

00346  
9



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD VIROLÓGICA  
DEL AGUA RESIDUAL DE LAS PLANTAS DE  
TRATAMIENTO DEL DISTRITO FEDERAL  
UTILIZANDO LÍNEAS CELULARES DE MONO  
VERDE (BGMK Y VERO) Y DE HUMANO  
(RD Y HEP 2C).**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:**  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**(BIOLOGÍA CELULAR)**  
**P R E S E N T A:**  
**RAÚL VIVEROS CALDERÓN**

**DIRECTORA DE TESIS:**  
**DOCTORA MARIA GUADALUPE PALOMINO HASBACH**

MÉXICO, D.F.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

OCTUBRE 2003

A



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD VIROLÓGICA DEL AGUA RESIDUAL DE LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO DEL DISTRITO FEDERAL UTILIZANDO LÍNEAS CELULARES DE MONO VERDE (BGMK Y VERO) Y DE HUMANO (RD Y HEP 2c)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS (BIOLOGÍA CELULAR)

PRESENTA

RAÚL VIVEROS CALDERÓN

MÉXICO, D.F.

2003

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo académico.

NOMBRE: RAUL VIVEROS CALDERON

FECHA: 27 OCTUBRE 2003

FIRMA: Raul Viveros

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **AGRADECIMIENTOS**

**Agradezco a:**

**Dra. Guadalupe Palomino Hasbach  
Dra. Judith Isabel Guzmán Rincón  
Dra. Beatriz Gómez García  
Dra. Regina Dorinda Montero Montoya  
Dr. Luis Felipe Jiménez García  
Dr. Alejandro Manuel García Carrancá  
Dr. Emilio Rojas del Castillo**

**Por su valiosa asesoría.**

**De manera especial, agradezco a: Elena, Luis Antonio, José Luis, Leonardo**

**A TU MEMORIA : MAMINKA**

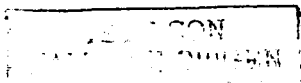
**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	2
RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ENTEROVIRUS.....	6
2. IMPORTANCIA DE LOS VIRUS ENTERICOS.....	10
3. SISTEMAS DE AISLAMIENTO DE VIRUS ENTERICOS.....	10
4. CONTAMINACIÓN DEL AGUA POR MEDIO DE VIRUS.....	11
5. REMOCIÓN DE LOS VIRUS EN AGUAS RESIDUALES.....	12
6. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ENTEROVIRUS A PARTIR DE MUESTRAS DE AGUA.....	14
7. PROBLEMATICA DEL AGUA EN EL DISTRITO FEDERAL.....	16
8. ASPECTOS FISICOS Y USOS DEL SUELO EN LA CIUDAD DE MEXICO.....	17
9. ABASTECIMIENTO DEL AGUA Y DRENAJE.....	17
10. TRATAMIENTO Y REUSO.....	19
OBJETIVOS.....	23
MATERIALES Y METODOS.....	23
1. CULTIVO Y VALIDACIÓN DE LAS LINEAS CELULARES HEP2 c, RD, VGMK Y VERO.....	23
2. VALIDACIÓN DE LAS MATRICES ELECTROPOSITIVAS PARA LA CONCENTRACION DE ENTEROVIRUS (POLIO).....	24
3. RECUPERACIÓN DE POLIO DE LAS MATRICES ELECTROPOSITIVAS Y ELECTRONEGATIVAS.....	25
4. DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTEROVIRAL EN AGUA RESIDUAL.....	25
5. IDENTIFICACIÓN DE ENTEROVIRUS.....	25
6. CONCENTRACION DE VIRUS POR ADSORCION A FILTRO POSITIVO.....	26
7. BIOENSAYO EN PLACA.....	27
8. CULTIVO CELULAR.....	28
9. USO DE ANTISUEROS PARA IDENTIFICACIÓN DE ENTEROVIRUS.....	29
10. CONGELAMIENTO DE CELULAS.....	30
11. DESCONGELAMIENTO DE CELULAS.....	30
RESULTADOS.....	31
1. TITULACION VIRAL EN MICROPLACA DE POLIO I, II Y III.....	31
2. RESPUESTA DE LAS LINEAS CELULARES HACIA UN VIRUS DE PRUEBA (POLIO III).....	32
3. VALIDACION DE LAS MATRICES ELECTROPOSITIVAS.....	32
4. VALIDACION DE LAS MATRICES ELECTRONEGATIVAS.....	34
5. ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS RESULTADOS GENERADOS AL COMPARAR LA EFICIENCIA DE RECUPERACIÓN DE POLIO VIRUS III ENTRE LOS METODOS DE MATRICES ELECTROPOSITIVAS Y ELECTRONEGATIVAS.....	35
6. RESULTADOS DEL ANALISIS VIROLÓGICO DE LAS DIFERENTES PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL DE DISTRITO FEDERAL.....	35

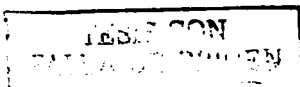
**TESIS CON  
LA DE ORIGEN**

DISCUSIÓN.....	36
1. SENSIBILIDAD DE LAS LINEAS CELULARES.....	36
2. VALIDACIÓN DE MATRICES ADSORBENTES.....	36
3. CUANTIFICACION DE ENTEROVIRUS.....	37
4. SEROTIFICACION.....	38
5. ESTACIONALIDAD.....	40
6. DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA.....	40
7. ENTEROVIRUS NO IDENTIFICADOS (ND).....	40
8. COMPARACIÓN ENTRE ENTEROVIRUS Y OTROS VIRUS ENTERICOS.....	41
CONCLUSIONES.....	42
REFERENCIAS.....	43
ANEXOS.....	48
• GLOSARIO.....	48
• GRAFICAS.....	49
• MAPA.....	62



## RESUMEN

Se efectuó el análisis virológico de muestras de agua residual (efluente e influente) provenientes de 13 plantas de tratamiento de agua residual del D.F.: Acueducto de Guadalupe, Azcapotzalco, Bosque de las Lomas, Cerro de la Estrella, Chapultepec, Ciudad Deportiva, Colegio Militar, El Rosario, Iztacalco, Reclusorio Sur, San Juan de Aragón, San Luis Tlaxiátemanco y Tlatelolco. El volumen de muestra fue de 10 litros. Se determinó la sensibilidad de cuatro líneas celulares (BGMK, VERO, RD y Hep-2c) hacia un enterovirus (Polio III) para seleccionar aquella que permitiera un mejor aislamiento de virus, resultando la BGMK la más sensible ( $119.2 \pm 23.37$  UFP por litro). Asimismo se estableció la metodología para la concentración de enterovirus a partir de agua, probándose el método de adsorción-elución con filtros microporosos (electropositivos contra negativos), se seleccionaron las matrices electropositivas gracias a su facilidad de manejo y a que se puede trabajar con ellas en un intervalo amplio de pH (3-8). Se observó un comportamiento estacional en la descarga de enterovirus: un máximo en julio-agosto y otro en marzo-abril. San Luis Tlaxiátemanco es la planta que recibe un mayor número de partículas virales (223.00 UFP por litro). La serotipificación con baterías de Lym-Benyesh-Melnick indicó la presencia de los siguientes serotipos: E2, E18, E20, E29, CA7, CB4 y PI, los cuales mostraron una variación geográfica y estacional significativa. Los efluentes no presentaron enterovirus.



## INTRODUCCIÓN

### I. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ENTEROVIRUS

La taxonomía de los virus está basada principalmente en las siguientes características: presencia o ausencia de envoltura lipídica y la naturaleza de su genoma. ARN o ADN (Brown, 1993).

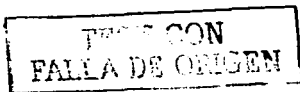
Los virus pueden agruparse en familias (terminación viridae), subfamilias (virinae) y géneros (virus). Las siguientes familias son las asociadas al tracto entérico: Reoviridae, Adenoviridae, Calciviridae, Picornaviridae. Esta última se caracteriza por que sus miembros afectan al sistema nervioso e incluye los géneros *Aphthovirus*, *Cardiovirus*, *Enterovirus*, y *Rhinovirus*. Las propiedades de esta familia son (He, *et al.*, 2003; Rotbart, 1991; Schwartzbrod y Schwartzbrod, 1999).

#### DENOMINACION

Familia *Picornaviridae*; género *Enterovirus*; especies: Poliovirus-3 serotipos; Coxsackievirus A-23 serotipos, Coxsackievirus B-6 serotipos, Echovirus- 32 serotipos, enterovirus 68 a 71, el ecovirus 28 fue asignado a un género diferente Parechovirus (Pringle, 1998) En la tabla 1 se muestran las características principales de los diferentes grupos de enterovirus

Tabla 1. Propiedades de los diferentes grupos de enterovirus.

Características	Poliovirus	Ecovirus	Coxsackievirus.
Morfología	Tamaño de 27 a 28 nm, simetría icosaédrica	Tamaño de 24 a 30 nm, simetría cubica	Tamaño de 28 nm, icosaédrico
Características físico-químicas	Resistencia a pH ácidos, inactivación a 60°C	Resistencia a pH ácidos, inactivación a 60°C durante 30 minutos	Resistencia a pH relativamente ácidos, inactivación a 50°C durante 30 minutos
Características antigénicas e inmunológicas	Hay 3 serotipos I o Brunhilde, II o Lansing, III o Leon	32 serotipos	Hay dos grupos, A y B, dependiendo de los cambios patológicos producidos en ratones recién nacidos, del grupo A existen 23 serotipos y del B solo 6
Patogenicidad	Se pueden presentar infecciones inaparentes, hay fiebre, faringitis y dos fases: prodromia y parálisis	Su penetración al organismo es por vía oral, se reproducen en el tracto digestivo, hay fiebre y puede presentarse erupción semejante a la de la rubéola	Se multiplican primero en la faringe y luego en el intestino; se produce fiebre y miocarditis en el recién nacido
Epidemiología	Se observa mayor frecuencia en los meses de calor.	Presenta periodos estacionales pero en zonas templadas son más frecuentes.	Se presentan principalmente en verano y otoño y en los niños alcanzan su mayor incidencia durante los meses más calurosos.





## MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA

Virus desnudos (sin envoltura lipídica); cápside icosaédrica; proteínas VP1, VP2, VP3 y VP4 tamaño de 22 a 30 nm. Peso molecular de  $8-9 \times 10^6$ . Genoma de ARN monocatenario, 2.4-2.7 x  $10^6$  con una proteína VPg de peso molecular de 2400 unida al extremo 5' (Roibart, 1991).

### SENSIBILIDAD A AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

Inactivados por calor a 60 °C durante 30 minutos; resistentes varios meses a -4 °C; estables entre -20 °C y a -80 °C y entre valores de pH de 3 a 10, inactivados por rayos ultravioleta, por el formol al 1%, por la  $\beta$  propiolactona, por oxidantes (cloro, a dosis variables según el medio en el que se encuentren)

DESINFECTANTE	C.T. 99*
Cloro libre	1.1-2.5 mg min / litro
Dioxido de cloro	0.2-6.7 mg min /litro
Cloramina	770-3.740 mg min /litro
Ozono	0.1-0.2 mg min/litro
U.V.	48 mW.s/cm <sup>2</sup>

- \* C.T. -Concentración del desinfectante (C) en miligramos por litro multiplicado por el tiempo de contacto (T) en minutos para obtener la inactivación del 99% de poliovirus 1 a 5 °C (Schwartzbrod y Schwartzbrod, 1999)

## INFECCION HUMANA

Después de la penetración del virus por vía oral, se multiplica en el tejido linfático de la faringe y en el intestino en las placas de Peyer, la mayor parte de las infecciones son inaparentes y se producen durante la infancia. Son responsables de patologías muy variadas (Schwartzbrod y Schwartzbrod, 1999)

Poliovirus	Serotipos: 3	Parálisis, meningitis, fiebre, poliomiéлитis
Coxsackievirus A	Serotipos: 23	Meningitis, infección respiratoria, herpangina
Coxsackievirus B	Serotipos: 6	Miocarditis, erupción cutánea, fiebre, meningitis, infección respiratoria, pleurodinia
Echovirus	Serotipos: 32	Meningitis, infección respiratoria, erupción cutánea, fiebre, diarrea
Enterovirus 68 a 71	Serotipos: 4	Meningitis, encefalitis, conjuntivitis hemorrágica, infección de vías respiratorias

La tasa de mortalidad es de 0.29% para echovirus y del 0.9% para poliovirus 1.

#### EXCRECION VIRAL

Se multiplican en el tracto digestivo, y se eliminan en las heces de los individuos infectados. En el caso de poliovirus, la excreción comienza 24 horas después del inicio de la infección y puede persistir durante varios meses (Schwartzbrod y Schwartzbrod, 1999).

#### PROFILAXIS Y METODOS DE DETECCION

A nivel del medio hidrico tratamiento de aguas residuales y de lodos; y supervisión y protección de las zonas conculicolas Vacunación para poliovirus vacuna atenuada cepa Sabin (via oral) SKB/Evans/Connaught y vacuna inactivada cepa Salk (via parenteral) No existen vacunas para los otros enterovirus. Reglas de higiene clásicas

Se han desarrollado diversos kits de detección de enterovirus como son los sistemas comerciales que hacen uso de las metodologías de RT-PCR: Roche AMPLICOR EV, Qiagen OneStep RT-PCR Kit, o ensayos inmunoenzimáticos (SG Human Enterovirus DNA Detection Plate System Kit) en adición a los sistemas convencionales de detección por medio de células de origen humano (HEK) o de primate (MA 102, BG1NK) (Gantzer, *et al.*, 1999, Taggart *et al.*, 2002)

#### MULTIPLICACION

Parasitos intracelulares obligatorios de células de hombre y de primate ocasionando efecto citopatógeno La multiplicación se efectúa en el interior de la célula y comprende varias etapas: adsorción sobre receptores celulares específicos, penetración por pinocitosis, decapsidación y liberación del ARN, asociación del ARN con los ribosomas, síntesis de proteínas capsidales, replicación del ARN viral, morfogénesis y liberación de los virus neoformados por lisis de la célula La duración promedio del ciclo es de 7 a 10 horas El número de virus liberado por célula es de 150.000 (Schwartzbrod y Schwartzbrod, 1999).

#### EPIDEMIOLOGIA

Se encuentran ampliamente dispersos en el mundo entero, siendo los niños el reservorio principal La mayor incidencia de estos agentes ocurre en los meses calurosos del año (Schwartzbrod y Schwartzbrod, 1999)

#### DOSIS MINIMA INFECCIOSA

La dosis mínima infecciosa es del orden de 10 a 15 partículas. Se ha calculado la probabilidad de infección después de la exposición a varios enterovirus. La mayor parte de los individuos infectados no presentaron síntomas clínicos con coxsackie:

Enterovirus	Probabilidad de infección después de la exposición a un virus
Poliovirus 1	$1.5 \times 10^{-2}$
Poliovirus 3	$3.1 \times 10^{-2}$
Echo 12	$1.7 \times 10^{-2}$

La transmisión de la poliomielititis por el agua de consumo humano es posible y se ha constatado en numerosos casos La literatura ha reportado enfermedades de origen hídrico provocadas por los diferentes tipos de enterovirus. La poliomielititis se encuentra actualmente en vías de erradicación y la ONU estima su eliminación mundial entre 2000 y 2005 (Gantzer *et al.*, 1999)

## ENTEROVIRUS EN EL AMBIENTE

La cantidad de enterovirus encontrados en el medio hídrico varía según el país, la estación, el nivel socio-económico, la proporción de niños en la población, etc. (Berg *et al.*, 1976). Se puede considerar que hay en promedio de  $10^2$  a  $10^4$  partículas/l. en aguas residuales brutas;  $10^1$  a  $10^2$  en aguas tratadas;  $10^2$  a  $10^7$  Kg de materia seca en lodos no tratados;  $10^1$  en aguas dulces y 1 a  $10^4$  en agua de mar. Los sedimentos fluviales o marinos constituyen reservorios importantes de enterovirus, los cuales se encuentran en densidades 10 a 100 veces superiores a las de agua subyacente y no es raro encontrar  $10^2$  a  $10^4$  enterovirus por Kg de sedimento. Se han encontrado enterovirus en legumbres irrigadas por aguas residuales (Crites y Tchobanoglus, 2000).

Los mariscos, por su modo de alimentación por filtración de grandes cantidades de agua, son susceptibles de retener y de acumular enterovirus en su aparato digestivo de tal manera que se han aislado enterovirus patógenos al hombre de moluscos (Aulicino, *et al.*, 1991).

La temperatura es el parámetro más importante en la sobrevivencia de los enterovirus, por ejemplo, en un agua estéril, poliovirus 1 vive de 10 a 15 años a 4 °C y 296 días a 18-23 °C, la salinidad no tiene ninguna influencia en la sobrevivencia de este agente, 25 días en el agua de mar a 25 °C, Cocksackie A13 vive en agua de río 7 horas de 23-27 °C. En el caso de los lodos deshidratados, se inactivan totalmente después de un año de almacenamiento (Schwartzbrod y Schwartzbrod, 1999).

## ENTEROVIRUS Y TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Porcentaje de eliminación de enterovirus en las plantas de tratamiento

TRATAMIENTO	PORCENTAJE DE ELIMINACIÓN DE ENTEROVIRUS (%)
Sedimentación primaria	0-83
Lecho bacteriano	90-95
Lodos activados	90-99
Oxidación	90-99
Estabilización	99-99
Fosa séptica	50

El tratamiento de lodos por la cal produce una inactivación muy importante de los enterovirus siempre y cuando el pH sea igual o superior a 12. Por ejemplo, en los lodos que han sido sometidos a una digestión anaerobia, el 90 % de los poliovirus se inactivan en 11 horas en presencia de 5 Kg de cal por m<sup>3</sup> (Block *et al.*, 1979; Boisdon, 1995).

TEXTOS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 2. IMPORTANCIA DE LOS VIRUS ENTERICOS.

El potencial paratítico de los poliovirus fue reconocido desde épocas tempranas como en el siglo 14 en Egipto, en los años 50 ocurrieron en los Estados Unidos epidemias de verano; desde la introducción de la vacuna antipoliomielítica, en los países desarrollados ya no se reportan casos de polio. Se estima que en Estados Unidos los virus no polio (coxsackie y ecovirus) causan anualmente de 5 a 10 millones de infecciones sintomáticas, en los climas templados estas infecciones ocurren durante el verano (Lyons y Petraccia, 1978, Strikas, *et al.*, 1986).

En la Tabla 2 se muestran las enfermedades causadas por los virus entéricos (Payment y Armon, 1989)

Tabla 2. Principales enfermedades causadas por los virus entéricos.

Grupo viral	Nombre	Enfermedades
Enterovirus	Poliovirus (3 serotipos) Coxsackievirus A (24 serotipos). Coxsackievirus B (6 serotipos). Ecovirus (34 serotipos)	Poliomielitis paralis, meningitis aseptica, infecciones del corazón, diarrea y enfermedades respiratorias.
Reovirus	3 serotipos	Gastroenteritis
Rotavirus	4 serotipos	Gastroenteritis infantil Aguda
Adenovirus	41 serotipos	Diarrea y conjuntivitis
Virus de la hepatitis	Hepatitis A, B, C, delta, E, G	Hepatitis
Agente tipo Norwalk		Gastroenteritis

## 3. SISTEMAS DE AISLAMIENTO DE VIRUS ENTERICOS

La mayoría de los virus entericos se aíslan usando dos o mas líneas celulares en cultivo como son las líneas humanas RD y Hep 2C, y las líneas de riñón de mono verde VERO y BGMK. Las principales características de estas líneas se presentan en la Tabla 3 (Biowhittaker, 2000).

Las células BGMK son las que se recomienda utilizar para el análisis virológico de muestras ambientales dado que tienen una alta sensibilidad hacia hidrovirus y a virus de muestras fecales (Barron, *et al.*, 1970, Bryden, 1993, Dhaliq *et al.*, Titenko *et al.*, 1992).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

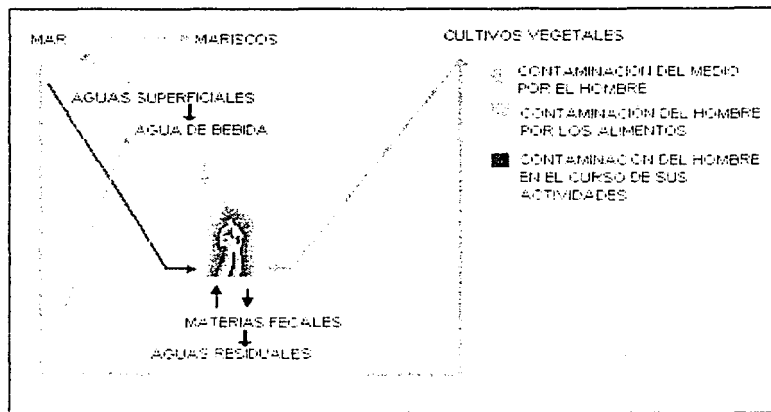
**Tabla 3. Características de las principales líneas celulares utilizadas en el aislamiento de enterovirus.**

Nombre	Autor y año	Tejido de origen	Citología	Caritología.
RD	Mac Allister, 1968.	Rhabdomyosarcoma de pelvis de niña de 7 años.	Células en forma de huso y células multinucleadas	2n=46, número hiperdiploide bimodal de 49 y 50, células con microsomas y espacios acromáticos y constricciones secundarias
VERO	Yasumura, 1962	Riñón de mono verde adulto <i>Cercopithecus aethiops</i>	Morfología semejante a fibroblastos	2n=60
HEP 2c	Moore, 1952	Carcinoma epidérmico de faringe de humano de 56 años	Células semejantes a células epiteliales	2n=46, ocasionalmente hay poliploidía y a menudo dos cromosomas grandes con centromeros subterminales
BGMK	Dhaling, 1974	Riñón de mono verde adulto <i>Cercopithecus aethiops</i>	Morfología semejante a fibroblastos	2n=60

#### 4. CONTAMINACIÓN DEL AGUA POR MEDIO DE VIRUS

Durante las últimas décadas, el desarrollo técnico, la elevación del nivel de vida y la alta concentración de la población en zonas localizadas, ha obligado a diversificar las fuentes de aprovisionamiento de agua. Los virus descritos previamente se transmiten por la materia fecal, existiendo varias vías por las que pueden contaminar al hombre a través del agua y los alimentos, como se resume en el siguiente esquema:

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

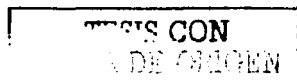


Clarke (1961) considera que en una población normal, el nivel medio de excreción viral por gramo de heces en individuos infectados es de 300 partículas. A si se admite que un individuo produce 200 gramos de heces por día, se tiene que se eliminan en promedio 60.000 virus diariamente por habitante infectado en una comunidad urbana.

Las aguas residuales son el receptáculo natural de las materias fecales, por lo que las concentraciones virales son muy importantes (Fukuioka *et al.*, 1978).

### 5. REMOCION DE LOS VIRUS EN AGUA RESIDUAL.

El agua residual puede ser procesada para establecer su posible reuso; el esto se realiza en las plantas de tratamiento de agua residual, los diferentes procedimientos se explican en la tabla 4. Para enterovirus se considera que una remoción de  $4 \log (99.99\%)$  como mínimo es la necesaria para considerar el agua como potable (Association Française de Normalisation 1990; Environmental Protection Agency, 1994).



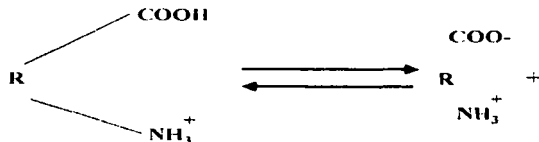
**Tabla 4. Procesos de tratamiento de una planta de agua residual.**

Etapas	Proceso	Remoción o efecto.
Preliminar	Cribado, desarenación	Sólidos de gran tamaño, arena y sólidos suspendidos
Primario	Sedimentación y espumación	Sólidos suspendidos, grasas, aceites y detergentes
Secundario	Aireación, sedimentación de alta tasa.	Materia orgánica
Terciario	Filtración	Sólidos suspendidos y coloidales
Desinfección	Cloración	Bacterias y virus patógenos
Tratamiento de lodos	Digestión, espesamiento y secado	Estabilización de lodos, concentración y deshidratación

El análisis de la remoción viral en agua residual y tratada en Estados Unidos y en Europa indica que la mayor reducción de enterovirus ocurre durante la desinfección, sin embargo hay estudios que demuestran que hasta en un 75% de los efluentes que reúnen los estándares de calidad de cloro libre, turbiedad y coliformes pueden contener enterovirus, esto muestra claramente que algunos virus pueden pasar a través de los procesos de tratamiento (Buras, 1974, Schwartzbrod *et al.*, 1979, Steteler *et al.*, 1992). Los datos de eliminación de partículas virales de una planta son importantes porque permiten conocer la descarga de virus en zonas donde la incidencia de gastroenteritis es alta (Keswick, *et al.*, 1985). En el tratamiento del agua, normalmente se implica una etapa de coagulación y floculación seguida de filtración y clarificación, resultando en la formación de lodo con un contenido de 10% de agua y de sólido entre 3 y 30 g/L, a pesar de las dificultades de distribución asociadas con el lodo, debe de tenerse en cuenta que este contiene una parte significativa de agua potencialmente reutilizable, como por ejemplo en tierras agrícolas o bosques como fertilizante, este reuso solamente puede ser llevado a cabo si la calidad sanitaria del lodo está controlada de manera suficiente, para esto, los lodos son sujetos a una serie de tratamientos que incluyen: aireación de alta velocidad, en flujo a pistón, alimentación escalonada, etc., entre otros procesos (Mignote *et al.*, 1999). La legislación francesa determina que no debe de haber más de 3 NPPC (Número más probable de unidades citopáticas) por cada 10 gramos de materia seca en la deposición de lodos para enterovirus (JO, 1997 y JO, 1998). La remoción de virus está determinada también por los siguientes factores: tipo de virus analizado, características de la planta, tiempo de tratamiento y además se han encontrado variaciones estacionales de la circulación de enterovirus en las colectividades humanas, ocurriendo un incremento de la concentración viral al inicio del verano (Rolland *et al.*, 1982) o en invierno y verano (Tani *et al.*, 1992).

## 6. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ENTEROVIRUS A PARTIR DE MUESTRAS DE AGUA.

Para que las células en cultivo puedan ser infectadas por virus, se requiere que las muestras de agua se concentren de volúmenes relativamente grandes (litros) a volúmenes pequeños (mililitros). Esencialmente los virus presentes en el agua se retienen por filtración de la misma a través de una matriz adsorbente, esta puede ser de dos tipos: electronegativa o electropositiva; se considera que una partícula viral en el agua se comporta como un coloide, y éste tiene grupos de superficie que reaccionan con el agua y pueden aceptar o donar protones y sus grupo carboxilo y amino reaccionan como sigue ( CUNO, 1990; American Public Health Association, 1995)



A causa de estas reacciones la carga de superficie de una partícula depende de las concentraciones de protones ( $\text{H}^+$ ) o del pH de la solución, las proteínas de la capsida de los virus usualmente tienen una carga negativa a valores de pH entre 3 y 8 (Sobsey *et al.*, 1980), por lo tanto las matrices positivas no requieren de un cambio en el pH del agua. La única desventaja de estas matrices es que son fácilmente saturables si el agua contiene una alta concentración de materia orgánica en suspensión.

Existen dos métodos de cuantificación viral: los enumerativos y los de respuesta todo o nada. Los primeros consisten en contar el número de lesiones específicas provocadas por los virus y el ejemplo típico es el método de obtención de unidades formadoras de placa en el que monocapas de células confluentes son inoculadas con el virus de prueba en un medio con agar que limita la difusión de la progenie viral, las placas de lisis celular que se forman se hacen evidentes después de coloración y su número se relaciona con el número de virus en la muestra, a cada placa de lisis se denomina unidad formadora de placa o UFP.

Los métodos de respuesta todo o nada miden la relación del número de respuestas positivas (presencia de lesiones específicas) con respecto al total de respuestas posibles. Se incluyen tres métodos: la estimación de dosis citopática (DCP) al 50%, del número más probable de unidades citopáticas (NPPC) y el método de Fisher (Schwartzbrod, 1991).

La dosis citopática al 50% representa la concentración de partículas virales en un inóculo que provoca la destrucción de la monocapa celular en el 50% de los casos o con una probabilidad del 0.5. Este valor del 50% corresponde normalmente a la parte de la curva dosis-respuesta en que la pendiente es más acentuada. Existen dos métodos propuestos:

TRABAJOS CON  
FALLA DE ORIGEN



- Método de Behrens y Karber: se basa en el logaritmo de la dosis viral que provoca una destrucción de la monocapa celular en 50% de los cultivos inoculados.

- Método de Reed y Munch: la DCP 50% se obtiene por interpolación lineal a partir de las frecuencias acumuladas de las respuestas positivas y negativas

El método de estimación del número más probable utiliza como precedente los resultados suministrados por la inoculación de las monocapas celulares de una suspensión viral y sus diluciones. El cálculo de NPPC se efectúa después de una enumeración en cada nivel de dilución de los cultivos donde una destrucción de la monocapa celular ha sido observada (y confirmada por un subcultivo). La validez del cálculo se basa en dos hipótesis esenciales:

- La presencia de un virus es suficiente para provocar la destrucción de la monocapa y la ausencia de destrucción significa la ausencia de virus.

- Los virus se distribuyen al azar en la muestra, lo que significa que cada virus tiene la misma probabilidad de encontrarse en un inóculo dado.

El método de Fisher se basa en el número de resultados negativos contados en el conjunto de los niveles de dilución estudiados

Cualquiera que sea el método utilizado se debe considerar que el resultado es solamente una estimación de la concentración real de la suspensión viral que se va a analizar y que debe estar de manera obligada encuadrada por los límites de confianza al 95% (Block y Schwartzbrod, 1982, Hugues, 1981)

La identificación de los virus aislados en cultivos celulares proporciona la siguiente información: la observación del efecto citopático permite confirmar que el agente aislado es un virus, las reacciones inmunológicas permiten la identificación precisa del virus aislado y por último se puede determinar el serotipo específico

En el caso de los enterovirus, se utilizan las baterías de Lim-Benyesh-Melnick para la identificación de 42 serotipos, a partir del suero de equino; la batería contiene 50 unidades de anticuerpo por 0.1 ml. La reacción llevada a cabo es de neutralización y consiste en que cuando un virus está en presencia del anticuerpo correspondiente, se combinan ambos específicamente, y de esta manera el virus se puede adsorber sobre una célula sensible y por lo tanto no se puede infectar esta y el virus no se multiplica, evitándose un efecto citopático, es decir el virus se neutraliza. La reacción de neutralización se efectúa en dos pasos: reacción inmunológica en la que el virus desconocido se pone en presencia de anticuerpos conocidos (suero), si el virus corresponde, se produce la reacción antígeno-anticuerpo y el virus se neutraliza, de lo contrario el anticuerpo queda libre y no se lleva a cabo la reacción de neutralización, el producto de la reacción inmunológica se inocula en cultivos celulares, si se manifiesta un efecto citopático se deduce que el virus no ha sido neutralizado en el curso de la reacción inmunológica y por lo tanto no corresponde a los anticuerpos involucrados. Si por el contrario, la monocapa celular permanece intacta, se infiere que ocurrió ausencia de multiplicación de los virus por neutralización y los anticuerpos conocidos corresponden al virus que puede identificarse (Melnick, *et al.*, 1973)

Mediante la utilización de las baterías de Lim-Benyesh-Melnick se han podido identificar diferentes serotipos de muestras ambientales de enterovirus (Aulicino

TRABAJO CON  
FALLA DE ORIGEN

*et al.*, 1992, Rotero *et al.*, 1992, Hughes *et al.*, 1992, Muscillo y Auticino, 1994; Tani *et al.*, 1992).

Existen otras metodologías para la detección de enterovirus y otros grupos vírales entéricos que permiten incrementar la sensibilidad de los ensayos como: el uso de inmunoglobulina sérica humana (HIGS) que se utiliza para detectar hasta 50 veces más partículas virales (rota, adeno, entero y hepatovirus) que los métodos de cultivo celular (Payment y Trudel, 1987); la reacción en cadena de la polimerasa o PCR que permite incrementar el material genético de hidrovirus presente en muestras ambientales y clínicas (Duval *et al.*, 1997, Shieh, *et al.*, 1995; Tsai *et al.*, 1993), la amplificación basada en secuencia de ácidos nucleicos o NASBA (Jean *et al.*, 2002).

## 7. PROBLEMÁTICA DEL AGUA EN EL DISTRITO FEDERAL

El rápido crecimiento de la población de la Ciudad de México, en las últimas décadas ha generado una demanda de servicios difíciles de atender por la escasez de recursos económicos y porque se han creado asentamientos humanos en sitios inaccesibles o con características físicas diversas, que hacen muy costosa la construcción de infraestructura. Lo anterior ha dado como resultado déficit en los servicios, deterioro de la infraestructura y malestar en algunos sectores de la población. El servicio de agua potable no escapa a este esquema. En los últimos años, el suministro de agua para la población ha presentado problemas de diversa índole, entre los que destacan:

- La insuficiencia de las fuentes de abastecimiento dentro del área metropolitana
- La sobreexplotación del acuífero del Valle de México, lo que ha provocado el hundimiento de la ciudad.
- El riesgo de contaminación de las fuentes de agua.

Esto ha conducido a importar agua de fuentes externas con el fin de atender las demandas de la nueva población y sustituir los volúmenes sobre explotados. En la actualidad se transfiere al Valle de México, agua subterránea de Lerma y superficial de Cutzamala.

Las perspectivas del abastecimiento de agua son poco alentadoras, sobre todo si se continúa incrementando de manera indiscriminada la oferta en función de la demanda. Las fuentes externas están cada vez más alejadas de la Ciudad, por lo que la infraestructura para la transferencia de agua será cada vez más costosa y difícil de realizar, ante estos problemas, el uso de aguas residuales tratadas, es una práctica que representa la opción más interesante por su menor costo con respecto al de agua potable.

El tratamiento de aguas residuales se inició en el D.F. para usarlas en el riego de áreas verdes y en el llenado de lagos, posteriormente, en 1973, con la puesta en operación de la planta de tratamiento de Cerro de la Estrella, se propuso el intercambio de agua potable usada para riego agrícola en la Zona de Chalco, por agua residual tratada. Se han incorporado más plantas de tratamiento a la infraestructura del D.F. hasta alcanzar la producción promedio de 1 900 litros por segundo, destinados básicamente al riego y llenado de lagos.

## 8. ASPECTOS FISICOS Y USOS DEL SUELO EN LA CIUDAD DE MEXICO

La cuenca del Valle de México, situada a una altura entre 2 200 y 2 390 metros sobre el nivel del mar (msnm), tiene una superficie de 9 600 Km<sup>2</sup>. Se formó hace 50 millones de años debido a procesos volcánicos y tectónicos, que originaron su cierre total durante el cuaternario superior, por lo que no tiene salidas naturales para los escurrimientos que aquí se generan. En esta cuenca se encuentran sedimentos fluviales, lacustres y volcánicos que van desde arenas gruesas hasta arcillas con altos contenidos de agua. La altura de las montañas que rodean al Valle varían de 4 000 a 5 000 msnm. Desde 1983 incluye, además de las delegaciones del D.F., a 53 municipios del Estado de México y uno del Estado de Hidalgo. Su superficie se encuentra distribuida de la siguiente manera:

- 15% urbanización continua (1 179 Km<sup>2</sup>)
- 27% zona agrícola (2 122.2 Km<sup>2</sup>)
- 20% zona forestal (1 572 Km<sup>2</sup>)
- 37% zona semiarida (2 908.2 Km<sup>2</sup>)
- 1% estales y cuerpos de agua (78.6 Km<sup>2</sup>)

Sus límites naturales son al norte, en sentido oeste-este, la línea que une las elevaciones de los cerros Sincouque, Nalpan, Gordo y Colorado; al este, en dirección norte-sur, los cerros Colorado, Chame, El Mirador, Telapón y los volcanes Iztaccihuatl y Popocatepetl; al sur los límites políticos del D.F. con el estado de Morelos, al oeste los límites políticos del D.F. con el Estado de México, hasta llegar al punto conocido como la Marquesa, hasta el Cerro del Sincouque en Huehueteca.

La expansión del área urbana de la zona metropolitana de la Ciudad de México ha disminuido la capacidad agrologica de alta rentabilidad y ha ocasionado desequilibrio del ciclo hidrológico al destruir zonas forestales.

## 9. ABASTECIMIENTO DE AGUA Y DRENAJE.

Para satisfacer la creciente demanda de agua, se han sobreexplotado los acuíferos del Valle y por la escasez del recurso fue necesario iniciar su importación en 1951 desde el acuífero de Toluca-Ixtlahuaca, y en 1982 de la cuenca del Río Cutzamala. Para principios de 1987, el suministro promedio de agua potable a la zona metropolitana era de 59 m<sup>3</sup> por segundo, este caudal abastecía a una población de 15 millones de habitantes con una dotación promedio de 340 l por habitante por día. De los 360 l/hab/día de dotación promedio usada en 1982 para estimar las demandas de agua, se ha disminuido a 250 l/hab/día, mediante los programas de uso eficiente del agua. Actualmente el Valle de México consume 63 m<sup>3</sup>/s, existiendo un déficit de 11 m<sup>3</sup>/s. Las fuentes de suministro corresponden en un 70% a los acuíferos del Valle de México, el 30% restante se importa de otras cuencas: 16% del Valle de Lerma y 14% de Cutzamala. El consumo promedio para todos los usos es de 280 l/hab/día. De las aguas residuales generadas en la Ciudad de México, una parte se emplea en riego agrícola dentro del Valle y el resto se transporta fuera de éste a través

del Gran Canal de Desagüe, el Emisor Poniente y el Emisor Central del Drenaje Profundo. Normalmente es por el Gran Canal por donde se envían los mayores caudales fuera del Valle de México. Los elementos que forman el sistema principal de drenaje de la Cuenca del Valle de México son: el Sistema del Drenaje Profundo, los ríos de Oriente y los del Sur-Oriente, el Río de las Avenidas de Pachuca, Río Churubusco, Río San Javier, Río Tlalnepanitla, de los Remedios, el Gran Canal del Desagüe y el Interceptor Poniente

El drenaje profundo está constituido por los interceptores Oriente, Central y Centro-Poniente y el Emisor Central, así como por los colectores semiprofundos de Iztapalapa y de Obrero Mundial

Sistemas de los Ríos del Oriente: Esta formado por las corrientes superficiales de San Juan Teotihuacan, Papalotla, Xalpango, Coaxacoaco, Texcoco, Chapingo, San Bernardino, Santa Mónica y Coatepec que drenan la parte oriente del Valle de México hasta el Lago de Texcoco

Ríos del Sur-Oriente comprende las corrientes del Río San Buenaventura, Santiago, San Lucas, San Gregorio, Milpa Alta, Mixquic, Amecameca, Río de la Compañía y San Francisco, que drenan la parte suroriental de la Cuenca del Valle de México

Río de las Avenidas de Pachuca: nace al norte de la Ciudad de Pachuca y desagua en la laguna de Zumpango

Río Churubusco es el principal elemento de drenaje de la zona sur de la Ciudad de México, descarga al Drenaje General del Valle o al Lago Churubusco

Río San Javier: nace en las laderas del Arroyo Chiluca y tiene derivaciones al Emisor del poniente, al Gran Canal y al Sistema de Drenaje Profundo

Río Tlalnepanitla nace en la Sierra de Monte Alto, sus escurrimientos se envían hacia el Emisor del Poniente, al Gran Canal y al Sistema de Drenaje Profundo

Río de los Remedios se forma con la descarga del Vaso del Cristo en el municipio de Tlalnepanitla y deriva sus aguas mediante una obra de captación hacia el Interceptor Central del Drenaje Profundo o sigue hacia el Gran Canal

Gran Canal del Desagüe es uno de los principales emisores de la ciudad Drena las aguas pluviales y residuales de la parte baja de la zona urbana, recibe entre otras aportaciones, el agua de los ríos del Noroeste a través del Río de los Remedios y los excedentes del Lago de Texcoco, mediante los canales de la Draga y del dren General del Valle Descarga su caudal al Río Salado a través de los túneles de Tequixquiac, que se integran a la Cuenca del Río Tula

Interceptor del Poniente: su principal función es la de recibir y desalojar los escurrimientos pluviales de la zona alta del poniente de la cuenca, además de algunos escurrimientos residuales mediante colectores

Emisor del poniente la subcuenca de este emisor se localiza en la parte norponiente de la cuenca hidrológica del Valle de México, drena su superficie comprendida desde el vaso de Cristo, hasta su desembocadura en la cuenca del Río Tula

Tomando en cuenta el suministro de agua potable de 63 m<sup>3</sup>/seg para 1989 y de 88 m<sup>3</sup>/seg para 2000, y considerando que el 80% de ésta retorna como agua residual, en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México se estaría produciendo un total de 70.4 m<sup>3</sup>/seg actualmente.

## 10. TRATAMIENTO Y REUSO.

El aprovechamiento de aguas residuales puede analizarse desde dos puntos de vista: el uso después del tratamiento y el uso del agua residual cruda. En la actualidad, la mayor parte del aprovechamiento de las aguas negras se da sin ningún tratamiento, principalmente en el riego agrícola.

La práctica del riego con agua residual cruda ha incrementado la productividad de los cultivos por el alto contenido de nutrientes presentes en el agua negra y porque ha permitido la regeneración de los suelos en algunos casos. Sin embargo esta práctica tiene desventajas si se aplica indiscriminadamente a todo tipo de cultivos, entre las que se identifican con mayor claridad se encuentran el posible reciclaje de compuestos tóxicos, orgánicos, y patógenos, la contaminación de suelos y acuíferos, los riesgos a la salud, tanto de agricultores como de la población; así como las posibles enfermedades al ganado alimentado con los productos agrícolas o por la ingestión del agua.

Con respecto al uso del agua residual tratada, se tiene que para el año de 1956 entró en operación la primera planta de tratamiento de aguas residuales que fue la de Chapultepec, con la modalidad de lodos activados y con una capacidad nominal de 80 l/seg. Actualmente cuenta con una capacidad instalada para tratamiento de aguas residuales de 160 l/seg. Existen 13 plantas de tratamiento que en conjunto tienen una capacidad de 7 24m<sup>3</sup>/seg. Los usos son principalmente para riego de áreas verdes, llenado de lagos y aguas recreacionales e industria, a este respecto se puede mencionar que hay estudios que demuestran la presencia de enterovirus en aguas de albercas hasta en un 45.8% de muestras (Hughes *et al.*, 1992); en la industria este recurso se utiliza para el enfriamiento (Tabla 5).

Tabla 5. Empleo del agua residual sin tratamiento, proveniente de la zona metropolitana de la Ciudad de México.

Valle	Zona	Uso	Caudal empleado (m <sup>3</sup> /a)
Valle de México	Distrito de riego 88 Chiconautla	Riego agrícola	72 00
Valle de México	Zona agrícola de Guadalupe y Zumpango	Riego agrícola	32 00
Valle de México	Distrito de riego 73 La Concepción	Riego agrícola	10 00
Valle de México	Zona industrial de Ecatepec	CFE	26 70
Valle de México	Otros	Riego agrícola	15 24

Actualmente se hacen estudios para analizar la posible reinyección del agua residual tratada a los acuíferos del Valle de México (Tabla 6).

**Tabla 6. Reuso del agua tratada en el Valle de México.**

Entidad	Plantas de tratamiento	Total	Finalidad de las plantas	Capacidad de diseño ( L/s ).
Distrito Federal	DGCOH	13	Reuso en la industria, riego y llenado de lagos	4300.
Distrito Federal	Particulares	7	Reuso en la industria	440.
Estado de México	Particulares	5	Reuso en la industria	900.
Estado de México	SARH (Lago de Texcoco)	1	Llenado de lagos	1000.
Hidalgo	Termoeléctrica de Tula	1	Reuso para el sistema de enfriamiento	600.
<b>Total</b>		<b>27</b>		<b>7240.</b>

Estos estudios señalan que ésta es una opción factible siempre que se cumpla con los estándares de calidad requeridos (parámetros físicos, químicos y biológicos). Como premisa para el programa de recarga de acuíferos en el D.F. es indispensable mejorar el nivel de confiabilidad tanto en los procesos de tratamiento con los que actualmente operan las plantas como de aquellos que se agreguen para asegurar el cumplimiento de los criterios de calidad requeridos para el agua de recarga. Para esto se requiere del desarrollo de programas de investigación para decidir bajo qué condiciones se puede emplear agua renovada tomando en cuenta, en primer lugar, los peligros potenciales relacionados con su uso. Entre otros proyectos se encuentran los siguientes: estudios del comportamiento de los contaminantes del suelo y sedimentos, en ambientes subterráneos; evaluación de riesgos toxicológicos; estudios epidemiológicos de poblaciones expuestas; estudios de medios para el control de virus y evaluación de procesos de tratamiento de agua para la eliminación de sustancias orgánicas potencialmente peligrosas (Diseño Ingeniería y Planeación, S.A., 1990).

La producción de las plantas de tratamiento depende de la época del año (estiaje y lluvias), en la Tabla 7 se puede observar la producción de las plantas.

**Tabla 7. Producción de las plantas de tratamiento.**

Planta	Capacidad instalada ( L/s )	Gasto en estiaje (L/s)	Gasto en lluvias(L/s) .
Cerro de la Estrella	2000	1141	400.
Coyacán	1250	189	60.
San Juan de Aragón	500	150	90.
Ciudad Deportiva	230	171	185.
Chapultepec	160	110	100.
Acueducto de Guadalupe	80	47	0
Bosques de las Lomas	55	30	22
Azcapotzalco	25	20	15
Tlatelolco	20	18	12

Las plantas más deficientes en estiaje son Coyoacán y San Juan de Aragón y en época de lluvias las plantas que tienen una disminución mayor de gasto son: Cerro de la Estrella, Coyoacán, San Juan de Aragón y Acueducto de Guadalupe.

En la tabla 8 se indican las limitaciones principales que repercuten directamente en la producción de agua renovada de cada planta, en estiaje y en lluvias.

**Tabla 8. Limitaciones en la producción de agua renovada.**

Planta	Estiaje	Lluvias.
Cerro de la Estrella	Capacidad de equipo de aireación y recirculación	Demanda mínima de los canales de Xochimilco.
Coyoacan	Capacidad de bombeo y de aireación	Demanda mínima de agua
San Juan de Aragón	Capacidad de aireación	Demanda mínima de agua
Ciudad Deportiva	Capacidad de aireación	Demanda mínima de agua
Chapultepec	Capacidad de aireación	Demanda mínima de agua
San Luis Tlaxialtemanco	Capacidad de aireación	Demanda mínima de agua
Acueducto de Guadalupe	Capacidad de aireación	Demanda mínima de agua
Colegio Militar	Capacidad de aireación	Demanda mínima de agua
Reclusorio Sur	Capacidad de aireación	Demanda mínima de agua
Iztacalco	Capacidad de aireación	Demanda mínima de agua
Bosques de las Lomas	Caudal de entrada, capacidad de aireación, equipo de sedimentación	Igual a las de estiaje
Azcapotzalco.	Caudal de entrada, capacidad de bombeo, aireación y recirculación	Igual a las limitaciones de estiaje más la demanda mínima que se presenta en este periodo
Tlatelolco	Caudal de entrada, capacidad de aireación	Igual a las limitaciones que se presentan en estiaje más la demanda mínima que se requiere en este periodo

En la Tabla 9 se muestra la información general de las plantas de tratamiento.

**Tabla 9. Información general de las plantas del sistema de tratamiento**

Nombre	Inicio de operaciones	proceso	objetivo inicial
Cerro de la Estrella	1971	Lodos activados	Intercambiar agua renovada por potable en el municipio de Chalco
Coyoacan	1958	Lodos activados	Llenado de los canales de Xochimilco
San Juan de Aragón	1964	Lodos activados	Riego de áreas verdes
Ciudad deportiva	1958	Lodos activados	Riego de áreas verdes
Chapultepec	1956	Lodos activados	Riego de áreas verdes y llenado de lagos
Acueducto de Cuadalupe	1982	Lodos activados	Prevención de la contaminación
Bosques de las Lomas	1973	Aeración extendida	Prevención de la contaminación
Azcapotzalco	1981	Lodos activados, filtración, adsorción	Riego de áreas verdes y llenado de lagos
Tlatelolco	1963	Tratamiento físico-químico	Riego de áreas verdes
San Luis Traxiatlenco	1969	Tratamiento físico-químico	Mantenimiento del nivel de la zona turística y chinampas de Xochimilco, llenado de lagos y recarga de acuíferos
Iztacalco	1988	Tratamiento físico-químico	Prevención de la contaminación
Colegio Militar	1990	Tratamiento físico-químico	Prevención de la contaminación
Reclusorio sur	1988	Tratamiento físico-químico	Riego de áreas verdes y prevención de la contaminación

Dado que actualmente hay una tendencia a la disminución de la capacidad de los mantos freáticos que abastecen de agua potable al Distrito Federal, y como consecuencia la disponibilidad de la misma tiende a decrecer, ha sido necesario plantear como parte de los proyectos del Gobierno del Distrito Federal el reuso del agua residual, este reuso contempla varias categorías: lavado de automóviles, riego de áreas verdes y en un futuro la potabilización del agua de desecho, sin embargo, para que esto se lleve a cabo se debe de contar con sistemas de tratamiento eficientes que garanticen la calidad del agua con respecto no solamente a los estándares de los parámetros físico-químicos, así como los biológicos, incluidos los virológicos.



## **OBJETIVOS**

La evaluación de la calidad virológica del agua residual y tratada requiere de las siguientes investigaciones: monitoreo y evaluación de la efectividad de los procesos de tratamiento de agua en la remoción de los enterovirus para el desarrollo de estrategias de control de los mismos; implementación de metodologías para incrementar la sensibilidad de las técnicas de detección de partículas virales en el agua y el control de la calidad a nivel de cultivos celulares. De esta manera, para establecer un programa de calidad del agua residual desde un punto de vista virológico en el D.F. se plantean los siguientes objetivos

- 1- Cultivo de las líneas celulares para el aislamiento de enterovirus de muestras de agua residual y tratada proveniente de las plantas de tratamiento del D.F.
- 2- Evaluación de la eficiencia de las matrices adsorbentes para la retención de enterovirus de muestras sintéticas y muestras ambientales de agua residual.
- 3- Determinación de la eficiencia de retención de enterovirus en las plantas de tratamiento de agua residual en el D.F.
- 4- Identificación de los serotipos correspondientes a los enterovirus presentes en el agua residual de la Zona Metropolitana.
- 5- Determinación de la variación estacional de enterovirus en las descargas de agua residual en el D.F.

## **MATERIALES Y METODOS.**

### **1 CULTIVO Y VALIDACIÓN DE LAS LINEAS CELULARES Hep 2C, RD, BGMK Y VERO.**

Las líneas celulares fueron adquiridas del Laboratorio de Virología de la Universidad de Nancy, Francia, llegaron congeladas en criotubos (Corning) con una densidad celular de  $10^6$  células por ml. Se descongelaron rápidamente a  $37^{\circ}\text{C}$  en botellas de cultivo celular de  $75\text{ cm}^2$  de poliestireno (Corning), el medio celular en el que se sembraron fue el medio esencial mínimo (MEM) de Eagle con sales de Hanks (Sigma) cuyos componentes incluyen una mezcla de sales, carbohidratos, amino-ácidos, vitaminas, hormonas y factores de crecimiento, la concentración de sales es isotónica para prevenir desbalances osmóticos, siendo la osmolaridad para medios de células de mamíferos de 300 mOsm por kg. Se seleccionó este medio porque las sales de Hanks permiten soportar el crecimiento celular por varios días (Butler, 1994; Hanks, 1976). En la mayoría de los medios la glutamina se consume rápidamente por lo que es necesario añadirla en altas concentraciones (concentración final al 1% de una solución 200 mM). Se requiere la suplementación de suero a una concentración que varía del 10 al 20%, en este caso se utilizó suero fetal bovino dializado contra NaCl 0.15 M lo que reduce el nivel de los componentes de bajo peso molecular, el suero proporciona proteínas (albúmina, fibronectina, transferrina, etc.), factores de crecimiento derivado de plaquetas, de crecimiento de fibroblastos, de crecimiento epidérmico, etc.), hormonas (insulina), metabolitos, glucosa y minerales (Freshney, 1987). En la tabla 10 se muestran las propiedades del suero

fetal. El medio fue ajustado a un pH final de 7.4 con una temperatura de incubación de 37°C. Cuando la monocapa celular presentó una confluencia del 100% se procedió a su subcultivo. Se eliminó el medio de cultivo de cada una de las botellas, agregándose tripsina-verseno al 0.05% (Sigma); se observó al microscopio invertido (American Optical) hasta que las células se desprendieron, la actividad de la tripsina se detiene al añadir medio que contiene suero, dado que éste tiene el inhibidor de tripsina  $\alpha$ -1-antitripsina (Labarca, 1980), las células se sedimentaron por centrifugación, se enjuagaron con medio de cultivo y se distribuyeron en botellas de cultivo a una concentración de  $10^4$ - $10^5$  células por ml.

Tabla 10.- Características del suero fetal bovino.

Ph	Osmolaridad	Hemoglobina	Proteína	Albumina	Endotoxina
6.85-7.05	250-295 mOsm/L.	< 120 microgramos/ml.	60-80 mg/ml	30-50 mg/ml	< 15 ng/ml.

El subcultivo se realizó en botellas de 25 cm<sup>2</sup> (NUNC) utilizadas para conocer la respuesta de cada línea celular hacia un virus control, realizando el llamado bioensayo en placa que consiste en: inocular por triplicado una dilución de poliovirus III  $10^{-6}$  en las cuatro líneas celulares (1 ml de la dilución por botella de cultivo) permitiendo que ocurra la adsorción del virus durante media hora, al término de la cual se incorpora a cada botella un volumen de 3 ml de una mezcla consistente en MEM, HEPES (ácido N-2-hidroxiethylpiperazino-N'-2-etanosulfónico) 1M, como solución amortiguadora, suero fetal bovino (4%) y glutamina 200 mM al 2% más agar al 2%. Las monocapas celulares se incuban a 37°C y al tercer día se añaden de nuevo 3 ml de la misma mezcla, pero en esta ocasión con rojo neutro al 1% para la visualización de las lesiones provocadas por los poliovirus ya que el rojo neutro es un colorante vital que tiñe solamente células vivas, se contó el número de placas por botella en diez experimentos por separado, reportándose como unidad formadora de placa o UFP.

## 2. VALIDACIÓN DE LAS MATRICES ELECTROPOSITIVAS PARA LA CONCENTRACIÓN DE ENTEROVIRUS (POLIO).

Se utilizó el poliovirus III como modelo para los estudios de cuantificación. Se realizó una curva dosis-respuesta para conocer la dilución que permitiera contar directamente el número de UFP formadas sobre monocapas de células BGMK. La dilución seleccionada fue la  $10^5$ . La muestra congelada del virus se descongeló rápidamente y se inoculó 1 ml en garrafrones de polipropileno esteriles de 20 litros de capacidad, se homogenizó la muestra, ajustándose el pH a 7 y a temperatura ambiente, se hicieron pasar los 20 litros de agua a través de los cartuchos electropositivos (Zeta Plus, CUNO) dentro de portacartuchos a una presión no mayor de 1 Kg por cm<sup>2</sup>, una vez que paso toda el agua con ayuda de los tanques de presión de acero inoxidable (Millipore), el cartucho conteniendo los virus se lavó con una solución de extracto de carne al 3% para la elución de las partículas víricas a pH de 9 (Sobsey *et al.*, 1980) Se procedió a la floculación del fluido mediante la disminución del pH a 3.5 con ácido clorhídrico 1N con agitación constante durante 30 minutos; después se centrifugó a 3000 g durante 10' en una centrifuga refrigerada (Sorvall) a 4°C, se

desechó el sobrenadante, y se resuspendió en 12.5 ml de una solución de fosfato dibásico de sodio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0.45 M más 1.25 ml de una solución de penicilina-estreptomicina 5000 UI por ml y como paso final se neutralizó a un pH de 7.4 con 0.1N de NaOH. Con la muestra obtenida, se realizó el bioensayo correspondiente para la obtención de UFP en células BGMK

### **3. RECUPERACIÓN DE POLIOVIRUS DE LAS MATRICES ELECTROPOSITIVAS Y ELECTRONEGATIVAS.**

Para poder comparar ambos métodos se inoculó con la misma dilución de poliovirus III y en las mismas condiciones, un volumen de 20 litros de agua y se concentró con membrana de nitrato de celulosa (matriz electronegativa). La diferencia entre ambos métodos es que con filtros negativos, el agua debe ajustarse de manera previa a pH de 3.5 y se deben añadir  $\text{AlCl}_3$  0.0015 N y  $\text{MgCl}_2$  0.01 N. Se hicieron 10 experimentos, y se realizó el bioensayo de los concentrados con células BGMK.

### **4. DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN ENTEROVIRAL EN AGUA RESIDUAL.**

Se realizó el monitoreo de los influentes y de los efluentes de las plantas de tratamiento abarcando todos los meses del año (muestreo semanal). La muestra se colectó en garrafones de 20 litros previamente esterilizados y fue llevada al laboratorio. Se procesó lo más pronto posible sin que permaneciera más de dos horas a temperatura ambiente o más de 48 horas a  $10^\circ\text{C}$  para que no hubiera pérdida de la actividad viral.

### **5. IDENTIFICACIÓN DE ENTEROVIRUS.**

Para las muestras positivas se llevó a cabo la neutralización con las baterías de antisueros de Lim-Benyesh-Melnick. Se añadió un volumen de 5 ml de agua destilada para hidratar los antisueros, cada uno se diluye 1/10, se distribuyeron en pozos de microplacas a razón de 0.3 ml, se añadió 0.1 ml de muestra. Se incubó durante 7 días a  $37^\circ\text{C}$  y a partir del segundo día se observó diariamente al microscopio para determinar el efecto citopático. Se realizaron controles positivo (polio III) y negativo (Fosfato dibásico de sodio).

## 6. CONCENTRACIÓN DE VIRUS POR ADSORCIÓN A FILTRO POSITIVO.

La ventaja del filtro electropositivo es que no se requiere un acondicionamiento químico previo del agua mientras el pH de ésta no exceda el valor de 8.

### Material

Cartucho electropositivo (CUNO) de resinas melaminicas de 9.3/4 de pulgada de longitud.

Portacartucho de policarbonato.

Conectores y abrazaderas

Garrafrones de polipropileno de 10 y de 20 litros.

Vasos de precipitados de 1 litro.

### Reactivos

Extracto de carne (Dibico)

Fosfato de sodio dibásico (Baker)

Penicilina-estreptomicina 10X (5000 UI de penicilina por ml, 5000 microgramos de estreptomicina por ml) (Sigma).

### Procedimiento.

Se recolecta de 10 a 20 litros de agua en un garrafón estéril en el caso de los influentes; para los efluentes se concentraron 200 litros *in situ*.

Se transportaron al laboratorio en un intervalo menor a 30 minutos, de lo contrario mantuvieron los garrafrones a 4°C.

En el laboratorio se colocaron los filtros positivos estériles en los portacartuchos.

El portacartucho se conectó a un tanque de presión de 20 litros.

Se vació el agua del influente en este tanque.

Se hizo filtrar el agua con presión positiva y con un flujo no mayor de 40 litros por minuto.

Para los efluentes, se colocó el cartucho con la muestra ya colectada en un portacartucho.

Una vez que paso toda el agua, se eluyó con extracto de carne al 3% y pH de 9.0. Se recolectó todo el eluido y se ajustó a un valor de pH de 3.5, agitando durante 30 minutos para permitir la formación de flóculos.

El eluido se centrifugó a 3000g durante 10 minutos. Se descargó el sobrenadante, resuspendiendo el sedimento en un volumen de fosfato dibásico de sodio en relación 1:20.

Se ajustó el pH a 7.2 y se añadió la solución de penicilina-estreptomicina en un volumen 1:10.

Se filtro la muestra en un filtro de membrana de nitrato de celulosa con poro nominal de 0.45 micras y 25 mm de diámetro.

Se congeló en un ultracongelador (Revco) a -70 °C.

## 7. BIOENSAYO EN PLACA.

### *Material*

Pipetas serológicas de 1.0, 2.0 y 10.0 ml.  
Botellas de cultivo celular con área de crecimiento de 25 cm<sup>2</sup>.  
Vaso de precipitados de 100 y 500 ml.  
Matraz Erlenmeyer de 500 y 1000 ml.  
Probeta graduada de 100 ml

### *Reactivos*

Solución amortiguadora de fosfatos (pH 4, 7 y 10)  
Solución de tripsina-verseño concentración 10X con 5g de tripsina porcina y 2g de EDTA por l.  
L-Glutamina 200 mM 100 X (Sigma).  
Medio mínimo esencial de Eagle, sin rojo fenol. Sigma.  
Suero fetal bovino inactivado por calor a 56°C durante 30 minutos.  
Solución amortiguadora HEPES 1M  
Solución de rojo neutro al 1%

### *Procedimiento*

Se utilizaron 3 botellas de cultivo celular de 25 cm<sup>2</sup> de superficie por cada muestra a analizar.  
Se revisaron las botellas para determinar si ya estaban confluentes.  
Se decanto el medio de cultivo y se enjuagaron las monocapas con un volumen pequeño de solución salina.  
Se inoculo un mililitro de muestra por monocapa y las cajas se movieron para esparcir la muestra.  
Se adsorbió la muestra durante una hora a 37°C.  
Se añadió el medio de mantenimiento con agar a las monocapas teniendo el cuidado de que el flujo de medio no fuera directo en las células y se permitió que el agar a 45°C se endureciera antes de mover las botellas.  
Las botellas se invirtieron y se incubaron a 37°C.  
Se observaron las monocapas cada dos días para visualizar la formación de placas. Como la placa producida por virus tiende a aumentar en tamaño en los días siguientes, las botellas debieron de observarse por un mínimo de 7 días y cuando fue posible hasta 14 días.  
Después de que la placa viral hubo crecido unos milímetros, se aspiró y se guardó para la confirmación e identificación del virus. Con una pipeta Pasteur se aspiró el agar que estaba inmediatamente encima de la placa y se disolvió en un mililitro de solución salina con 10% de suero fetal. Aproximadamente 0.1 ml del material disuelto se puso encima de la placa y se enjuago ésta, dos o tres veces rascando con una asa esteril la superficie de la botella, se aspiró el líquido otra vez y se transfirió a un vial, congelándose a -70°C hasta su utilización de nuevo.

## 8. CULTIVO CELULAR

### *Materia.*

Pipetas serológicas de 1 0, 2.0, 5.0 y 10.0ml.  
Botellas de cultivo celular con área de superficie de 80 cm<sup>2</sup>.  
Vasos de precipitados de 1 y 2 litros.  
Matraces erlenmeyer de 125, 250, 500, 1000 y 2000 ml.  
Probetas de 20, 50, 100, 250, 500 y 1000 ml.  
Matraces de filtración de 125, 250, 500 y 1000 ml.  
Pisetas de 250 y 500 ml.  
Filtros de membrana de nitrato de celulosa de poro de 0.2 micras y diámetro de 47 mm

### *Equipo*

Tanque de nitrógeno líquido (MVE)  
Incubadora de CO<sub>2</sub> Lab-line.  
Campana de flujo laminar VECO  
Refrigerador (Nieto).  
Baño de agua con temperatura constante Lab-Line.  
Ultracongelador a -70°C (REVCO).  
Autoclave (Famsa).  
Agitador tipo vortice (Thermolyne).  
Microscopio invertido (Olympus).  
Microscopio óptico de campo claro (Zeiss).  
Potenciómetro (Corning).

### *Reactivos.*

Solución amortiguadora de fosfatos (pH de 7 y 10).  
Solución de tripsina verseno 10X  
L-glutamina 200 mM 100X.  
MEM  
Suero fetal bovino  
Bicarbonato de sodio al 7.5%

### *Procedimiento*

Se observa la monocapa para determinar si está completa y si es necesario el subcultivo.  
Se decanta el medio de las células asépticamente.  
Se enjuagan las células con solución salina balanceada a base de fosfato.  
Se vierte la solución salina y se reemplaza con solución de tripsina-verseno al 0.25% a 37°C.  
Se incuba a 37°C observando cada cinco minutos. Las células están listas para la neutralización de la tripsina cuando la monocapa se separa del sustrato de manera homogénea. Se sacan las células de la incubadora y se le agrega con una

pipeta el mismo volumen de medio de crecimiento conteniendo 10% de suero fetal.

Se transfiere con pipeta todo el volumen del frasco a un tubo de centrifuga estéril y se centrifugan las células a 1500 g durante 3 minutos.

Se decanta el sobrenadante y se resuspende el botón de células con 10 ml de medio de crecimiento.

Se transfieren las células a un frasco de repartición y se agrega un volumen apropiado de medio de crecimiento. Los volúmenes de dilución dependen de la concentración de células deseada.

Se incuban las botellas de cultivo, marcando el pasaje, la relación de pase, la línea celular y la fecha

## 9. USO DE ANTISUEROS PARA IDENTIFICACION DE ENTEROVIRUS

### *Material*

Placas de microtitulación de 96 cavidades de fondo plano.

Micropipetas de 0.025 y 0.05 ml.

Agitadores magnéticos

Marcadores de tinta indeleble.

### *Medios y reactivos*

Solución balanceada de sales de Hanks.

Baterías de antisueros almacenadas a -20°C.

MEM libre de gammaglobulinas y con suero al 5%.

### *Procedimiento*

**Preparación de las placas de microtitulación.**

Con un marcador de tinta indeleble se tiran líneas cada dos columnas a lo largo de la placa

En el extremo de cada placa se marca el código de la muestra a identificar.

Se marca la identidad de cada antisuero sobre el lado izquierdo de la placa.

Se marca los controles

**Preparación de las muestras a identificar.**

Se retira la muestra del ultracongelador.

Se descongela y se mezcla.

Se diluye la muestra a  $10^{-2}$  con solución salina balanceada de fosfatos.

Se preparan 2 ml de la dilución  $10^{-2}$

De la dilución  $10^{-2}$  se prepara una dilución 1:2 con EBSS (dilución control).

De la dilución 1:2 se preparan dos diluciones (1:20 y 1:200).

Se repite lo anterior para cada antisuero.

**Adición de los antisueros a la placa de microtitulación**

Se descongelan los antisueros y se mezclan.

Con una micropipeta se distribuyen 0.025 ml de cada antisuero en los pocillos de la microplaca de titulación.

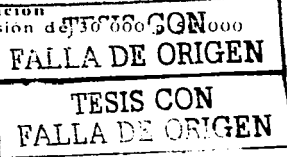
**Adición del virus (muestra) a la placa de microtitulación.**

Se añaden 0.025 ml de la dilución  $10^{-2}$  del virus a cada pozo por duplicado.

Se incuban las microplacas a 36 °C durante dos horas

**Preparación de la suspensión celular para la identificación**

Se tripsinizan las células BGM y se prepara una suspensión de células por 0.2 ml de medio de cultivo



Se mezclan las células en medio al menos durante 15 minutos.

Después de que la mezcla virus-antisuero se incuba durante dos horas, se añaden 0.2 ml de la suspensión celular en cada pozo.

Se incuba la placa durante 3 días a 37°C.

Después de los tres días se examinan las células diariamente durante cinco días para determinar el efecto citopático.

Cuando se desarrolla este efecto, se utilizan las tablas de identificación que vienen con cada batería. El análisis es únicamente cualitativo.

#### **10. CONGELAMIENTO DE CÉLULAS.**

Se utiliza el procedimiento de cultivo ya descrito.

Se prepara el medio de congelación al 10 % de dimetilsulfóxido y 10-40% de suero fetal bovino.

Se centrifugan las células y se resuspende el botón de células en suficiente medio de congelación para obtener 2 millones de células por mililitro.

Se agrega un mililitro de suspensión celular en un vial de 1.8 ml.

Se colocan los viales en un congelador de baja temperatura (-40 a -70 °C) por no más de 24 horas.

Se transfieren los viales a nitrógeno líquido.

#### **11. DESCONGELAMIENTO DE CÉLULAS.**

Se saca un vial con células rápidamente del tanque de nitrógeno líquido y se sumerge parcialmente en un baño maría a 37°C, donde se deja hasta que se descongela por completo.

Se vacía el contenido del vial en la botella de 75 cm<sup>2</sup> que contenga medio de crecimiento.

Se incuba a 37°C.

Al día siguiente se cambia el medio de cultivo por medio fresco.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## RESULTADOS.

### 1. TITULACION VIRAL EN MICROPLACA DE POLIO I, II Y III.

Los resultados que se obtuvieron al inocular en pozos de microplacas de 96 cavidades los tres serotipos de poliovirus (I, II y III) se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Dosis infectiva al 50 % (DICT 50%) de los tres serotipos de polio. Se muestra la desviación estándar (D.S.) y los límites de confianza al 95% (Li y Ls).

POLIOVIRUS	DICT 50%	D.S.	Li	Ls
I	$10^{-6.55}$	0.31	$10^{-5.9424}$	$10^{-7.1576}$
II	$10^{-6.46}$	0.22	$10^{-6.0288}$	$10^{-6.8912}$
III	$10^{-6.54}$	0.27	$10^{-6.06}$	$10^{-7.1102}$

La DICT 50% (Dosis infectiva en cultivo de tejidos al 50%) se calculó según Behrens y Karber:

$$\log \text{DICT } 50\% = l_r + 1/2d \cdot d \sum_{i=0}^p h_i$$

donde:

$l_r$  = logaritmo de la dilución más elevada que da el 100% de respuestas positivas.

$d$  = logaritmo de la relación de dilución.

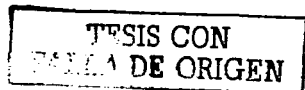
$h_i$  = proporción de respuestas positivas en los diferentes niveles de dilución.

$s$  = desviación estándar.

$$s = d \sqrt{\sum_{i=1}^p h_i(1-h_i/n_i-1)}$$

$$Li = \log \text{DICT} - 1.96 s$$

$$Ls = \log \text{DICT} + 1.96 s$$



## 2. RESPUESTA DE LAS LINEAS CELULARES HACIA UN VIRUS DE PRUEBA (POLIO III).

Se incubó la dilución  $10^{-5}$  de poliovirus III por triplicado en diez experimentos, cada número corresponde a las unidades formadoras de placa en promedio de cada triplicado (Tabla 12).

Tabla 12. Respuesta de distintas líneas celulares a virus polio III. Se expresa el número de unidades formadoras de placa ( UFP ).

Número de experimento	Líneas celulares			
	BGMK	RD	HEP 2c	VERO
1	140	80	45	60
2	139	100	50	32
3	138	100	39	49
4	90	110	55	50
5	100	62	76	60
6	125	92	77	40
7	80	93	79	53
8	99	125	93	71
9	150	85	91	60
10	131	99	58	40
Promedio	119.2	94.6	66.3	51.5
Desviación estándar	23.37	16.1	18.3	11.1

Para establecer si hay una diferencia significativa entre las UFP promedio de cada línea celular se realizó una prueba de hipótesis basándose en la distribución de F (ANOVA).

Ho: UFP de BGMK = UFP de RD = UFP de HEP 2C = UFP de VERO.

H<sub>1</sub>: UFP de BGMK  $\neq$  UFP de RD  $\neq$  UFP de HEP 2C  $\neq$  UFP de VERO

Regla de decisión: Rechazar Ho si  $F_{\text{experimental}} \geq F_{\text{de tablas}}$ .

Como el valor de  $F_{227} = 3.35$  y  $F_{\text{experimental}} = 16.1085$ , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna, es decir, si hay diferencias significativas en la sensibilidad de las líneas celulares a poliovirus III.

## 3. VALIDACIÓN DE LAS MATRICES ELECTROPOSITIVAS.

Se utilizó la dilución de poliovirus  $10^{-5}$  en las células BGMK. Como se indicó en la metodología, se inocularon con esta dilución muestras testigo con agua destilada estéril y se realizaron 10 experimentos. En la Tabla 13 se muestran los resultados de los 10 bioensayos en los que se sembró directamente un mililitro de la dilución  $10^{-5}$  de poliovirus III en botellas de cultivo celular de 25 cm<sup>2</sup> de superficie. Se indica el número de UFP/ml promedio de tres botellas para cada bioensayo. En la Tabla número 14 se muestra el número de unidades formadoras de placa que

resultaron de las diez muestras control de agua inoculadas con la dilución de poliovirus  $10^{-5}$  y que se recuperaron con cartuchos electropositivos.

**Tabla 13. Unidades formadoras de placa promedio para diez bioensayos con polio III, incubado en células BGMK (se muestran los límites inferior (Li) y superior (Ls) de confianza al 95 %).**

Número de experimento	Li	X	Ls
1	7.51	14.1	23.36
2	16.76	26.0	37.84
3	13.76	26.0	37.84
4	15.95	25.0	36.65
5	11.37	19.2	29.66
6	11.99	20.0	30.63
7	15.39	24.3	35.82
8	11.99	20.0	30.63
9	15.07	23.9	35.34
10	16.52	25.7	37.49
Promedio		22.42	
D.S		3.74	

**Tabla 14. Unidades formadoras de placa promedio de polio III de muestras control de agua inoculadas en BGMK y procesadas por matriz electropositiva. Se muestran los límites de confianza superior e inferior al 95%.**

Número de experimento	Li	Promedio	Ls
1	9.00	16.10	25.85
2	10.78	18.30	28.56
3	10.45	18.00	28.19
4	11.37	19.20	29.66
5	9.91	17.30	27.33
6	8.18	15.00	24.48
7	8.85	15.90	25.60
8	9.91	17.30	27.33
9	9.61	16.90	26.84
10	11.22	19.00	29.42
Promedio		17.30	
D.S		1.29	

Un aspecto importante para determinar los límites de detección de los materiales adsorbentes es medir con un alto grado de confianza. Para cada bioensayo de la muestra enriquecida con poliovirus se determinan sus límites de confianza al 95% de la media de UFP según las siguientes ecuaciones:

$$Li = 1/4 (\sqrt{4x-1} - 1.96)^2$$

$$Ls = 1/4 (\sqrt{4x+3} + 1.96)^2$$

En las tablas 13, 14 y 15 se expresan los límites inferior y superior a un 95%, lo que significa que se tiene una probabilidad del 95% de que la muestra o el inóculo contengan el número de partículas virales comprendido entre los límites de confianza asignados.

#### 4. VALIDACION DE MATRICES ELECTRONEGATIVAS.

Se utilizó la misma dilución de poliovirus III ( $10^{-5}$ ) en las células BGMK, inoculando en agua destilada procesada en membrana de nitrato de celulosa (Millipore). En la tabla 15 se muestran los resultados de 10 bioensayos.

Tabla 15. Unidades formadoras de placa promedio de polio III de muestras control de agua procesadas por matriz electronegativa e inoculadas en BGMK (se indican los límites superior e inferior de confianza al 95%).

Número de experimento	Li	Promedio	Ls
1	12.50	20.2	30.88
2	9.46	16.7	26.50
3	9.84	17.2	27.20
4	9.15	16.3	26.10
5	9.15	16.3	26.10
6	10.80	18.5	27.80
7	9.91	17.3	27.30
8	8.80	15.9	25.60
9	9.50	16.8	26.70
10	11.40	19.3	29.70
Promedio		17.8	
D.S.		1.5	

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**5. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS GENERADOS AL COMPARAR LA EFICIENCIA DE RECUPERACION DE POLIOVIRUS III ENTRE LOS METODOS DE MATRICES ELECTROPOSITIVAS Y ELECTRONEGATIVAS.**

La prueba de hipótesis fue la siguiente:

$$H_0: X_1 = X_2$$

$$H_1: X_1 \neq X_2$$

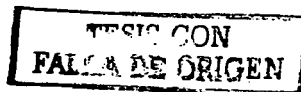
Donde  $X_1$  es el número de unidades formadoras de placa promedio resultantes de la concentración por cartucho electropositivo y  $X_2$  es el promedio de las UFP cuando se usó el método de membrana electronegativa.

La regla de decisión es: rechazar  $H_0$  si el valor de  $t_{\text{experimental}}$  es mayor al valor de  $t_{\text{de tablas}}$  con 18 grados de libertad.

Al aplicar la  $t$  de Student para comparar el número promedio de UFP con ambos métodos se obtuvo un valor de  $t_{\text{experimental}} = 0.9226$ , y dado que  $t_{\text{de tablas}}$  con  $P = 0.05 = 1.73$ , se aceptó la hipótesis  $H_0$  de que no hay diferencia significativa entre los dos métodos y por lo tanto cualquiera de las dos técnicas es útil para la recuperación de virus en muestras de agua.

**6. RESULTADOS DEL ANÁLISIS VIROLÓGICO DE LAS DIFERENTES PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL DEL DISTRITO FEDERAL.**

Las graficas 1-13 muestran las unidades formadoras de placa promedio y los serotipos obtenidos por mes en cada una de las plantas de tratamiento de agua residual del Distrito Federal. Se indican los resultados de los influentes ya que los efluentes resultaron negativos en su totalidad, es decir, no se detectaron UFP (valor de cero).



## DISCUSION

### 1. SENSIBILIDAD DE LAS LINEAS CELULARES.

Los resultados obtenidos de la evaluación de la sensibilidad de las líneas celulares a un virus conocido (en este caso el polio III de origen vacunal) muestran que con la línea BGMK se recupera un mayor número promedio de unidades formadoras de placa (119.2 con una D.S. de 23.37), comparada con las líneas VERO, RD y Hep-2c que presentaron 94.6, 66.3 y 51.5 UFP/L con D.S de 16.1, 18.3 y 11.1 respectivamente.

El análisis estadístico realizado indica que existe una diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95 % en esta respuesta, por lo que se concluye que la línea BGMK es la más sensible y adecuada para el aislamiento de enterovirus y para las pruebas de implementación a partir de muestras de agua residual, utilizando matrices electropositivas y electronegativas. Estos resultados están de acuerdo con los resultados de Bryden (1992) quien comparó la capacidad de cinco líneas (BGMK, LIC-MK2, MA-102, VERO y BSC) para aislar enterovirus y adenovirus de heces y encontró que la BGMK fue la más sensible con un 73% de detección en 88 cepas virales aisladas; resultados similares obtuvo Rolland *et al.* (1982) para el análisis de enterovirus en plantas potabilizadoras de Francia. Es importante hacer una evaluación de las líneas más sensibles, por ejemplo, Payment y Trudel (1987) al usar el ensayo de la inmunoperoxidasa para la cuantificación de virus entéricos, encontraron que la línea MA-104 (de riñón de mono verde) es la más eficiente, por lo tanto, aunque existen reportes previos que recomiendan la línea BGMK, otros estudios sugieren la utilidad de otras líneas combinadas con alguna otra herramienta como el uso de anticuerpos. También es relevante contar con células cuya fuente de origen sea un laboratorio de reconocida calidad, en este caso las líneas fueron aportadas por el Laboratorio de Higiene y de Investigación de Salud Pública de la Facultad de Medicina y de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Biológicas de la Universidad de Nancy, Francia.

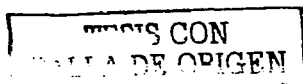
### 2 VALIDACION DE LAS MATRICES ADSORBENTES

Los ensayos de validación de las matrices electropositivas y negativas señalan que para las primeras existe un porcentaje de recuperación promedio para el poliovirus III del 77.16% y para las segundas del 79.39%. La ausencia de una metodología que brinde un valor del 100% o cercano, es uno de los factores que favorece que existan varias técnicas propuestas para el análisis de virus en agua: adsorción y elución con filtros microporosos, precipitación con hidróxido de aluminio, diálisis con polietilenglicol, etc y dado que en este trabajo se requiere contar con material adsorbente que permita un manejo rápido y óptimo de las muestras, se considera que las matrices electropositivas son adecuadas ya que el porcentaje de recuperación logrado ha sido uno de los más altos que se han podido obtener, además de que si bien se encuentra que hay una leve variabilidad en los 10 experimentos realizados en cuanto al número de UFP promedio, esta variabilidad se debe sobre todo a la distribución poissoniana que siguen los virus en el ambiente acuático, como lo demuestra el hecho de que los

limites de confianza asignados a cada experimento son cercanos entre si, así como una desviación estandar pequeña (1.29) Abbaszadegan *et al.* (1993) y Kopecka *et al.* (1993) han obtenido porcentajes de recuperación cercanos al 80% utilizando este tipo de matrices. Las matrices negativas tienen un porcentaje de recuperación levemente mayor (79.39%), pero cuando se compara la eficiencia de recuperación y se determina la significancia entre ambos métodos, se encuentra que no hay diferencias significativas (t experimental = 0.9226, 95% de confianza). Cabe hacer la aclaración de que esto ocurre bajo condiciones controladas, ya que si bien los cartuchos positivos tienen la ventaja de no requerir de un acondicionamiento previo químico del agua (modificación del pH a 3.5 en presencia de sales di o trivalentes), tienen en cambio la desventaja de que pueden saturarse fácilmente por la materia orgánica en suspensión y pueden perder su poder de adsorción rápidamente (Payment y Armon, 1989) Otra propiedad de los cartuchos electropositivos es que no requieren de un gran esfuerzo físico para su manipulación, lo que los hace apropiados para la concentración de muestras *in situ*, comparados con los negativos.

### 3. CUANTIFICACION DE LOS ENTEROVIRUS.

La mayoría de los influentes analizados de las plantas de tratamiento resultaron positivos y los que no, presentaron toxicidad la cual se detectó como muerte celular generalizada. Para evitar esta situación las muestras se analizaron de nuevo con las diluciones 1:5 y 1:10. Los efluentes por otra parte no arrojaron resultados positivos, incluso en los ensayos de verificación y toxicidad celular. Es en julio y agosto que se detecta un mayor número de partículas virales (en estos meses se realiza la campaña de vacunación antipoliomielitica, lo que contribuye al incremento en el número de virus) en las plantas de tratamiento, otro pico notable es en los meses de marzo y abril. Esto se debe a que en la época de lluvias se aumenta la descarga de los influentes y se trabaja un mayor volumen de agua, mientras que en marzo y abril es cuando se presenta un incremento en las enfermedades gastrointestinales por ser una época de mayor calor. La planta de tratamiento que recibe un mayor número de virus entericos es la de San Luis (223 UFP/L) en julio y la que recibe menos es la de Colegio Militar (0.34 UFP/L) en octubre. Se pudo observar también que a partir de septiembre hay una disminución en el número de enterovirus y que en noviembre y diciembre se inicia el incremento, el cual se mantiene hasta abril o marzo, esto es causado por el hecho de que la generalidad de los virus toleran mejor las temperaturas frías en el medio hídrico, estos resultados son congruentes con los obtenidos por Tani *et al.*, (1992) quien al analizar los niveles de enterovirus de enero de 1988 a diciembre de 1989 en Japón, logro aislar virus en mayor concentración de enero a abril (invierno) y de junio a agosto (verano), la misma situación encontraron Rolland y colaboradores (1982) en Francia, quienes observaron una mayor cantidad de virus en junio en aguas residuales brutas. Por otra parte, todos los efluentes carecían de virus, y su ausencia se puede explicar porque en el proceso final de desinfección se utiliza una concentración de cloro (en forma de hipoclorito de sodio) de 0.1 a 0.5 mg/L, que es suficiente para eliminar al 99.99 % de los virus (Toranzo *et al.*, 1986). La desinfección con cloro ha sido discutida dado que desde 1974 se ha hecho evidente que el cloro puede interactuar con compuestos presentes en el agua residual cruda, tales como ácidos húmicos, fulvicos y bromo, produciendo trihalometanos que afectan



al organismo humano, de preferencia al sistema nervioso, al hígado y a los riñones. En abril de 1995, la American Water Works Association aprobó un documento en el que establece su posición sobre el cloro y su papel en la desinfección del agua, determinando que el cloro es efectivo contra un amplio espectro de patógenos y que la reducción o eliminación del cloro como desinfectante del agua de bebida o una prohibición general del uso del mismo para cualquier propósito, pondría en peligro la capacidad de muchas plantas de tratamiento de agua para proveer consistentemente agua con una alta protección microbiana (AWWA, 1995; Corey, 1995)

#### 4. SEROTIPIFICACIÓN.

En este estudio se detectaron los siguientes serotipos enterovirales: P1, E2, E18, E20, E29, CA7, CB4 y virus que produjeron efecto citopático, pero que no respondieron a la neutralización con las baterías de Lym-Benyesh-Melnick y que en este trabajo se denominaron ND (no determinados).

**Poliovirus.** El serotipo P1 fue encontrado en todos los influentes de las trece plantas analizadas y se sugiere que este virus corresponde al polio vacunal utilizado en las campañas de vacunación ya que se pudo aislar durante los meses en que se lleva a cabo la inmunización de la población infantil. Este comportamiento también se ha observado en estudios realizados en E.U.A., Canadá, Israel y el Reino Unido (Botero, 1992; Gerba, 1984; Marzouk *et al.*, 1980; Sekla *et al.*, 1980; Slade, 1984)

**Ecovirus.** Los ecovirus están asociados a enfermedades diarreicas y a infecciones respiratorias (Payment y Armon, 1989) y constituyen cerca de 34 serotipos (número aun no concluyente)

**E2** -fue posible aislarlo de las siguientes plantas de tratamiento: Acueducto de Guadalupe, Bosque de las Lomas, Chapultepec, Cerro de la Estrella, El Rosario, Reclusorio sur y Tlatelolco (ver mapa). En Acueducto de Guadalupe y en Cerro de la Estrella se le puede encontrar en todos los meses; en El Rosario solamente esta ausente en el mes de julio, en Reclusorio Sur, por el contrario, es el único mes en que se encuentra, en tanto que en Bosques de las Lomas y en Tlatelolco no se detectó en los meses de invierno, en Chapultepec, no se le encontró en febrero ni en marzo ni en abril.

**E18** - este serotipo se encontró en un mayor número de influentes: Acueducto de Guadalupe, Cerro de la Estrella, Ciudad Deportiva, Coyoacán, El Rosario, Iztacalco, Reclusorio Sur y San Juan de Aragón (ver mapa). En Acueducto de Guadalupe y en El Rosario se detectó en julio, agosto, septiembre y octubre (meses de lluvias), pero en Ciudad Deportiva, Iztacalco, Cerro de la Estrella y Coyoacán se le pudo monitorear durante todo el año, en Reclusorio Sur solo se aisló en marzo y julio; en tanto que en San Juan de Aragón no se presenta en noviembre, diciembre, febrero y junio

**E20** - puede ser aislado a partir de muestras provenientes de Cerro de la Estrella, Ciudad Deportiva, Iztacalco, Reclusorio Sur y San Juan de Aragón (ver mapa), en la primera se le detectó todo el año (excepto de abril a junio), en Iztacalco durante todo el año; en Cerro de la Estrella se le encontró en todos los meses, menos los de invierno, en Reclusorio Sur únicamente pudo ser aislado en



febrero; y en San Juan de Aragón se le encontró de octubre a junio (menos en mayo).

**E29** -se detectó en: El Rosario (noviembre); en Ciudad Deportiva (todos los meses, menos en julio, octubre y noviembre); en Iztacalco (una distribución similar que en Ciudad Deportiva); Cerro de la Estrella (no se le encuentra de septiembre a marzo); en Reclusorio Sur (no se detectó de octubre a diciembre, ni en junio); y en San Luis Tlaxiátemanco (en todo el año)

Es importante mencionar que en otros países han sido aislados estos serotipos más el E7, que ha sido encontrado de manera muy frecuente, aunque en este estudio no se le neutralizó (Marzouk *et al.*, 1980 ; Taylor, 1982).

**Coxsackievirus**.- Producen enfermedades como meningitis aséptica, parálisis e infecciones cardíacas.

**CA7** - únicamente se le pudo aislar en el mes de septiembre en el influente de la planta de tratamiento Iztacalco.

**CB4** - como en el caso del anterior serotipo su presencia fue muy limitada y solamente se le encontró en el mes de agosto en Iztacalco; en Cerro de la Estrella en agosto, mayo y junio; y en El Rosario en septiembre.

Es interesante mencionar que en otros países (Canadá, E.U.A) se ha reportado la presencia de los serotipos CB3 y CB5 (además de los detectados en este trabajo) en los efluentes de las plantas de tratamiento, pero en estos casos se han utilizado concentraciones de cloro de 0.02 mg/l, lo cual no se considera suficiente para su eliminación (Hejkal *et al.*, 1982; Payment *et al.*, 1985; Powelson *et al.*, 1993).

**Serotipos no determinados (ND)**.- Estos corresponden a serotipos de enterovirus que no han podido ser indentificados debido a que las baterías utilizadas no tienen antisueros hacia ellos y corresponden a los serotipos 68 a 72, se les detecto en las siguientes plantas de tratamiento: El Rosario (junio); Bosques de las Lomas (noviembre a marzo), en Chapultepec (de diciembre a junio), en Colegio Militar (de octubre a abril y en mayo); en San Luis Tlaxiátemanco (septiembre, noviembre a junio) y en Tlatelolco (de diciembre a junio) Aulicino *et al.*,(1991) reportó con ensayos de sondas de cADN la presencia de virus genéticamente distantes de los serotipos de polio, eco y coxsackie en muestras de agua. Se debe mencionar que estos virus ND son enterovirus ya que la línea celular empleada es específica hacia ellos, y no puede tratarse de otros tipos virales (rota, adeno, retro, hepatovirus) dado que, por ejemplo el virus de la hepatitis es difícil de cultivar *in vitro* y se requieren de líneas celulares diferentes.

## 5.-ESTACIONALIDAD.

E2.- Este serotipo puede ser encontrado en todos los meses y estaciones del año, excepto para los influentes de El Rosario en verano y en Bosques de las Lomas y Tlatelolco en invierno.

E18 - Como el anterior serotipo, se localiza durante las cuatro estaciones del año, excepto para Acueducto de Guadalupe y El Rosario, donde sólo se detectó en verano.

E20.-Su presencia abarca las cuatro estaciones del año para Iztapalapa y para San Juan de Aragón; en Cerro de la Estrella no se le detectó en invierno; en Ciudad Deportiva no se halla en primavera y en Reclusorio Sur se presentó solo en invierno.

E29.- Como en el caso de los anteriores serotipos, su presencia abarca las cuatro estaciones, pero en El Rosario se aisló solamente en otoño, y en Cerro de la Estrella no se le detectó en esta misma estación

Esta tendencia de los ecovirus se ha reportado por autores como Botero *et al.*, (1992)

CB4.- Se pudo detectar en muestras de agua residual de primavera y verano (Iztacalco, Cerro de la Estrella y El Rosario).

CA7 - únicamente se encuentra en verano (Iztacalco).

## 6 -DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Las plantas de tratamiento de Cerro de la Estrella, Ciudad Deportiva e Iztacalco se caracterizan por que en sus influentes es posible hallar la mayor diversidad de enterovirus (P1, E2, E18, E20, E29, CB4, CA7) y es notable que estas plantas se localizan en el oriente del Distrito Federal.

La zona Norte del Distrito Federal que incluye las plantas de Acueducto de Guadalupe, Bosques de las Lomas, El Rosario, San Juan de Aragón y Tlatelolco presenta una diversidad menor de serotipos enterovirales (P1, E2, E18, E29 y CB4), pero hay en cambio la presencia de serotipos no identificados o ND.

Las zonas Centro y Sur (Colegio Militar, Coyoacán, Reclusorio Sur y San Luis Tlaxiátemanco) presentan los serotipos P1, E2, E18, E29, E20 y ND (no se detectaron serotipos de coxsackievirus).

## 7 ENTEROVIRUS NO IDENTIFICADOS (ND)

Es interesante el hecho de que se hayan aislado enterovirus que no corresponden a los polio, eco y coxsackievirus, ya que se han reportado enfermedades a nivel de epidemia provocadas por agentes de este tipo en los Estados Unidos (Rotbart, 1991), y junto con los virus no polio se ha estimado que causan de cinco a diez millones de infecciones sintomáticas anuales. Las baterías utilizadas para la neutralización solo incluyen serotipos hasta el número 67, siendo que actualmente existen ya tipificados a partir de muestras clínicas hasta 72

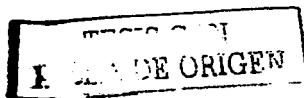
serotipos, por lo que probablemente estos serotipos correspondan a los últimos números 68 a 72 (Shieh *et al.*, 1995).

#### 8 -COMPARACION ENTRE ENTEROVIRUS Y OTROS VIRUS ENTERICOS.

Los enterovirus tienen un comportamiento estacional y esto puede ser observado en otros grupos virales como los rotavirus (agentes causantes del 49% de gastroenteritis en niños menores de dos años en México) los cuales infectan principalmente en los meses de frios (Dako, 1999; Garcia *et al.*, 1996), sin embargo, existen otros virus involucrados en la ruta oral-fecal que pueden producir infecciones de manera ya sea epidémica o esporádica sin que haya una preferencia estacional como en el caso de los virus de la hepatitis A (U.S. Food and Drug Administration, 1995; Graff *et al.*, 1993).

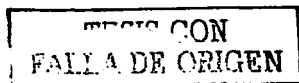
## CONCLUSIONES

- 1.- La línea celular que resultó ser más sensible a virus ambientales (agua) fue la BGMK (para enterovirus representados por el polio III).
- 2.- Las matrices electropositivas resultaron ser las adecuadas para la concentración de virus a partir de muestras de agua residual.
- 3.- Los efluentes de la totalidad de las plantas de tratamiento resultaron negativos para enterovirus debido principalmente a la cloración que se realiza.
- 4.- Prácticamente los influentes resultaron positivos o tóxicos.
- 5.- En la mayoría de las plantas de tratamiento la contaminación enteroviral presenta dos picos que corresponden a los meses de julio-agosto y marzo-abril, excepto para Colegio Militar y Tlatelolco, cuyo máximo es en abril.
- 6.- La planta cuyo influente recibe un mayor número de partículas virales es la de San Luis Tlaxiátemanco (223.0 UFP/L en julio), ubicada en la delegación Xochimilco. Esto se debe a que las descargas provienen no solamente de las poblaciones de esta delegación, sino que también recibe el agua residual de Tlahuac, parte de Tlalpan y de Milpa Alta, así como de hospitales generales; a diferencia de la zona Norte y Oriente de la ciudad con poblaciones mayores, pero con una cantidad también mayor de plantas de tratamiento.
- 7.- El serotipo ecovirus 2 (E2) fue localizado principalmente en la zona norte del Distrito Federal (en Gustavo A Madero, Azcapotzalco, Miguel Hidalgo y Cuahutemoc) En el Oriente solo se le encontró en Iztapalapa. En el Sur en Xochimilco.
- 8.- Ecovirus 18 (E18) se distribuye más ampliamente en el Norte (Gustavo A. Madero), Oriente (Iztacalco e Iztapalapa), Centro (Coyoacán) y Sur (Xochimilco).
- 9.- Ecovirus 20 (E20) se encuentra sobre todo en el Oriente (Iztacalco e Iztapalapa) y en el Sur de Gustavo A. Madero, además de Xochimilco.
- 10.- Ecovirus 29 (E29) sigue la misma distribución que E18 (Gustavo A. Madero, Iztacalco, Iztapalapa y Xochimilco).
- 11.- Cossackievirus A7 (CA7) solamente se detectó en Iztacalco.
- 12.- Cossackievirus B4 (CB4) fue hallado en Iztacalco y en Iztapalapa.
- 13.- Se detectaron virus entéricos no determinados (ND) en el Norte (Gustavo A. Madero, Azcapotzalco, Miguel Hidalgo, Cuahutemoc) y en el Sur (Tlalpan y Xochimilco).
- 14.- Existe una variación estacional en la presencia de serotipos y en su cantidad en cada planta de tratamiento, así, los ecovirus son encontrados en todos los meses y estaciones del año; en tanto que los cossackievirus únicamente en primavera y en verano, los poliovirus se aíslan en las temporadas de vacunación oral.



## REFERENCIAS

- Abbaszadegan, M., Huber, M., Gerba, C. and I. Pepper. Detection of enteroviruses in ground water with the polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1318, 1993.
- American Public Health Association. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 18 ed. A.P.H.A. Washington, D.C. 1100, 1995.
- American Waters Works Association. (AWWA). Mainstream. 7, 1995.
- Association Française de Normalization. Traitement biologique des eaux usées. Guide de bonnes pratiques en station d'épuration. Norme NFX 42-300. 15, 1990.
- Aulicino, F., Patti, A., Muscillo, M., Gabrieli, R., de Filippis, P., Orsini, P., Merloni, R. and L. Volterra. Viruses in marine waters. *Igiene Moderna.*, 96, 592, 1991.
- Barron, A., Olshevsky, C. and M. Cohen. Characteristics of the BGM line of cells from African Green Monkey kidney. *Archiv für die gesampfte virus forschung* . 32, 389, 1970.
- Berg, G., Bodil, H., Lennette, E., Melnick, J. and T. Metcalf. Viruses in water. A Public Health Association, 1976.
- Biowhitaeker. Catalog. Cell Cultures 248pp. 2000
- Block, J. et Schwartzbrod, L. L'analyse virologique des eaux. Lavoisier Tech. et Doc Paris. 170. 1982.
- Block, J., Collin, J., Joret, J., Rolland, D. et J. Foliguet. Elimination des enterovirus au cours du traitement par boues activées des eaux usées urbaines. *Tech. Sci. Munic* 74, 204, 1979.
- Boisdon, V. Efficacité de la désinfection par les procédés d'oxydation chimique et le rayonnement ultra-violet. TSM-L'eau, 3 228-236, 1995
- Botero, I., Montiel, M. and L. Porto. Recovery of enteroviruses from water and sediments of lake Maracaibo. *Journal of Environmental Science and Health*. 27, 2226, 1992.
- Brown, F. Virus Taxonomy in: Virology LabFax, editado por M. Butler y M. Dawson Bioscientific Publishers. London. 345. 1993.
- Bryden, A. Isolation of enterovirus in continuous simian cell lines. *Medical Laboratory Sciences*. 49, 1: 60, 1993.
- Buras, N. Recovery of viruses from wastewaters and effluent by the direct inoculation method. *Water Res* 8, 22, 1974.
- Butler, M. Cell lines in: Cell Cultures LabFax, editado por M. Butler y M. Dawson Bioscientific Publishers. London. 247. 1992.
- Clarke, N. Removal of enteric viruses from sewage by inactivated sludge treatment. *American J. Publ. Health*. 51, 1120, 1961.



- Corey, G. La investigación epidemiológica de efectos adversos asociados a subproductos de la cloración en agua potable. Memoria del Seminario Sobre Desinfección del Agua. 1995.
- Crites, R. and Tchobanogus, G. Sistema de manejo de aguas residuales para núcleos pequeños y descentralizados. Mc Graw Hill, México. 343 pp. 2000.
- CUNO. Industrial Filter Catalogue. 20. 1990.
- Dako. An immunoassay for the detection of rotavirus in human faecal specimens. DakoDiagnostics LTD. Cambridge, Reino Unido. 1993.
- Dhaling, D., Berg, G. and D. Berna. A continuous line more sensitive than primary *Rhesus* and African green monkey kidney for the recovery of viruses from water. *Health Laboratory Sciences*. 11, 275, 1974.
- Diseño Ingeniería y Planeación S A. Plan Maestro de Tratamiento y Reuso. DDF. 184, 1990.
- Duval, B., Boucher, F. et R. Dion. Contrôle de l'hépatite A par l'immunisation au Québec: rapport final du groupe de travail. Québec: Ministère de la Santé et des services Sociaux du Québec. 1997.
- Environmental Protection Agency (EPA). National Primary Drinking Water Standards. EPA 810-F-94-001. 1994.
- Freshney, R. Culture of animal cells. A Manual of basic technique. Wiley-Liss. New York. 397 pp. 2a. Edición. 1987.
- Fujioka, R. and P. Loh. Recycling of water for irrigations persistence of enterovirus in sewage effluent and natural waters receiving the effluent. *Water Air Soil Pollution*. 9, 226, 1978.
- Gantzer, C., Senouci, A., Maul, Y. Lévi y L. Schwartzbrod. Enterovirus detection from wastewater by RT-PCR and cell culture. *Wat. Sci. Tech.* 40 2, 105-109. 1999.
- García, H., Ramírez, E., Melo, M., Mayén, E., Rodríguez A. y A. Velasco. Manual de procedimientos de Laboratorio del INDRE: 2. Rotavirus. Secretaría de Salud. 35, 1996.
- Gerba, C. Strategies for the control of viruses in drinking water. *Environmental Science and Engineering Fellow Reports To AAAS EPA*. 1984.
- Graff, J., Ticehurst J. and B. Flehming. Detection of hepatitis A virus in sewage sludge by antigen capture polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology* 3165. 1993.
- Hanks, J. Hank's balanced salt solution and pH control. Tissue Culture Association Manual 3, 3, 1976.
- He, Y., Mueller, P., Chipman, C., Bator, X., Peng, V., Bowman, S., Mukhopadhyay, E., Wimmer, R., Kuhn and M. Rossmann. Complexes of poliovirus serotypes with their common cellular receptor. CD155. *J. of Virology*. 77: 8, 4827-4835. 2003.

- Hejkal, T., Labelle, R., Keswick, B., Gerba, C., Hafkin, B. and Y. Sanchez. Viruses in a small community water supply associated with a gastroenteritis epidemic. *J. Am. Water Works Assoc.* 74, 318, 1982
- Hughes, M., Coyle, P. and J. Connolly. Enteroviruses in recreational waters of Northern Ireland. *Epidemiology and Infection*. 108, 536, 1992.
- Hugues, B. Nouvelle utilisation du nombre le plus probable en virologie. Application à la mise en évidence et à la quantification des virus dans le milieu hydrique. Tesis doctoral. Université de Metz, Francia. 1981.
- Jean, J. Blais, B., Darveau, A. and I. Fliss. Simultaneous detection and identification of hepatitis A virus and rotavirus by multiplex nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) and microtiter plate hybridization system. *J. of Virological Methods* 105, 123-132 2002.
- Journal Officiel (J.O.). Arrêté 8 janvier 1998 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles, 245,6605-6612. 1998
- Journal Officiel (J.O.) Décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées. 17822-17825, 1997.
- Keswick, B., Gerba, C., Rose, J. and G. Toranzos. Detection of rotavirus in treated drinking water. *Water Sci. Technol.* 17, 1, 1985 Kopecka, H., Dobrou, S., Prevot, J., Marechal, J. and J. López-Pilla. Detection of naturally occurring enteroviruses in waters by reverse transcription, polymerase chain reaction and hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1213, 1993
- Labarca, C. and K. Paigen. *Anal. Biochem.* 102, 344, 1980 in : Cell Culture LabFax, editado por M. Butler y M. Dawson. BiosScientific Publisher. London 247 1992.
- L'Yons, A. and R. Petracelli. *Medicine: a illustrated history.* Harry M. Abrams, Publisher New York. 1978.
- Marzouk, Y., Goyal, S. and C. Gerba. Relationship of viruses and indicator bacteria in water and wastewater of Israel. *Water Res.* 14, 1585, 1980.
- Melnick, J., Rennick, V., Hampil, B., Schmidt, M. and H. Ho. Lyophilized combination pools of enterovirus equine antisera: preparation and test procedures for the identification of field strains of 42 enteroviruses. *Bull. Org. Mond. de la Santé.* 48, 263, 1973.
- Mignotte, B., A. Maul and L. Schwartzbrod. Comparative study of techniques used to recover viruses from residual urban sludge. *J. Vir. Meth.* 78, 71-80 1999.
- Muscillo, M. and F. Aulicino. Viruses in marine waters. *Igiene Moderna.* 96, 583, 1994.
- Payment, P. and M. Trudel. Detection and quantitation of human enteric viruses in wastewaters: increase sensitivity using a human immune serum globulin-immunoperoxidase assay on MA-104 cells. *Canadian Journal of Microbiology.* 33, 570, 1987.

- Payment, P. and R. Armon. Virus removal by drinking water treatment processes *Critical reviews in environmental control*, 19, 15, 1989.
- Payment, P., Trudel, M. and R. Plante. Elimination of viruses and indicator bacteria at each step of treatment during preparation of drinking water at seven water treatment plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 1418, 1985.
- Powelson, D., Gerba, C. and M. Yahia. Virus transport and removal in wastewater during aquifer recharge. *Water Res.* 27, 4, 1993.
- Pringle, C. Vieux Taxonomy. *Arch. Virol* 143:7, 1149-1459, 1988.
- Rolland, D., Joret, D. Mary, S. et L. Schwartzbrod. Strategie en prelevements pour l'analyse virologique des eaux usees. *Journal Francaise d'Hydrologie*. 13, 93, 1982
- Rotbart, M. PCR- Enterovirus nucleic detection systems for enterovirus. *Clinical Microbiological Reviews*. 156, 1991.
- Schwartzbrod, J. et Schwartzbrod L. Les agents biologiques d'interet sanitaire des boues d'epuration urbaines Ademe, Paris 1999.
- Schwartzbrod, L. Virologie des milieux hydriques Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 1991.
- Schwartzbrod, L., Lucena, F. et Finance C. Etude quantitative de la pollution virale dans l'affluent et l'effluent d'une station d'epuration d'eaux residuaires. *J. Fr. Hydrol.* 10, 20, 1979.
- Sekla, L., Stackiw, W., Kay, C. and L. van Buckenhout. Enteric viruses in renovated water in Manitoba. *Can. J. Microbiol.* 26, 518, 1980.
- Shieh, Y., Wait, D., Tai, L. and M. Sobsey. Methods to remove inhibitors in sewage and other fecal wastes for enterovirus detection by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*. 54, 51, 1995.
- Slade, J.S. Viruses and bacteria in a chalk well. *Water Sci. Technol.* 17, 111, 1984
- Sobsey, M. and J. Glass. Poliovirus concentration from tap water electropositive adsorbent filters. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 201, 1980.
- Steteler, R., Waltrip, S. and C. Hurst. Virus removal and recovery in the drinking water treatment train. *Water Research*. 26, 727, 1992.
- Strikas, R., Anderson, L. and R. Parker. Temporal and geographic patterns of isolates of nonpolio enterovirus in the United States, 1970-1983. *J. Infect. Dis.* 153, 351, 1986
- Taggart, E., Carroll, K., Byington, C., Crist, G. and D. Hillkyard. 2002. Use of heat labile UNG in an RT-PCR assay for enterovirus detection. *J. Vir. Meth* 105, 57-65
- Tani, S., Shimamoto, K., Ichimura, K., Nishi, Y., Tomota, S. and Y. Oda. Enteric virus level in river waters. *Water Research*. 26, 48, 1992.



- Taylor, J. Viruses in fresh and saline waters. in: *Viruses and disinfection of water and wastewater*. Butler, M. Medlen, A.R. and Morris, R. Eds. University of Surrey Print Unit Surrey United Kingdom. 1982.
- Titenko, A., Novozhilov, S., Andaev, E., Borisova, T. and E. Kulikova. Ebola virus reproduction in cell cultures *Voprosy Virusologii*, 37, 113, 1992.
- Toranzos, G., Gerba, C., Zapata, M. et Cardona F. Présence de virus entériques dans des eaux de consommation a Cochabamba (Bolivie). *Rev. Int. Sci. L'Eau*, 2, 91, 1986
- Tsai, Y., Mark, D., Sobsey, M., Sangermano, L. and C. Palmer. Simple method of concentrating enteroviruses and hepatitis A. Virus from sewage and ocean water for rapid detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Appl. and Environ.* 3488, 1993.
- U.S Food and Drug Administration. Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins, Hypertext Last Edited. 19 April 1995. Mow a. vm.cfsan.fda.gov.1995

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ANEXOS

### GLOSARIO

**Aneuploide.** Situación que se presenta cuando el núcleo de la célula no contiene un múltiplo exacto del número haploide de cromosomas, estando uno o más cromosomas representados más o menos veces que los demás. Los cromosomas pueden o no estar acomodados.,

**Confluencia.** Condición que se presenta cuando el cultivo celular alcanza su máxima densidad y las células se encuentran en contacto unas con otras y distribuidas homogéneamente por toda la superficie de crecimiento.

**Criopreservación** Almacenamiento a ultra-baja temperatura de células, tejidos, embriones o semillas. Este almacenamiento generalmente se lleva acabo empleando temperaturas por debajo de los  $-100^{\circ}\text{C}$ .

**Cultivo celular.** Este termino se emplea para denotar el crecimiento de células in vitro, incluyendo el crecimiento de células solas. En los cultivos celulares, las células no se organizan mas en tejidos

**Cultivo primario** Cultivo comenzado a partir de células, tejidos u órganos tomados directamente del organismo. Un cultivo primario se considera como tal hasta que se subcultiva por primera vez. Entonces se convierte en línea celular

**Densidad poblacional.** El número de células por unidad de área o volumen en una botella de cultivo

**Línea Celular** La que se origina a partir de un cultivo primario

**Mutante.** Una variante fenotípica resultante de un gen cambiado o nuevo

**Número de Pasaje** El número de veces que un cultivo ha sido subcultivado

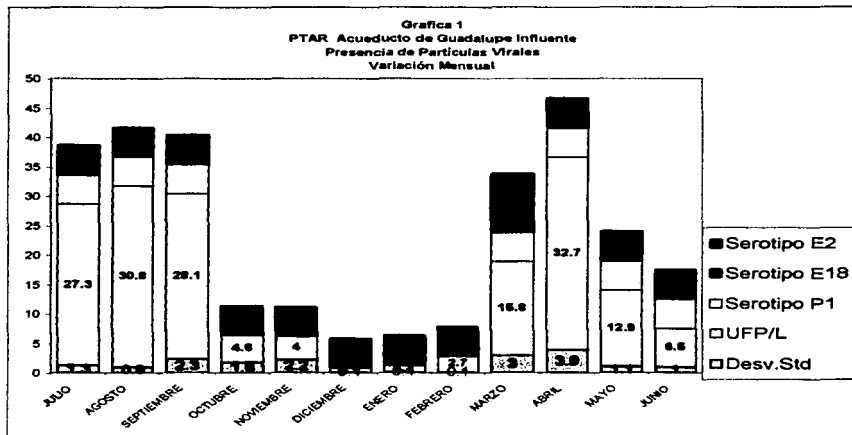
**Pasaje.** La transferencia o transplante de células de una botella de cultivo celular a otra. Este termino es sinónimo de "subcultivo"

**Subcultivo** Ver pasaje

**Técnicas asépticas** Procedimientos empleados para prevenir la introducción de hongos, bacterias, virus, micoplasmas u otros organismos dentro de cultivos celulares, de tejidos u órganos. Aunque estos procedimientos se emplean para prevenir contaminación microbiana, también previenen la contaminación cruzada entre cultivos celulares. Estos procedimientos pueden o no excluir la introducción de partículas infecciosas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

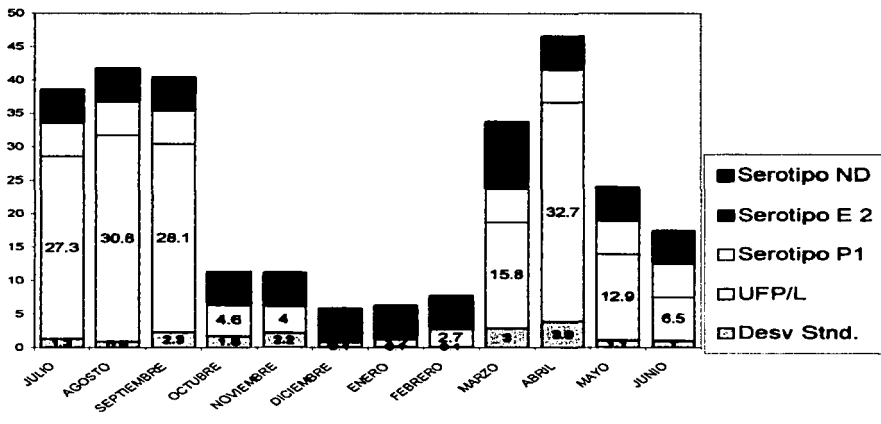
## GRÁFICAS



Se muestran las UFP/L. Se observan dos picos enterovirales importantes: agosto y abril. El serotipo E 18 es el que aparece mayor número de meses.

**TPSIC CON  
FALLA DE ORIGEN**

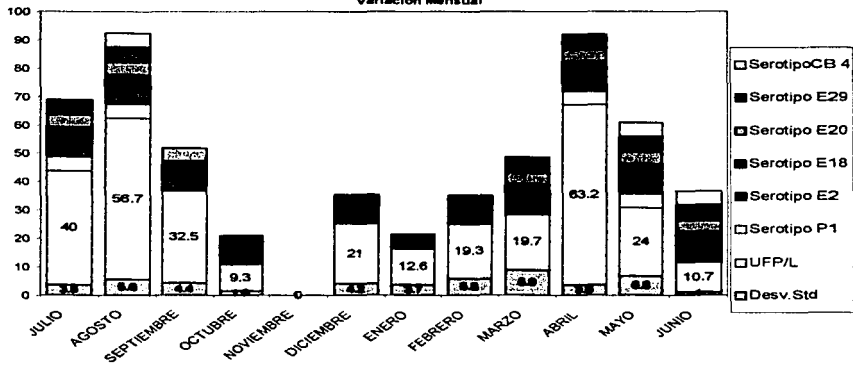
Gráfica 2  
 PTAR Bosques de las Lomas Influyente  
 Presencia de Partículas Virales  
 Variación Mensual



Se indican las UFP/L. En agosto y abril se detectaron la mayor cantidad de enterovirus. El serotipo más frecuente es el E 2.

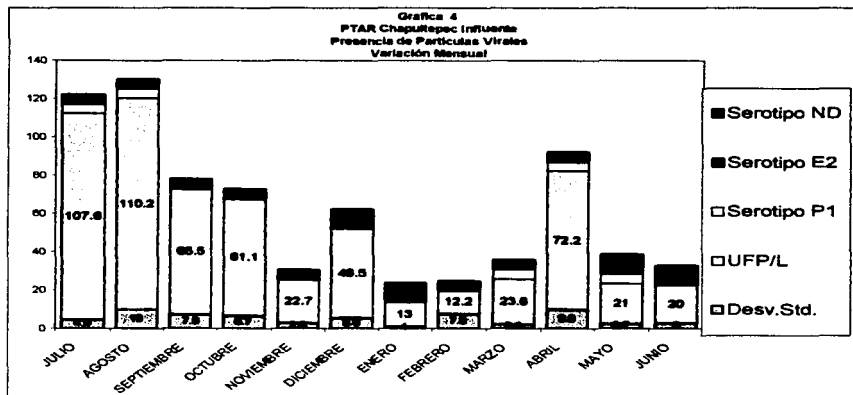
TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

Gráfica 3  
PTAR Cerro de la Estrella Influyente  
Presencia de Partículas virales  
Variación Mensual



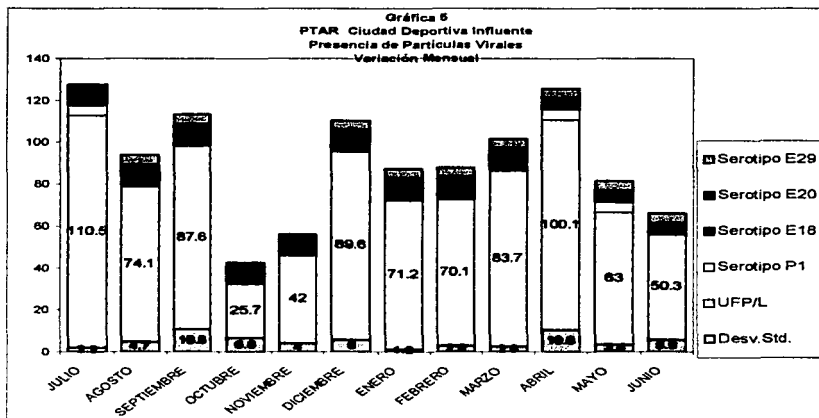
Se indican las UFP/L. Se aprecia que el serotipo E2 es el de mayor circulación. En los meses de abril y agosto aparece la cantidad más grande de enterovirus.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Se muestran las UFP/L. El serotipo E2 fue detectado en mayor número de meses. Se observan dos picos: en abril y agosto, aunque en julio también existe una cantidad elevada de virus.

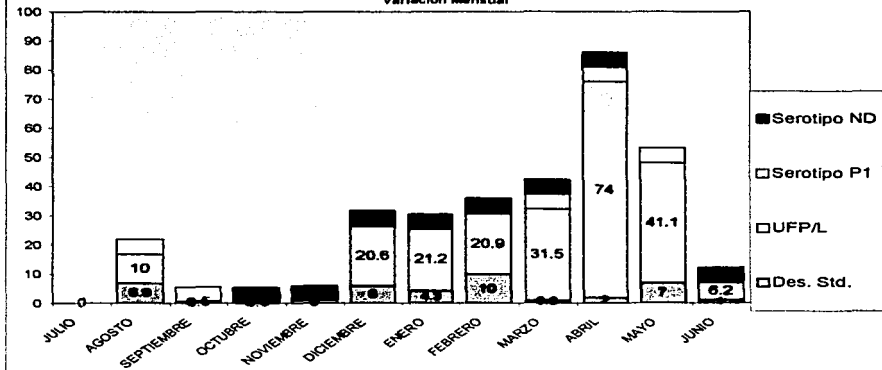
**TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN**



Se indican las UFP/L. Se puede observar que el serotipo más frecuente es el E 18. Durante julio y abril la presencia de partículas virales se incrementa.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Gráfica 6  
PTAR Colegio Militar Influyente  
Presencia de Partículas Virales  
Variación Mensual

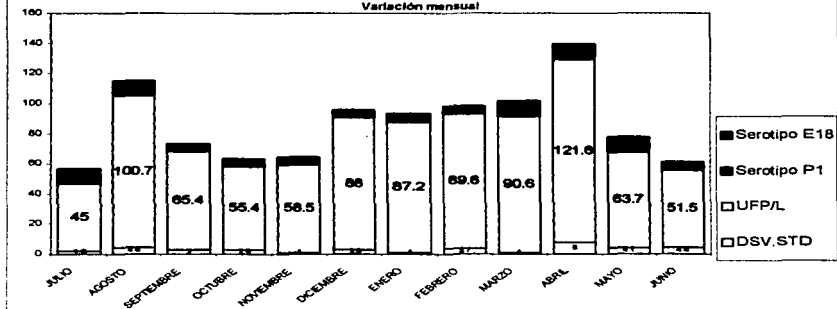


Se expresan las UFP/L. La mayor carga viral se nota en abril. Las baterías de identificación revelaron enterovirus no determinados (ND) durante la mayor parte del periodo de estudio.

TESTS CON  
FALLA DE ORIGEN



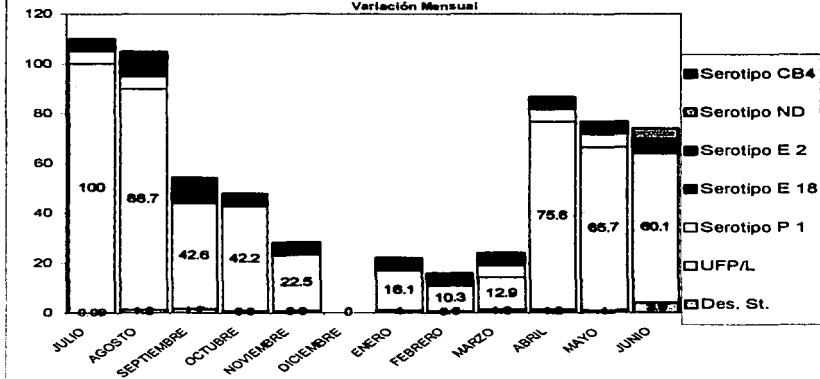
Gráfica 7  
PTAR COYOACACAN INFLUENTE  
Presencia de partículas virales  
Variación mensual



Se indican las UFP/L. Como en la mayoría de las plantas, se aprecian dos puntos en los que se detecta un mayor número de UFP ( agosto y abril ). El serotipo predominante es el E 18.

TFESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

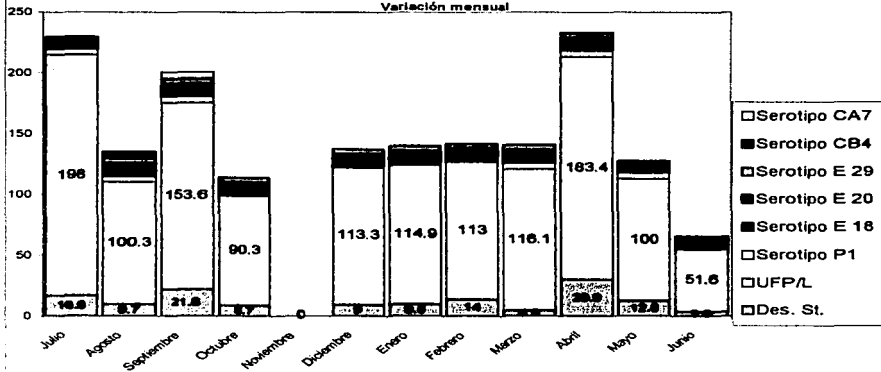
Gráfica 8  
PTAR El Rosario Influyente  
Presencia de Partículas Virales  
Variación Mensual



Se indican las UFP/L. La descarga principal de virus es en julio y agosto, posteriormente se presenta un incremento en abril. E 2 es el virus presente de manera predominante.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

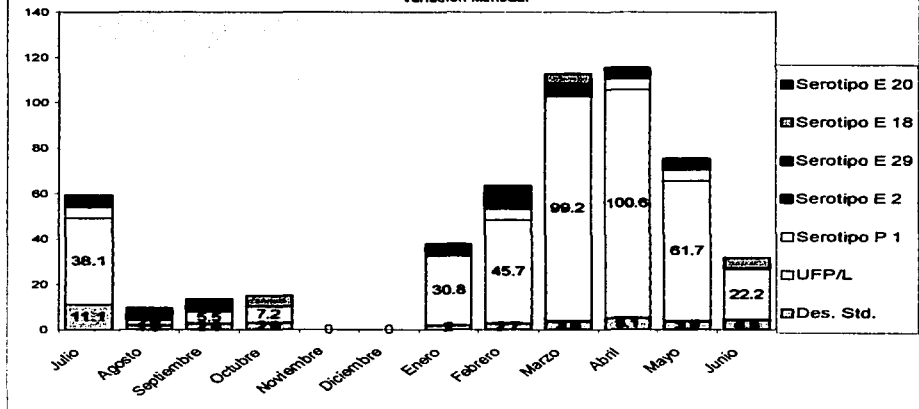
Gráfica 2  
PTAR Iztacalco Influyente  
Presencia de partículas virales  
Variación mensual



Se indican las UFP/L. Abril y julio son los meses en los que se aislaron las cantidades más importantes de enterovirus. Los serotipos E 18 y E 20 son los más frecuentes.

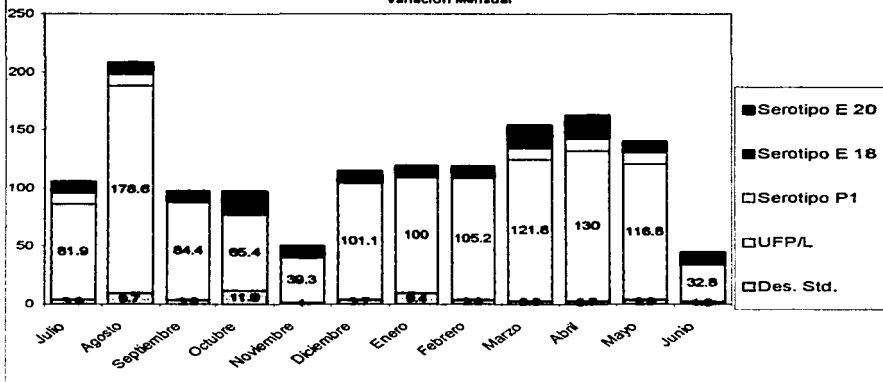
TESIS CON  
TALLA DE ORIGEN

Gráfica 10  
 PTAR Reclusorio Sur Influyente  
 Presencia de Partículas Virales  
 Variación Mensual



Se reportan las UFP/L. La cantidad más grande de UFP se presenta en marzo y abril. E 29 aparece en más meses.

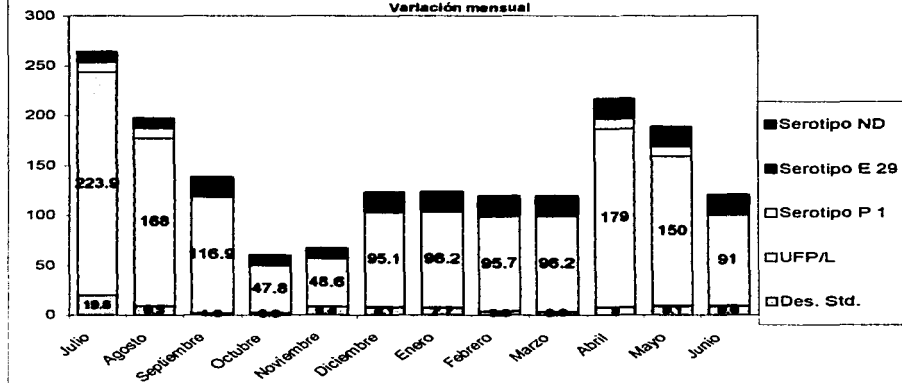
Gráfica 11  
PTAR San Juan de Aragón Influyente  
Presencia de Partículas Virales  
Variación Mensual



Se muestran los valores de UFP/L. El mes de agosto tiene el número más alto de partículas virales. De diciembre a mayo hay descargas significativas de virus. E 18 se reportó en ocho meses.

TESIS CON  
FOLIA DE ORIGEN

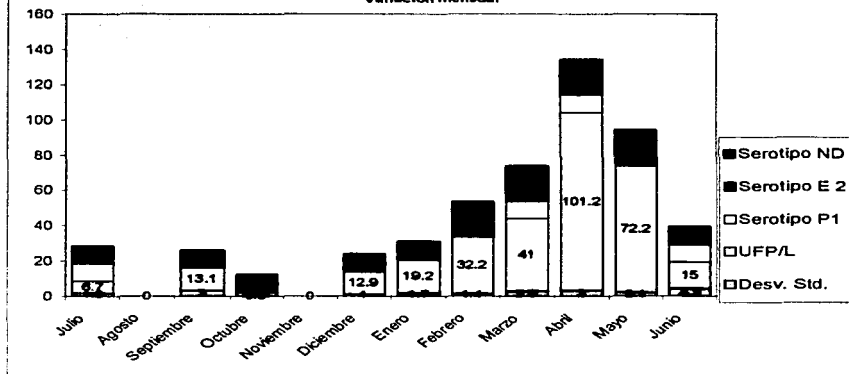
**Gráfica 12**  
**PTAR San Luis Tlaxiátemalco Influyente**  
**Presencia de Partículas Virales**  
**Variación mensual**



Se muestran las cantidades de UFP/L. En el mes de julio se reporta la mayor incidencia de virus. El otro punto importante es el de abril. E 29 es el de más veces detectado.

TRABAJOS CON  
**FALLA DE ORIGEN**

Gráfica 13  
PTAR Tituloico Influyente  
Presencia de Partículas Virales  
Variación mensual



Se indican las UFP/L. Abril muestra los valores más altos de enterovirus. Los serotipos ND y E 2 se recuperan en mayor número de meses.

TESIS CON  
FOLIA DE ORIGEN

## Mapa

Ubicación de Plantas de Tratamiento del D. F. y  
distribución de los serotipos de cada una.

