



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
MAESTRIA EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

**REDUCCIÓN DE RIESGOS BIOLÓGICOS (*Escherichia coli*)
EN JITOMATE CON TRATAMIENTOS QUÍMICOS.**

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

GONZALEZ OCHOA MITZI GEORGINA

Chapingo, Méx. Diciembre 2010



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



**REDUCCIÓN DE RIESGOS BIOLÓGICOS (*Escherichia coli*) EN JITOMATE CON
TRATAMIENTOS QUÍMICOS.**

Tesis realizada por **González Ochoa Mitzi Georgina** bajo la dirección del Comité Asesor
indicado, aprobado por el mismo y aceptado como requisito parcial para obtener el grado
de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

DIRECTOR:



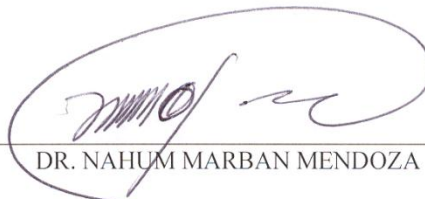
DR. MARCELO ACOSTA RAMOS

ASESOR:



DR. MATEO VARGAS HERNANDEZ

ASESOR:



DR. NAHUM MARBAN MENDOZA

Chapingo, Edo. de Méx, Diciembre 2010.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, en especial al Departamento de Parasitología Agrícola que a través de la Maestría en Protección Vegetal, me dieron la oportunidad de cursar mis estudios de Posgrado.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACYT) por el financiamiento proporcionado para realizar mis estudios de Maestría.

Al **Dr. Marcelo Acosta** por su dirección en esta investigación.

Al **Dr. Mateo Vargas Hernández**, estoy infinitamente agradecida por su gran apoyo y disposición para la culminación de este trabajo.

Al **Dr. Nahúm Marbán Mendoza** por su amistad, enseñanza y apoyo para este trabajo.

A todos los maestros por sus enseñanzas que contribuyeron a mi formación académica y profesional.

A la Srita. Maribel por su paciencia, su ayuda y orientación durante mi estancia en la Maestría.

DEDICATORIA

A mi esposo José Luis

Una vez en la vida encuentras a alguien que no solo llega a tu corazón, si no a tu alma, alguien que te ama por ser quien eres y no por quien podrías ser. Una vez en la vida si tienes suerte encuentras a alguien como yo te encontré a ti.

Por tu amor y apoyo incondicional. Te amo

A mis padres, Georgina y Rubén

Por su apoyo, sacrificio, amor y dedicación, por alentarme a seguir adelante. Gracias. Los quiero mucho

A mi hermano, Humberto Javier

Por el gusto de sentirte cerca de mí y saber de tu apoyo, donde quiera que nos encontremos. Te quiero :0)

A Elsa y Ariel

Por estar siempre conmigo, apoyándome y quererme. Los quiero

A toda la familia Zapata García

DATOS BIOGRAFICOS

MITZI GEORGINA GONZÁLEZ OCHOA NACIÓ EN MÉXICO, D.F., EL 25 DE DICIEMBRE DE 1980, DONDE CURSÓ SUS ESTUDIOS DE EDUCACIÓN BÁSICA. EN JULIO DEL AÑO 2000 INGRESÓ A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO REALIZANDO EL PROPEDEÚTICO, EN EL AÑO 2001 INGRESO AL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA, DONDE OBTUVO EL GRADO DE INGENIERO AGRÓNOMO ESPECIALISTA EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA EN EL AÑO 2006 CON EL TRABAJO INTITULADO “MANEJO QUÍMICO PREVENTIVO Y CURATIVO DE LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) EN HOJAS DE MANGO (*Mangifera indica* L.) cv. HADEN.

EN JULIO DE 2008 INGRESÓ A LA MAESTRÍA EN PROTECCIÓN VEGETAL DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO, Y EGRESO EN JUNIO DE 2010 REALIZANDO EL PRESENTE TRABAJO DE INVESTIGACION.

INDICE GENERAL

Índice de cuadros.....	i
Índice de figuras.....	iii
Resumen – Summary.....	viii
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVOS.....	4
III. REVISION DE LITERATURA.....	5
3.1 Inocuidad Agroalimentaria.....	5
3.1.1. Programas nacionales en inocuidad alimentaria a nivel mundial.....	5
3.1.1.1. Francia.....	5
3.1.1.2. Canadá.....	6
3.1.1.3. Australia	6
3.1.1.4. Estados Unidos.....	6
3.1.1.4.1. Influencia de la Ley de Inocuidad Alimentaria en México... 7	
3.1.2. Iniciativa para garantizar la inocuidad de frutas y hortalizas.....	7
3.1.2.1. Consideraciones para el uso de la Ley de Inocuidad Alimentaria... 8	
3.1.2.2. Principios básicos.....	8
3.1.3. Casos de diarrea a nivel mundial.....	10
3.1.3.1. Situación de América Latina.....	10
3.1.3.2. Contaminación de hortalizas.....	11
3.1.3.3. Transporte de bacterias por hortalizas.....	12
3.2. El cultivo de jitomate.....	13
3.2.1. Origen y distribución.....	13
3.2.2. Importancia.....	13
3.3. El patógeno.....	14
3.3.1. <i>Escherichia coli</i> como habitante del intestino.....	14
3.3.2. Clasificación y antecedentes.....	15

3.3.3. Ciclo biológico de <i>E. coli</i>	16
3.3.4. Síntomas.....	18
3.3.5. Características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas.....	18
3.3.6. Diagnóstico de laboratorio.....	19
3.3.7. Control y tratamiento.....	19
3.4.Productos evaluados.....	21
3.4.1. N-alkil dimetil-bencil amonio clorado.....	21
3.4.2. Monopersulfato potásico, ácido sulfámico ácido málico.....	24
3.4.3. Cloro.....	24
3.4.4. Plata.....	25
3.4.5. Semillas de cítricos.....	27
IV. MATERIALES Y METODOS.....	28
4.1. Material vegetal.....	28
4.2. Obtención de la cepa.....	28
4.3. Preparación del tubo de comparación.....	28
4.4. Inoculación de la bacteria y tratamiento con desinfectantes.....	28
4.5. Variable evaluada.....	31
4.6. Diseño experimental.....	32
4.7. Análisis estadístico.....	32
IV. RESULTADOS.....	34
V. CONCLUSIONES.....	46
VI. LITERATURA CITADA.....	47

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Requerimientos de <i>Escherichia coli</i>	19
Cuadro 2. Lista y disposición de los tratamientos.....	31
Cuadro 3. Descripción de la escala utilizada.....	31
Cuadro 4. Análisis de varianza individual de la eficacia de los tratamientos en el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en frutos de jitomate inoculada artificialmente.....	34
Cuadro 5. . Análisis de varianza combinado de la eficacia de los tratamientos en el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en frutos de jitomate inoculada artificialmente, analizado por día, tratamiento y la interacción día*tratamiento	35
Cuadro 6. Valores de medias y agrupación Tukey a las 24 horas (día 1) de la eficacia de los tratamientos para el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , inoculada artificialmente en frutos de jitomate.....	36
Cuadro 7. Valores de medias y agrupación Tukey a las 48 horas (día 2) de la eficacia de los tratamientos para el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> inoculada artificialmente en frutos de jitomate.....	37
Cuadro 8. Valores de medias y agrupación Tukey a las 72 horas (día 3) de la eficacia de los tratamientos para el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> inoculada artificialmente en frutos de jitomate.....	38
Cuadro 9. Cuadro 9. Valores de medias y agrupación Tukey combinado de la eficacia de los tratamientos para el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> inoculada artificialmente en frutos de jitomate.....	39

Cuadro 10. Contrastes evaluados por grupos basados en el mismo ingrediente activo, para el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> inoculada artificialmente en frutos de jitomate.....	40
Cuadro 11. Efecto promedio de tratamientos agrupados por ingrediente activo para el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> inoculada artificialmente en frutos de jitomate.....	42
Cuadro 12. Efecto promedio de tratamientos agrupados por ingrediente activo para el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> inoculada artificialmente en frutos de jitomate.....	44
Cuadro 13. Efecto promedio a través de los días de los tratamientos agrupados por ingrediente activo para el control del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> inoculada artificialmente en frutos de jitomate.....	45

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Ciclo biológico de <i>Escherichia coli</i>	16
Fig. 2. Cepa de <i>Escherichia coli</i>	29
Fig. 3. Tubo de comparación McFarland.....	29
Fig. 4. Lavado de frutos.....	29
Fig. 5. Inoculación de <i>Escherichia coli</i> en frutos.....	29
Fig. 6. Simulación de cámara húmeda después de la inoculación de bacteria.....	30
Fig. 7. Aplicación de tratamientos.....	30
Fig. 8. Frutos después de aplicación del tratamiento en charolas nuevas.....	30
Fig. 9. Charolas cubiertas con bolsas de polipapel nuevas.....	30
Fig. 10. Esterilización de asa y tomas de gotas presentes en el fruto.....	30
Fig. 11. Siembra en caja Petri con medio selectivo.....	30
Fig. 12. Testigo no inoculado (jitomate sumergido en agua de la llave). Crecimiento de bacterias no objetivo (colonias color blanco) a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.....	51
Fig. 13. Testigo no inoculado (jitomate sumergido en agua de la llave). Crecimiento de bacterias no objetivo (colonias color blanco) a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.....	51
Fig. 14. Testigo no inoculado (jitomate sumergido en agua de la llave). Crecimiento de bacterias no objetivo (colonias color blanco) a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	51
Fig. 15. Testigo inoculado. Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> (colonias color rosa) a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.....	52
Fig. 16. Testigo inoculado. Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> (colonias color rosa) a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.	52
Fig. 17. Testigo inoculado. Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> (colonias color rosa) a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.	52

Fig. 18. Alquil 1g.L ⁻¹ . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de <i>E. coli</i>	53
Fig. 19. Alquil 1g.L ⁻¹ . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de <i>E. coli</i>	53
Fig. 20. Alquil 1g.L ⁻¹ . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de <i>E. coli</i>	53
Fig. 21. Alquil 2g.L ⁻¹ . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de <i>E. coli</i>	54
Fig. 22. Alquil 2g.L ⁻¹ . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de <i>E. coli</i>	54
Fig. 23. Alquil 2g.L ⁻¹ . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de <i>E. coli</i>	54
Fig. 24. Plata 0.38% GV. Crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas izquierda y central a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa del lado derecho no se observa presencia de <i>E. coli</i> , solo hay presencias de bacterias no objetivo.....	55
Fig. 25. Plata 0.38% GV. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas izquierda y central a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa del lado derecho (colonias color blanco) no se observa presencia de <i>E. coli</i>	55
Fig. 26. Plata 0.38% GV. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas izquierda y central a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa del lado derecho (colonias color blanco) no se observa presencia de <i>E. coli</i>	55
Fig. 27. Plata 0.38% BC. Crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas izquierda y central a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa del lado derecho (colonias color blanco) no se observa presencia de <i>E. coli</i>	56
Fig. 28. Plata 0.38% BC. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas izquierda y central a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. Al mismo tiempo de incubación se observa presencia de <i>E. coli</i> en la placa del lado derecho.	
Fig. 29. Plata 0.38% BC. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	56
Fig. 30. Hipoclorito de sodio a 200 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.....	57
Fig. 31. Hipoclorito de sodio a 200 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.....	57
Fig. 32. Hipoclorito de sodio a 200 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	57

Fig. 33. Hipoclorito de sodio a 500 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.....	58
Fig. 34. Hipoclorito de sodio a 500 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.....	58
Fig. 35. Hipoclorito de sodio a 500 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	58
Fig. 36. Cítricos GV. Crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 24 horas de incubación.....	59
Fig. 37. Cítricos GV. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 48 horas de incubación.....	59
Fig. 38. Cítricos GV. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 72 horas de incubación.....	59
Fig. 39. Cítricos A. Se observa crecimiento de bacterias no objetivo (colonias color blanco) a las 24 horas de incubación. No hay presencia de <i>E. coli</i>	60
Fig. 40. Cítricos A. Se observa crecimiento de <i>E. coli</i> en la placa central a las 48 horas de incubación. Placas izquierda y derecha con presencia de bacterias no objetivo.....	60
Fig. 41. Cítricos A. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en la placa central a las 72 horas de incubación.....	60
Fig. 42. Plata 0.36%. Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en las placas izquierda y derecha a las 24 de horas de incubación a temperatura ambiente. En placa central no se observa crecimiento bacteriano alguno.....	61
Fig. 43. Plata 0.36%. Evolución del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en las placas izquierda y derecha a las 48 de horas de incubación a temperatura ambiente. Al mismo tiempo de incubación ya se observa la presencia de <i>E coli</i> en la placa central.....	61
Fig. 44. Plata 0.36%. Evolución del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en las tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	61
Fig. 45. Plata 0.32%. Crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas izquierda y central a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa derecha no se observa crecimiento bacteriano.....	62

Fig. 46. Plata 0.32%. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas izquierda y central a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa derecha ya se observa la presencia de <i>E. coli</i>	62
Fig. 47. Plata 0.32%. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	62
Fig. 48. Plata 0.15%. Se observa crecimiento de <i>E. coli</i> en la placa de la derecha a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En las placas derecha y central se observa presencias de bacterias no objetivo (colonias color blanco)...	63
Fig. 49. Plata 0.15%. Crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.....	63
Fig. 50. Plata 0.15%. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	63
Fig. 51. Plata 0.35%. Se observa crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas derecha e izquierda a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa central no se observa crecimiento bacteriano.....	64
Fig. 52. Plata 0.35%. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las placas derecha e izquierda a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa central al mismo tiempo de incubación se observa presencia de <i>E. coli</i>	64
Fig. 53. Plata 0.35%. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 78 horas de incubación a temperatura ambiente.....	64
Fig. 54. Dióxido de cloro. Crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.....	65
Fig. 55. Dióxido de cloro. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.....	65
Fig. 56. Dióxido de cloro. Evolución del crecimiento de <i>E. coli</i> en las tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	65
Fig. 57. Monopersulfato 10 g.L ⁻¹ . No se observa crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.....	66
Fig. 58. Monopersulfato 10 g.L ⁻¹ . No se observa crecimiento microbiano a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.....	66
Fig. 59. Monopersulfato 10 g.L ⁻¹ . Se observa crecimiento de <i>E. coli</i> en la placa central a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	66

Fig. 60. Monopersulfato 20 g.L ⁻¹ . No se observa crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.....	67
Fig. 61. Monopersulfato 20 g.L ⁻¹ . No se observa crecimiento microbiano a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.....	67
Fig. 62. Monopersulfato 20 g.L ⁻¹ . No se observa crecimiento microbiano a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.....	67

Reducción de riesgos biológicos (*Escherichia coli*) en jitomate con tratamientos químicos.
Biological risk reduction in tomato fruits with chemical treatments.

González Ochoa Mitzi Georgina¹. Dr. Marcelo Acosta Ramos².

RESUMEN

Se probaron diversos desinfectantes químicos con diferente ingrediente, activo para eliminar la presencia de *E. coli* en frutos de jitomate. Los frutos se pusieron en contacto mediante inmersión en una solución conteniendo una dilución bacteriana de 15×10^8 UFC.mL⁻¹ durante cinco minutos, posteriormente se sacaron. Después de 24 horas de la inoculación, los frutos se colocaron en bandejas con agua conteniendo cada uno de los tratamientos estudiados. 24 horas después de aplicarse los tratamientos, se tomaron las gotas que estaban sobre el fruto, con un asa y se sembraron en cajas Petri con medio selectivo MC. Este paso se repitió a las 48 y 72 horas. Las cajas Petri se revisaron a diariamente durante 3 días, para observar si hubo crecimiento bacteriano.

Los datos se analizaron mediante estadística paramétrica basado en el modelo lineal general. También se realizó una prueba de comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey con una confiabilidad al 95%.

Los mejores tratamientos durante los tres días fueron el Hipoclorito de sodio a 200 y 500 ppm y el Monopersulfato potásico a 20g.L⁻¹. El Monopersulfato potásico a 10g.L⁻¹ retrasó el crecimiento de *E. coli* hasta el tercer día. Y el producto a base de cítricos aplazó el crecimiento de la bacteria hasta el segundo día.

Palabras clave: *Escherichia coli*, desinfectantes.

ABSTRACT

Various chemical disinfectants were tested with a different active ingredients to eliminate the presence of *E. coli* in tomato fruits. The fruits were immersed in a solution containing a bacterial dilution 15×10^8 UFC.mL⁻¹ for five minutes, then were removed. After 24 hours of inoculation, the fruits were placed in trays with water containing each treatment. After 24 hours some drops were taken off the fruit, with a handle and seeded in Petri dishes containing selective medium MC. This step was repeated at 48 and 72 hours. The Petri dishes were then checked daily for 3 days to see if there was bacterial growth. Data were analyzed through descriptive statistics bases on the general linear model. We also performed a multiple comparison test of mean with Tukey test with a confidence of 95%.

The best treatments during the three days were the Sodium hypochlorite at 200 and 500 ppm and a Potassium monopersulfate at 20g.L⁻¹. The Potassium monopersulfate 10g.L⁻¹ delayed the growth of *E. coli* until the third day. And the Citrus based product deferred growth of bacteria until the second day.

Key words: *Escherichia coli*, disinfectants.

¹ Tesista/ Thesis writer

² Director/ Thesis director

REDUCCION DE RIESGOS BIOLOGICOS (*Escherichia coli*) EN JITOMATE CON TRATAMIENTOS QUIMICOS

1. INTRODUCCION

Las frutas y hortalizas frescas son una parte esencial de la dieta humana. Si bien, el beneficio para la salud que resulta de su consumo habitual está ampliamente comprobado, también existen datos que sugieren que la proporción de brotes de enfermedades relacionados con su ingesta son mayores en comparación con otros alimentos, ya que una vez que el vegetal ha sido cosechado, se transforma en un medio de cultivo apto para el desarrollo de una flora microbiana de lo más variada. El principio lo constituye el conocimiento de que todo lo que se pone en contacto con las frutas y hortalizas, puede ocasionar su contaminación y que la mayoría de los microorganismos patógenos y residuos de pesticidas, provienen del hombre, los animales y del uso indiscriminado de productos químicos, aunado a esto, la inadecuada manipulación de los alimentos hace que los riesgos aumenten y hacen que la presencia de estos microorganismos en los alimentos sea inevitable. Los alimentos que reciben un tratamiento inadecuado en su manipulación pueden ser causantes de enfermedades peligrosas, algunas de ellas con graves y permanentes consecuencias para el ser humano, las más comunes son las transmitidas por *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. Las cuales causan fiebre, dolor abdominal, diarrea, gases y cólicos estomacales. (Lozano, 2000).

Por lo anterior, el 2 de octubre de 2007 el presidente Clinton anunció un plan de inocuidad alimentaria para reducir el riesgo en el suministro a consumidores estadounidenses. Dicho plan es para tener mayores garantías de que las frutas y hortalizas consumidas en ese país, incluyendo las importaciones, cumplan con las más altas normas de calidad e inocuidad alimentaria. El plan, llamado “iniciativa para garantizar la inocuidad de las frutas y hortalizas nacionales e importadas” tiene como fin asegurar aún más la inocuidad de las frutas y hortalizas que se importan o se producen en EUA (Campos, 2000).

Esta guía trata del riesgo microbiano en los alimentos y las buenas prácticas agrícolas en la producción, cosecha, empaque y transporte de la mayoría de las frutas y hortalizas que se venden al consumidor sin procesar o sometidas a un procesamiento mínimo, es decir, en su estado natural. Algunos microorganismos que se incluyen en este documento son variedades patógenas de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*, *Shigella*, *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *Cyclospora cayetanensis* y virus de Norwalk y de la hepatitis B (Lozano, 2000).

La iniciativa de inocuidad alimentaria también se basa en la investigación científica, la identificación y el apoyo de prioridades de investigación que ayuden a salvar las lagunas existentes en el conocimiento actual sobre la inocuidad alimentaria y en la evaluación de riesgos y desarrollo de medidas efectivas en función de costo, para prevenir, combatir o eliminar los microorganismos patógenos en frutas y hortalizas. Estos microorganismos se presentan en las heces del hombre y los animales, incluyendo pájaros; por lo que para que sus productos sigan siendo aceptados en el mercado, los agricultores y empaques de frutas y hortalizas tiene que evaluar sus operaciones y tomar medidas que reduzcan el riesgo de contaminación microbiana (Campos, 2000).

Los principios básicos de esta guía de inocuidad alimentaria son reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos, desde la producción agrícola a la distribución de frutas y hortalizas frescas. Entre las categorías generales de estos principios básicos se encuentran el agua, el estiércol o desechos biológicos sólidos, higiene de los operarios, condiciones sanitarias de los campos e instalaciones, el transporte, el rastreo del origen de las frutas y hortalizas. Los agricultores y empaques deben tener en cuenta la variedad de características físicas y las prácticas agrícolas que afectan las posibles fuentes de contaminación en sus operaciones de cultivo, empaque y transporte, y decidir qué conjunto de buenas prácticas agrícolas resultan más

efectivas en función del costo y permiten lograr la inocuidad alimentaria que se busca.

Por ejemplo, cuando el agua entra en contacto con frutas y hortalizas frescas, la posibilidad de contaminación por organismos patógenos depende de la calidad y procedencia del agua, y si estos organismos sobreviven en dichos alimentos pueden causar enfermedades. El agua puede transmitir ciertos microorganismos incluyendo variedades patógenas de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*, *Shigella*, entre otros patógenos. Incluso pequeñas cantidades de estos microorganismos en los alimentos pueden causar enfermedades (Morejón, *et. al.*, 2006).

Existen estudios que el uso de agua de riego contaminada puede incrementar la frecuencia de microorganismos patógenos detectados en el producto. Es importante que los agricultores interesados en la calidad del agua adopten buenas prácticas agrícolas que les permitan mantener y proteger la calidad de sus fuentes de agua, para analizar la contaminación microbiana en su suministro de agua, utilizando para ello indicadores estándares de contaminación fecal, como las pruebas para detectar la presencia de *E. coli*, que se pueden realizar en laboratorios privados o en el gobierno estatal o local (Campos, 2000).

Los microorganismos que portan los vegetales son los que se encuentran en el suelo y las aguas con que fueron regados, estos se pueden desarrollar después de su recolección si han sufrido traumatismo o si las superficies están húmedas o si encuentra sus condiciones específicas adecuadas, es por eso que los frutos después de haber sido cosechados y antes de empacarlos, deben ser desinfectados. Así mismo, también se deben desinfectar las cajas donde se colocan (Morejón *et al.* 2006).

La eficacia de los desinfectantes depende del tipo de frutas u hortalizas, de las características de su superficie, temperatura y tipos de patógenos. *Listeria monocytogenes* es generalmente más resistente a los desinfectantes que *Salmonella*, *E. coli* y *Shigella*. Existe poco conocimiento sobre la eficacia de los desinfectantes en inactivar virus presentes en frutas y hortalizas.

Lavar los frutos en agua potable remueve una porción de células microbianas; y en algunos casos, un lavado fuerte con agua conteniendo 200 ppm de cloro puede ser efectivo como tratamiento; este reduce la población de microorganismo entre 10 a 100 veces (Morejón *et al.*, 2006).

Aunque se han descrito bien los mecanismos de acción de algunos desinfectantes químicos como cloro y sus compuestos, yodo, bromo, ozono y peróxidos, compuestos metálicos (cobre y plata), álcalis, ácidos y detergentes y otros de naturaleza física como temperatura (calor húmedo, calor seco), radiaciones (luz ultravioleta, gama) y sonicación, cada uno tiene diferentes valores de efectividad a los distintos patógenos que pueden presentarse en agua (Brust *et al.*, 1995).

Por todo lo anterior, y sabiendo que es de suma importancia la desinfección de frutas y hortalizas, después de haber sido cosechados y antes de empacarlos, o en el hogar para su consumo en fresco, para prevenir enfermedades como las transmitidas por *E. coli* y *Salmonella* sp., se presenta este trabajo proponiendo la evaluación de diversos desinfectantes con diferente ingrediente activo, saber la acción de nuevos productos que están saliendo al mercado y compararlos con los que anteriormente han estado presentes.

2. OBJETIVO

- Evaluar la acción de diferentes desinfectantes para la reducción de *E. coli* en frutos de jitomate, en laboratorio.

3. REVISION DE LITERATURA

3.1. INOCUIDAD AGROALIMENTARIA

Inocuidad, es la condición de los alimentos que garantiza que no causa daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso que se destinan (Morejón, 2006).

3.1.1. PROGRAMAS NACIONALES EN INOCUIDAD ALIMENTARIA A NIVEL MUNDIAL

Los gobiernos de casi todos los países se han visto obligados a incrementar esfuerzos que permitan una más eficiente atención a los problemas relacionados con el consumo de alimentos, el tema de la inocuidad alimentarias, es decir, la garantía de que los alimentos no causen daño a la salud, se ha convertido en una prioridad, tanto para la protección de la salud pública, como para seguir manteniendo la competitividad, posicionamiento y un mayor acceso de los productos agroalimentarios en los mercados. Además de tener implicaciones en los aspectos antes mencionados, esta forma tiene un impacto en la oferta y la demanda, higiene y sanidad laboral, dado lo cual repercute en la estructura de costos en la cadena agroalimentaria (Campos, 2000).

Desde principios del Siglo XX se ha impulsado la aplicación de legislaciones en materia de calidad de alimentos y se siguen creando leyes para conseguir la calidad idónea. Como en los casos siguientes:

3.1.1.1. FRANCIA

La legislación alimentaria francesa entró en vigor desde la aprobación de ley del 1º de agosto de 1905, que fue utilizada para la represión de los fraudes más que para la protección de la salud (Hayes, 1993).

3.1.1.2. CANADÁ

En 1996, el Ministerio de Salud de Canadá estableció el Organismo Canadiense de Inspección de los Alimentos, que se especializa en problemas de nutrición y de inocuidad de los alimentos. También se propusieron diversas modificaciones a la legislación de los alimentos para hacer frente a los nuevos problemas de contaminación. El plan denominado “Nutrición para la salud” es una agenda que contiene dos principios claves (Campos, 2006):

- Dar mayor claridad y ampliar la difusión del etiquetado de los productos alimenticios; así como intensificar la educación del público, con el fin de fomentar prácticas de alimentación más saludables;
- Asegurar que las políticas relativas a la producción y preparación de alimentos, a los nutrientes y a la comercialización promuevan una alimentación más sana.

3.1.1.3. AUSTRALIA

En 1990, Australia puso en marcha un programa de control de las importaciones de alimentos, confiando la responsabilidad de su aplicación al Servicio Australiano de Inspección y Cuarentena. Anteriormente, esta labor era competencia del Programa de Control de Exportaciones de Alimentos, pero ante la creciente preocupación de la comunidad por la calidad e inocuidad de los alimentos y el aumento en el mundo de episodios de enfermedades alimentarias, se decidió crear un servicio especializado.

3.1.1.4. ESTADOS UNIDOS

La iniciativa de Ley emitida por el presidente de los Estados Unidos, Bill Clinton, en mayo de 1997, conocida como “Inocuidad Alimentaria del Campo a la Mesa”, de la cual meses más tarde emanó la iniciativa adicional que tiene como propósito “Asegurar la Inocuidad de Productos Hortícolas y Frutícolas Domésticos e Importados” dio paso para que el 30 de octubre de 1998 la Agencia de Alimentos y Drogas (DEA) publicara en el Diario Oficial de los

Estados Unidos la “Guía para reducir los riesgos microbianos que logren la inocuidad en frutos y hortalizas frescas”, que pretende ser una recomendación no obligatoria para productores de frutas y hortalizas frescas de origen doméstico e importado, donde se mencionan las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA’s) y las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM’s). Esta guía es mejor conocida como “Ley de Inocuidad Alimentaria”.

3.1.1.4.1. INFLUENCIA DE LA LEY DE INOCUIDAD ALIMENTARIA EN MÉXICO

Esta iniciativa ha tenido una gran influencia en los productores de frutas y hortalizas frescas en México, ya que de alguna manera con esto se forman barreras técnicas no arancelarias para la comercialización de los productos agroalimentarios con el principal mercado mundial, ya que como lo indican datos de la SAGARPA, durante el primer semestre de 2010 las exportaciones agroalimentarias aumentaron 12.7%, lo que representó 5 mil millones de dólares. En 2009 las exportaciones de México a Estados Unidos representaron el 68.2%, de los cuales 52% fueron vegetales y frutas frescas y procesadas, así como jugos de frutas y vegetales.

<http://www.informador.com.mx/economia/2010/220922/6/crecen-127-exportaciones-agropecuarias.htm>

24 de septiembre 2010

3.1.2. INICIATIVA PARA GARANTIZAR LA INOCUIDAD DE FRUTAS Y HORTALIZAS

En respuesta al mandato presidencial en Estados Unidos, la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) expidieron los “Lineamientos para la industria – Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano de los alimentos en el caso de frutas y hortalizas”, que estipula el procedimiento y las buenas prácticas agrícolas en la producción, cosecha, empaque y transporte de la mayoría de las frutas y hortalizas que se venden al consumidor sin procesarlas sometidas a un proceso mínimo de su estado natural.

3.1.2.1. CONSIDERACIONES PARA EL USO DE LA LEY DE INOCUIDAD ALIMENTARIA

Existen varias consideraciones que hay que tener presentes al consultar esta guía:

- a) Propone la reducción del riesgo, no la eliminación del mismo.
- b) Proporciona principios de orden general basados en conocimientos científicos.
- c) Es actualizable a medida que exista mayor información y el progreso tecnológico permita entender mejor los factores que facilitan la detección y reducción del riesgo microbiano en alimentos.
- d) Se concentra en riesgos microbianos de frutas y hortalizas frescas sin abordar específicamente otros riesgos como plaguicidas y contaminantes de origen químico en el suministro de alimentos o medio ambiente.

3.1.2.2. PRINCIPIOS BÁSICOS

En este documento se establecen los principios esenciales para reducir el mínimo riesgo microbiano en los alimentos desde la producción agrícola hasta la distribución de frutas y hortalizas frescas y son los siguientes:

Principio 1. Es preferible prevenir la contaminación microbiana de frutas y hortalizas que fiarse de las acciones para combatir dicha contaminación una vez que tiene lugar.

Principio 2. Para reducir al mínimo el riesgo microbiano en frutas y hortalizas frescas, los agricultores y empacadores deben utilizar buenas prácticas agrícolas en las áreas donde puedan ejercer cierto control, siempre que no aumenten otros riesgos de contaminación en el suministro de alimentos o del medio ambiente.

Principio 3. Todo lo que entra en contacto con las frutas y hortalizas frescas puede ocasionar su contaminación. La mayoría de los microorganismos

patógenos en estos alimentos provienen de las heces de los seres humanos o de los animales.

Principio 4. Cuando el agua entra en contacto con las frutas y hortalizas frescas, la posibilidad de contaminación por esta fuente dependerá de la calidad y procedencia de la misma. Es necesario adoptar buenas prácticas agrícolas y de manufactura para reducir al mínimo el riesgo de contaminación por el agua utilizada en las actividades de riego y procesamiento.

Principio 5. Las prácticas de utilizar estiércol o desechos biológicos municipales sólidos deben ser supervisadas para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación.

Principio 6. La higiene y prácticas de los operarios involucrados en el ciclo de producción juegan un papel esencial para reducir al máximo las posibilidades de contaminación microbiana de frutas y hortalizas.

Principio 7. Es importante conocer y cumplir todos los reglamentos de los gobiernos locales, estatales y federales sobre el establecimiento de prácticas agrícolas.

Principio 8. Deberá establecerse un sistema de rendición de cuentas a todos los niveles de su operación agrícola (en el campo, las instalaciones de embalajes, el centro de distribución y el transporte). Para que un programa de inocuidad alimentaria tenga éxito debe contar con personal preparado y un eficaz monitoreo y mantenimiento que asegure que todos los elementos del mismo funcionen correctamente y se pueda averiguar el origen del producto, rastreándolo a través de diversos canales de distribución.

3.1.3. CASOS DE DIARREA A NIVEL MUNDIAL

De los aproximadamente 1,500 millones de casos de diarrea que ocurren anualmente en el mundo, se estima que el 70% son el resultado directo de la contaminación química o biológica que presentan algunos de los alimentos que se comercializan (OMS, 1998).

La incidencia de enfermedades infecciosas como la salmonelosis, la campilobacteriosis y las infecciones causadas por *Escherichia coli* O157:H7 asociadas a la contaminación de los alimentos está aumentando en los países industrializados.

Los estudios de la OMS indican que en esos países, entre el 5 y 10% de la población se ve afectada anualmente por las mencionadas patologías. Cada año, los siete principales patógenos que suelen encontrarse en los alimentos son: *Campilobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* y *Toxoplasmodium gondii*, causando sólo en Estados Unidos, entre 3.3 y 12.3 millones de casos de infección, provocando pérdidas económicas anuales que oscilan entre 6.5 y 34.9 miles de millones de dólares (OMS, 1997).

3.1.3.1. SITUACIÓN DE AMÉRICA LATINA

A pesar de los grandes esfuerzos realizados por las autoridades de salud pública de países de América Latina y el Caribe, es triste reconocer que las enfermedades gastrointestinales figuran entre las diez primeras causas de muerte y concretamente en los cinco países con la más baja expectativa de vida, son la primera o segunda causa de muerte. Una de las principales causas de la alta mortalidad y morbilidad (cantidad de personas o individuos considerados enfermos o víctimas de una enfermedad en un espacio y tiempo determinados) es la inadecuada disposición de las aguas residuales, que no son tratadas y se descargan indiscriminadamente en cuerpos receptores, causando la contaminación de los ríos con bacterias patógenas (Yáñez, 1984).

3.1.3.2. CONTAMINACIÓN DE HORTALIZAS

Por su apreciable contenido de ácido ascórbico, carotenos y fibra dietética, los vegetales son ampliamente recomendados como parte de la dieta diaria (Ziegler, 1993). No obstante, una serie de prácticas en torno a su producción, cosecha y comercialización, hacen que este grupo de alimentos se convierta en vehículo potencial de microorganismos patógenos.

Los contaminantes químicos y microbiológicos continúan estando presentes en los alimentos que son objeto de comercio internacional. A pesar de que no se cuenta con registros sistemáticos de las casusas que originan la mayor parte de los rechazos de productos que no cumplen con las normas de calidad, el estudio mundial sobre los mayores contaminantes que afectan el comercio internacional de alimentos, llevado a cabo en 1990 por la FAO, con el patrocinio del gobierno de Finlandia, indica que los contaminantes más frecuentemente encontrados en los alimentos son los siguientes (Fein *et al.*, 1995; OMS 1998).

- Microorganismos como *Salmonella*, *Listeria* y *Shigella*; residuos de plaguicidas, fertilizantes y medicamentos veterinarios;
- Residuos en el ambiente como metales pesados e hidrocarburos;
- Aditivos alimentarios como bióxido de azufre y colorantes, que puedan causar reacciones en individuos susceptibles;
- Basuras y materias extrañas como pelos de roedores y fragmentos de insectos.

La contaminación microbiológica de estos alimentos toma mayor importancia al considerar que el tiempo de supervivencia de los microorganismos patógenos puede ser prolongado, semanas o meses (Feachman, 1983), particularmente cuando los microorganismos están en las áreas del vegetal más húmedas y protegidas de la desecación y de los rayos directos del sol, como ocurre en la lechuga, repollo, zanahoria y rábano (Shuval *et al.*, 1986).

No todos los alimentos representan un riesgo equivalente como vehículo de patógenos alimentarios. Las frutas y hortalizas, particularmente no procesadas, se encuentran entre los alimentos más seguros. Hacia finales de los años 80 se realizó un estudio en Canadá, en el que se estimó que sólo el 1% de intoxicaciones alimentarias fue producido por las frutas y hortalizas sin procesar. En el mismo estudio se comprobó, además, que pocos casos de enfermedad se pueden asociar al consumo de productos hortofrutícolas.

3.1.3.3. TRANSPORTE DE BACTERIAS POR HORTALIZAS

Las frutas y hortalizas pueden servir como vehículo de casi cualquier patógeno causante de intoxicación alimentaria y producir la enfermedad bajo circunstancias específicas. Los cambios que se están produciendo en la elaboración de productos mínimamente procesados, es decir, pelados, cortados, lavados y envasados, listos para ser consumidos o los productos envasados al vacío y cocinados en el mismo envase, puede dar lugar al desarrollo de estos microorganismos patógenos si las operaciones de elaboración no están adecuadamente realizadas.

Mientras que en su interior los tejidos vegetales se mantienen, en general, libres de gérmenes, a su superficie se adhieren numerosos microorganismos que llegan ahí por contacto inmediato con el suelo, jugando un gran papel las contaminaciones con la tierra (Müller, 1981).

Las bacterias son especialmente frecuentes en las verduras, cuyo pH es neutro, mientras que las levaduras prefieren el pH ácido, y están con más frecuencia en las frutas (Müller, 1981).

Salmonella es otro patógeno que contamina en ocasiones las frutas y hortalizas, generalmente a través de las aguas de riego. Otro de los patógenos más conocidos es *Escherichia coli*, ya que se está convirtiendo cada vez más

en un importante agente patógeno, la enfermedad que causa se conoce como “enfermedad del viajero”.

3.2. EL CULTIVO DE JITOMATE

3.2.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

El origen del género *Lycopersicum* es la región andina que hoy comparten Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile; zona en la que el género muestra su mayor variación (Nuez, 1995). Aunque se considera también que el antepasado más probable del jitomate es el tomate silvestre (*Lycopersicum esculentum* var. *cerasiforme*) que crece espontáneamente en las regiones tropicales y subtropicales de América y se ha extendido a lo largo de los trópicos del Viejo Mundo.

La llegada de los españoles permitió la expansión de este producto al viejo continente, y de ahí a todo el mundo; de tal forma que hoy podemos encontrar entre los principales productores mundiales a Estados Unidos, China, Turquía, Italia e India (Zamora, 2008).

3.2.2. IMPORTANCIA

En nuestro país, como en otras partes del mundo, la preferencia por el consumo de jitomate en fresco es predominante; además es utilizado como producto industrializado para la elaboración de pastas, salsa, purés, jugos, etc., aspectos que han cobrado gran importancia en los últimos años gracias a los avances tecnológicos logrados para su procesamiento, así como los gustos y costumbres de las nuevas generaciones (SAGARPA, 1998).

Durante 2008, se produjeron en todo México 2.26 millones de toneladas, siendo el principal productor el estado de Sinaloa, cuya producción representó el 35% del total nacional, monto 3.8 veces mayor al producido por el segundo lugar, Baja California, con 9%. Siguen en la lista los estados de Michoacán,

San Luis Potosí y Jalisco con 8%, 6% y 5%, respectivamente (SAGARPA, 2010).

En cuanto a la producción mundial de tomate, en el 2008 se distribuyó de la siguiente manera: China fue el principal productor de jitomate en el mundo, con una participación de 36%. Le sigue Estados Unidos con 14%; Turquía, 12%; India, 11%; mientras que México ocupó el doceavo lugar, con 3% de participación en la producción (SAGARPA, 2010).

3.3. EL PATOGENO

Escherichia coli es el organismo procarionte más estudiado por el ser humano. Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore Escherich, bacteriólogo alemán, quién la denominó *Bacterium coli* commune. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor. Ésta y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de producir las vitaminas B y K.

3.3.1. *E. coli* COMO HABITANTE DEL INTESTINO

Escherichia coli es una bacteria que habita normalmente en el intestino del hombre y animales de sangre caliente, y por ende en las aguas negras. Desempeña un importante papel en la fisiología del intestino. La distribución en el ambiente está determinada por su presencia en el intestino.

Por ser un habitante regular y normal del intestino, se usa desde hace un siglo como “el mejor” indicador de contaminación con materia fecal de los alimentos. En este caso indica la contaminación con bacterias perjudiciales o patógenas para el hombre que tienen un hábitat común. *E. coli* es la causa más frecuente de infecciones urinarias, las cuales pueden tomar forma de cistitis, pielitis, pielonefritis o nefritis (Freeman, 1992).

También es causa frecuente de apendicitis, peritonitis y de infecciones postoperatorias. La diarrea infantil es la infección más clásica con *E. coli* ya que esta coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas después de la primera comida (Lozano, 2000).

3.3.2. CLASIFICACION Y ANTECEDENTES

La bacteria *Escherichia coli* L se clasifica de la manera siguiente (Bryan, 1984)

Reino: Protista

División: Protofita

Clase: Ezquizomycetos

Orden: Eubacteriales

Suborden: Eubacteriineae

Familia: Enterobacteriaceae

Tribu: Eschericheae

Género: *Escherichia*

Especie: ***E. coli***

El término enterobacteriáceas significa etimológicamente “bacterias del intestino”, pero no todas las bacterias que tienen su hábitat habitual en el intestino quedan incluidas en el concepto bacteriológico de enterobacteriáceas ni todas las incluidas en esta familia se encuentran en el intestino (Levine, 1987).

La familia Enterobacteriaceae está formada por bacilos Gram negativos, no esporulados, pueden ser móviles o inmóviles con flagelos peritricos. Se desarrollan bien en medios artificiales simples. Todas las especies son oxidasa negativos, reducen nitratos a nitritos y fermentan glucosa (Pelczar, 1998).

E. coli es una bacteria que produce habitualmente diarrea y tiene varias cepas que son responsables de patología con diferentes mecanismos de acción:

ECCE: *E. coli* enterotoxigénico: Producen toxinas secretoras y el inóculo de microorganismos debe ser lo suficientemente alto como para resistir el pH ácido del estómago. Clínicamente aparece diarrea líquida, sin moco ni sangre. No son autóctonas en nuestro país, pero es la causa principal de diarrea del viajero

ECEP: *E. coli* enteropatógeno: determinados serotipos, producen diarreas con heces líquidas con moco sin sangre en lactantes y niños pequeños.

ECEI: *E. coli* enteroinvasivo: actúa invadiendo las células del epitelio intestinal. Causa diarrea aguda similar a la producida por el género *Shigella*, produciendo lesiones ulceradas en el colon. Tampoco son autóctonas.

ECEH: *E. coli* enterohemorrágico: produce toxinas citotóxicas (verotoxina). El cuadro se caracteriza por dolor abdominal intenso y diarrea con sangre. El serotipo más habitual es 0157:H7. Se han descrito brotes por consumo de hamburguesas poco cocinadas.

E. coli es uno de los primeros bacilos entéricos descritos, el cual se encuentra en la flora normal del tracto digestivo del hombre y animales. Son bacterias poco exigentes, sobreviven en el ambiente, contaminan agua, alimentos, leche y suelo.

3.3.3. CICLO BIOLÓGICO DE *E. coli*

La fuente de infección de *E. coli* son las personas infectadas ya sea por alimentos contaminados, agua contaminada o carne mal cocida. La diseminación es por vía fecal-oral. Generalmente el periodo de incubación para la mayoría de las cepas de *E. coli* es de 6 horas a 6 días (Lozano, 2000).

Las personas que se encuentran sanas o libres de este patógeno al consumir alimentos o verduras contaminadas que fueron regados con agua contaminada por *E. coli*, adquieren de inmediato la bacteria. Esto ocurre por la falta de higiene, el no lavarse las manos, debido a que esta bacteria se disemina de manera fecal oral (Fig. 1).

Esta bacteria patógena llega al agua a través de excremento de humanos o animales y esto es porque tanto las personas como los animales defecan al aire libre, y microorganismos como *E. coli* llegan al agua por escurrimiento de lluvias, polvo aéreo y desechos vegetales. La bacteria puede sobrevivir ahí por largos periodos de tiempo.

La infección procedente del agua, es una fuente importante de diseminación de esta enfermedad, por lo que las aguas potables o de riego se deben proteger de toda contaminación de origen intestinal.

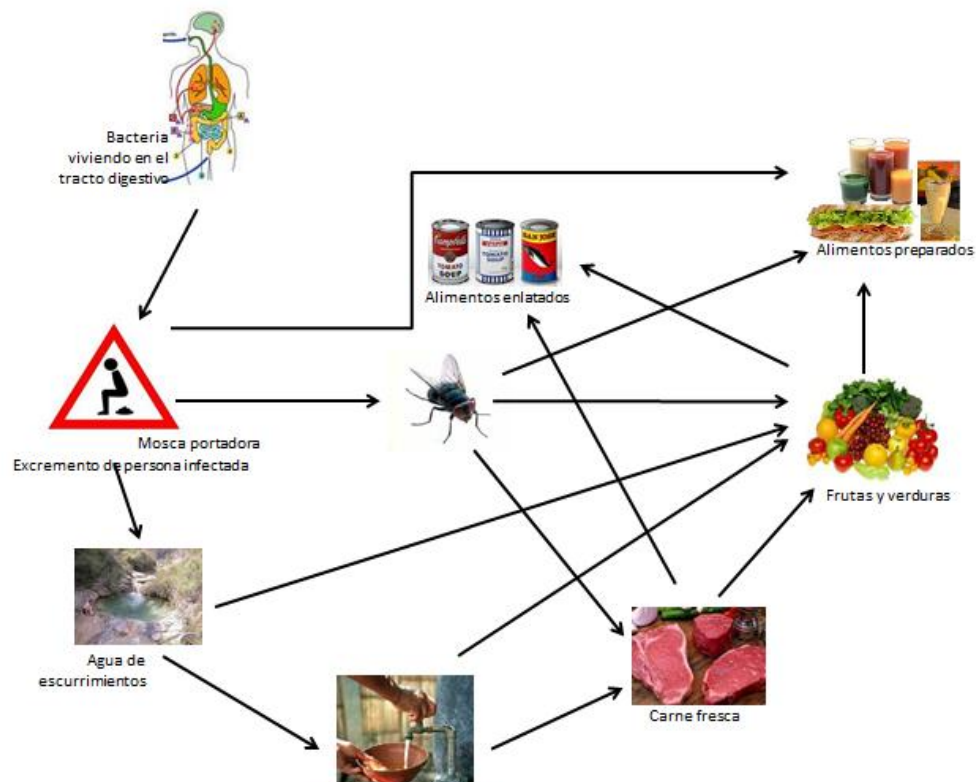


Fig. 1. Ciclo biológico de *Escherichia coli*

3.3.4. SINTOMAS

Un grupo raro que producen una potente toxina es *E. coli* 0157, la cual puede causar un daño severo a las capas del intestino. Brotes de este grupo están asociados con carne de res cruda o mal cocida y leche no pasteurizada. Algunas personas, sobre todo los más viejos o muy jóvenes, desarrollan anemia y falla renal. Esta enfermedad puede tener una tasa de mortalidad de hasta 50% entre las personas de más edad. (<http://www.foogene.co.uk/features/ecoli.htm>) 20 septiembre 2010

Hay distintas clases de *E. coli*, algunas son inofensivas, mientras que otras causan diarreas de distinta gravedad. Los síntomas que inducen las formas patógenas son trastornos gastrointestinales, por lo que los microorganismos se aíslan de las heces, sin embargo pueden invadir otras partes del cuerpo, con mucha frecuencia como las vías urinarias donde causa cistitis (Bryan, 1984).

3.3.5. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS, FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

Los miembros de *E. coli* son bastones gruesos y cortos, que miden de 0.4 a 0.7 μ de ancho y 1.0 a 4.0 μ de longitud. Pueden estar solos o en parejas. Delgados o gruesos y ocasionalmente bipolares. También se presentan en formas pleomórficas. *E. coli* no produce esporas. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram. Móvil por flagelos peritricos. Es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa (Delaat, 1992).

E. coli es aeróbica, pero facultativamente anaeróbica. Los miembros de esta especie se desarrollan bien en medios sencillos de laboratorio, es decir, los que tienen una fuente de nitrógeno inorgánico y glucosa. Producen colonias grandes, húmedas, convexas, hasta en formas de cúpula, enteras, opacas, butirosas, sobre agar sangre en 24 horas. El crecimiento óptimo ocurre a temperaturas entre 20 y 40 °C y a un pH entre 6 y 8. El desarrollo se inhibe con

verde brillante y con una mezcla de desoxicolato de sodio y citrato de sodio (Delaat, 1992).

Para una identificación rápida de la mayor parte de las cepas es útil reconocer las siguientes características: glucosa, lactosa y maltosa y otros carbohidratos son fermentadores con producción de ácidos y gas. Su prueba de IMViC (Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer y Citrato) es ++--, es decir *E. coli* es positivo al indol, positivo al rojo de metilo, negativo a la prueba de Voges-Proskauer y negativo al citrato. No licua la gelatina (Weestrech, 1980).

Particularmente, *E.coli* O157:H7 tolera condiciones de acidez más bajas que las indicadas en el cuadro; se conoce que sobrevive en mayonesa cosa que no se presenta con otros miembros de la misma familia. Esto le permite atravesar la acidez del estómago sin verse afectada

Cuadro 1. Requerimiento de *Escherichia coli*

	MINIMA	OPTIMA	MAXIMA
Temperatura °C	7 – 8	35 - 40	44 - 46
pH	4.4	6 a 7	9.0
Actividad de agua	0.95	0.995	-

3.3.6. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

E. coli se obtiene con más frecuencia en los cultivos de muestra de heces u orina. Como este microorganismo se encuentra presente en la materia fecal de todos los individuos, aun los sanos, no sirve de mucho reconocerlo de muestras de materia fecal, excepto de casos especiales (Lozano, 2000). La identificación final de *E. coli* se hace por serología (Pelczar, 1998).

3.3.7. CONTROL Y TRATAMIENTO

Una manera de controlar a *E. coli* es tener cuidado de lo que se come en la calle, ya que esta bacteria se puede obtener en los alimentos mal procesados, mal lavados o mal preparados.

Las estrategias de control de los microorganismos patógenos consisten en:

- a) evitar el acceso de los microorganismos a los alimentos
- b) inhibir el desarrollo
- c) inactivar los microorganismos

Entre las medidas que evitan el acceso de los microorganismos a

- Frutas y verduras de consumo en fresco, se debe:

Tener cuidado con el agua con la que se riega, ya que si el agua está contaminada por heces fecales, las frutas y verduras estarán contaminadas y posteriormente pasaran al hombre o quien las consuma.

- Carne en un frigorífico, podemos mencionar la:

Limpieza profunda en los animales que ingresan minimizando materia fecal sobre los animales. Uso de equipos limpios y buenas prácticas higiénicas que prevengan la contaminación de las carcasas. Evitar la contaminación intestinal durante la evisceración. Tomar acciones correctivas si se produce contaminación. Después de descuartizar los animales, mantener los equipos limpios y usar prácticas que minimicen la contaminación entre los cortes.

Pelczar (1998) mencionó que un aumento de la temperatura con otro agente que puede ser químico, apresura la destrucción de los microorganismos; la destrucción de *E.coli* en presencia de una solución de fenol se acelera

considerablemente cuando la temperatura aumenta de 30 a 42°C. Así una cantidad pequeña del agente químico a una temperatura elevada logrará el mismo resultado que una cantidad mayor del mismo agente a temperatura más baja.

En el caso de carne, se puede usar por ejemplo, ácidos orgánicos, para descontaminar las carcasas; aunque esta práctica no está permitida para todos los destinos de exportación y además, los resultados del uso de lavados o intervenciones con ácidos orgánicos frente a *E.coli* O1577:H7 muestran datos contradictorios (Michanie, 2003).

3.4. PRODUCTOS EVALUADOS

3.4.1. N-ALQUIL DIMETIL-BENCIL AMONIO CLORADO 40%

Composición:

- Ingrediente activo: N-alkil dimetil-bencil amonio clorado 40%
- Ingrediente inerte: urea tipo G.R.A.S. 60%

Clasificación: Sal de amonio cuaternario

Reg. SAGARPA: Q-7503-035

Reg. EPA: 507; aprobado por USDA., FDA., NTP., OSHA.

ALQUIL es una molécula única en el mercado con elevada actividad microbiciida sobre todo tipo de bacterias, virus y algas. Posee un amplio espectro de acción ajustándose a sus necesidades.

El compuesto es altamente estable y está sustancialmente desprovisto de olor con ligero sabor amargo. Las soluciones preparadas son incoloras, reteniendo el sabor el cual no es transmitido a los alimentos y productos que entren en contacto con ellas. El Alquil reduce grandemente la tensión superficial de las soluciones en las que se utiliza, lo cual brinda una penetración y una excelente acción germicida.

Actúa en presencia de materia orgánica. Es eficaz en pH extremos 3 a 11 y efecto tensoactivo. Es de fácil manejo y preparación. No es irritante, ni corrosivo, no es cancerígeno y no requiere de guantes, mascarillas, ni ropa especial para su aplicación, ya que no produce gases, ni vapores tóxicos. Es 100% biodegradable.

Modo de acción: la solución de Alquil entra en contacto con los microorganismos, causando la anulación de las cargas negativas existentes a su alrededor y provocando: apertura incontrolada de los poros citoplasmáticos, pérdida de elementos esenciales (nitrógeno y fosforo), ingreso de las cadenas de carbono del radical alquilo. Los efectos anteriores causan la destrucción de la membrana y del núcleo celular, asegurando la total eliminación del microorganismo, sin posibilidad de crear resistencia al producto. PAG WEB: <http://www.saludybienestar.org/pdf/ALQUIL.pdf>

Propiedades físicas

Punto de ebullición: Punto intermedio entre los compuestos que no forman puentes de hidrogeno (alcanos o éteres: $\pm 34^{\circ}\text{C}$) y los que sí lo forman (alcoholes: $\pm 117^{\circ}\text{C}$).

Las aminas volátiles por lo común tienen olores repulsivos y desagradables, en cambio las sales de amina y de amonio cuaternario tienen alto punto de fusión, son solubles en agua e inodoras. La carga positiva en un ión de amonio cuaternario le permite ser aplicado como detergente, principalmente en las sales de amonio cuaternario con cadenas hidrocarbonadas largas.

Funciones y usos: Pearce (1978) en Nueva Zelanda, mencionó el uso de un compuesto de amonio cuaternario llamado Mycosan S® como un detergente sanitario ácido a base de n-ALQUIL dimetil bencil amonio clorado al 13.3%, con lo cual se eficientiza la sanidad y limpieza de las pasteurizadoras para controlar *Streptococcus lactis* y *S. cremoris*.

Fessenden y Fessenden (1982) indicaron que los fosfolípidos, sales de amonio cuaternario actúan como agentes emulsificantes, y son uno de los principales componentes de las membranas celulares, los cuales participan en mantener la estructura celular y el transporte selectivo de iones y otras sustancias a través de la membrana.

En cuanto a su acción fungicida, Erwin *et al.*, (1983) mencionaron que la inhibición en el crecimiento y reproducción sexual de los hongos del género *Phytophthora*, se atribuye a la acumulación de ácidos orgánicos en los medios y la producción de niveles tóxicos de amonio. Por su parte Blessmann (1992) comprobó la actividad desinfectante de los compuestos de amonio cuaternario contra hongos en la industria alimenticia, dentro de los cuales se tienen a *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Absidia curvibifera* y *penicillium verrucosum*.

Lohweg y Poschenrieder (1992) probaron la estabilidad y persistencias de 7 desinfectantes contra *Xanthomonas campestris* pv. *pelargoni* y *Phytophthora* sp. “*In Vitro*”, encontrando que el más efectivo contra ambos fue a base de amonio cuaternario.

Garzaroli *et al.*, (1994) encontraron que los compuestos a base de amonio cuaternario, tienen mejor efectividad desinfectante contra *Listeria* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Hafnia* sp., y *Escherichia* sp., que el cloro y el yodo en las plantas pasteurizadoras.

Valladao y Sandine (1994) mediante cromatografía en leche, detectaron la presencia de una mezcla comercial de un compuesto de amonio cuaternario a base de n-alkyl (50% C14, 40% C12 y 10% C16) dimetil bencil amonio clorado, el cual se utilizó como desinfectante en las pasteurizadoras, por lo que se puede pensar que tiene cierta persistencia.

3.4.2. MONOPERSULFATO POTÁSICO, ÁCIDO SULFÁMICO, ÁCIDO MÁLICO

Es un desinfectante de amplio espectro: bactericida, micobactericida, fungicida, esporicida y viricida; a base de un sistema de múltiples componentes que actúa sobre los microorganismos inactivando sus ácidos nucleicos.

Es biodegradable. No incorpora sabores ni olores a los alimentos. Con corto tiempo de acción (5 a 10 minutos). Contiene un agente detergente que permite hacer limpieza y desinfección en un solo paso. No fija materia orgánica ni se inactiva en su presencia.

Composición: Triple sal inorgánica (Monopersulfato potásico, sulfato hidrogeno potásico y sulfato potásico), ácido sulfámico y ácido málico, hexametáfosfato de sodio, dodecil-bencen-sulfonato sódico, cloruro sódico, color amaranto CEE 123 y perfume de cascara de limón.

Puede usarse para desinfectar superficies de trabajo, maquinaria y equipos, suelos, caja de vehículos de reparto de mercancías, herramientas, para desinfectar áreas, etc.

Dispone de un indicador color rosa que advierte al usuario que la solución está activa mientras permanece el color. Cuando se debilita el color, hay que desecharla. La solución Monopersulfato® dura aproximadamente 7 días.

3.4.3. CLORO

El cloro realiza una doble función para mantener la calidad de vida de las personas: por un lado, es el elemento imprescindible para el tratamiento y la potabilización del agua para la prevención y el combate de enfermedades infecciosas; y por el otro, es la materia básica para la fabricación de buena parte de los productos que se utilizan en actividades diarias.

<http://www.cloro.info/index.asp?page=589>

Aproximadamente, el 96% de los productos químicos empleados en la protección de cultivos, para impulsar su producción y calidad, se basan en la química del cloro. Productos que hacen posible la obtención de frutas, verduras, legumbres, cereales etc. en cantidad y calidad suficientes para que puedan ser consumidos por todos.

El cloro en una solución acuosa, utilizado solo o en forma de hipoclorito de sodio, actúa como un potente desinfectante. Añadido al agua destruye rápidamente las bacterias y otros microorganismos que ésta pueda contener, lo que garantiza su potabilidad y ayuda a eliminar sabores y olores.
<http://www.cloro.info/index.asp?page=634>

La eficiencia desinfectante del cloro crece con el aumento del pH, aunque también es cierto lo contrario. El poder biocida del cloro depende mucho de su no disociación en solución acuosa que está directamente relacionada al pH. Pero también hay otros factores, que solos o en combinación, van a determinar la acción biocida del cloro.

3.4.4. PLATA

La mayoría de los metales presenta la propiedad llamada “oligodinamia” que significa “efecto o poder en pequeña cantidad”. Metales como la plata, cobre, mercurio, manganeso y hierro, entre otros, son potenciales desinfectantes del agua. Sin embargo, de todos ellos y por varias razones, solo la plata ha tenido algún uso en la desinfección del agua para consumo humano y como tal ha sido utilizada desde la antigüedad.

La plata no es particularmente tóxica para los humanos, y al ser ingerida, el cuerpo absorbe solo fracciones muy pequeñas de ella. En ciertos tratamientos médicos que usan dosis altas de metal se ha detectado descoloramiento de la piel, pelo y uñas (argiriosis), pero en las concentraciones que se utilizan para

desinfectar el agua, no se ha observado ese inconveniente. La OMS no ha propuesto un valor guía para la plata en el agua para beber, precisamente por esa relativa seguridad que manifiesta. En el tratamiento con plata no se producen sabores, olores ni colores anormales en el agua.

La plata solo tiene propiedades desinfectantes en su estado coloidal, esto es, cuando se presenta en partículas extremadamente pequeñas que permanecen en suspensión y que por su tamaño se cargan con mucha facilidad. En ese estado también es conocida como proteína de plata, sales de plata, proteína de plata ligera y proteína de plata fuerte. Las sales que se utilizan son cloruro de plata y yoduro de plata. <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacg/fulltext/desinfeccion/capitulo9.pdf>

La plata coloidal es un coloide formado de pequeñas partículas de plata metálicas cargadas eléctricamente en forma de átomos y unidas a proteínas (gernetina albumina), cuyo uso es exclusivamente como biocida en México. En Estados Unidos se utiliza también en tratamientos terapéuticos de medicina alternativa (Ayurveda) y en suplementos alimenticios. La plata coloidal cambia de color al exponerse a la luz, tiende a oscurecerse.

http://es.wikipedia.org/wiki/Plata_coloidal

La plata coloidal no es toxica, tiene acción residual y ha sido aprobada por la Secretaria de Salud, como bactericida, potabilizador y descontaminador de agua, frutas, verduras y legumbres. <http://www.bacdyn.com/fichat.html>

La plata en forma coloidal no elimina a los virus, pero se considera de gran eficacia para destruir diversas bacterias.

<http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacg/fulltext/desinfeccion/capitulo9.pdf>

El mecanismo de desinfección actúa por la inactivación de las enzimas de las células bacterianas y hongos que causan oxígenos para su metabolismo, pues causa una disrupción celular, aunque en tiempos muy variables y dependientes de la temperatura. Al respecto, a temperatura de 10°C o menores se requieren

tiempos muy largos, lo que hace difícil determinar el poder germicida con exactitud. <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacg/fulltext/desinfeccion/capitulo9.pdf>

Debido a que la plata coloidal inhibe las enzimas implicadas en el proceso respiratorio de óxido-reducción celular de las bacterias, provocando su muerte en pocos minutos, los microorganismos no pueden desarrollar mecanismos de resistencia como ocurre con los antibióticos. Al contrario de como sucede con dichos antibióticos, la plata coloidal respeta el resto de las enzimas implicadas. Por ello, la plata coloidal es absolutamente segura para el hombre y todos los seres vivos pluricelulares.

3.4.5. SEMILLAS DE CÍTRICOS

Es una asociación de ácidos orgánicos en la que cada uno de ellos ejerce una actividad sinérgica respecto a los otros; en conjunto resulta un producto no tóxico con actividad fungicida y bactericida, sistémico, de amplio espectro, preventivo (curativo en algunos casos), que actúa provocando la ruptura de la membrana celular del patógeno. Parece ser que, como los exoelicitores, ayuda a la formación de fitoalexinas.

Por más de 10 años se ha utilizado en Costa Rica un bactericida elaborado a base de extractos de semilla de cítricos, llamado Kilol LDF100. Este es un producto 100% natural, sin aditivos químicos, que se emplea en agricultura convencional pero que además ha sido aprobado por OMRI (Organic Material Review Institute) para su uso en agricultura orgánica.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Material vegetal

Se obtuvieron frutos de jitomate y se llevaron al laboratorio de Hongos Fitopatógenos de la Maestría en Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo para llevar a cabo el experimento.

4.2. Obtención de la cepa

Se utilizó la bacteria *Escherichia coli*, la cual se obtuvo del Hospital General “Dr. Mauro Belaunzaran Tapia”, ubicado en Cuautla, Morelos, posteriormente se reprodujo en medio selectivo MC (Fig. 2).

4.3. Preparación del tubo de comparación

En base a la escala McFarland, se preparó el tubo #5; el cual requiere 0.5 mL BaCl_2 (Cloruro de Bario) 1% y 9.5 mL H_2SO_4 (Ácido sulfúrico) 1% (Domínguez, 2005). De las cajas Petri con medio selectivo, se tomaron colonias de *E. coli* con un asa bacteriana, las cuales se depositaron en un tubo de ensaye con 20 mL de agua destilada, y en el momento que se observó la misma turbidez de forma visual, se supo que se tenía una dilución bacteriana de $15 \times 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Fig. 3).

4.4. Inoculación de la bacteria y tratamientos con desinfectantes

Los jitomates se lavaron con jabón en polvo y agua corriente. Se dejaron secar a temperatura ambiente (Fig. 4).

En una bandeja con 20 litros de agua se incorporaron 20 mL de la solución bacteriana. Posteriormente se colocaron los frutos de jitomates por inmersión durante 5 minutos (Fig. 5). Transcurrido este tiempo, los frutos se sacaron y se colocaron en charolas de unicel y se metieron en bolsas de polipapel simulando una cámara húmeda (Fig. 6). Se dejaron ahí durante 24 horas para permitir el desarrollo de *E. coli*.

Después de 24 horas de la inoculación, los frutos se colocaron en bandejas con agua conteniendo cada uno de los tratamientos estudiados (Fig. 7).

Después de haber sido aplicados los tratamientos, los frutos se pusieron en charolas de unicel nuevas y se cubrieron con bolsas nuevas, a fin de evitar contaminación (Fig. 8 y 9).

24 horas después de aplicarse los tratamientos, se tomaron las gotas que estaban sobre el fruto (Fig.10), con un asa y se sembraron en cajas Petri con medio selectivo MC (Fig. 11). Este paso se repitió a las 48 y 72 horas.

Las cajas Petri se revisaron diariamente durante 3 días, para observar si hubo crecimiento bacteriano.



Fig. 2. Cepa de *Escherichia coli*



Fig. 3. Tubo de comparación McFarland



Fig. 4. Lavado de frutos



Fig. 5. Inoculación de *E. coli* en frutos



Fig. 6. Simulación cámara húmeda después de inoculación de bacteria



Fig. 7. Aplicación de tratamientos



Fig. 8. Frutos después de aplicación del tratamiento en charolas nuevas



Fig. 9. Charolas cubiertas con bolsas de polipapel nuevas

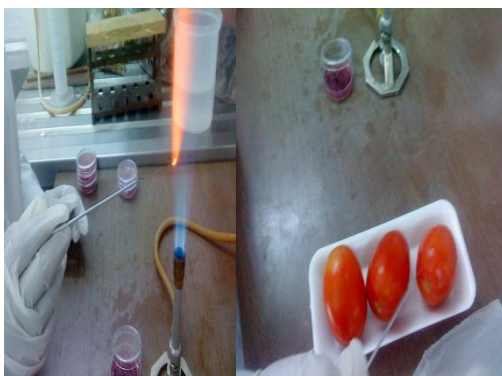


Fig. 10. Esterilización de asa y toma de gotas presentes en el fruto



Fig. 11. Siembra en caja Petri con medio selectivo

Los desinfectantes y dosis evaluadas se muestran enseguida

Cuadro 2. Lista y disposición de los tratamientos aplicados en agua para desinfectar frutos de jitomate inoculados con *E. coli* artificialmente.

# Trat	Ingrediente activo	Dosis recomendada	Dosis evaluada
1	Testigo no inoculado	---	---
2	Testigo inoculado	---	---
3	n-alquill dimetil-bencil amonio clorado (alquil 1)	1g.L ⁻¹	1g.L ⁻¹
4	n-alquill dimetil-bencil amonio clorado (alquil 2)	1g.L ⁻¹	2g.L ⁻¹
5	Plata 0.38% GV	0.2 mL ⁻¹ (10 gotas)	0.2 mL · L ⁻¹
6	Plata 0.38% BC	0.2 mL ⁻¹ (10 gotas)	0.2 mL · L ⁻¹
7	Hipoclorito de sodio 6%	200 ppm	200 ppm (0.02%)
8	Hipoclorito de sodio 6%	200 ppm	500 ppm (0.05%)
9	Ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido láctico (GV)	0.3 mL · L ⁻¹	0.3 mL · L ⁻¹
10	Ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido láctico (A)	5 mL · L ⁻¹	5 mL · L ⁻¹
11	Plata coloidal 0.36% (GA)	0.1 mL ⁻¹ (5 gotas)	0.2 mL · L ⁻¹
12	Plata coloidal 0.32% (BP)	0.2 mL ⁻¹ (10 gotas)	0.2 mL · L ⁻¹
13	Plata ionizada 0.15% (B)	0.2 mL ⁻¹ (10 gotas)	0.2 mL · L ⁻¹
14	Plata ionizada 0.35% (M)	0.2 mL ⁻¹ (10 gotas)	0.2 mL · L ⁻¹
15	Dióxido de cloro 10% (GC)	0.1 mL ⁻¹ (5 gotas)	0.2 mL · L ⁻¹
16	Monopersulfato potásico, ácido sulfámico, ácido málico (monopersulfato 1)	10 g.L ⁻¹	10 g.L ⁻¹
17	Monopersulfato potásico, ácido sulfámico, ácido málico (monopersulfato 2)	10 g.L ⁻¹	20 g.L ⁻¹

1.1. Variable evaluada

Se evaluó la inhibición del crecimiento de la bacteria *Escherichia coli*.

Aplicando una escala arbitraria como se describe a continuación

Cuadro 3. Descripción de escala utilizada

Descripción	Valor
Sin crecimiento	0
Presencia de otras bacterias	1
Presencia de <i>E. coli</i>	2

1.2. Diseño experimental

Para el análisis individual en cada uno de los días de evaluación, se utilizó un modelo correspondiente a un Diseño Completamente al Azar, con 9 repeticiones,

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

μ = Media común a todas las unidades experimentales antes de la aplicación de los tratamientos

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento

E_{ij} = Error asociado al i-ésimo tratamiento en la j-ésima repetición

Para el análisis combinado a través de los tres días de evaluación el modelo que se utilizó fue el siguiente

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \delta_j + (T\delta)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

μ = Media común a todas las unidades experimentales antes de la aplicación de los tratamientos

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento

δ_j = Efecto del j-ésimo día

$(T\delta)_{ij}$ = Efecto de la interacción de los tratamientos y los días

E_{ijk} = Error asociado al i-ésimo tratamiento, en el j-ésimo día y en la k-ésima repetición.

1.3. Análisis estadístico

Dado que los valores individuales obtenidos en la evaluación fueron valores enteros y que corresponden a una variable multi estado (multinomial), se realizó un análisis utilizando Estadística no Paramétrica con modelos categóricos usando el procedimiento CATMOD de SAS, sin embargo no se logró convergencia y por lo tanto no fue posible estimar los parámetros para el Análisis de Varianza.

Similarmente considerando la variable respuesta como una binomial en base a la presencia o ausencia de *E. coli*. Con valor 0 si no estuvo presente y 2 cuando estuvo presente. Se realizó una regresión logística usando como distribución la binomial y como función de enlace el logit. Los resultados fueron similares a los obtenidos con el modelo lineal general de la estadística paramétrica, razón por la cual se prefirió usar los resultados del modelo lineal general, debido a su mayor versatilidad para poder calcular los contrastes y comparaciones múltiples de medias, así como por la simplicidad para su interpretación.

La justificación para el uso del modelo lineal general se obtiene del hecho que al considerar el valor promedio de las 9 repeticiones se obtuvieron valores que corresponden a una variable continua. Se realizaron pruebas de bondad de ajuste y se observó que efectivamente estos valores de las medias tienen distribución simétrica, por lo cual se puede utilizar la estadística paramétrica basada en el modelo lineal general.

De esta forma, los datos se sometieron a análisis de varianza usando los modelos referidos anteriormente, también se realizó una prueba de comparación múltiple de medias con el método de Tukey con una confiabilidad al 95% o nivel de significancia $\alpha = 0.05$. En el análisis individual solo se compararon los diferentes tratamientos, mientras que en el análisis combinado a través de los diferentes días de evaluación, se compararon tanto los tratamientos como los días. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el Programa Statistical Analysis System (SAS) versión 9.15 (SAS, 2010).

Con la finalidad de comparar el comportamiento promedio de algunos de los grupos de tratamientos evaluados, se realizaron también algunos contrastes específicos como: i).- tratamientos con base en Alquil vs los tratamientos con base en plata, ii).- grupo de tratamientos con base en cítricos vs grupo basado en cloro, iii).- tratamientos Alquil vs Monopersulfato, iv).- Alquil vs Cloro; v).-

Alquil vs Cítricos, vi).- Plata vs Cítricos, vii).- Plata vs Cloro, viii).- Monopersulfato vs Cítricos, ix).- Monopersulfato vs Cloro y x).- Monopersulfato vs Plata

Lo anterior tanto en los análisis individuales por día como en el análisis combinado a través de los tres días.

IV. RESULTADOS

En los análisis de varianza individuales para cada uno de los días, en todos los casos se obtuvo una alta significancia de los tratamientos ($Pr < 0.0001$).

Cuadro 4. Análisis de varianza individual de la eficacia de los tratamientos en el control del crecimiento de *Escherichia coli* en frutos de jitomate inoculada artificialmente.

Fuente	Cuadrado Medio del Error	Cuadrado Medio	F	Pr > F
D í a 1				
Trat	0.4264706	3.52042484	8.25	<.0001
D í a 2				
Trat	0.2287582	6.7426471	29.47	<.0001
D í a 3				
Trat	0.1421569	6.04493464	42.52	<.0001

Igualmente en el análisis combinado a través de los tres días, se obtuvo alta significancia para los tratamientos, los días y para la interacción tratamientos por días ($Pr < 0.0001$).

Cuadro 5. Análisis de varianza combinado de la eficacia de los tratamientos en el control del crecimiento de *Escherichia coli* en frutos de jitomate inoculada artificialmente, analizado por día, tratamiento y la interacción día*tratamiento

Fuente	Cuadrado Medio del Error	Cuadrado medio	F	Pr > F
Día	0.2657952	13.1002179	49.29	< 0 .0001
Trat	0.2657952	14.8020153	55.69	< 0 .0001
Día * Trat	0.2657952	0.7529956	2.83	< 0 .0001

En los resultados de la prueba de comparaciones de medias se tiene que para el primer día los mejores tratamientos fueron hipoclorito de sodio a 200 y 500 ppm, cítricos (5 mL.L^{-1}), y monopersulfato a 10 y 20 g.L^{-1} (0.0000) ya que no permitieron el crecimiento de la bacteria. Los peores tratamientos para ese mismo día, sin diferencias significativas fueron dióxido de cloro (0.2 mL.L^{-1}), testigo inoculado (1.7778) y plata coloidal 0.32% (0.2 mL. L^{-1}) (1.3333).

Cuadro 6. Valores de medias y agrupación Tukey a las 24 horas (día 1) de la eficacia de los tratamientos para el control del crecimiento de *Escherichia coli*, inoculada artificialmente en frutos de jitomate.

Agrupación Tukey				Media	N	Trat
	A			1.7778	9	Dióxido de cloro
	A			1.7778	9	Testigo inoculado
B	A			1.3333	9	Plata coloidal 0.32%
B	A	C		1.1111	9	Plata 0.38% BC
B	A	C		1.1111	9	Plata ionizada 0.35%
B	D	A	C	0.8889	9	Plata 0.38% GV
B	D	A	C	0.8889	9	Plata coloidal 0.36%
B	D	A	C	0.7778	9	Cítricos GV
B	D		C	0.6667	9	Testigo no inoculado
B	D		C	0.6667	9	Plata ionizada 0.15%
	D		C	0.1111	9	Alquil 2
	D		C	0.1111	9	Alquil 1
	D			0.0000	9	Cloro 2
	D			0.0000	9	Cítricos A
	D			0.0000	9	Cloro 1
	D			0.0000	9	Monopersulfato 1
	D			0.0000	9	Monopersulfato 2

A las 48 horas (día dos), los tratamientos que no permitieron crecimiento de la bacteria fueron hipoclorito de sodio a 200 y 500 ppm y monopersulfato a 10 y 20 g.L⁻¹ (0.0000) y los tratamientos que presentaron crecimiento sin diferencia significativa fueron cítricos (0.3 g.L⁻¹), plata ionizada 0.35% (0.2 g.L⁻¹), dióxido de cloro (0.2 g.L⁻¹), testigo inoculado (2.0000) y plata coloidal 0.36% (0.2 g.L⁻¹) (1.8889).

Cuadro 7. Valores de medias y agrupación Tukey a las 48 horas (día 2) de la eficacia de los tratamientos para el control del crecimiento de *Escherichia coli* inoculada artificialmente en frutos de jitomate.

Agrupación Tukey		Media	N	Trat
	A	2.0000	9	Cítricos GV
	A	2.0000	9	Testigo inoculado
	A	2.0000	9	Dióxido de cloro
	A	2.0000	9	Plata ionizada 0.35%
	A	1.8889	9	Plata coloidal 0.36%
B	A	1.7778	9	Plata ionizada 0.15%
B	A	1.5556	9	Plata coloidal 0.32%
B	A	1.2222	9	Plata 0.38% BC
B	A	1.2222	9	Plata 0.38% GV
B	C	1.0000	9	Testigo no inoculado
D	C	0.2222	9	Cítricos A
	D	0.1111	9	Alquil 2
	D	0.1111	9	Alquil q
	D	0.0000	9	Cloro 2
	D	0.0000	9	Cloro 1
	D	0.0000	9	Monopersulfato 1
	D	0.0000	9	Monopersulfato 2

A las 72 horas (tercer día) continuaron siendo los mejores tratamientos el hipoclorito de sodio a 200 y 500 ppm y el monopersulfato potásico a 10 g.L⁻¹ (0.0000) y los que permitieron crecimiento fueron cítricos (0.3 g.L⁻¹), plata coloidal 0.36% (0.2 g.L⁻¹), plata coloidal 0.32% (0.2 g.L⁻¹), plata ionizada 0.15% (0.2 g.L⁻¹), plata ionizada 0.35% (0.2 g.L⁻¹), dióxido de cloro (0.2 g.L⁻¹) y testigo inoculado sin diferencias significativas (2.0000) .

Cuadro 8. Valores de medias y agrupación Tukey a las 72 horas (día 3) de la eficacia de los tratamientos para el control del crecimiento de *Escherichia coli* inoculada artificialmente en frutos de jitomate.

Agrupación Tukey			Media	N	Trat
	A		2.0000	9	Cítricos GV
	A		2.0000	9	Testigo inoculado
	A		2.0000	9	Plata coloidal 0.36%
	A		2.0000	9	Plata coloidal 0.32%
	A		2.0000	9	Plata ionizada 0.15%
	A		2.0000	9	Plata ionizada 0.35%
	A		2.0000	9	Dióxido de cloro
B	A		1.7778	9	Plata 0.38% GV
B	A	C	1.4444	9	Plata 0.38% BC
B		C	1.3333	9	Cítricos S
	D	C	1.0000	9	Testigo no inoculado
E	D		0.6667	9	Alquil 1
E	D		0.6667	9	Alquil 2
E	F		0.2222	9	Monopersulfato 1
	F		0.0000	9	Cloro 1
	F		0.0000	9	Cloro 2
	F		0.0000	9	Monopersulfato 2

En relación al análisis combinado, los tratamientos que no permitieron crecimiento de *Escherichia coli* fueron el hipoclorito de sodio a 200 y 500 ppm y el monopersulfato a 10 g.L⁻¹ (0.0000) para los cuales no hubo diferencias significativas, mientras que los peores tratamientos fueron el dióxido de cloro (0.2 g.L⁻¹) y testigo inoculado (1.9259), también sin diferencia significativa entre ellos. Los tratamientos plata ionizada 0.35% (0.2 g.L⁻¹), plata coloidal 0.32% (0.2 g.L⁻¹), cítricos (0.3 g.L⁻¹), plata coloidal 0.36% (0.2 g.L⁻¹), plata ionizada 0.15% (0.2 g.L⁻¹), tampoco fueron significativamente diferentes de los tratamientos dióxido de cloro y testigo inoculado.

Cuadro 9. Valores de medias y agrupación Tukey combinado de la eficacia de los tratamientos para el control del crecimiento de *Escherichia coli* inoculada artificialmente en frutos de jitomate.

Agrupación Tukey		Media	N	Trat
	A	1.9259	27	Dióxido de cloro
	A	1.9259	27	Testigo inoculado
B	A	1.7037	27	Plata ionizada 0.35%
B	A	1.6296	27	Plata coloidal 0.32%
B	A	1.5926	27	Cítricos GV
B	A	1.5926	27	Plata coloidal 0.36%
B	A	1.4815	27	Plata ionizada 0.15%
B	C	1.2963	27	Plata 0.38% GV
B	C	1.2593	27	Plata 0.38% BC
D	C	0.8889	27	Testigo no inoculado
D	E	0.5185	27	Cítricos A
F	E	0.2963	27	Alquil 2
F	E	0.2963	27	Alquil 1
F	E	0.0741	27	Monopersulfato 1
F		0.0000	27	Cloro 1
F		0.0000	27	Cloro 1
F		0.0000	27	Monopersulfato 2

En cuanto al efecto promedio de grupos comparados por medio de contrastes, a continuación se mencionan los contrastes evaluados

Cuadro 10. Contrastes evaluados por grupos basados en el mismo ingrediente activo, para el control del crecimiento de *Escherichia coli* inoculada artificialmente en frutos de jitomate.

CONTRASTE	GRUPO 1	vs	GRUPO 2
1	ALQUIL		PLATA
2	CITRICOS		CLORO
3	ALQUIL		MONOPERSULFATO
4	ALQUIL		CLORO
5	ALQUIL		CITRICOS
6	PLATA		CITRICOS
7	PLATA		CLORO
8	MONOPERSULFATO		CITRICOS
9	MONOPERSULFATO		CLORO
10	MONOPERSULFATO		PLATA

Para el contraste uno, el análisis de varianza utilizado mostró diferencias significativas (Prob= 0.0001) entre los grupos alquil y plata. Durante los tres días el alquil fue el grupo que permitió el menor crecimiento de *Escherichia coli*, con respecto a la plata. Mientras que para el caso del contraste dos, a las 24 horas (día 1) no hubo diferencias significativas (Prob=0.0762) entre los grupos cítricos y cloro. Sin embargo a las 48 y 72 horas (día 2 y 3 respectivamente), si hubo diferencias significativas (Prob=0.0001) y el cloro fue el grupo que no permitió el crecimiento de la *Escherichia coli*. El ANOVA del contraste tres demostró que a las 24 y 48 horas (día 1 y 2) no se presentaron diferencias significativas (Prob= 0.6106 y Prob= 0.4870 respectivamente). Mientras que a las 72 horas (día 3) si hubo diferencias significativas (Prob=0.0001) siendo el grupo alquil el que permitió el menor crecimiento de *Escherichia coli*, con respecto al monopersulfato. En el contraste cuatro solo hubo diferencias significativas (Prob= 0.0001) para las 72 horas (día 3) entre los grupos alquil y cloro. Siendo el grupo cloro, el que no permitió el crecimiento de *Escherichia coli*. y en el contraste cinco a las 24 horas (día 1) no hubo diferencias significativas (Prob= 0.2041) entre los grupos alquil y cítricos. A las 48 y 72 horas (días 2 y 3) si hubo diferencias significativas (Prob= 0.0001) y el alquil fue el grupo que no permitió el crecimiento de la bacteria.

Cuadro 11. Efecto promedio de tratamientos agrupados por ingrediente activo para el control del crecimiento de *Escherichia coli* inoculada artificialmente en frutos de jitomate.

CONTRASTE UNO				
Día	Significancia	Alquil	Plata	Diagnostico
1	< 0.0001	0.1111	1	ALQUIL
2	< 0.0001	0.1111	1.6111	ALQUIL
3	< 0.0001	0.6667	1.8703	ALQUIL
CONTRASTE DOS				
Día	Significancia	Cítricos	Cloro	Diagnostico
1	0.0762	0.3889	0.0000	--
2	< 0.0001	1.1111	0.0000	COLORO
3	< 0.0001	1.6666	0.0000	COLORO
CONTRASTE TRES				
Día	Significancia	Alquil	Monopersulfato	Diagnostico
1	0.6106	0.1111	0.0000	--
2	0.4870	0.1111	0.0000	--
3	< 0.0001	0.6667	1.1111	ALQUIL
CONTRASTE CUATRO				
Día	Significancia	Alquil	Cloro	Diagnostico
1	0.6106	0.1111	0.0000	--
2	0.4870	0.1111	0.0000	--
3	0.0001	0.6667	0.0000	COLORO
CONTRASTE CINCO				
Día	Significancia	Alquil	Cítricos	Diagnostico
1	0.2041	0.1111	0.3889	--
2	0.0001	0.1111	1.1111	ALQUIL
3	0.0001	0.6667	1.6666	ALQUIL

En el contraste seis los resultados presentaron diferencias significativas en los tres días (Día 1 Prob= 0.0008, día 2 Prob= 0.0002 y día 3 Prob= 0.0491) entre los grupos plata y cítricos. Durante los tres días el grupo cítricos fue el grupo que permitió el menor crecimiento de *Escherichia coli*, con respecto al grupo plata. En el contraste siete hubo diferencias significativas (Prob= 0.0001) entre los grupos plata y cloro. Durante los tres días el cloro fue el grupo que no permitió el crecimiento de *Escherichia coli*. Los resultados del ANOVA del contraste ocho indicaron que a las 24 horas (día 1) no hubo diferencias significativas (Prob=0.0762) entre los grupos monopersulfato y cítricos. A las 48 y 72 horas (día 2 y 3) si hubo diferencias significativas (Prob=0.0001) y el monopersulfato fue el grupo que permitió el menor crecimiento de *Escherichia coli*, con respecto al grupo cítricos. Para el caso del contraste nueve los resultados demostraron que ninguno de los tres días hubo diferencias significativas (Día 1 Prob= 1.0000, día 2 Prob= 1.0000 y día 3 Prob= 0.3782), de lo cual se infiere que es indistinto usar monopersulfato o cloro para el control de *E. coli*, para el caso de este contraste. En el contraste diez los tres días presentaron diferencias significativas (Prob= 0.0001) entre los grupos monopersulfato y plata, siendo el grupo monopersulfato el que permitió el menor desarrollo de *E. coli* con respecto al grupo plata.

Cuadro 12. Efecto promedio de tratamientos agrupados por ingrediente activo para el control del crecimiento de *Escherichia coli* inoculada artificialmente en frutos de jitomate.

CONTRASTE 6				
Día	Significancia	Plata	Cítricos	Diagnostico
1	0.0008	1	0.3889	CITRICOS
2	0.0002	1.6111	1.1111	CITRICOS
3	0.0491	1.8703	1.6666	CITRICOS
CONTRASTE 7				
Día	Significancia	Plata	Cloro	Diagnostico
1	0.0001	1	0.0000	COLORO
2	0.0001	1.6111	0.0000	COLORO
3	0.0001	1.8703	0.0000	COLORO
CONTRASTE 8				
Día	Significancia	Monopersulfato	Cítricos	Diagnostico
1	0.0762	0.0000	0.3889	--
2	0.0001	0.0000	1.1111	MONOPERSULFATO
3	0.0001	0.1111	1.6666	MONOPERSULFATO
CONTRASTE 9				
Día	Significancia	Monopersulfato	Cloro	Diagnostico
1	1.0000	0.0000	0.0000	--
2	1.0000	0.0000	0.0000	--
3	0.3782	0.1111	0.0000	--
CONTRASTE 10				
Día	Significancia	Monopersulfato	Plata	Diagnostico
1	0.0001	0.0000	1	MONOPERSULFATO
2	0.0001	0.0000	1.6111	MONOPERSULFATO
3	0.0001	0.1111	1.8703	MONOPERSULFATO

Contrastes a través de los días (Día*Trat)

Los resultados señalaron que en los contrastes alquil vs monopersulfato (Prob= 0.0093), alquil vs cloro (Prob= 0.0030), alquil vs plata, cítricos vs cloro, alquil vs cítricos, plata vs cítricos, plata vs cloro, monopersulfato vs cítricos y monopersulfato vs plata (0.0001) hubo diferencias significativas. Lo cual indicó que en el contraste cítricos vs cloro, alquil vs cloro y plata vs cloro, el grupo que no permitió que se desarrollara la bacteria fue el cloro. En el caso de los contraste alquil vs plata y alquil vs cítricos, el grupo que permitió el menor desarrollo bacteriano fue el alquil y en el contraste plata vs cítricos, el que menor crecimiento de *E. coli* permitió fue el grupo de cítricos. Para los contrastes alquil vs monopersulfato, monopersulfato vs cítricos y monopersulfato vs plata, el mejor tratamiento fue el monopersulfato, ya que no dejó que *Escherichia coli* se desarrollara.

Cuadro 13. Efecto promedio a través de los días de los tratamientos agrupados por ingrediente activo para el control del crecimiento de *Escherichia coli* inoculada artificialmente en frutos de jitomate.

Contraste	Significancia	Grupo 1	Grupo 2	Diagnostico
1	< 0.0001	0.2963	1.4938	ALQUIL
2	< 0.0001	1.0555	0.0000	COLORO
3	0.0093	0.2963	0.0370	MONOPERSULFATO
4	0.0030	0.2963	0.0000	COLORO
5	0.0001	0.2963	1.0555	ALQUIL
6	0.0001	1.4938	1.0555	CITRICOS
7	0.0001	1.4938	0.0000	COLORO
8	0.0001	0.0370	1.0555	MONOPERSULFATO
9	0.7091	0.0370	0.0000	--
10	0.0001	0.0370	1.4938	MONOPERSULFATO

CONCLUSIONES

Es importante aclarar que en las imágenes se ven crecimientos de color blanco que corresponden a otras bacterias mas no son colonias de *Escherichia coli*. El medio MC se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos y permite diferenciar bacterias que utilizan o no lactosa. Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares. Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras.

El hipoclorito de sodio a 200 y 500 ppm y el monopersulfato potásico a 20 g.L⁻¹ durante y después de 72 horas (3 días) fueron los tratamientos que no permitieron el desarrollo de *Escherichia coli* en medio de cultivo MC aislada de frutos de jitomate inoculados artificialmente con 15x10⁸ UFC.mL⁻¹ de *E. coli* y tratados con dichos productos durante 5 min en inmersión. Por su parte, el monopersulfato potásico a 10 g.L⁻¹ retrasó el crecimiento de *Escherichia coli* hasta las 72 horas (3 días), mientras que el cítricos a 5 g.L⁻¹ lo hizo hasta las 24 horas (1 día), esto en medio de cultivo MC aislada de frutos de jitomate inoculados artificialmente con 15x10⁸ UFC.mL⁻¹ de *E. coli* y tratados con dichos productos durante 5 min en inmersión.

Los peores tratamientos durante los tres días fueron el Testigo inoculado y el dióxido de cloro (0.2 mL.L⁻¹) ya que desde el primer día presentaron crecimiento de *E. coli*. Otros que también se consideraron dentro de los peores tratamientos fueron cítricos GV (0.3 mL.L⁻¹), Plata coloidal 0.36% GA (0.2 mL.L⁻¹), Plata ionizada 0.35% (0.2 mL.L⁻¹), ya que con el paso de los días siguieron permitiendo el crecimiento de la bacteria en medio de cultivo MC aislada de frutos de jitomate inoculados artificialmente con 15x10⁸ UFC.mL⁻¹ de *E. coli* y tratados con dichos productos durante 5 min en inmersión.

En cuanto al comportamiento promedio de los grupos de tratamientos evaluados, se tiene que en tres de cuatro contrastes donde se comparó alquil contra plata, monopersulfato y cítricos, el alquil resultó el mejor tratamiento excepto en la comparación alquil contra cloro, donde el último fue el mejor para el control de *E. coli*. Pearce (1978) mencionó que con el uso de un producto a base de n- alquil dimetil bencil amonio clorado al 13.3% se mejora la sanidad y limpieza de pasteurizadoras en el control de bacterias como *Streptococcus lactis* y *S. cremoris*.

En tres contrastes de cuatro donde se comparó el cloro contra otros productos, el cloro resultó ser el mejor producto ya que no permitió el crecimiento de *E. coli* ni de ninguna otra bacteria durante 72 horas (3 días). En el contraste donde se comparó el cloro vs monopersulfato, no hay diferencia de usar uno u otro ya que los dos son efectivos en el control de *E. coli*.

En los contrastes donde se comparó monopersulfato vs plata y monopersulfato vs cítricos, el que permitió el menor desarrollo de *E. coli* fue el monopersulfato durante 72 horas (3 días)

El grupo de cítricos solo fue mejor al compararlo contra el grupo plata, ya que el grupo cítricos permitió el menor crecimiento de *Escherichia coli* durante 72 horas (3 días).

Es importante mencionar que estos tratamientos fueron trabajados con una concentración alta de bacteria (15×10^8 UFC.mL⁻¹), que normalmente y bajo el Programa de Inocuidad, (ahora Sistema de Reducción de Riesgos de Contaminación) que trabajan las unidades de campo y las empacadoras, no es posible que contenga esta cantidad de bacteria. Es por eso que algunos productos, específicamente los que se evaluaron a base de plata, en este estudio no resultaron ser efectivos, lo cual no indica que no sean eficientes en la desinfección de verduras en el hogar.

LITERATURA CITADA

- Blessmann, G. 1992. Testing the fungicidal activity of disinfectants used in the food industry against mould fungi. Fachbereich Veterinarmedizin, Freien Universitat; Berlin, Germany.
- Brust-Carmona, H.A. Aguilar., Benítez, A., Bernal, J., Zarco, J. Y Vidrio, H. (1995) Tecnología apropiada para la desinfección del agua para uso y consumo humano, eficiencia de la celda MOGGOD-CEDAT. En memorias del seminario sobre desinfección del agua. México, pp. 18-28.
- Bryan, H.A. 1984. Bacteriología. Principios y prácticas. CECSA. México, D.F. pp. 42-345.
- Campos, S. J. 2000. Diferenciación bioquímica de *Shigella* spp. y *Salmonella* spp. Obtenidas de zanahoria (*Daucus carota*) en Chapingo, México. Tesis de Licenciatura Parasitología Agrícola. Chapingo, Méx.
- Delaat, N.C. 1992. Microbiología. Interamericana McGrawHill. México, D.F. pp. 302-303.
- Domínguez, C.S. 2005. Laboratorio de Microbiología. Arola Editors. España. pp. 211-217.
- Erwin, D.C., Bartnicki-Garcia, S and Tsao, P.H. 1983. *Phytophthora*: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- Fessenden, R.J. y Fessenden, J.S. 1982. Química Orgánica. Ed. Iberoamericana. 2ª ed. México, D.F.
- Freeman, B.A. 1992. Microbiología de Burrows. Interamericana McGrawHill. México, D.F. pp. 498-514.
- Garzaroli, C., Battistella, M., and Rondinini, G. 1994. Enterobacteria in diary product: source and sensivity to disinfectants. Microbiologie, Aliments, Nutrition. 12 (3):285-293.
- Landeen, L.K., Yahya, M.T., Gerba, C.P.1989. Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in inactivation of *Legionella pneumophila*. Appl. Environ. Microbiol. 55(12):3045-3050
- Levine, M.M. 1987. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropahtogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroahrent. J. Infect. Dis. 1: 373-389

- Lohweg, E. and Poschenrieder, G. 1992. Desinfectants: longevity of action and stability. Significance of dirt load. *Gartnerborse und Gartenwelt*. 92 (42): 102-103.
- Lozano, R.N. 2000. Supervivencia de *Escherichia coli* en fresa (*Fragaria chiloensis*) en postcosecha. Tesis Licenciatura Parasitología Agrícola. Chapingo, Méx.
- Michanie, S.2003. *Escherichia coli* O157:H7. La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. Énfasis Alimentos. Año IX, N°3. Julio-Agosto.
- Morejón, M.P.L.; Caballero, T.A.; Cardona, G.M.; Díaz, L.T. y Sánchez A.Y. 2006. Control Sanitario de las Frutas y los Vegetales. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. OMS. Cuba.
- Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate, Ed. Mundi Prensa. Madrid, España. 793p.
- Pearce, L.E. 1978. Quaternary Ammonium Detergent Saniters and Start Activity. N.Z.J. *Diary Sci. Technol*. 13: 56-58.
- Pelczar, M.J.; Reid, R.D.; Chan, E.C.S. 1998. Microbiología. 4ª ed. McGrawHill. México, D.F.
- SAGARPA. 1998. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. InfoAserca. Claridades Agropecuarias. "El Jitomate, la hortaliza de excelencia en exportación". Publicación mensual (octubre) No. 62. México, Distrito Federal. (Consultado Septiembre, 2010) <http://www.aserca.gob.mx/sicsa/claridades/revistas.asp>
- SAGARPA. 2010. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Monografía de los cultivos. Subsecretarías de Fomento a los Agronegocios. México, Distrito Federal.
- Thurman, R.B. y Gerba, C.P. 1989. The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*. 18(4): 295-315.
- Valladao, M. and Sandine, W.E. 1994. Quaternary Ammonium Compounds in Milk: detection by reverse-phase high performance liquid chromatography and their effect on strater growth. *J. of Dairy Sci.*, 77: 1509-1514
- Yahya, M.T., Landeen, L.K, Messina, M.C., Kutz, S.M., Schulza, R., Gerba, C.P. (1990) .Disinfection of bacteria in water systems by using electrolytically generated copper:silver and reduced levels of free chlorine. *Can. J. Microbiol*. 36:109-116.

Zamora, G.I.A. 2008. Principales insectos plaga que afectan los cultivos de jitomate (*Lycopersicum esculentum* M.) y chile (*Capsicum annum* L.) en Vista Hermosa y Yurecuaro, Michoacán. Tesis licenciatura Parasitología Agrícola. Chapingo, Méx.

ANEXO DE IMÁGENES



Fig. 12. Testigo no inoculado (jitomate sumergido en agua de la llave). Crecimiento de bacterias no objetivo (colonias color blanco) a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 13. Testigo no inoculado (jitomate sumergido en agua de la llave). Crecimiento de bacterias no objetivo (colonias color blanco) a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 14. Testigo no inoculado (jitomate sumergido en agua de la llave). Crecimiento de bacterias no objetivo (colonias color blanco) a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 15. Testigo inoculado. Crecimiento de *Escherichia coli* (colonias color rosa) a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 16. Testigo inoculado. Crecimiento de *Escherichia coli* (colonias color rosa) a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.

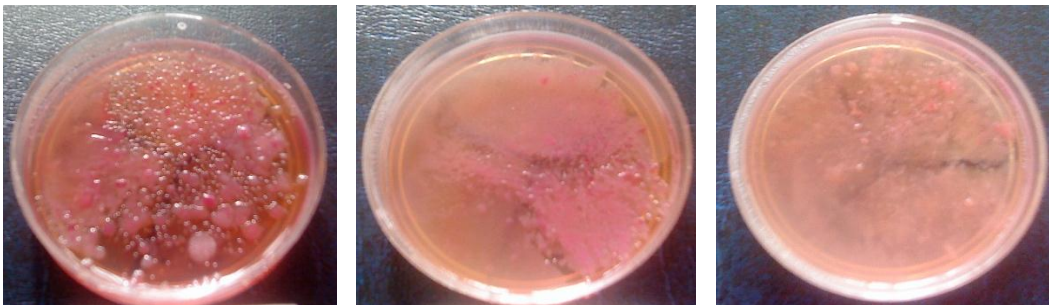


Fig. 17. Testigo inoculado. Crecimiento de *Escherichia coli* (colonias color rosa) a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 18. Alquil 1g.L^{-1} . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de *E. coli*

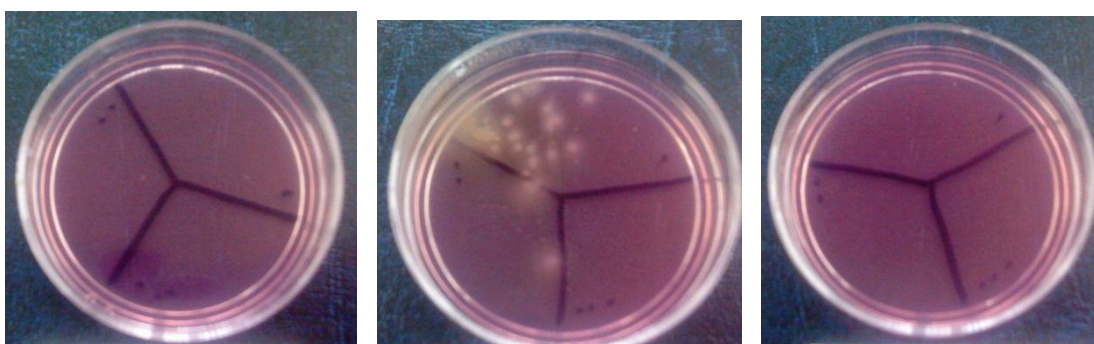


Fig. 19. Alquil 1g.L^{-1} . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de *E. coli*



Fig. 20. Alquil 1g.L^{-1} . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de *E. coli*



Fig. 21. Alquil 2g.L^{-1} . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de *E. coli*

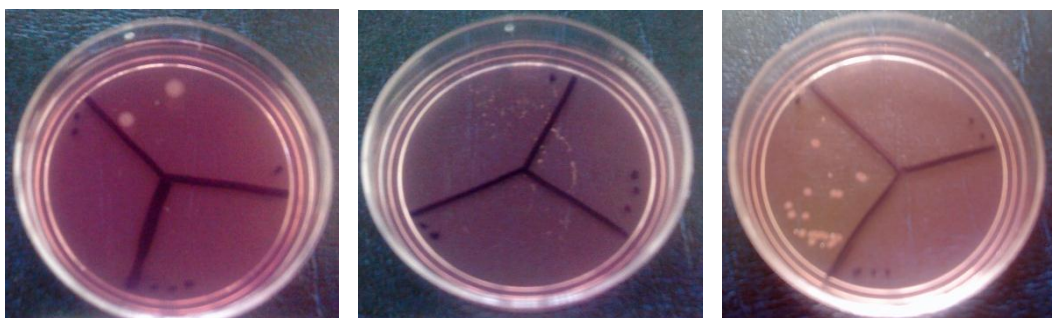


Fig. 22. Alquil 2g.L^{-1} . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de *E. coli*



Fig. 23. Alquil 2g.L^{-1} . Crecimiento de bacterias no objetivo a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente. No se observa presencia de *E. coli*



Fig. 24. Plata 0.38% GV. Crecimiento de *E. coli* en las placas izquierda y central a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa del lado derecho no se observa presencia de *E. coli*, solo hay presencias de bacterias no objetivo.



Fig. 25. Plata 0.38% GV. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las placas izquierda y central a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa del lado derecho (colonias color blanco) no se observa presencia de *E. coli*



Fig. 26. Plata 0.38% GV. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las placas izquierda y central a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa del lado derecho (colonias color blanco) no se observa presencia de *E. coli*



Fig. 27. Plata 0.38% BC. Crecimiento de *E. coli* en las placas izquierda y central a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa del lado derecho (colonias color blanco) no se observa presencia de *E. coli*



Fig. 28. Plata 0.38% BC. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las placas izquierda y central a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. Al mismo tiempo de incubación se observa presencia de *E. coli* en la placa del lado derecho.

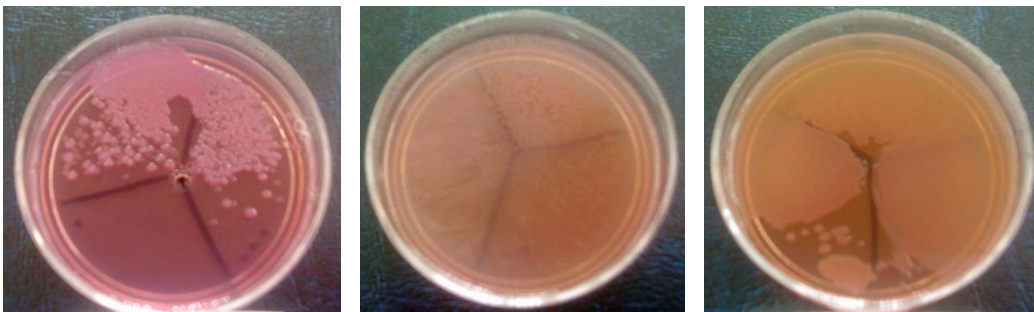


Fig. 29. Plata 0.38% BC. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las placas tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 30. Hipoclorito de sodio a 200 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 31. Hipoclorito de sodio a 200 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 32. Hipoclorito de sodio a 200 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 33. Hipoclorito de sodio a 500 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.

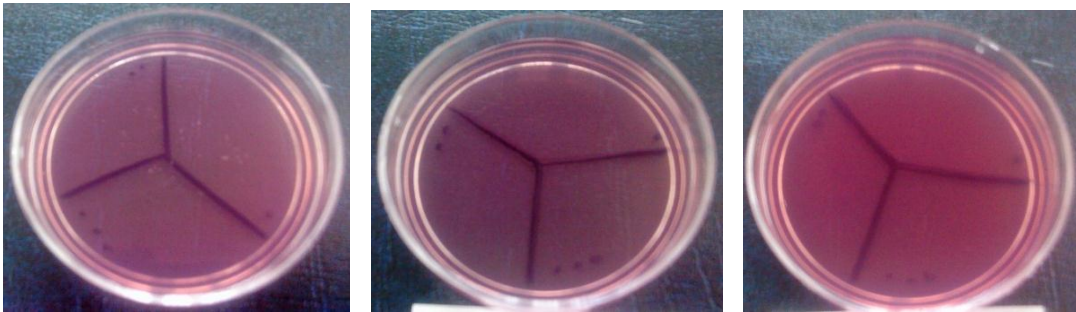


Fig. 34. Hipoclorito de sodio a 500 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 35. Hipoclorito de sodio a 500 ppm. No se observa crecimiento microbiano a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.

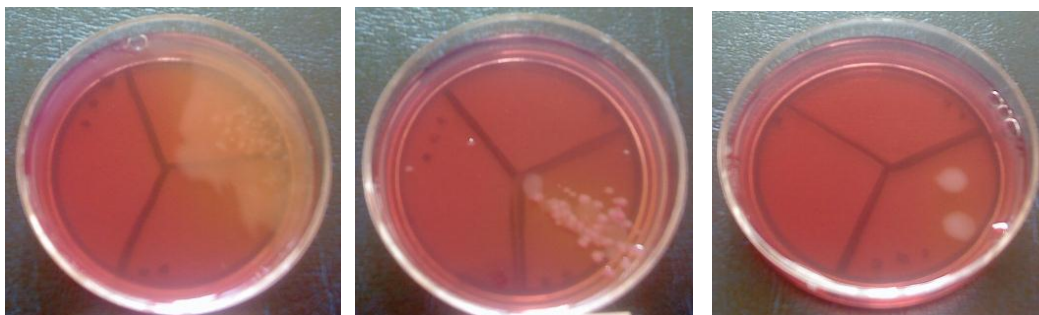


Fig. 36. Cítricos GV. Crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 24 horas de incubación.



Fig. 37. Cítricos GV. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 48 horas de incubación.



Fig. 38. Cítricos GV. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 72 horas de incubación.



Fig. 39. Cítricos A. Se observa crecimiento de bacterias no objetivo (colonias color blanco) a las 24 horas de incubación. No hay presencia de *E. coli*.



Fig. 40. Cítricos A. Se observa crecimiento de *E. coli* en la placa central a las 48 horas de incubación. Placas izquierda y derecha con presencia de bacterias no objetivo.



Fig. 41. Cítricos A. Evolución del crecimiento de *E. coli* en la placa central a las 72 horas de incubación.

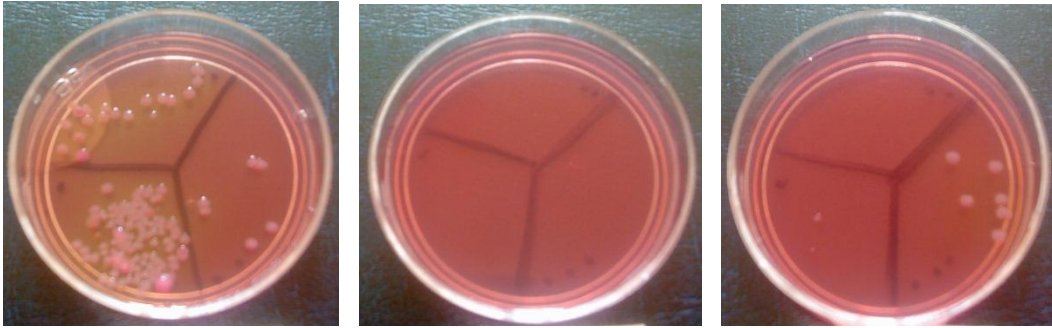


Fig. 42. Plata 0.36%. Crecimiento de *Escherichia coli* en las placas izquierda y derecha a las 24 de horas de incubación a temperatura ambiente. En placa central no se observa crecimiento bacteriano alguno.



Fig. 43. Plata 0.36%. Evolución del crecimiento de *Escherichia coli* en las placas izquierda y derecha a las 48 de horas de incubación a temperatura ambiente. Al mismo tiempo de incubación ya se observa la presencia de *E coli* en la placa central.



Fig. 44. Plata 0.36%. Evolución del crecimiento de *Escherichia coli* en las tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.

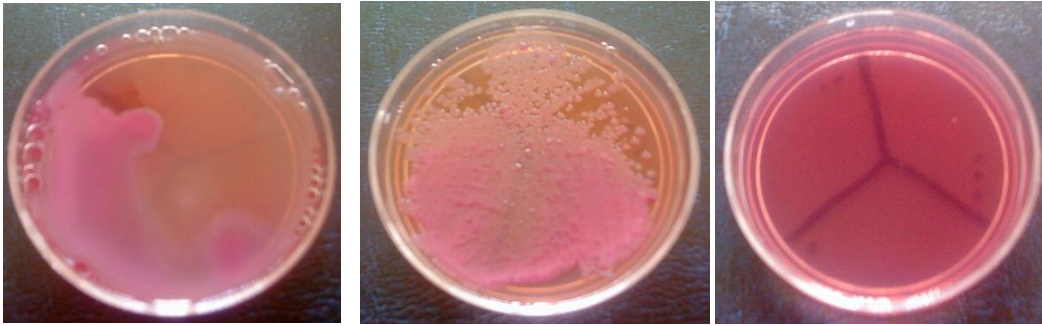


Fig. 45. Plata 0.32%. Crecimiento de *E. coli* en las placas izquierda y central a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa derecha no se observa crecimiento bacteriano.



Fig. 46. Plata 0.32%. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las placas izquierda y central a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa derecha ya se observa la presencia de *E. coli*.



Fig. 47. Plata 0.32%. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.

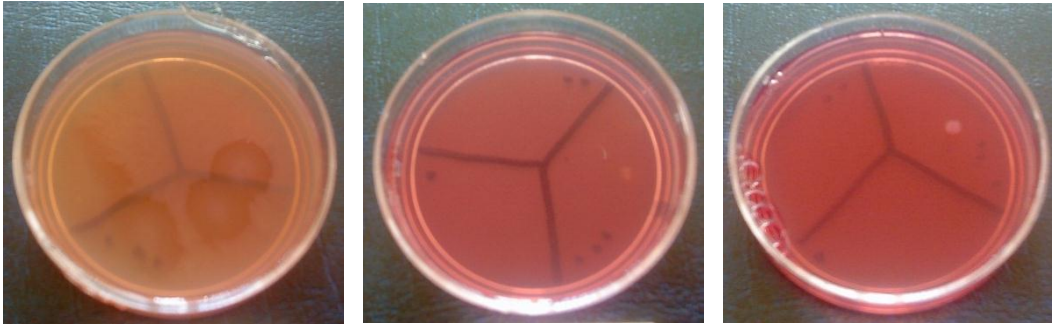


Fig. 48. Plata 0.15%. Se observa crecimiento de *E. coli* en la placa de la derecha a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En las placas derecha y central se observa presencias de bacterias no objetivo (colonias color blanco).



Fig. 49. Plata 0.15%. Crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 50. Plata 0.15%. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 51. Plata 0.35%. Se observa crecimiento de *E. coli* en las placas derecha e izquierda a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa central no se observa crecimiento bacteriano.



Fig. 52. Plata 0.35%. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las placas derecha e izquierda a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente. En la placa central al mismo tiempo de incubación se observa presencia de *E. coli*.



Fig. 53. Plata 0.35%. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 78 horas de incubación a temperatura ambiente.

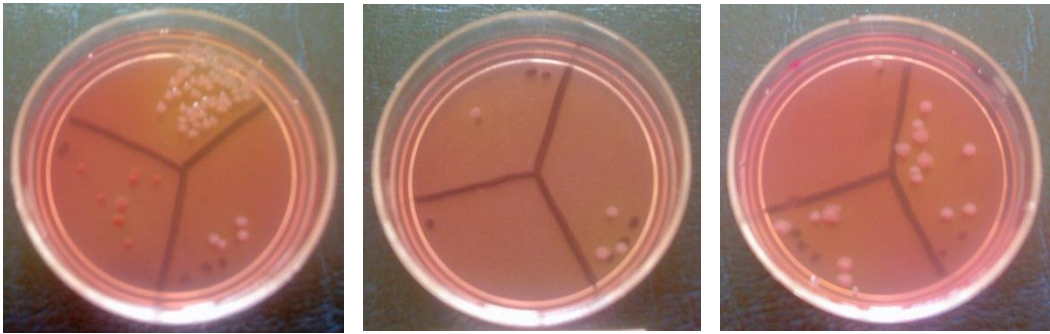


Fig. 54. Dióxido de cloro. Crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.

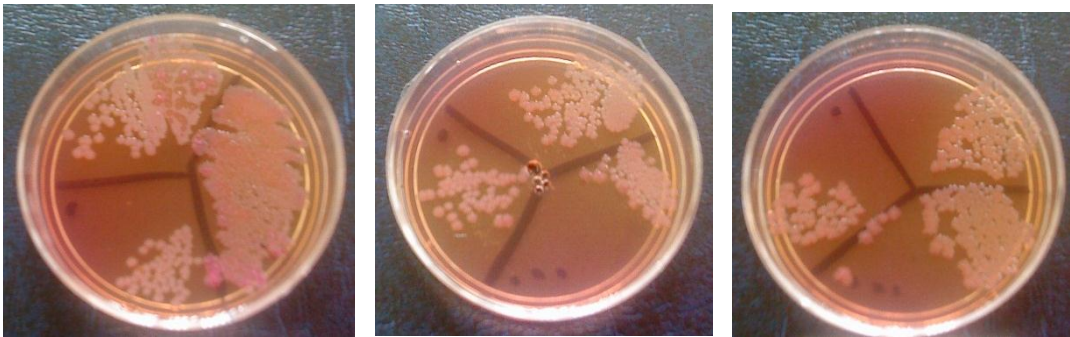


Fig. 55. Dióxido de cloro. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 487 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 56. Dióxido de cloro. Evolución del crecimiento de *E. coli* en las tres placas a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 57. Monopersulfato 10 g.L^{-1} . No se observa crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 58. Monopersulfato 10 g.L^{-1} . No se observa crecimiento microbiano a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 59. Monopersulfato 10 g.L^{-1} . Se observa crecimiento de *E. coli* en la placa central a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.

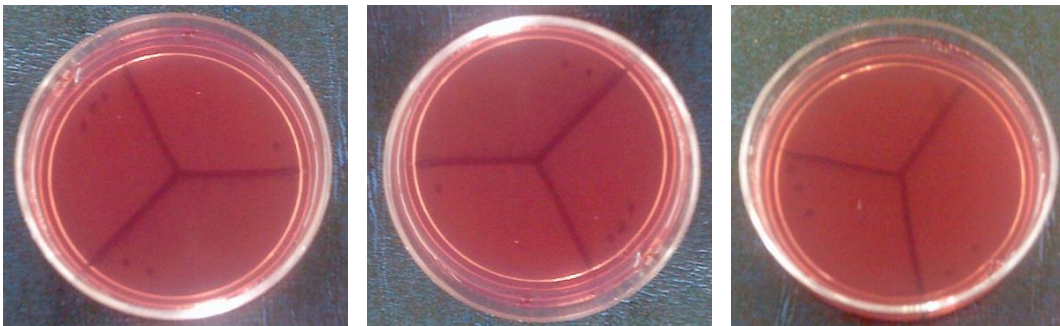


Fig. 60. Monopersulfato 20 g.L^{-1} . No se observa crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente.



Fig. 61. Monopersulfato 20 g.L^{-1} . No se observa crecimiento microbiano a las 48 horas de incubación a temperatura ambiente.

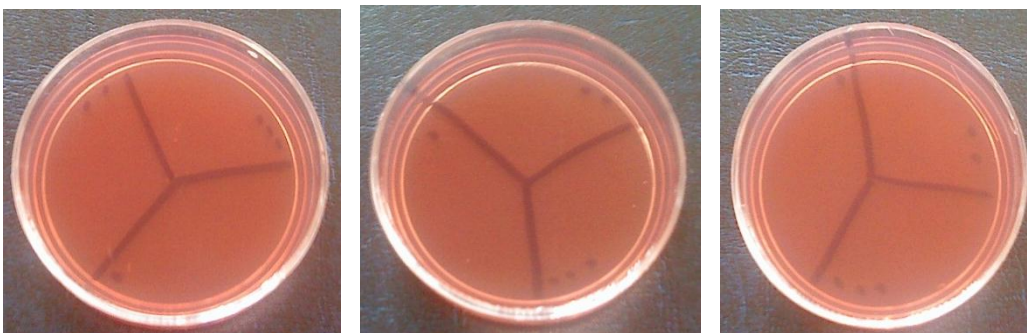


Fig. 62. Monopersulfato 20 g.L^{-1} . No se observa crecimiento microbiano a las 72 horas de incubación a temperatura ambiente.