. *IG. Biochemical and Biophysical Research Communications*. 380: 710-714.

Pang H., Lambertini E., Buchanan R.L., Schaffner D.W. and Pradhan A.K. 2017. Quantitative Microbial Risk Assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in Fresh-Cut Lettuce. *Journal of Food Protection*. 80(2): 302–311.

Rodríguez-Castillo G., Molina-Rodríguez M., Cambroner-Heinrichs J.C., Quirós-Fournier J.P, Lizano-Fallas V., Jiménez-Rojas C., Masís-Mora M., Castro-Gutiérrez V., Mata-Araya I. and Rodríguez-Rodríguez C.E. 2019. Simultaneous removal of neonicotinoid insecticides by a microbial degrading consortium: Detoxification at reactor scale. *Chemosphere*. 235: 1097-1106.

SCFI (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial). 1999. Norma Mexicana NMX-BB-040-SCFI-1999, Métodos Generales de Análisis Determinación de la Actividad Antimicrobiana en Productos Germicidas. México: Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Disponible en: [https://caisatech.net/uploads/XXI\\_2\\_MXD\\_Q\\_NMX-BB-040-SCFI-1999\\_R0\\_3NOV1999.pdf](https://caisatech.net/uploads/XXI_2_MXD_Q_NMX-BB-040-SCFI-1999_R0_3NOV1999.pdf)

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2021. Producción de insecticidas y plaguicidas de la Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera (Toneladas). México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Disponible en: [http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi\\_apps/WFServlet?IBIF\\_ex=D2\\_AGRIGAN05\\_06&IBIC\\_user=dgeia\\_mce&IBIC\\_pass=dgeia\\_mce&NOMBREANIO=\\*](http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D2_AGRIGAN05_06&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce&NOMBREANIO=*). Accesado el: 30/11/2021.

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2019a. Anexo técnico 1. Requisitos generales para la certificación y reconocimiento de sistemas de reducción de riesgos de contaminación (srrc), buen uso y manejo de plaguicidas (bump) o buenas prácticas agrícolas en la actividad de cosecha (bpco) durante la producción primaria de vegetales. México: Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/573822/Anexo\\_T\\_cnico\\_1.\\_V2.1\\_2019.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/573822/Anexo_T_cnico_1._V2.1_2019.pdf)

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria ). 2019b. Manual para el buen uso y manejo de plaguicidas en campo. México: Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL\\_PARA\\_EL\\_BUEN\\_USO\\_Y\\_MANEJO\\_DE\\_PLAGUICIDAS\\_EN\\_CAMPO.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL_PARA_EL_BUEN_USO_Y_MANEJO_DE_PLAGUICIDAS_EN_CAMPO.pdf). Accesado el: 04/10/2021.

SSA (Secretaría de Salud). 1995a. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Bacterias Aerobias en Placa. Ciudad de México, México: Secretaría de Salud. Disponible en:



<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>. Accesado el: 24/08/2021.

SSA (Secretaria de Salud). 1995b. Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Ciudad de México, México: Secretaria de Salud. Recuperada de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>. Accesado el: 01/10/2021.

SSA (Secretaria de Salud). 1995c. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la Determinación de *Salmonella* en Alimentos. Ciudad de México, México: Secretaria de Salud. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/114ssa14.html#:~:text=NORMA%20OFICIAL%20MEXICANA%20NOM%2D114,%2D%20Secretar%C3%ADa%20de%20Salud>. Accesado el: 01/10/2021.

SSA (Secretaria de Salud). 2000. MODIFICACION a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Ciudad de México, México: Secretaria de Salud. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m127ssa14.html>

Stine S.W., Song I., Choi C.Y. and Gerba C.P. 2011. Application of Pesticide Sprays to Fresh Produce: A Risk Assessment for Hepatitis A and *Salmonella*. *Food Environ Virol* 3(2): 86-91

Sun G., Zhang M., Liu X., Gao Q., Jiang W., Zhou Y., Wang H., Cui M., Qiu J., Xu J. and Hong Q. 2019. Isolation and Characterization of the Pymetrozine-Degrading Strain *Pseudomonas* sp. BYT-1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.67: 4170-4176.

U.S. Federal Government. 2020. Electronic Code of Federal Regulations, Title 40, Part 180. Eu.: Code of Federal Regulations. Disponible en: <https://www.ecfr.gov/current/title-40/chapter-I/subchapter-E/part-180?toc=1>. 10/11/2021.