



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
LICENCIATURA EN QUÍMICA EN ALIMENTOS

---

CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

Frecuencia y comportamiento de *Salmonella*, *Escherichia coli* y  
Organismos coliformes en chile serrano y jalapeño.

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

*QUÍMICO EN ALIMENTOS*

**P R E S E N T A:**

**LILIANA MORENO MÁRQUEZ**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. JAVIER CASTRO ROSAS**



Pachuca de Soto, Hidalgo

2006



El presente trabajo formó parte del Proyecto denominado “Comportamiento e identificación de bacterias patógenas mediante PRC y cultivo tradicional a partir de ensaladas y licuados de verduras crudas listas para su consumo” apoyado por PROMEP 2003-2006 y se realizó en el Laboratorio de Biotecnología en el área de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.





Los resultados de éste trabajo de investigación han sido publicados en los siguientes foros científicos:

- Frecuencia de microorganismos indicadores de higiene y *Salmonella* en chile serrano y chile jalapeño. Reunión Nacional de Microbiología, Toxicología e Higiene de los Alimentos. Séptimo Congreso Internacional de inocuidad de alimentos. Guadalajara, Jal. Noviembre del 2005.
- Comportamiento de *Salmonella* y tres grupos patógenos de *Escherichia coli* en chile jalapeño y chile serrano. Reunión Nacional de Microbiología, Toxicología e Higiene de los Alimentos. Séptimo Congreso Internacional de inocuidad de alimentos. Guadalajara, Jal. Noviembre del 2005.
- Frecuencia de microorganismos indicadores de higiene y *Salmonella* en chile serrano y chile jalapeño. Primer Foro de Química en Alimentos, Noviembre del 2005.

## *DEDICATORIA*

*Un viaje de tres mil leguas empieza con un solo paso.*

*PROVERBIO CHINO*

*En primer lugar quiero dedicar este trabajo a Dios por permitirme vivir y darme lo más preciado que tengo en la vida que son mis padres y tantos momentos de felicidad al lado de la gente que quiero.*

*A mis padres por su apoyo incondicional, por siempre estar ahí cuando los he necesitado, por darme la fuerza para seguir adelante, por ayudarme a no perder el camino o a regresar a él y por otorgarme la más valiosa de las herencias consistente en una buena educación para afrontar los avatares de la vida. Esta es una forma de agradecerles los sacrificios que han hecho para que yo sea un mejor ser humano, los quiero y admiro mucho.*

## *AGRADECIMIENTOS*

*Estas palabras de agradecimiento son dedicadas con especial cariño a la gente que me dio su apoyo y ayuda durante la elaboración de esta tesis.*

En primer lugar al director y tutor de mi tesis Dr. Javier Castro Rosas por su ayuda no sólo en sentido académico, sino humano y amigable

*También agradezco a mis compañeros y amigos de la carrera. Recuerdo con respeto y agradecimiento a todos los profesores que me dieron clases por brindarme su atención, colaboración, paciencia, por esclarecer mis dudas y aportarme sus conocimientos y experiencia. Y en especial a los integrantes del jurado: Dra. Armida Zúñiga Estrada, Dra. Eva Ma. Santos López, M. en C. Irais Sánchez Ortega, Dra. Ma. Angélica Gutiérrez Nava, Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa y M. en C. Álvaro Cerón Beltrán.*

*Gracias a toda mi familia y de manera muy cariñosa y especial a mis padres Flor y Rafael que siempre creyeron en mí, a mi hermano Rafael por su apoyo, por alentarme siempre a superarme y ser un ejemplo de fuerza y entereza.*

*Aide gracias por tu amistad, por aguantar mis terquedades y tenerme paciencia, eres una de las personas que admiro por tu tenacidad y ganas de salir adelante “ya salimos amiguita”.*

*Julia y Abraham gracias por las interesantes conversaciones, las risas y su amistad.*

*Viri me da mucho gusto haberte conocido y compartir contigo no solo la misma casa durante toda la carrera también los momentos gratos y los no tan gratos, las risas, inquietudes y experiencias, gracias por tu sinceridad y por hacerme ver mis aciertos y mis errores cuando es necesario.*

*Yuri y Nely gracias por los gratos momentos que pasamos y por ser mis compañeras de casa y buenas amigas también.*

*A mis amigos y compañeros de laboratorio (Mari, Yadi, Anyi, Luis, Enrique, Oswaldo, Conchita, Vivis, Andrés, Itzma, Mari Carmen) y en especial a Tina gracias por contagiarme tu alegría de vivir, por las pláticas, las risas (bueno mas bien las carcajadas) y el cafecito; sin ustedes la estancia en laboratorio créanme que hubiera sido muy aburrida, gracias por todos los momentos agradables pero también por la ayuda y el apoyo que me brindaron*

## ÍNDICE

	<i>Página</i>
<b>ABREVIATURAS</b>	III
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	V
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	VII
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. ANTECEDENTES</b>	4
2.1. Microorganismos indicadores en los alimentos	4
2.2. Microbiología de hortalizas	6
2.3. Enfermedades asociadas al consumo de verduras.	10
2.4. Organismos coliformes (OC)	14
2.5. <i>Escherichia coli</i>	17
2.5.1. Generalidades	17
2.5.2. Sobrevivencia	18
2.5.3. <i>E. coli</i> patógena	19
2.5.4. <i>E. coli</i> enteropatógena	20
2.5.5. <i>E. coli</i> enterotoxigénica	20
2.5.6. <i>E. coli</i> enteroinvasiva	21
2.5.7. Gastroenteritis por grupos patógenos de <i>E. coli</i>	21
2.6. <i>Salmonella</i>	22
2.6.1. Generalidades	23
2.6.2. Sobrevivencia	26
2.6.3. Comportamiento en los alimentos	27
2.6.4. Características de la enfermedad en humanos	29
2.6.4.1. Gastroenteritis	30
2.6.4.2. Fiebre entérica	31
2.6.4.3. Bacteriemia, infecciones focales y secuelas	31
2.7. <i>Salmonella</i> y <i>E. coli</i> en verduras	32
2.7.1. <i>E. coli</i> en verduras	33
2.7.2. <i>Salmonella</i> en verduras	34
2.8. Factores que afectan el comportamiento de patógenos en los alimentos.	35
2.8.1. Factores que afectan el comportamiento de <i>Salmonella</i> .	36
2.8.2. Factores que afectan el comportamiento de <i>E. coli</i> .	38
2.9. El chile	38
2.9.1. Producción mundial	49
2.9.2. Cultivo en México	39
2.9.3. Valor nutritivo	42
2.9.4. Chile jalapeño	43
2.9.5. Chile serrano	44
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b>	46

<b>IV. OBJETIVOS</b>	47
4.1. Objetivo General	47
4.2. Objetivos Particulares	47
<b>V. MATERIAL</b>	48
5.1 Material de laboratorio	48
5.2 Medios de cultivo	48
5.3 Reactivos	49
5.4 Equipos	49
<b>VI. METODOLOGÍA</b>	51
6.1. Frecuencia de <i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i> , coliformes totales y coliformes termotolerantes (Ct) en chile serrano y chile jalapeño.	51
6.1.1. Preparación de las muestras	51
6.1.2. Cuantificación de organismos coliformes totales	51
6.1.3. Cuantificación de <i>E. coli</i> y coliformes termotolerantes	53
6.1.4. Determinación de <i>Salmonella</i>	56
6.2. Estudios de comportamiento de <i>S. Typhimurium</i> y tres grupos patógenos de <i>E. coli</i> (ECET, ECEI y ECEP) en chile jalapeño y chile serrano crudo.	58
6.2.1. Cepas	58
6.2.2. Preparación del inóculo	59
6.2.3. Obtención y preparación de los chiles	59
6.2.4. Inoculación y almacenamiento de los chiles.	60
6.2.4.1. Enteros	60
6.2.4.2. Rebanados	60
6.3. Determinación de pH	61
6.4. Determinación de humedad relativa	61
<b>VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	63
<b>VIII. CONCLUSIONES</b>	92
<b>IX. BIBLIOGRAFÍA</b>	94
<b>X. ANEXOS</b>	107

## ABREVIATURAS

ABRV	Agar de bilis y rojo violeta
AEMB	Agar eosina azul de metileno
ASB	Agar sulfito de bismuto
ASS	Agar <i>Salmonella-Shigella</i>
AST	Agar soya tripticasa
AVB	Agar verde brillante
Aw	Actividad de agua
BCT	Base de caldo tetrionato
CL	Caldo lactosado
CLF	Caldo lactosado fluorocult
CSC	Caldo seletino cistina
CST	Caldo soya tripticasa
Ct	Coliformes termotolerantes
CU	Caldo urea
DP	Diluyente de peptona
ECEI	<i>E. coli</i> enteroinvasiva
ECEP	<i>E. coli</i> enteropat6gena
ECET	<i>E. coli</i> enterotoxig6nica
EEUU	Estados Unidos
ETAs	Enfermedades transmitidas por alimentos
g	Gramo
h	Hora u horas
Ha	Hect6reas
IMViC	Indol, Rojo de metilo, Vogues Proskauer, Citrato
LIA	Agar de hierro y lisina
mg	Miligramo
min	Minutos
mL	Mililitro

μL	Microlitro
OC	Organismos coliformes
PG	Procter and Gamble
R <sup>+</sup>	Resistente a rifampicina
Rif	Rifampicina
RM	Rojo de metilo
SSI	Solución salina isotónica
ton	Toneladas
TSI	Agar de hierro y triple azúcar
VP	Vogues Proskauer

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Mecanismos de contaminación de frutas y hortalizas.	6
2. Brotes de ETAs de origen bacteriano asociados al consumo de frutas y hortalizas, EE.UU. (1988 – 1998).	12
3. Producción de chile verde en México 1997-2002 en miles de toneladas (datos preliminares a abril 2002).	40
4. Cuantificación de organismos coliformes totales	52
5. Cuantificación de <i>E. coli</i> y coliformes termotolerantes	55
6. Determinación de <i>Salmonella</i>	57
7. Frecuencia de organismos coliformes, coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> en chile jalapeño y chile serrano.	63
8. Comportamiento de tres grupos patógenos de <i>E. coli</i> sobre la superficie de chile jalapeño y variación de la humedad relativa a $22 \pm 2$ °C.	74
9. Comportamiento de tres grupos patógenos de <i>E. coli</i> sobre la superficie de chile serrano y variación de la humedad relativa a $22 \pm 2$ °C.	75
10. Comportamiento de <i>Salmonella</i> Typhimurium sobre la superficie de chile_serrano y jalapeño y variación de la humedad relativa a $22 \pm 2$ °C.	76
11. Comportamiento de tres grupos patógenos de <i>E. coli</i> , del pH y humedad relativa en rebanadas de chile jalapeño a $22 \pm 2$ °C.	80

12. Comportamiento de tres grupos patógenos de <i>E. coli</i> , del pH y humedad relativa en rebanadas de chile serrano a $22 \pm 2$ °C.	81
13. Comportamiento de <i>Salmonella</i> Typhimurium, del pH y humedad relativa en rebanadas de chile serrano y jalapeño a $22 \pm 2$ °C.	83
14. Comportamiento de tres grupos patógenos de <i>E. coli</i> y del pH en rebanadas de chile jalapeño a $5 \pm 2$ °C.	85
15. Comportamiento de tres grupos patógenos de <i>E. coli</i> y del pH en rebanadas de chile serrano a $5 \pm 2$ °C.	86
16. Comportamiento de <i>Salmonella</i> Typhimurium y del pH en rebanadas de chile serrano y jalapeño a $5 \pm 2$ °C.	88

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
1. Algunos microorganismos patógenos encontrados en frutas y verduras.	8
2. Ejemplos de brotes de ETAs asociados al consumo de frutas y verduras en los EEUU.	10
3. Algunos brotes de enfermedad por consumo de verduras.	11
4. Alimentos asociados a brotes de salmonelosis en EE.UU. (1973 – 1987).	13
5. Algunos alimentos involucrados en brotes de salmonelosis.	30
6. Principales países productores de chile (toneladas).	39
7. Principales regiones productoras de chile y área sembrada en México	41
8. Compuestos del chile en base a 100gr. de parte comestible.	42
9. Cepas utilizadas para el estudio de comportamiento de los chiles.	58
10. Frecuencia de <i>Salmonella</i> y valores mínimos, mediana y máximos de OC, Ct y <i>E. coli</i> en chile serrano.	64
11. Frecuencia de <i>Salmonella</i> y valores mínimos, mediana y máximos de OC, Ct y <i>E. coli</i> en chile jalapeño.	65

## I. INTRODUCCIÓN

En nuestro país, las enfermedades mas frecuentes son las producidas por *Salmonella* y *Escherichia coli* patógena, generalmente presentes en alimentos crudos de origen animal, como carne, aves, leche y huevo. Concretamente, *Salmonella* es responsable de más de un 65% de las enfermedades alimentarias (Merino, 2005).

Los alimentos más frecuentemente relacionados con brotes son: grasas blandas, leche no pasteurizada, vegetales y productos del mar, sin embargo, actualmente se han agregado a la lista de alimentos peligrosos las frutas y verduras que se consumen crudas, así como sus derivados (jugos, ensaladas, etc.) (Merino, 2005).

El gran desarrollo actual de la tecnología de los alimentos no ha podido impedir que se siga produciendo un gran número de infecciones e intoxicaciones de origen alimentario. Dado que la mayoría de ellas tienen lugar fuera de las industrias y en el ámbito del hogar, como consecuencia de acciones inadecuadas, los ciudadanos deben poner en práctica hábitos correctos de higiene y seguridad en la compra, transporte, conservación, preparación y servicio de los alimentos (Ewing y col., 1985).

El chile es uno de los frutos más demandados de nuestro país, es tal vez de los pocos presentes a diario en la dieta del mexicano, en parte por la añeja tradición que viene de nuestro pasado prehispánico, pero también se debe a que existen una cuantiosa variedad y es una de las producciones más respetables (Dewitt y Gerlanch, 1990).

En México, el consumo de chile constituye una tradición cultural y a sus efectos sobre la salud se les han atribuido, empíricamente, características controvertidas (Valadez, 1994).

La gran parte de la población acostumbra el consumo de chile crudo y en ello radica la importancia de estudiar la frecuencia y comportamiento de estos microorganismos en el chile y la relación que puedan tener con brotes de enfermedades características de estos microorganismos. Se han realizado varios trabajos sobre estos microorganismos en alimentos y ya existen varios reportes de la frecuencia de estos. Sin embargo, cabe resaltar que no hay reportes de ningún estudio realizado en chiles.

Es importante destacar que el riesgo de contaminación por estos microorganismos no es únicamente por su incidencia en el alimento, sino que también esta relacionada directamente con la capacidad de éste para sobrevivir a las diversas condiciones a las que se somete el producto, es decir, su capacidad para proliferar en la tierra y sobre el alimento que en este caso es el chile jalapeño y serrano. Cualquier factor que prolongue la sobrevivencia o prolifere el desarrollo del patógeno en el alimento, aumenta el riesgo para el consumidor. Estos factores pueden ser: humedad, temperatura, tipo de suelo, flora competitiva, pH, penetración de la luz solar y aire en el suelo, que tienen influencia en el comportamiento microbiano (Fernández, 2000).

La información que nos proporciona el comportamiento de microorganismos patógenos en el alimento, es de gran importancia para lograr la prevención y el control de las enfermedades que estos provocan. Además de que no hay reportes

del comportamiento de estos microorganismos en alimentos, específicamente en Chile y por ello, entonces es necesario generar la información que contribuya a elaborar medidas que permitan la prevención y control de tifoidea y de las enfermedades provocadas por *E. coli* patógena.

En este trabajo se llevó a cabo una investigación sobre la frecuencia y comportamiento de *Salmonella* y *E. coli* patógena en Chile jalapeño y en Chile serrano.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Microorganismos indicadores en los alimentos

De manera general en los alimentos existe una gran diversidad de microorganismos. La composición cualitativa y cuantitativa está determinada por numerosos factores. Excepto en productos que han recibido tratamientos antimicrobianos severos, o que por su naturaleza y estructura no suelen ser contaminados. Algunos microorganismos simplemente sobreviven, otros se multiplican y otros más se inactivan (Fernández, 2000).

Como indicadores, se utilizan no sólo microorganismos, sino productos de su metabolismo. Se califican de indicadores aquellos que sugieren o se asocian con un antecedente que compromete su calidad sanitaria. Por ejemplo en el alimento.

- Ponen en evidencia una exposición a la contaminación fecal o animal (coliformes fecales en bivalvos),
- Sugieren que se han dado facilidades para que ocurra o esté ocurriendo algún grado de actividad microbiana (bacterias mesófilas aerobias en alimentos perecederos),
- Constituyen evidencia de contaminación posterior a la aplicación de tratamientos térmicos (coliformes en la leche),
- Su concentración y los productos de su metabolismo indican falta de frescura (trimetil amina en pescado),
- Son indicadores de un riesgo potencial a la salud (Fernández, 2000).

Por otra parte los investigadores holandeses Mossel y col. (1995) subrayan la conveniencia de distinguir entre microorganismos indicadores y microorganismos índice o marcadores. Los primeros consisten en aquellos que ponen de manifiesto

violaciones a las prácticas sanitarias de operación; los segundos tienen como objetivo descubrir la posible concurrencia de gérmenes patógenos. Ocasionalmente un cierto microorganismo llena ambas funciones en un mismo alimento. En camarones precocidos y congelados la presencia de *E. coli* es una evidencia de procesamiento no sanitario, así como de la posible presencia de patógenos intestinales como *Shigella* (Fernández, 2000).

Los grupos de microorganismos utilizados como indicadores de calidad de los alimentos, habitualmente no responden a criterios de agrupación taxonómica. Se definen más bien en función de ciertas características ecológicas y fisiológicas que apoyan o justifican el valor aplicativo que se les intenta conferir. Entre tales aplicaciones se incluye la evidencia o posibilidad de estar asociado con:

- Frescura de un producto
- Presencia de patógenos o sus toxinas
- Idoneidad de una materia prima
- Vida de anaquel de un producto
- Contaminación humana
- Eficiencia de procesos antimicrobianos
- Violaciones a prácticas sanitarias de operación o distribución

La utilidad de los grupos indicadores no se limita a los alimentos procesados. Existen materias primas cuyo contenido en alguno de esos grupos llega a ser crítico o prohibitivo. Los grupos microbianos indicadores de mayor aplicación en los alimentos son las bacterias mesófilas aerobias, los organismos coliformes, los coliformes fecales, *E. coli*, los hongos y levaduras, las bacterias psicrótrofas, los

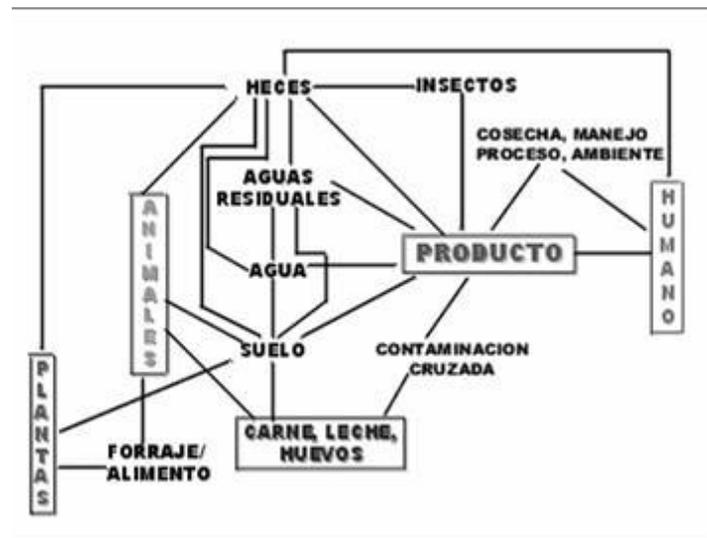
termodúricos, los termófilos, los proteolíticos y lipolíticos, los osmotolerantes y los acidúricos (Fernández, 2000).

## 2.2. Microbiología de hortalizas

Es de esperar que el conjunto de microorganismos de las hortalizas cultivadas en el campo refleje el de los terrenos en los que se cultivan, aunque existen excepciones. La incidencia de microorganismos en las hortalizas es un indicativo de la calidad sanitaria de las fases de tratamiento y el estado microbiológico en el producto crudo en el momento de tratarlo (Badaway y col., 1985).

Una gran variedad de factores contribuye a la contaminación de frutas y hortalizas por microorganismos causantes de enfermedades a los humanos (Figura 1).

**Figura 1.** Mecanismos de contaminación de frutas y hortalizas.



Fuente: Beuchat ,1996.

Algunos de los factores que pudieran considerarse de riesgo en la calidad microbiológica de los productos frescos incluyen: el uso de agua de riego contaminada con heces de humanos y animales; procesos inadecuados en los campos de cultivo; prácticas deficientes de desinfección; condiciones inapropiadas durante empaque; higiene deficiente de los trabajadores; y el mal manejo durante almacenamiento y transporte (Badaway y col., 1985).

Aunado a esto, una vez que ocurre la contaminación, muchos microorganismos patógenos poseen la capacidad de sobrevivir por largos períodos de tiempo en frutas y hortalizas frescas (Tabla 1) (Badaway y col., 1985).

En un estudio de ejotes antes del blanqueo, se demostró que los recuentos totales variaban desde log 5.60 hasta más de 6.00 en dos plantas de producción. Después del blanqueo, los números totales fueron reducidos hasta log 3.00-3.60/g. Después de pasar por las diversas fases de tratamiento y envasado, los recuentos variaron desde log 4.72 hasta 5.94/g. En el caso de ejotes al estilo francés, una de las más grandes concentraciones en número de organismos apareció después del troceado. Esta misma pauta general se demostró en los chícharos y en el maíz. Antes del blanqueo, los chícharos verdes de tres fábricas mostraron recuentos totales (por gramo) entre log 4.94 y 5.95. Estas cifras fueron reducidas por el blanqueo y de nuevo aumentaron sucesivamente con cada fase del tratamiento (James, 2002 ).

**Tabla 1.** Algunos microorganismos patógenos encontrados en frutas y verduras.

Patógenos microbianos	Tipo de organismo	Portadores principales	Fuente principal
<i>Salmonella</i>	Bacteria	Animales de producción Mascotas Animales salvajes Contaminación-cruzada de carne, pollo, huevo	Heces Cuerpos animales Suelo (persistente)
<i>Campylobacter</i>	Bacteria	Contaminación-cruz de carne, pollo	Cuerpos animales
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Bacteria	Animales de producción Mascotas Animales salvajes Seres humanos Contaminación-cruzada de carne y pollo	Heces Agua Suelo (persistencia poco clara)
<i>Cryptosporidium</i>	Protozoario	Animales de producción Mascotas Animales salvajes Seres humanos	Heces Agua
<i>Toxoplasma</i>	Protozoario	Animales de producción Gatos	Heces
<i>Cyclospora</i>	Parasito coccido	Seres humanos	Heces Agua

Fuente: ACMSF, 2000

Algunos microorganismos son también capaces de sobrevivir a procesos de desinfección, e incluso de multiplicarse en el producto durante el almacenamiento (Berrang y col., 1989).

Las hortalizas frescas llevan una flora microbiana superficial constituida principalmente por saprófitos del suelo, esporas fúngicas transportadas por el aire y por microorganismos parásitos de los vegetales. El lavado salvo que se practique con debido control, extiende la presencia microbiana, especialmente si se hace recircular el agua de lavado. Las hortalizas se ofrecen a la venta en supermercados lavadas, peladas y troceadas. Estas manipulaciones adicionales

sirven con frecuencia para extender los microorganismos superficiales por todo el producto. Debido a la frecuencia con la que se han descubrieron salmonelas en muestras de aguas superficiales, investigadores apoyan la posibilidad de dicha capacidad de multiplicación del microorganismo en este sustrato aún de que lleven allí una vida libre en condiciones naturales (Roberts y col., 2000).

En algunos países las hojas y las raíces de las hortalizas están contaminadas por microorganismos patógenos fecales por la fertilización/irrigación de las cosechas con efluentes sin tratar o parcialmente tratados (Roberts y col., 2000).

El contenido medio de agua de las hortalizas es de aproximadamente el 88%, con un contenido medio de 8.6% de carbohidratos, 1.9% de proteínas, 0.3% de grasa, y 0.84 de cenizas. La composición porcentual total de vitaminas, ácidos nucleicos y otros constituyentes de las plantas generalmente es menos del 1%. Desde el punto de vista de contenido de nutrientes, las hortalizas son capaces de soportar el crecimiento de mohos, levaduras y bacterias. El mayor contenido de agua de las hortalizas favorece el crecimiento de bacterias, y el contenido relativamente bajo de carbohidratos y grasa sugiere que gran parte de esta agua se halla en forma disponible. El intervalo de pH de la mayoría de las hortalizas está en el intervalo de crecimiento de un gran número de bacterias. El potencial óxido-reducción (O/R) relativamente alto de las hortalizas y la falta de elevada capacidad compensadora sugiere que los tipos aerobios y los facultativamente anaérobios serían más importantes que los anaérobios (James, 2002).

### 2.3. Enfermedades asociadas al consumo de verduras.

El consumo de verduras frescas crudas se ha señalado en ocasiones como causa de diarreas humanas. Entre las infecciones así originadas se incluyen enfermedades como la salmonelosis, la disentería bacilar y amebiana, el cólera, la leptopirosis, la hepatitis vírica, la gastroenteritis vírica y la fasciolosis (Tabla 2) (Roberts y col., 2000).

**Tabla 2.** Ejemplos de brotes de ETAs asociados al consumo de frutas y verduras en EEUU.

Microorganismo	Fruta o Verdura
<i>C. botulinum</i>	Ensalada de col
<i>E. coli</i> O157:H7	Lechuga, germinados, melón, cantaloupe, jugo de manzana
<i>Shigella</i>	Perejil, lechuga cortada
<i>L. monocytogenes</i>	Ensalada de col
<i>Salmonella</i>	Melones, tomates, germinados, jugo de manzana, jugo de naranja
Hepatitis A	Lechuga, fresa
<i>Cyclospora</i>	Frambuesa, albahaca, pasto
<i>Cryptosporidium</i>	Jugo de manzana, lechuga

Fuente: FDA, 1999

El agente infeccioso generalmente es un contaminante superficial. Para controlar la contaminación de los vegetales puede utilizarse *Escherichia coli* como microorganismo indicador. Los berros son la única hortaliza para la que se han establecido criterios microbiológicos basado en recuento en placa de *E. coli* (Roberts y col., 2000).

Teóricamente cualquier fruto o verdura puede ser vehículo de bacterias, virus y parásitos patógenos al hombre. Existen casos de brotes registrados por muchas de ellas; en algunos casos es posible identificar la fuente de contaminación (Tabla 3) (Fernández, 2000)

**Tabla 3.** Algunos brotes de enfermedad por consumo de verduras.

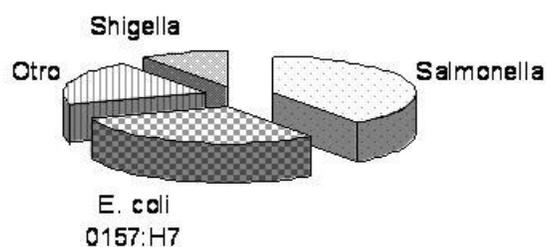
<b>Enfermedad</b>	<b>Fuente de contaminación</b>	<b>Alimento</b>
Tifoidea	Abono de lodos activados	Apio
Tifoidea	Riego con aguas negras	Verduras
Tifoidea	Riego con aguas negras	Manzanas
Tifoidea	Heces humanas no tratadas como abono	Verduras
Shigelosis	Riego con efluente secundario	Col
Shigelosis	Portador humano	Lechuga
Salmonelosis	Riego con aguas negras	Verduras
Salmonelosis	Portador humano	Sandía
Salmonelosis	Tierra de cultivo	Melón
Cólera	Riego con aguas negras	Verduras
Hepatitis viral	Contaminación tanque séptico	Verduras
Gastroenteritis por <i>E. coli</i> O157:H7	No reportado	Germinado de alfalfa
Amibiasis	Riego con aguas negras	Verduras
Ascariasis	Uso de estiércol no tratado como abono	Verduras

Fuente: modificado de Bryan, 1998

El Centro para Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en EEUU ha reportado, que los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) asociadas con el consumo de frutas y verduras frescas ha incrementado durante la pasada década (Jonston y col., 2004). Entre las bacterias patógenas que han sido asociadas con el consumo de verduras frescas se pueden mencionar *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enterohemorrágica, especies de *Shigella*, *Salmonella*,

*Listeria*, *Campylobacter*, *Clostridium* y *Staphylococcus*, entre otras (Figura 2) (Beuchat, 1996).

**Figura 2.** Brotes de ETAs de origen bacteriano asociados al consumo de frutas y hortalizas, EEUU (1988 – 1998).



Fuente: FDA, 1999.

Los brotes de enfermedades recientes producidos por el consumo de frutas y hortalizas frescas contaminadas por microorganismos patógenos, demuestran la vulnerabilidad de estos productos. Un brote de gastroenteritis causado por *E. coli* O157:H7 fue asociado con el consumo de melón contaminado con la bacteria. Algunos otros brotes de enfermedades bacterianas han sido atribuidos a la contaminación de tomate y melón contaminados con *Salmonella*, y cebolla contaminada con *Shigella* (Beuchat, 1996).

Aunque existen más de 2000 serotipos de *Salmonella*, solamente un pequeño número ha sido asociado frecuentemente con enfermedades producidas por alimentos. *S. Typhimurium* ha sido asociada en los Estados Unidos, como el

mayor agente causante de salmonelosis. Sin embargo, desde los 80', la salmonelosis causada por *S. enteritidis* ha incrementado (Ray, 2000) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Alimentos asociados a brotes de salmonelosis en EE UU (1973 -1987).

<b>Alimento</b>	<b>Número de brotes</b>
Carne	77
Productos lácteos	50
Pavo	36
Pollo	30
Cerdo	25
Huevo	16
Productos de panadería	12
Comida Mexicana	10
Frutas y verduras	8
Pescado	8
Bebidas	4
Comida China	2
Otros productos	191
Desconocido	320

Fuente: Ray, 2000.

Es común encontrar un incremento en el número de ETAs en la época de verano. El hecho se asocia con un marcado incremento en el consumo de verduras y frutas frescas en las poblaciones, aunque otros factores también pueden participar. El cilantro y perejil son comunes en alimentos cocinados que no reciben, o ya recibieron tratamiento térmico cuando se adiciona el vegetal, como son las salsas picantes frescas. También se consumen crudas las verduras cuando se incorporan en licuados (alfalfa, germinados de semillas), ensaladas frescas (lechuga, apio), y adicionadas (lechuga, rábanos, cebolla, pápalo, berros)

a platillos muy diversos como pozole, guacamole, salpicón, tacos, tortas y otras muchas formas. No se dispone de estudios que evalúen el papel de estos alimentos en la epidemiología de las ETAs, sin embargo debido a la forma en que frecuentemente se obtienen del campo, comercializan, preparan y consumen, es de esperar la presencia de microorganismos patógenos (Fernández, 2000).

#### **2.4. Organismos coliformes (OC)**

Cuando se intentaba aislar el agente del cólera en 1885, Escherich aisló y estudió el microorganismo que en la actualidad es *E. coli*. En un principio se denominó *Bacterium coli commune* porque se hallaba presente en las heces de todos los enfermos examinados. Schardinger fue el primero que propuso el uso de este organismo como un índice de contaminación fecal porque se podía aislar e identificar con mayor facilidad que cualquiera de los patógenos transmitidos por las aguas (James, 2002). T. Smith propuso en 1895 una prueba para este organismo como medida de la potabilidad del agua de bebida. Esto marcó el comienzo del uso de coliformes como indicadores patógenos en el agua, una costumbre que ha sido ampliada a los alimentos (James, 2002).

Los coliformes son bacterias aerobias o facultativamente anaerobias, Gram negativas, no esporuladas, que fermentan la lactosa con producción de gas dentro de las 48 hrs. de incubación a 35°C (Fernández, 1981) y producen colonias negras con brillo metálico en agar Endo. Por lo general los coliformes están representados por cuatro géneros de la familia enterobacteriaceae: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Echerichia* y *Klebsiella*. Algunas cepas de *Arizona hinshawii* y de *Hafnia alvei* fermentan la lactosa, pero generalmente no la fermentan en 48 hrs., y

algunas cepas de *Pantoea agglomerans* son lactosa-positiva en 48 hrs. De cualquier forma *E. coli* es mejor indicativo de contaminación fecal que los demás géneros y especies.

La reacción del IMViC “+ + - -“ designa a *E. coli* de tipo I; las cepas tipo II son “- + - -“. La reacción de RM (rojo de metilo) es la más constante de *E. coli*. A las especies de *Citrobacter* se les ha llamado coliformes intermedios, y se sabe que algunas cepas son fermentadoras tardías de la lactosa. Todas ellas son RM + y VP - (Voges Proskauer). La mayoría son citrato positivas, mientras que la producción de indol es variable. Los aislamientos de *Klebsiella* son muy variables con respecto a la reacción del IMViC, *K. pneumoniae* generalmente es RM -, VP +, y C +, aunque se sabe que existen variaciones en las reacciones del RM y del I (James, 2002).

Los miembros del grupo coliforme proliferan abundantemente en los medios de cultivo simples. Sus demandas nutricionales son satisfechas sin necesidad de recurrir a compuestos especialmente complejos. La temperatura óptima y los límites para su crecimiento corresponden a los de las bacterias mesófilas, esto es, una óptima entre 32° y 37°C, con un límite superior cercano a los 45°-46°C.

A temperatura de refrigeración se ha observado desarrollo de los coliformes en algunos alimentos. En estudios anteriores se han recabado las siguientes temperaturas mínimas de crecimiento: 4° a 6°C en ostiones, 7.2° a 10°C en leche pasteurizada y 4° a 7°C en helados de crema. Puede generalizarse que una temperatura de 4°C o menos impide la proliferación de coliformes, temperaturas superiores de proliferación mantienen su número o permiten ligeros incrementos (Fernández, 1981).

El pH óptimo para su desarrollo se encuentra próximo a la neutralidad. Se ha informado que los coliformes crecen en un intervalo de pH de 4.4-9.0. El desarrollo de los organismos coliformes se ve muy limitado por una concentración salina arriba de la isotonicidad propia de los tejidos animales y en general por la actividad de agua baja. Cifra de esta última por abajo de 0.945 o de 0.935, ya son inhibitorias para *E. aerogenes* y *E. coli*, respectivamente (Fernández, 1981). Los coliformes son capaces de crecer en presencia de sales biliares, que inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas. Este hecho se aprovecha para su aislamiento selectivo en varios procedimientos. La facilidad general con la que los coliformes pueden ser cultivados y diferenciados los hace casi ideales como indicadores con la excepción de que su identificación se puede complicar por la presencia de cepas atípicas. Sin embargo parece ser que los fermentadores anómalos de la lactosa tienen una importancia higiénica dudosa (James, 2002).

Una de las propiedades interesantes de *E. coli* como indicador fecal en el agua es su tiempo de supervivencia. Sin embargo, no es tan resistente como los virus intestinales, debido a esto existe la posibilidad de que varios patógenos puedan persistir después de que *E. coli* es destruido en los alimentos que están congelados, refrigerados, o irradiados (James, 2002). De modo parecido, pueden persistir patógenos en aguas tratadas después de la destrucción de *E. coli*. Únicamente en los alimentos ácidos *E. coli* puede tener un valor especial como organismo indicador debido a su resistencia relativa a un pH bajo (James, 2002).

## **2.5. *Escherichia coli***

*E. coli*, bacteria con forma de bastón (bacilo), que pertenece a la familia de las Enterobacteriáceas; está considerada como el material biológico más utilizado en experimentación (AESAS, 2003). Esta bacteria se encuentra en el tracto intestinal de los mamíferos. La especie comprende varios grupos que se establecen según su actividad. *E. coli* es un organismo adecuado para la investigación por su crecimiento rápido y porque su cultivo es sencillo. Ha facilitado descubrimientos muy importantes sobre metabolismo, reproducción celular e ingeniería genética (AESAS, 2003).

### **2.5.1. Generalidades**

Forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*. Está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos, capaces de crecer en agar MacConkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl, fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivos, oxidasa negativos, reductores de nitratos a nitritos, y poseedores de una proporción G+C de 39 a 59% en su DNA. Se trata de bacterias de crecimiento rápido y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales (Ewing y col., 1985).

*E. coli* es la especie tipo del género *Escherichia* incluye gérmenes generalmente móviles, que producen ácido y gas a partir de la glucosa, la arabinosa, y habitualmente de la lactosa y otros azúcares (Ewing y col., 1985). Producen reacción positiva de rojo de metilo, y negativa de Vogues-Proskauer. Son inhibidos por KCN e incapaces de crecer en medio con citrato como única fuente de

carbono y energía, pero sí en caldo acetato. Son H<sub>2</sub>S, ureasa y fenilalanina negativos, pero en general son indol positivos (IMViC + + - - o - + - -) y decarboxilan la lisina. Se clasifican en más de 170 serogrupos O según las características antigénicas de su LPS, y en serotipos por la combinación de antígenos O y H flagelares. Otros antígenos presentes en distintas cepas (capsulares, fimbriales y otros) han sido empleados para su clasificación o identificación (Ewing y col., 1985).

### **2.5.2. Sobrevivencia**

Se ha observado que *E. coli* tiende a morir en agua de mar; Carlucci y Pramer observaron una inactivación progresiva del microorganismo en el agua de mar, desde aproximadamente  $1.5 \times 10^6$ /mL a  $710 \times 10^3$ ,  $170 \times 10^3$  y  $11 \times 10^3$ /mL después de 1, 2 y 3 días, respectivamente. Al estudiar la influencia de la temperatura en la velocidad de muerte bacteriana, encontraron después de 48 h, 41.4% de sobrevivientes a 5º, 11.3% a 20º, 2.3% a 30º y menos de 0.01% a 40º C, es decir, un claro efecto protector de la temperatura en la sobrevivencia de *E. coli*. La influencia del pH en la sobrevivencia de *E. coli* la estudiaron estos autores exponiendo a la bacteria a diferentes valores de pH, tanto en aguas de mar como en aguas adicionadas con sal a una concentración equivalente. La muerte fue mayor hacia pH alcalino, con sobrevivencias a pH 5 de 38.9% para el agua salina y 58.3% para el agua de mar. A los diferentes pH probados, *E. coli* sobrevivió más en el agua salina, demostrando un efecto protector de otros componentes. La presencia de materia orgánica también favorece la sobrevivencia de *E. coli* en el agua de mar. La peptona y la cisteína exhiben este efecto y una adición de

materia orgánica que incluya a estas sustancias, más glucosa y sólidos volátiles de las aguas residuales, pueden incluso permitir su multiplicación (Fernández, 1981).

### **2.5.3. *E. coli* patógena**

*E. coli* patógeno intestinal, se define como aquellas cepas de *E. coli* que son capaces de causar una enfermedad diarreica en el hombre y en los animales, La subdivisión de las formas patógenas se realiza en base al mecanismo subyacente a la enfermedad. En la actualidad, han sido relacionados con la enfermedad transmitida por alimentos cuatro tipos principales de *E. coli* patógeno: *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), y *E. coli* enterohemorrágica (*E. coli* O157:H7; ECEH) (ICMSF, 1998-b).

Las primeras investigaciones de *E. coli* patógeno se centraron en las cepas que causaban diarrea principalmente en los niños. Posteriormente se admitió que la mayoría de estos organismos eran de los serogrupos O específicos y con frecuencia se les conoce como *E. coli* enteropatógeno “clásico” (ECEP). A finales de la década de los años 60 y principios de la década de los años 70, los esfuerzos aunados de la investigación, identificaron el mecanismo patógeno de las cepas productoras de toxina y el de las cepas invasoras de *E. coli*. Sin embargo, la patogenicidad de los organismos “clásicos” no pudo ser explicada por la producción de toxina o por el poder invasor, por lo que se ha puesto un empeño renovado en la investigación de estas cepas (ICMSF, 1998-b).

#### **2.5.4. *E. coli* enteropatógena**

Las ECEP causan una lesión característica en el intestino que en algunos aspectos es similar a las lesiones que produce *E. coli* O157:H7, pero puede ser diferenciada de las producidas por los demás tipos de *E. coli*. La lesión implica la destrucción de las microvellosidades sin que exista otro indicio de invasión de los tejidos. La mayoría de las ECEP se adhieren a las células Hep-2 de una forma localizada característica. La fijación es mediada por una proteína específica de la membrana externa denominada factor de adherencia de ECEP (EAF). Esta proteína es codificada por un plásmido y las cepas que la poseen se denominan ECEP de tipo I. Las cepas de ECEP que son EAF-negativas y que se adhieren a las células Hep-2 de una forma difusa son denominadas ECEP de tipo II. El EAF también se halla presente en algunas cepas de *E. coli* que no son ECEP, lo que indica que la patogenicidad implica a otros factores de virulencia (ICMSF, 1998-b).

#### **2.5.5. *E. coli* enterotoxigénica**

Las ECET son la causa principal de la diarrea infantil en los países en desarrollo y son la primera causa de la diarrea del viajero en algunos países desarrollados. En contra posición a las ECEP, que colonizan la totalidad del intestino, los ECET se hallan circunscritos al intestino delgado proximal. La fijación a la pared celular es mediada por fimbrias, a las que se les conoce como factores de colonización. En la actualidad han sido identificados en las cepas humanas por lo menos ocho factores de colonización diferentes (algunos teóricamente), poseyendo todos los ECET uno o más de estos antígenos. Además de los factores de colonización, la virulencia de las cepas ECET depende la formación de toxinas mediadas por

plásmidos. Han sido descritos dos tipos principales de toxina, que son fácilmente diferenciables en base a la termoestabilidad, peso molecular y modo de acción; estos dos tipos son la toxina termolábil (LT) y la termoestable (ST) (ICMSF, 1998-b).

#### **2.5.6. *E. coli* enteroinvasiva**

*E. coli* enteroinvasiva (ECEI) tiene un parecido estrecho con *Shigella* en cuanto a su patología. Los organismos se diferencian de la mayoría de las *E. coli* en que fermentan lentamente la lactosa, o no la fermentan en absoluto, pueden ser anaerógenos y son inmóviles. Atacan de modo específico la mucosa del colon, invadiendo las células epiteliales, multiplicándose y finalmente causando la ulceración del intestino. La capacidad invasora depende de la presencia de un plásmido (peso molecular 120.140 MDa) que codifica la producción de varios polipéptidos de la membrana externa implicados en la capacidad invasora. En las ECEI y en *Shigella*, estos polipéptidos están emparentados antigénicamente (ICMSF, 1998-b).

#### **2.5.7. Gastroenteritis por grupos patógenos de *E. coli*.**

La gastroenteritis es una inflamación del estómago o de los intestinos, provocada por bacterias o toxinas bacterianas. Hay una gran cantidad de bacterias que pueden ser las causantes de la gastroenteritis bacteriana, algunas de ellas son: *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium*, *E. coli*, *Yersinia* y otras (Ponce y col., 1999). Algunas formas de contraerlas pueden ser

por alimentos contaminados, carne recalentada, pescados y mariscos, productos lácteos mal refrigerados, agua contaminada, entre otros.

La enteritis por *E. coli* es un tipo de gastroenteritis bacteriana, cuyos síntomas son el resultado de una invasión de toxinas o bacterias a los intestinos. El período de incubación es de 24 a 72 horas. En los adultos, la infección usualmente no es severa, pero en los niños y bebés, generalmente se requiere hospitalización y en algunos casos es mortal (Fernández, 2000).

Ciertos tipos de infección por *E. coli* se asocian con el síndrome hemolítico urémico, una enfermedad que se caracteriza por la destrucción de los glóbulos rojos sanguíneos, una drástica reducción de las plaquetas y una insuficiencia renal aguda. Los síntomas que se presentan son: diarrea aguda y severa (con o sin sangre), cólicos estomacales, gases, vómito (aunque es raro), pérdida del apetito, dolor abdominal y fiebre (Fernández, 2000).

La mayoría de los brotes de intoxicación causados por el consumo de alimentos revela que factores como la refrigeración incorrecta de los alimentos, la elaboración inadecuada o el proceso térmico inadecuado, la contaminación de los alimentos por un manipulador enfermo y el recalentamiento inadecuado de los alimentos cocinados, son las causales de la sobrevivencia de los microorganismos patógenos en el alimento (Nguyen–the y Carlin, 1994).

## **2.6. *Salmonella***

El género *Salmonella* es quizá el microorganismo más extensamente estudiado entre los patógenos que pueden ser aislados de los alimentos. Ello se debe sin duda a la elevada incidencia del padecimiento a que da lugar, su singular ecología

y factores que la determinan, a la versatilidad de los perfiles serológicos entre sus miembros y a la abundancia misma del material disponible en la literatura. Al género *Salmonella* pertenecen “bacterias móviles que satisfacen la definición de la familia *Enterobacteriaceae* y la tribu *Salmonellae* “(Fernández, 1981).

### **2.6.1. Generalidades**

El género *Salmonellae* comprende bacterias que desarrollan en aerobiosis, pero pueden hacerlo también en condiciones de anaerobiosis. No producen ureasa, no utilizan el manolato de sodio, no licúan la gelatina, no desarrollan en presencia de cianuro de potasio y descarboxilan la arginina, la ornitina y la lisina. Producen ácido en el medio tartrato de Jordan, fermentan el dulcitol y el inositol es utilizado por numerosas cepas. No fermentan la sacarosa, la salicina, la rafinosa o la lactosa. Para romper con la larga lista de especies de *Salmonella* que llegó a acumularse conforme se encontraban nuevas antigénicas, se resolvió adoptar el sistema de solo tres especies: la *S. typhi*, la *S. cholerae-suis* y la *S. enteritidis* (Fernández, 1981). La reacción de rojo de metilo es positiva, la prueba de Voges-Proskauer es negativa y la del indol es negativa. La fenilalanina no es desaminada, la urea no es hidrolizada, no son producidas ni DNAasa ni lipasa. El contenido de G + C del DNA es de 50-53 %. *Salmonella* puede albergar fagos atenuados o plásmidos que codifican los caracteres metabólicos que se utilizan en la identificación (por ej., la producción de H<sub>2</sub>S, las fermentaciones de la lactosa o de la sacarosa) (ICMSF, 1998-b).

No requieren elementos nutricionales complejos para crecer y multiplicarse; en medios simples de cultivo con glucosa como fuente de carbono y sales de amonio como fuente de nitrógeno (Fernández, 1981).

Su temperatura óptima de desarrollo es 37°C y pueden hacerlo dentro de amplios márgenes, desde unos 6.7°C con largos tiempos de generación en algunos alimentos, hasta 45.6° C (Fernández, 1981).

Cuando el pH medio se aproxima a la neutralidad, *Salmonella* se multiplica más activamente. Como ocurre con una variedad de alimentos que suelen estar involucrados en casos de gastroenteritis por *Salmonella*, el óptimo varía entre 6.5 y 7.5 (FDA, 1999). El pH mínimo para desarrollar no es fácil de definir porque se encuentra muy afectado por una variedad de factores. Estos incluyen, entre los más prominentes, al serotipo, a la temperatura de incubación y a la composición química del sustrato. La naturaleza del ácido presente o predominante es decisiva. La resistencia que puedan adquirir las bacterias revela la posibilidad de un crecimiento adaptativo en alimentos que se acidifican lentamente durante su maduración. La actividad de agua ( $A_w$ ) más baja que aún permite el desarrollo de *Salmonella* en medios de laboratorio es de alrededor de 0.945 (Fernández, 1981). Estos gérmenes tienen capacidad para proliferar en una variedad de verduras, frutas y carnes, tanto a 37°C como a 22°C (Feachem y col., 1983).

El desarrollo se extiende en toda la masa del alimento sin signos de alteración, aun cuando las cifras alcanzadas lleguen a ser más de  $10 \times 10^6/g$ . La inoculación del germen en verduras como chícharos, zanahorias, lechugas, espinacas, jitomates, apio, coliflor y nabos, permitió su recuperación después de 4-8 semanas a temperatura ambiente (*S. Pollorum*) y de 5-11 semanas en refrigeración o de 3-7

semanas a temperatura ambiente (*S. Typhimurium*), con cifras semejantes para otros serótipos (Feachem y col., 1983).

Durante varios años ha existido una cierta controversia en la clasificación. En el Manual de Bergey, el género se subdivide en cinco subgéneros. El género está basado en la hibridación DNA/DNA, mientras que los subgéneros están basados en la hibridación DNA/DNA, en las características bioquímicas y en el sitio usual donde se aíslan. El subgénero I contiene las salmonelas patógenas típicas que se aíslan en el contenido intestinal de los animales de sangre caliente. Los subgéneros II y III, que incluyen los organismos anteriormente denominados *Arizona*, se aíslan frecuentemente en los animales de sangre fría. Los subgéneros IV y V se encuentran principalmente en el ambiente y rara vez se identifican como patógenos para los seres humanos (ICMSF, 1998-b).

Han sido identificados aproximadamente 2 200 serovariedades de *Salmonella*, aunque en base al esquema de Kauffmann-White son posibles 20, 000 combinaciones. En este esquema, las serovariedades se definen por medio de una serie de números y letras que representan 64 antígenos O (somáticos), Vi (capsulares) y H (flagelares) diferentes. Las determinantes genéticas de los factores antigénicos suelen ser estables y, por esta razón, resultan útiles en las investigaciones epidemiológicas. Sin embargo, unas pocas son fago-dependientes o plásmido-dependientes y son de menor valor epidemiológico (ICMSF, 1998-b).

Las serovariedades se pueden subdividir por las características bioquímicas (biovariedades o biotipos); por la resistencia a los bacteriófagos (fagovariedades o lisotipos), a los antibióticos o a los metales pesados; y por la sensibilidad a las bacteriocinas o por la producción de éstas. Estas características también pueden

depender del DNA extracromosómico, pero suelen ser estables a lo largo de todo el tiempo que dura un brote transmitido por alimentos (ICMSF, 1998-b).

### **2.6.2. Sobrevivencia**

La recopilación que hace Bryan (1998) de diferentes autores indica sobrevivencia de *Salmonella* de más de 200 días en la tierra y pasturas, 228 días en la ropa, 93 días en las fundas de plástico, 10 meses en el polvo, 148 días en la materia fecal de roedores, 199 días en la de cucarachas, más de 9 días en la pollos, más de 1000 días en al de heces secas de reses, 21-350 días en el cascaron de huevos y más de 4 años en huevos enteros desechados. La *S. typhi* puede sobrevivir en la tierra húmeda al menos 2 años. El factor más decisivo es precisamente el grado de humedad prevalerte en el terreno, lo que guarda relación con la intensidad de la lluvia, la temperatura y el tipo de tierra involucrado. Quizá el 50% de las células mueren durante las primeras 48 h (Bryan, 1998). En congelación, *Salmonella* puede sobrevivir durante muchos meses como ocurre en la mayoría de los microorganismos, pero la composición del alimento en el cual se encuentra influye en la tasa de sobrevivencia; si la temperatura es muy baja hay mayor número de células viables al cabo del tiempo con respecto a las temperaturas superiores (Fernández, 1981).

La resistencia a la desecación y a la congelación no es idéntica para todos los serotipos. Aparentemente aquellos que se aíslan con mayor frecuencia de casos de salmonelosis exhiben mayor grado de resistencia y se ha sugerido que este último factor contribuye a determinar esa frecuencia selectiva (Fernández, 1981).

*Salmonella* no tolera bien la acidez y su número disminuye en un producto a un ritmo que guarda relación con la intensidad de aquella. En medios de laboratorio se ha obtenido desarrollo de varios serotipos de *Salmonella* hasta un mínimo de 4.05 acidificado con HCl o ácido cítrico; otros valores mínimos fueron de 4.4 con ácido láctico, 5.4 con ácido acético y 5.5 con ácido propiónico (Fernández, 1981). Existen investigaciones que consignan una sobrevivencia mínima de 24 hrs. a temperatura ambiente en salsas con pH de 4.56. A cifras menores (hasta 3.95) *S. Typhimurium* sobrevive, en tanto que otros serotipos pierden pronto su viabilidad (Fernández, 1981).

### **2.6.3. Comportamiento en los alimentos**

Aunque teóricamente casi cualquier alimento puede convertirse en vehículo de *Salmonella*, una vez que este se expone a contaminación fecal en algunos productos, se configuran riesgos mayores si el germen sobrevive o es capaz de proliferar en él ante condiciones propicias para que tal ocurra (Fernández y col., 1989). El conocimiento de los factores que modulan este comportamiento es de valor primario en el análisis de riesgos para prevenir brotes de gastroenteritis (Fernández y col., 1989). *Salmonella* no requiere componentes especiales en los alimentos para desarrollar. Muestra notable potencial para hacerlo incluso en productos que no suelen reconocerse con alto contenido nutricional para el hombre. Por ejemplo, en trozos asépticamente extraídos de sandía, papaya y jícama y almacenados a 25-27°C, *S. typhi* eleva su número en pocas horas, la incorporación de jugo de limón retrasa pero no evita la actividad (Fernández y col., 1989).

Las salmonelas se multiplican libremente en la leche. En los productos lácteos preparados con cultivos lácticos se propicia un medio que limita no solo el desarrollo de las salmonelas, sino que compromete su sobrevivencia (Marth, 1969). Esta situación no debe entenderse como un hecho definitivo. *Streptococcus cremoris*, *S. lactis* y una mezcla de ellos, reprimen el desarrollo, pero no inactivan a *S. Typhimurium* con inóculos de 0.25 % después de 18 h, de fermentación a 21° o 30°C (Park y Marth, 1972).

La sobrevivencia es mayor en el producto pasteurizado que en el no pasteurizado, lo que evidentemente está determinado por el efecto antagónico de los microorganismos asociados (Fernández, 2000).

En carne molida de puerco con 3.5% de NaCl y a 10°C desarrollan numerosos serotipos (Alford y Palumbo, 1969). Es de esperar que mientras menos sea la carga bacteriana de la carne (como ocurriría bajo adecuadas condiciones sanitarias de matanza y manejo ulterior de la carne), la actividad de *Salmonella* se encontrará menos restringida. Un procesamiento rápido de la carne, preferentemente a temperaturas inferiores a 10°C y su ulterior conservación a menos de 5°C, son medidas de prevención aconsejables (Goepfert y Chung, 1970). En productos cárnicos madurados se inhibe el desarrollo de *Salmonella* probablemente debido al efecto combinado de la acidificación y a la presencia de 1.5% de NaCl, concentraciones de 100 mg/kg de nitrito no muestran efecto inhibitorio (Goepfert y Chung, 1970).

Al disminuirse la concentración de sacarosa en la sal de curación hasta 0.25%, el pH más bajo que se alcanza es de 5.2-5.4, insuficiente para impedir el crecimiento del serovar *S. Typhimurium*. La ineficiencia del nitrito a las concentraciones

comunes en las salchichas para inhibir a *Salmonella*, es un hecho conocido (Bayne y Michener, 1975).

En la mayonesa y aderezos la sobrevivencia es muy precaria. Con un pH de 3.8-4 de las primeras, diferentes serovares se inactivan en 12 h. Aderezos con pH de 3.2-3.3, solo permitieron la sobrevivencia por 1h, tanto a 37°C como a temperatura ambiente (Wethington y Fabian, 1950). La acidez natural de algunas frutas aunada a la presencia de sustancias de naturaleza no definida, ejerce un claro efecto germicida sobre *Salmonella*. En jugo de limón a pH de 2.3 el patógeno muere rápidamente (Bryan, 1998). Entre los preparados de frutas en forma de puré para el relleno de pasteles los más comúnmente utilizados son, los de limón (pH 2.9-3.1), piña (pH 3.5-3.7), naranja (pH 3.8-3.9), fresa (pH 4.0-4.2) y durazno (pH 4.2-4.4). Estudios recientes muestran que *S. Typhimurium* sobrevive en jugo de naranja hasta 27 días (pH 3.5) y 60 días (pH 4.1) (Parish y col., 1997). En el mismo jugo concentrado y congelado, *S. typhi* no se recupera al cabo de sólo 24 h (Hahn y Appleman, 1952).

#### **2.6.4. Características de la enfermedad en humanos**

El primer brote de salmonelosis transmitida por alimentos, confirmado en el laboratorio implicó a 57 personas que comieron carne de vaca enferma. Se aisló *S. enteritidis* en los órganos de una víctima que no había sobrevivido y en la carne y en la sangre del animal. Desde entonces, *Salmonella* ha sido identificada como la causa más importante de la fiebre entérica y de la gastroenteritis (ICMSF, 1998) (Tabla 5).

**Tabla 5.** Algunos alimentos involucrados en brotes de salmonelosis.

<b>Alimento</b>	<b>País</b>	<b>Serotipo</b>	<b>Afectados</b>
Agua	Trinidad	Arechavaleta	63
Agua	EE. UU.	Typhimurium	+ 16 000
Agua	Altamar	Enteritidis	293
Leche cruda	Inglaterra	Dublín	700
Hamburguesa	EE. UU.	Newport	48
Ensalada de papas y pollo	EE. UU.	Infantis, Agona	125
Lechuga	EE. UU.	Newpor	50
Puré de papas	México	Infantis	226
Productos de panadería	EE. UU.	Typhimurium	6
Chocolate macizo	EE. UU.	Eastbourne	+ 200
Ostiones	EE. UU.	<i>S. tiphy</i>	94

Fuente: Fernández, 1981.

#### 2.6.4.1. Gastroenteritis

El período de incubación varía desde 5 horas a 5 días, pero los signos y los síntomas empiezan de 12 a 36 horas después de la ingestión de un alimento contaminado. Los periodos de incubación más cortos suelen estar asociados con las dosis más elevadas del patógeno o con las personas muy sensibles. Los signos y los síntomas incluyen diarrea, náuseas, dolor abdominal, fiebre ligera y escalofríos. La diarrea varía desde unas pocas heces claras parecidas a la sopa de hortalizas hasta evacuaciones sólidas con deshidratación concomitante (ICMSF, 1998-b).

A veces hay vómito, abatimiento, anorexia, cefalalgia y malestar. El síndrome suele durar 2-5 días. En la fase inicial de la enfermedad, las excreciones de las personas infectadas contendrán grandes cantidades células de *Salmonella*. Con el paso del tiempo, su número disminuye y transcurridos 3 meses, algunas personas excretan salmonelas no tíficas (ICMSF, 1998-b).

#### **2.6.4.2. Fiebre entérica**

Esta es producida específicamente por *S. typhi* y es también conocida como fiebre tifoidea. El período de incubación varía desde 7 a 28 días (dependiendo principalmente de la dosis); su duración media es de 14 días. Hay malestar, cefalalgia, fiebre alta persistente, dolor abdominal, dolores en el cuerpo y debilidad, generalmente acompañados de una diarrea parecida al puré de guisantes o de estreñimiento. A veces, en el tronco, en el dorso y en el tórax, aparecen manchas de color rosa. Otras veces se observa un ritmo cardíaco lento, un abdomen sensible y dilatado, un aumento del tamaño del bazo y en ocasiones hemorragia intestinal o nasal. Los sentidos están débiles y los pacientes pueden llegar a desvariar. La convalecencia es lenta (1 a 8 semanas). El estado de portador se puede prolongar durante varios meses y durar años. Típicamente, las personas portadoras crónicas albergan el organismo en la vesícula biliar (ICMSF, 1998.).

#### **2.6.4.3. Bacteriemia, infecciones focales y secuelas**

La bacteriemia o septicemia es causada por la presencia de *Salmonella* en la sangre. Ésta puede aparecer por metástasis cuando el sitio inicial de la infección

es el tracto intestinal u otros focos. El resultado es una fiebre alta y persistente, dolor en el dorso, en el abdomen y en el tórax, escalofríos, sudoración, malestar anorexia y pérdida de peso. El estado puede ser pasajero o crónico. Las cepas de *S. Typhimurium*, de *S. cholerae-suis* y de *S. Duplin* son propensas a invadir la corriente sanguínea y pueden sobrevenir infecciones focales de varios tejidos. Aunque infrecuentes, las secuelas identificadas incluyen: apendicitis, artritis, colecistitis, endocarditis, abscesos locales, meningitis, osteomielitis, osteoartritis, pericarditis, peritonitis, pleuritis, neumonía e infección de las vías urinarias (ICMSF, 1998).

### **2.7. *Salmonella* y *E. coli* en verduras.**

En la historia natural de cada microorganismo se presentan oportunidades para la contaminación y eventualmente, sobrevivencia y colonización en determinados alimentos. Por ejemplo, al ser eliminados miles de quistes o huevecillos de parásitos por un individuo, con facilidad se contaminan los productos que se ponen en contacto con la materia fecal. Tal ocurre con las verduras durante su crecimiento en el campo, sea por contaminación fecal directa, a través de aguas de desecho usadas para el riego y otras, o las manos de los trabajadores del campo. El consumo de verduras crudas constituye así un mecanismo potencial de transmisión de *E. coli* y *Salmonella*, especialmente en países con elevada tasa de parasitosis intestinal (Fernández, 2000).

Debido a las consecuencias que pueden resultar del empleo de aguas contaminadas para el riego de tierras destinadas al cultivo de vegetales comestibles, especialmente hortalizas, se ha propuesto una norma de 1000

coliformes termotolerantes/100 mL. de agua para disminuir tales riesgos (Fernández, 1981). Geldreich y Bordner al respecto concluyen que el recuento de los coliformes termotolerantes ha probado ser el método más práctico y útil para determinar el grado de riesgo de enfermedad por patógenos que se encuentren en frutas y verduras que se consumen crudas (Fernández, 1981).

### **2.7.1. *E. coli* en verduras.**

Existen reportes que muestran salsas y guacamole contaminados con *E. coli* en restaurantes de Guadalajara, México, y Houston. Alrededor del 66% de los casos reportados fueron de restaurantes de Guadalajara, causando el padecimiento comúnmente conocido como “diarrea del viajero” (Warner, 2002).

De las muestras analizadas de los restaurantes más populares de la ciudad de Guadalajara, las más contaminadas eran las de guacamole, el pico de gallo fue el que presentó el nivel más bajo de contaminación, probablemente debido a la acidez del jitomate y a otros componentes que pueden estar inhibiendo a *E. coli* (Warner, 2002). Más recientemente, *E. coli* se aisló con una frecuencia de 66.7% a partir de ensaladas de verduras crudas listas para su consumo obtenidas en restaurantes de la ciudad de Pachuca (Noguera, 2005). Y el 10.5 % de estas cepas de *E. coli* fueron identificadas como patógenas; los grupos patógenos fueron: enteropatógeno, enteroinvasivo y enterotoxigénico (Méndez, 2006).

En los países en desarrollo, han sido identificados determinados alimentos como vehículos de infecciones por ECET. Una investigación prospectiva de la diarrea del viajero en los médicos que asistían a una conferencia en la Ciudad de México,

revelo que ECET explicaba aproximadamente el 45% de los casos de diarrea y que la enfermedad estaba relacionada con el consumo de ensaladas que contenían hortalizas crudas (ICMSF, 1998).

### **2.7.2. *Salmonella* en verduras.**

Debido al hábitat de *Salmonella* y a las malas prácticas agrícolas que se aplican durante la producción de las verduras, es posible asilarla a partir de diferentes verduras. La contaminación fecal del agua en donde desarrollan animales comestibles conduce a productos que muestran un grado variable de contaminación por diferentes microorganismos entre ellos *Salmonella* (Guo y col., 2001). En el caso particular del jitomate se conocen al menos dos brotes de salmonelosis: por *Salmonella* Javiana (1992) y por Montevideo (1993) reportados en Estados Unidos (Fernández y Yañez, 2001).

Una vez sobre la verdura, el patógeno entra en interacción con ella, esta bacteria tiene capacidad para adherirse sobre superficies inertes diversas. Algunas bacterias residentes de las plantas se alojan en sitios protectores tales como las cámaras estomáticas y tricomas dañados (Fernández y Yañez, 2001). Es posible que bacterias patógenas para el hombre se conduzcan de manera similar. Sobre los vegetales, una vez adheridas, pueden generar exopolímeros en los que se albergan y multiplican. Los microorganismos se tornan resistentes a la acción de agentes antimicrobianos generando un riesgo especial para la salud (Gutiérrez y col., 2000).

La importancia del coco en la etiología de *Salmonella* fue señalada por Wilson y Mackenzie, quienes aislaron 14 serotipos del patógeno de la especie *S. Typhi* de

este alimento. Schaffner y col. recopilaron de 9 fuentes, el aislamiento de 39 serotipos a partir del coco y demostraron que en Filipinas la contaminación no es debida a portadores o fuentes de agua contaminada y diseminación a través del agua interior del fruto y su corteza (Fernández, 1981).

La contaminación cruzada de los alimentos preparados en casa y restaurantes es donde se presenta mayor contaminación por *Salmonella*. El patógeno también a sido aislado de muchos alimentos de origen vegetal (debido al uso de estiércol como fertilizante, a riego con aguas negras o a que los productos son lavados con agua contaminada) (Fernández, 1981).

En 1990 y 1991 en EEUU se tuvo conocimiento de brotes de salmonelosis en los que el alimento implicado fueron melones chinos. En el primero, se registraron 245 casos pertenecientes a 30 entidades, aunque se estima que el número real rebasó a los 25 000. La bacteria responsable fue *S. Chester* (Ries y col., 1990). El segundo brote fue causado por el serovar *S. Poona* (CDC, 1991), con 185 casos confirmados en EEUU y 56 en Canadá.

Tres brotes de enfermedades asociados con el consumo de jitomate contaminado con *Salmonella* fueron detectados en los Estados Unidos y Canadá en el verano del 2004. Serotipos de *Salmonella* fueron aislados de los jitomates involucrados en los brotes (CDC, 2004).

### **2.8. Factores que afectan el comportamiento de patógenos en los alimentos.**

La importancia de los microorganismos existentes en los alimentos depende de: su número, su clase, el tipo de alimento, el tratamiento dado a éste, la manipulación, elaboración y almacenamiento de que será objeto, si el alimento

queda listo para el consumo o si debe ser calentado y los individuos que puedan consumir el alimento. Los microorganismos pueden ejercer una o varias funciones en un alimento. Pueden tener una función útil, corruptora, peligrosa para la salud o pueden ser inertes. En la mayoría de los casos de enfermedad transmitida por los alimentos, de corrupción o de actividad útil existe desarrollo y proliferación de microorganismos (Banwart, 1982).

Una vez concretada la contaminación de un alimento, la perspectiva que se presenta en el comportamiento de los microorganismos es:

- a) Sobrevivencia, sin afección del número de microorganismos viables
- b) Disminución en el número
- c) Desarrollo.

Una diversidad de factores afectan la sobrevivencia y desarrollo microbiano en los alimentos (Fernández, 2000). El conocimiento de los términos en que cada uno de estos factores afectan el comportamiento microbiano, es esencial para evaluar niveles de riesgo en los alimentos. Son la base, por otra parte, para el desarrollo de nuevas tecnologías de preservación de alimentos (Fernández, 2000).

### **2.8.1. Factores que afectan el comportamiento de *Salmonella*.**

*Salmonella* no requiere componentes especiales en los alimentos para desarrollar. Muestra notable potencial para hacerlo incluso en productos que no suelen reconocerse con alto contenido nutricional para el hombre. Por ejemplo, en trozos asépticamente extraídos, de sandía, papaya y jícama y almacenados a 25°C – 27°C, *S. Typhi* eleva su número en pocas horas; la incorporación de jugo de limón retrasa pero no evita la actividad (Fernández, 2000).

De acuerdo con la información de la prevalencia y sobrevivencia de *Salmonella* en el medio ambiente, no es de extrañar que los alimentos crudos o naturales, muestren índices de contaminación, cualitativamente muy variados y elevados, en muchos de ellos (Fernández, 2000).

El periodo de incubación de *Salmonella* es más largo a bajas temperaturas ( $< 5^{\circ}\text{C}$ ), la temperatura de crecimiento máxima es de  $49.5^{\circ}\text{C}$ . En el proceso de congelación la muerte de las células es más rápida entre  $0^{\circ}\text{C}$  y  $-10^{\circ}\text{C}$  que en un rango de  $-17^{\circ}\text{C}$  a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Sin embargo, este decrecimiento durante la congelación no es una garantía de destrucción, esto se ha detectado en alimentos que llevan años en congelación como por ejemplo las carnes. *Salmonella* es sensible al calor y cepas termoresistentes son raras, la temperatura aplicada para su destrucción es de  $51.4^{\circ}\text{C}$  a  $90^{\circ}\text{C}$ , en periodos de tiempo desde segundos hasta 1h dependiendo de la termoresistencia de las células, de la actividad de agua ( $A_w$ ), de la naturaleza de los solutos, del pH del medio. La termoresistencia disminuye a medida que la actividad de agua ( $A_w$ ) disminuye y la reducción del pH reduce la termoresistencia (Fernández, 2000).

El valor de actividad de agua ( $A_w$ ) más bajo que aún permite el desarrollo de *Salmonella* en medios de laboratorio es de alrededor de 0.945, el pH mínimo es de 3.8. La muerte ocurre cuando los límites extremos son sobrepasados (Fernández, 1981).

### **2.8.2. Factores que afectan el comportamiento de *E. coli*.**

*E. coli* es una bacteria termodúrica, susceptible a la congelación y descongelación, desecación y acidez excesiva. La letalidad observada de *E. coli* a pH 2 es mayor a pH 3.25 que a pH 4 y 900 veces mayor que a pH 4.5 (bebidas gaseosas), independientemente de la concentración de sacarosa presente. *E. coli* posee una capacidad de resistencia al medio ambiente, agentes químicos y factores que favorecen o impiden su desarrollo, tienen una limitada capacidad psicotrófa y es incapaz de proliferar en una concentración de NaCl por encima de 6% (Fernández, 2000).

### **2.9. El chile**

El consumo de chile es una tradición histórica y cultural en diversos países latinoamericanos, particularmente en México. Perteneciente a la familia de las solanáceas, el fruto comestible de la planta es originario de las planicies próximas del sur del Brasil, oeste de Bolivia y norte de Paraguay y Argentina (Dewitt y Gerlanch, 1990).

Los orígenes del chile se remontan a los aztecas, cuando hace miles de años vivían en las junglas tropicales y partieron hacia México. Entre sus recetas, que datan de hace más de 2000 años, se encuentra ya un guisado enchilado. Más adelante, México “se apropió” de este alimento y lo convirtió en parte esencial de su gastronomía (Lembeck y Columbus, 1987).

### 2.9.1. Producción mundial

La producción de chile a escala mundial se localiza principalmente en China, México, Turquía, España, Estados Unidos, Nigeria e Indonesia. En los últimos 10 años, esa producción se ha incrementado gradualmente a una tasa de crecimiento anual promedio de 6.26% para un acumulado durante el período 1992-2001 de 56.3% (<http://www.mercanet.cnp.go.cr>., 2005) (Tabla 6).

**Tabla 6.** Principales países productores de chile (toneladas).

País	2000	2001	2002
<b>China</b>	9, 436 452	9, 883 584	10, 533 554
<b>México</b>	<b>1, 734 630</b>	<b>1, 870 890</b>	<b>1, 775 758</b>
<b>Turquía</b>	1, 480 000	1, 560 000	1, 500 000
<b>España</b>	939, 000	965, 200	979, 500
<b>EUA</b>	912, 990	857, 330	865, 310

Fuente: FAOSTAT, FAO. 2002.

### 2.9.2. Cultivo en México

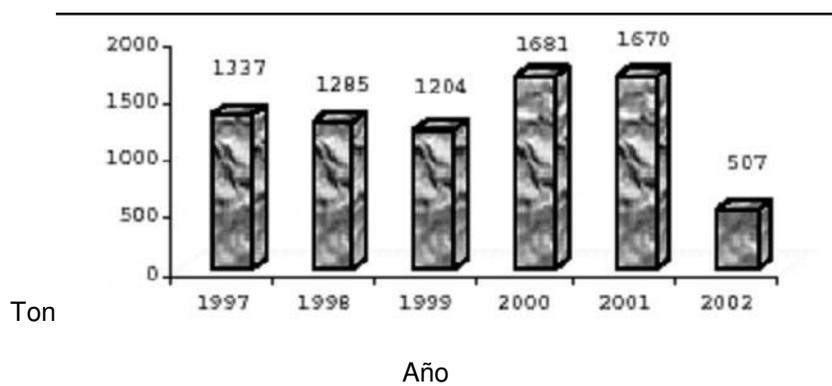
Los primeros cultivos se localizaron en dos zonas pertenecientes a los actuales estados de Tamaulipas y Puebla, en la República Mexicana. De acuerdo con la antigüedad del hallazgo, el del chile podría ser el primer cultivo humano en Mesoamérica. Sus consumidores le han adjudicado a este fruto propiedades controvertidas. Algunos autores han informado que su consumo se asocia a diversas propiedades curativas, que van desde el alivio de una herida hasta la prevención de un infarto. Por otra parte, es popularmente sabido que la

ingestión de chile produce alteraciones en el tracto digestivo y en el proceso de digestión (López y col., 1995).

El chile es el cultivo hortícola más importante en México y el de mayor consumo popular, especialmente en estado fresco, aunque también se consume procesado en forma de salsas, polvo y encurtidos (Valadez, 1994). En el año 2000 se reportó un consumo *per capita* anual de 13 kg, siendo consumido el 75% en forma fresca (FIRA, 2003).

La producción de chile verde en México se ha ido incrementando a una tasa de crecimiento de 5.72% anual ó 25% acumulado durante el período 1997 -2001. En el 2001, en México se sembraron 157 400 hectáreas, de las cuales se cosecharon 147 500 con un rendimiento productivo de 11.3 ton/ha para obtener 1 670 000 toneladas, como se puede apreciar en la figura 3 (<http://www.mercanet.cnp.go.cr>. 2005).

**Figura 3.** Producción de chile verde en México 1997-2002 en miles de toneladas (datos preliminares a abril 2002).



Fuente: Agroenlinea.com. 2002.

De las más de 140 variedades de chiles distintas que se cultivan en México, las más populares son el chile jalapeño y el chile serrano, en la tabla 7 se muestran las principales regiones productoras de estos chiles.

El chile es una hortaliza que genera divisas para México, ya que es el principal país proveedor para Estados Unidos y Canadá en los ciclos de invierno-primavera (noviembre-mayo) (Valadez, 1994).

En el 2002, la producción de chile verde del estado de Hidalgo fue de 11,184 ton. Se sembraron 1,548 has, se dañó 1 ha, se cosecharon 1,547 has, con un valor de 77.3 millones de pesos (Gobierno del Estado de Hidalgo, 2004.).

**Tabla 7.** Principales regiones productoras de chile y área sembrada en México.

Región	Total (ha)	Área (ha)	Principales tipos de chile
GOLFO Veracruz Tamaulipas (Sur)	12 900	10 400 2 500	Jalapeño y serrano
MESA CENTRAL Puebla Hidalgo	6 630	3 330 3 200	Poblano, miahueteco, serrano y carricillo
PACÍFICO NORTE Sinaloa Nayarit Sonora y B.C.N.	13 500	7 500 3 800 2 200	Bell, Anaheim, Caribe, fresno, serrano y ancho
NORTE Zacatecas Durango San Luis Potosí Chihuahua	29 100	16 600 3 000 6 500 3 000	Mirasol (cascabel), ancho y jalapeño
SUR Guerrero Yucatán Oaxaca	7 200	2 000 700 4 500	Jalapeño, costeño y habanero
<b>TOTAL</b>	<b>81 490</b>		

Fuente: Valadez, 1994

### 2.9.3. Valor nutritivo

Los compuestos que se muestran en la siguiente tabla fueron obtenidos con base en 100 g de parte comestible de chile.

**Tabla 8.** Compuestos del chile en base a 100 g de parte comestible.

<b>Compuesto</b>	<b>Cantidad</b>
Agua	88.8%
Proteínas	1.3 g
Carbohidratos	9.1 g
Ca	10.0 mg
P	25.0 mg
Fe	0.7 mg
Ácido ascórbico	235.0 mg
Tiamina /B1)	0.09 mg
Riboflavina (B2)	0.06 mg
Vitamina A	770 UI*

\*Una Unidad Internacional (UI) de vitamina A es equivalente a 0.3 mg de vitamina A en alcohol. Valadez, 1994.

En lo que a las solanáceas respecta, el chile verde contiene mayor cantidad de ácido ascórbico (vitamina C) y riboflavina (B2), siendo similar su contenido de minerales y proteínas al del jitomate, pero superándolo en carbohidratos (Valadez, 1994).

#### 2.9.4. Chile jalapeño

Chile fresco, color verde o verde oscuro, de forma cónica alargada. Mide en promedio unos 6 cm de largo y 2.5 cm de ancho. Se le da este nombre porque se dice que antiguamente se cultivaba en Jalapa, Veracruz desde donde se comercializaba a otras partes, actualmente ya no se cultiva ahí, pero es un chile muy famoso y utilizado en la gastronomía Veracruzana (NMX-FF-025-1982; <http://www.mercanet.cnp.go.cr.>, 2005).



En el D.F. también se le llama *chile cuaresmeño* porque antiguamente sólo lo llevaban durante la época de cuaresma. Cuando llega a su estado de maduración toma un color rojo intenso y se utiliza indistintamente como el verde. En las versiones secas es de los más importantes pues se convierte en el chipotle ( <http://www.mercanet.cnp.go.cr.>, 2005).

### **2.9.5. Chile serrano**

Chile pequeño de color verde de forma cilíndrica, a veces su terminación es en punta, en promedio mide de 3 a 5 cm de largo y un centímetro de diámetro, se considera picoso, generalmente se ocupa por sus semillas y venas también muy picosas. Su cáscara es tersa y brillante, nunca opaca o arrugada, la gran mayoría de este chile se consume inmaduro, es decir, de color verde, y al madurar torna rojo y se utiliza de la misma manera (NMX-FF-025-1982).



Se conserva fácilmente en el refrigerador por más de 10 días, no se debe de congelar. Toma su nombre de su lugar de cultivo que son las sierras de los estados de Puebla, Hidalgo y México, serrano es el nombre más conocido en todo el país, aunque también es llamado chile verde, cabe advertir que cuando las recetas no especifican o solo dicen chile verde se trata del chile serrano.

Se puede comer crudo, cocido, asado o frito. Cuando es crudo generalmente se pica y se mezcla con otros ingredientes para hacer diferentes salsas, entre ellas la llamada salsa mexicana o el guacamole. También se fríen en poco aceite o manteca y se sirven en los restaurantes, los llaman chiles toreados.

Menos común es el chile serrano seco, que se puede utilizar entero o molido. El chile serrano se puede sustituir por el chile jalapeño (<http://www.mercanet.cnp.go.cr>., 2005).

### III. JUSTIFICACIÓN

En nuestro país, el chile constituye un elemento básico en la mayoría de la población. Aunque se ha documentado que el consumo frecuente y moderado de chile ayuda en la prevención de enfermedades cardíacas (López y col., 1995), su consumo crudo inherentemente lleva implícito un riesgo de enfermedad de origen microbiano. De hecho, se ha reportado el hallazgo de grupos patógenos de *E. coli* en salsas y en guacamole tanto en la ciudad de México como en la de Guadalajara (Warner, 2002).

El estudio de la frecuencia con que el chile se encuentra contaminado con bacterias patógenas, así como también la evaluación del comportamiento de estas en el chile, es importante para obtener información que contribuya al desarrollo de medidas de prevención para control de enfermedades provocadas por este producto.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo General

Determinar la frecuencia de *Salmonella*, *E. coli*, coliformes totales y coliformes termotolerantes, y el comportamiento de *S. Typhimurium* y tres grupos patógenos de *E. coli* (ECEI, ECET, ECEP) en chile jalapeño y chile serrano.

### 4.2. Objetivos Particulares

1. Determinar la frecuencia de *Salmonella*, *E. coli*, coliformes totales y coliformes termotolerantes en chile jalapeño y chile serrano.
2. Determinar el comportamiento de *S. Typhimurium* y tres grupos patógenos de *E. coli* (ECEI, ECET, ECEP), sobre la superficie de chile jalapeño y chile serrano almacenados a temperatura ambiente, monitoreando la humedad.
3. Determinar el comportamiento de *S. Typhimurium* y tres grupos patógenos de *E. coli* (ECEI, ECET, ECEP), en rebanadas de chile jalapeño y chile serrano almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, monitoreando el pH y la humedad.

## **V. MATERIAL**

### **5.1 Material de laboratorio**

Agitadores

Tubos de ensayo

Campanas de Durham

Pipetas estériles

Matraces Erlenmeyer

Pipetas graduadas

Vasos de precipitado

Probetas

Bolsas de polietileno, presentación en rollo sin marca comercial

Cajas petri de plástico

Recipientes de plástico con tapa estériles

Micropipetas (5-100 y 100-1000 $\mu$ L)

Pinzas estériles

Cuchillo estéril

Termómetros

### **5.2. Medios de cultivo**

Agar de bilis y rojo violeta (ABRV), BD Bioxon

Agar sulfito bismuto (ASB), BD Bioxon

Agar *Salmonella-Shigella* (ASS), BD Bioxon

Agar verde brillante (AVB), BD Bioxon

Agar de hierro y triple azúcar (TSI), BD Bioxon

Agar de hierro y lisisna (LIA), BD Bioxon

Agar soya tripticasa (AST), BD Bioxon

Agar Cuenta Estándar (ACE), Merk

Agar eosina azul de metileno (AEMB), BD Bioxon

Caldo lactosado fluorocult (CLF), BD Bioxon

Caldo lactosado (CL), BD Bioxon

Caldo urea (CU), BD Bioxon

Caldo selenito cistina (CSC), BD Bioxon

Caldo Soya Tripticasa (CST), BD Bioxon

Base de caldo tetracionato (BCT), BD Bioxon

Peptona, Bioxon

### **5.3. Reactivos**

Antibiótico Rifampicina (Rif) (Biomedical Inc, Ohio, USA)

NaCl (Sigma Chemical, USA)

Reactivo de Kovác (Merk)

Solución yodo-yoduro (Técnica Química, S. A. de C. V.)

Antisuero somático para *Salmonella* (INDRE, México)

### **5.4. Equipos**

Autoclave (Yamata Sterilizer SM 200)

Balanza (Mettler Pc 2000)

Centrífuga (Hérmle Labnet Z 323 K)

Incubadora (Blue M)

Potenciómetro (Conductronic pH 120, Garden Grove, CA. USA)

Refrigerador (Lab-line Environeers inc)

Vortex-Genie 2 Scientific Industrie

Baño maría con circulación Riosa (0-120°C)

Cuenta colonias (American Optical Québec)

Horno para esterilización (Craft 0-250°C)

Lámpara de luz UV ENF-240C (Spectroline)

Higrómetro (Pro series, Dickson)

---

---

## VI. METODOLOGÍA

### 6.1. Frecuencia de *Salmonella*, *E. coli*, coliformes totales y coliformes termotolerantes (Ct) en chile serrano y chile jalapeño.

#### 6.1.1. Preparación de las muestras

Se analizaron 50 muestras de cada tipo de chile a lo largo de 6 meses (periodo junio-noviembre 2004). El 80% de las muestras fueron compradas en la central de abastos de la ciudad de Pachuca, y el 20% restante se obtuvieron de 3 diferentes establecimientos (2 supermercados y una fonda) y se procesaron alrededor de 5 muestras semanalmente. Para el caso del chile jalapeño cada muestra estuvo compuesta por cuatro chiles (aprox. 100 g por muestra). Para el serrano cada muestra consistió en 100 g de chile. Las muestras fueron transportadas al laboratorio bajo condiciones asépticas y procesadas dentro de las 2 h posteriores a su recepción.

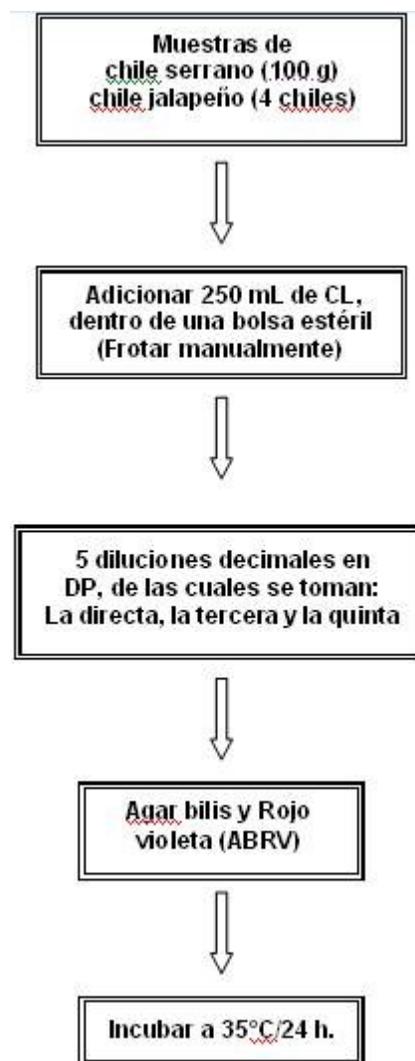
La investigación de los microorganismos se realizó de acuerdo a los manuales especializados en análisis microbiológico (FDA/CFSAN, 2001; NOM-112-SSA1-1994; Vanderzant y Splittstoesser, 1992).

#### 6.1.2. Cuantificación de organismos coliformes totales (Figura 4)

- Cada muestra se colocó en una bolsa estéril que contenía 250 mL de caldo lactosado (CL). Para el caso del chile jalapeño se frotó manualmente cada uno durante 1 min., en el caso del chile serrano se frotó toda la muestra que contenía la bolsa de manera homogénea durante 1 min.

- A partir del caldo lactosado se prepararon diluciones decimales en diluyente de peptona.
- El recuento se efectuó mediante la técnica de vaciado en placa con el agar bilis y rojo violeta (ABRV), incubando a 35°C/24 h (FDA/CFSAN, 2001; NOM-112-SSA1-1994).

**Figura 4**  
**Cuantificación de organismos coliformes totales**



---

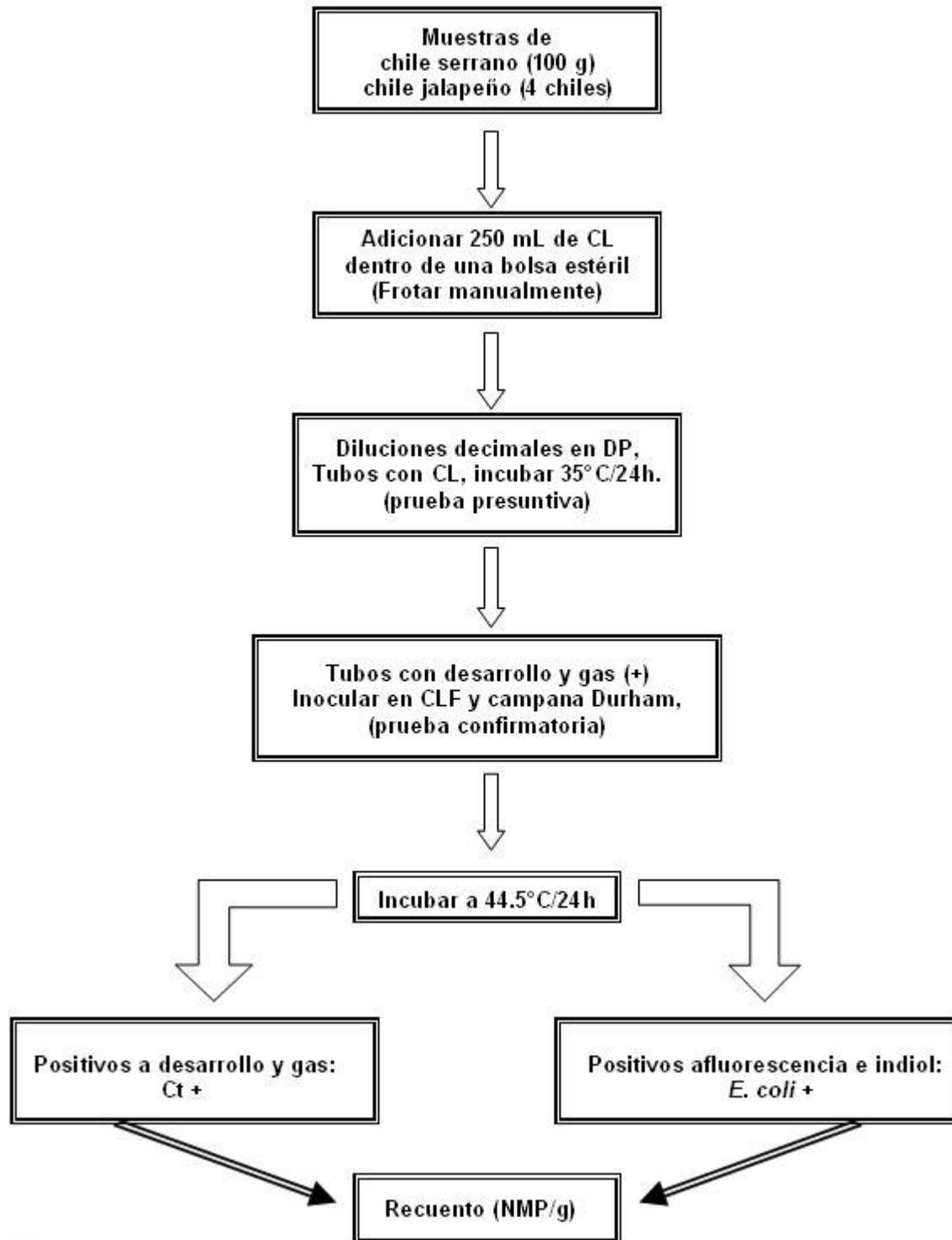
---

### 6.1.3. Cuantificación de *E. coli* y coliformes termotolerantes (Figura 5)

- Las muestras de chile jalapeño o chile serrano se prepararon como se describió para los organismos coliformes totales. Para la cuantificación de estos microorganismos se empleó la técnica del número más probable (NMP).
- La bolsa de caldo lactosado con los chiles fue considerada como dilución  $10^{-1}$ .
- Se prepararon 2 diluciones decimales más ( $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ) en diluyente de peptona.
- A partir de cada dilución decimal se inoculó una serie de tres tubos que contenían 9 mL de caldo lactosado (CL) y campana Durham; los tubos se incubaron a 35°C/48 h.
- Los tubos que presentaron desarrollo y gas se inocularon en tubos con caldo lactosado fluorocult (CLF) con campanas Durham. Los tubos se incubaron a 44.5°C/24–48 h. Los tubos que presentaron crecimiento y gas fueron considerados positivos para coliformes termotolerantes.
- Para el caso de *E. coli*, a partir de los tubos positivos para coliformes termotolerantes, se realizaron 2 pruebas bioquímicas:
  - Producción de indol mediante la adición del reactivo de Kovac.
  - La actividad de la enzima glucuronidasa (producción de fluorescencia azul al incidir luz ultravioleta sobre el tubo de cultivo CLF).

- Los tubos positivos a estas 2 pruebas fueron considerados como positivos a *E. coli*.
- Para confirmar resultados, los tubos considerados positivos a *E. coli*, fueron sembraron en agar eosina azul de metileno (EMB) y se incubaron a 35°C/24 h, las colonias con morfología típica (colonias grandes, oscuras, negro-azuladas, centro casi negro, con brillo metálico verdoso causado por la luz reflejada) de *E. coli* que se desarrollaron en el agar EMB fueron sometidas a las pruebas del IMViC para confirmarlas.
- La cuantificación de ambos organismos se realizó mediante las tablas del número más probable (NMP) (FDA/CFSAN, 2001; NOM-112-SSA1-1994).

Figura 5

Cuantificación de *E. coli* y coliformes termotolerantes

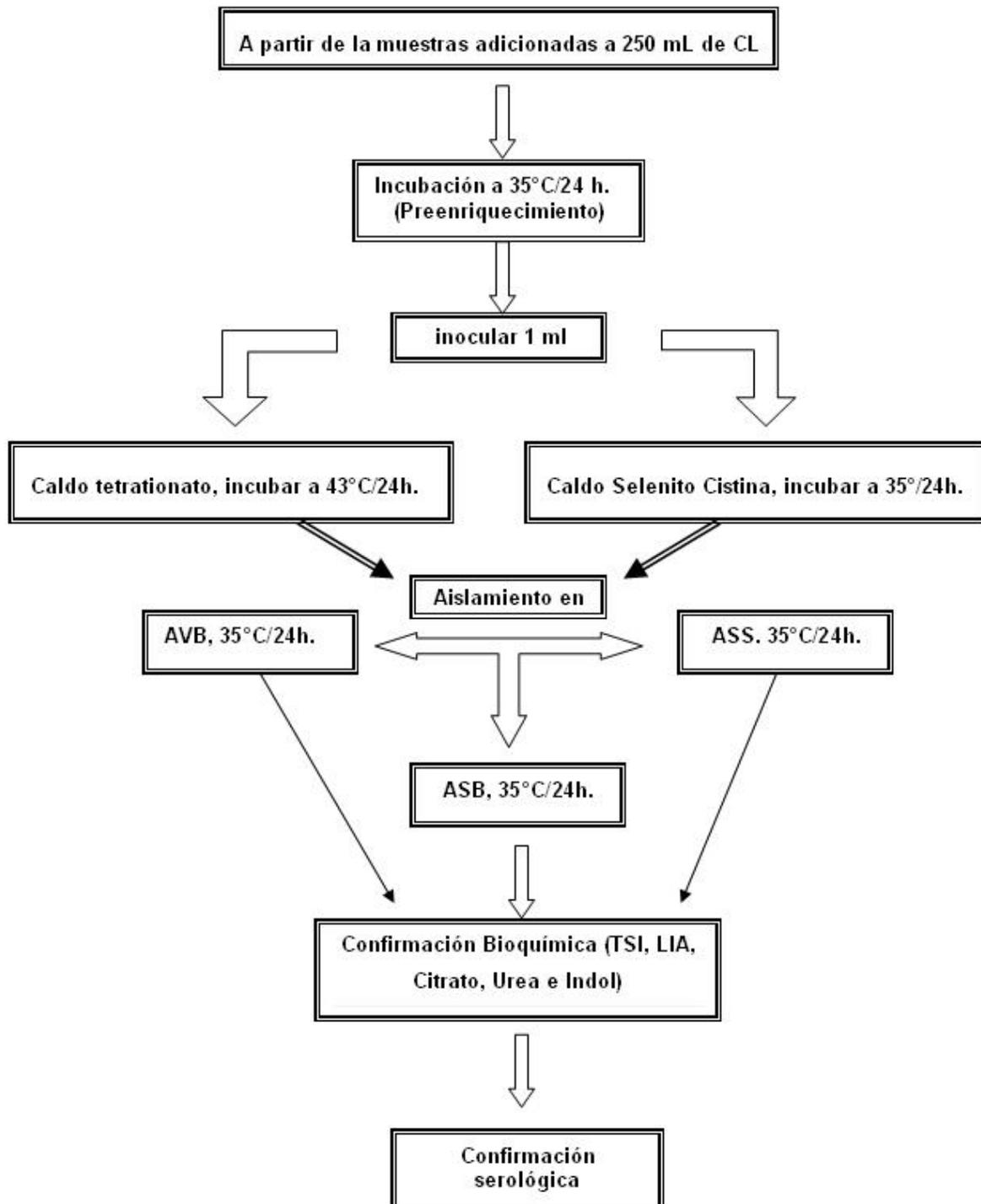
---

---

#### 6.1.4. Determinación de *Salmonella* (Figura 6)

- Las muestras de chile jalapeño o chile serrano se prepararon como se describió para los organismos coliformes totales.
- Las bolsas conteniendo los chiles se incubaron a 35°C/24h.
- Se tomo una alícuota de 1 mL del caldo lactosaso y se colocó en 9 mL de caldo selenito cistina (CSC) y otra alícuota de 1 mL se colocó en 9 mL de base de caldo tetrionato (BCT). Los tubos se incubaron a 35°C/24 h y 43°C/24 h para CSC y BCT, respectivamente.
- De cada tubo se sembró por estría, en una asada de los medios selectivos agar verde brillante (AVB), agar *Salmonella-Shigella* (ASS) y agar sulfito bismuto (ASB); las cajas inoculadas se incubaron a 35°C/24-48 h.
- Las colonias sospechosas de ser *Salmonella* (de 2 a 3) de cada medio de cultivo se confirmaron mediante pruebas bioquímicas en medio agar de hierro y triple azúcar (TSI), agar hierro lisina (LIA), caldo urea y agar citrato de simmons.
- Las colonias con pruebas bioquímicas típicas de *Salmonella* se confirmaron serológicamente con antisueros polivalentes (FDA/JFSAN, 2001; Vanderzant y Splittstoesser, 1992).

Figura 6

Determinación de *Salmonella*

**6.2. Estudios de comportamiento de *S. Typhimurium* y tres grupos patógenos de *E. coli* (ECET, ECEI y ECEP) en chile jalapeño y chile serrano crudo a  $22 \pm 2^\circ \text{C}$  y  $5 \pm 2^\circ \text{C}$ .**

**6.2.1. Cepas**

Se trabajó con 3 cepas de *S. Typhimurium* y 3 cepas de *E. coli* patógena (ECET, EPEI y ECEP) (Tabla 9). Las cepas de *Salmonella* fueron donadas por el laboratorio de Microbiología de Alimentos del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro. Las cepas de *E. coli* fueron donadas por el departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, México. Todas las cepas fueron marcadas previamente con resistencia a Rifampicina (R+) (Rojas, 2005).

**Tabla 9.** Cepas utilizadas para el estudio de comportamiento en los chiles.

PATÓGENO	CEPA	ORIGEN
<i>S. Typhimurium</i>	PG (ATCC 14028) 10 <sub>3</sub> 8 <sub>5</sub>	Cepa de colección Aislada de utensilio de un invernadero de jitomate Aislada de jitomate
ECET	1620 TL 326 10 ET 150 TL 419	Aisladas de casos clínicos
ECEI	4VC81-5 323GM894 TL3	Aisladas de casos clínicos
ECEP	872 TL 489 873 TL 489 52 GM 291	Aisladas de casos clínicos

---

---

### 6.2.2. Preparación del inóculo

- Las 3 cepas patógenas de *S. Typhimurium* y 9 de *E. coli* R+ fueron inoculadas en CST a 37°C/24 h, para su desarrollo.
- Bajo estas condiciones de cultivo las cepas de *E. coli* alcanzan una concentración de 9 log UFC/mL.
- Una vez desarrollados, los cultivos fueron lavados en solución salina isotónica (SSI) centrifugando a 3500 rpm/20 min., repitiendo dos veces la operación.
- Las tres cepas de cada grupo patógeno fueron mezcladas en volúmenes iguales en un tubo de ensayo estéril; de esta forma se tuvo una mezcla de *S. Typhimurium*, de ECET, otra de ECEI y una más de ECEP.
- Posteriormente se prepararon diluciones decimales en diluyente de peptona (DP) para obtener el nivel de inóculo deseado.

### 6.2.3. Obtención y preparación de los chiles

Los chiles fueron comprados en la central de abastos de la ciudad de Pachuca. Se emplearon chiles jalapeños y serranos frescos sin daño físico visible. En el laboratorio los chiles enteros se limpiaron con una franela seca para retirar la tierra y material que pudiera interferir en el estudio. Para el caso de las rebanadas, bajo condiciones asépticas los chiles fueron cortados con cuchillo estéril sobre una charola también estéril. Los chiles jalapeños se cortaron en rebanadas radiales de aproximadamente 0.5 cm de espesor; los chiles serranos se cortaron transversalmente.

---

---

## **6.2.4. Inoculación y almacenamiento de los chiles.**

### **6.2.4.1. Enteros**

Por separado, se colocaron 4 series de 24 chiles jalapeños o serranos cada una dentro de recipientes de plástico limpios y secos. Sobre cada serie de cada tipo de chile, se inoculó la mezcla de cepas de *S. Typhimurium* ó cada una de las tres mezclas de las cepas patógenas de *E. coli*. El inóculo consistió en depositar 5 porciones de 20  $\mu\text{L}$  ( $1 \times 10^4$  UFC/20  $\mu\text{L}$ ) de las suspensiones lavadas (de *S. typhimurium* ó *E. coli*) de manera uniforme en cada chile, para obtener una concentración de  $1 \times 10^5$  UFC/chile. Los recipientes fueron cerrados y se almacenaron a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 5 días. A las 0, 4, 8, 24, 48, 72, 96 y 120 h, para cada tipo de microorganismo, se tomaron tres unidades de chile jalapeño ó serrano y se efectuó el recuento de los microorganismos: cada chile se colocó de manera individual dentro de una bolsa que contenían 10 mL ó 20 mL de DP, para chile serrano ó jalapeño respectivamente. La parte inoculada se frotó manualmente (desde afuera de la bolsa) por 2 min. El recuento de las células liberadas se efectuó mediante la técnica de vertido en placa empleando AST adicionando 100 ppm de Rifampicina e incubado a  $35^\circ\text{C}/24\text{-}48$  h.

### **6.2.4.2. Rebanados**

En recipientes separados se colocaron rebanadas de chile jalapeño ó chile serrano. Sobre cada rebanada, se inoculó una alícuota de 10  $\mu\text{L}$  de las mezclas de cepas de *S. Typhimurium* ó *E. coli* para obtener una concentración inicial de aproximadamente 100 UFC/rebanada. Las porciones inoculadas se almacenaron

en recipientes cerrados a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) o de refrigeración ( $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 2 días. Periódicamente (0, 4, 8, 24 y 48 a  $22^\circ\text{C}$  y 0, 24 y 48 a  $5^\circ\text{C}$ ), para cada tipo de microorganismo, se tomaron tres rebanadas de chile jalapeño ó serrano, y se colocaron de manera individual dentro de bolsas que contenían 10 mL de DP. La parte inoculada se frotó manualmente (desde afuera de la bolsa) por 1 min. El recuento de las células liberadas se efectuó mediante la técnica de vertido en placa empleando AST adicionando 100 ppm de Rif e incubado a  $35^\circ\text{C}/24\text{-}48$  h.

### **6.3. Determinación de pH**

El monitoreo del pH se efectuó a partir de las rebanadas de chile jalapeño ó chile serrano almacenadas a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  ó  $5 \pm 2^\circ\text{C}$ . Para ello, periódicamente se tomaron aproximadamente 5 g de chile jalapeño ó serrano y fueron colocados en mortero de porcelana; al mortero se le adicionó 20 mL de agua destilada (previamente hervida) y los chiles fueron triturados. El pH se determinó con un potenciómetro. Las mediciones de pH se realizaron por triplicado a las 0, 4, 8, 24 y 48 h para los chiles almacenados a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  y a las 0, 24 y 48 h para los chiles almacenados a  $5 \pm 2^\circ\text{C}$ . El método utilizado para medir el pH de los chiles fue tomado de la técnica establecida por la AOAC (1990) para frutas y verduras.

### **6.4. Determinación de humedad relativa**

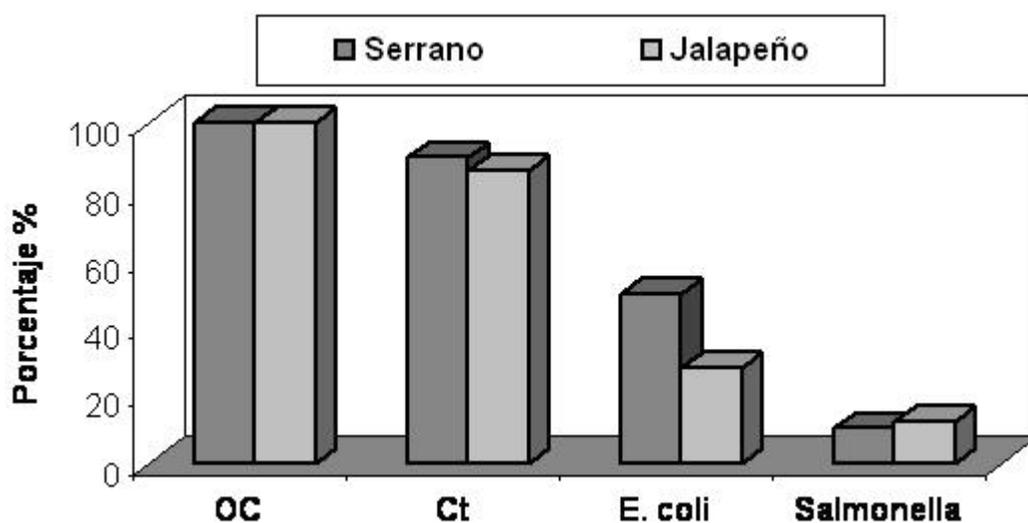
El monitoreo de la humedad se efectuó tanto en las rebanadas del chile como en entero. La medición de la humedad se realizo con un higrómetro. Las mediciones

se tomaron al tiempo que se realizaron los recuentos para las 2 temperaturas evaluadas.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Frecuencia de *Salmonella*, *E. coli*, Organismos coliformes y Coliformes termotolerantes en chile jalapeño y chile serrano crudo.

En este estudio se analizaron 50 muestras de chile serrano y 50 de jalapeño obtenidas de la central de abastos de la ciudad de Pachuca, y de 3 diferentes establecimientos (2 supermercados y una fonda). La frecuencia de organismos coliformes (OC) y de coliformes termotolerantes (Ct) fue elevada en ambos tipos de chile (Figura 7, Tablas 10 y 11). El 50 y 28 % de las muestras de chile serrano y jalapeño, respectivamente, resultaron positivas a *E. coli* (Figura 7). *Salmonella* se encontró con una incidencia del 10 % en chile serrano y del 12 % en chile jalapeño.



**Figura 7.** Frecuencia de organismos coliformes, coliformes termotolerantes, *E. coli* y *Salmonella* en chile jalapeño y chile serrano.

Los límites inferiores y superiores de OC para chile serrano y jalapeño fueron de  $6.8 \times 10^3$  a  $9 \times 10^7$  UFC/g; y de  $1.8 \times 10^5$  a  $1.6 \times 10^8$  UFC/g, respectivamente (Tabla 10 y 11). El límite máximo de coliformes termotolerantes (Ct) y *E. coli*, tanto en chile serrano como en jalapeño fue de más de 1100 NMP/g; no obstante en algunas muestras para ambos tipos de chile no se aislaron Ct ni *E. coli* (Tablas 10 y 11). Los resultados sobre la frecuencia y concentración de los microorganismos indicadores así como de *Salmonella* que se encontró para cada muestra en particular se reportan en los anexos 1 y 2.

**Tabla 10.** Frecuencia de *Salmonella* y valores mínimos, mediana y máximos de OC, Ct y *E. coli* en chile serrano.

	<b>Frecuencia (%)</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Máximo</b>
<b>OC (a)</b>	100	$6.8 \times 10^3$	$8.3 \times 10^6$	$9 \times 10^7$
<b>Ct (b)</b>	90	<3	265	1100
<b><i>E. coli</i> (b)</b>	50	< 3	7.4	1100
<b><i>Salmonella</i></b>	10	-	-	-

(a) UFC/g; (b)

NMP/g

**Tabla 11.** Frecuencia de *Salmonella* y valores mínimos, mediana y máximos de OC, Ct y *E. coli* en chile jalapeño.

	<b>Frecuencia (%)</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Media</b>	<b>Máximo</b>
<b>OC (a)</b>	100	$1.8 \times 10^5$	$2.2 \times 10^7$	$1.6 \times 10^8$
<b>Ct (b)</b>	86	< 3	210	1100
<b><i>E. coli</i> (b)</b>	28	< 3	25	1100
<b><i>Salmonella</i></b> (a) UFC/g; (b) NMP/g <sup>12</sup>		-	-	-

Los resultados revelan pobre calidad microbiológica de ambos tipos de chiles. Los altos niveles de organismos coliformes encontrados, pueden deberse a varios factores, entre ellos, las malas prácticas agrícolas. Desafortunadamente en México todavía en ocasiones, los cultivos son irrigados con aguas negras y en algunos casos se utiliza el estiércol no tratado como fertilizante. En consecuencia, la presencia de microorganismos patógenos en las verduras puede existir desde las primeras etapas de producción.

A pesar de que no existen normas específicas para el chile serrano y jalapeño en cuanto a los límites de microorganismos indicadores para tener una idea del grado de higiene de estos productos crudos, podemos tomar como referencia y con el fin de comparación, los límites establecidos para ensaladas que se consumen crudas; en estos alimentos el chile se agrega en forma cruda.

La Norma Oficial Mexicana 093-SSA1-1994, establece como límite máximo una cuenta total de coliformes termotolerantes (Ct) de 100 NMP/g en ensaladas verdes

---

---

o crudas. Los niveles de este grupo microbiano que encontramos en los chiles (Tabla 10 y 11) rebasan por mucho los establecidos para ensaladas de verduras crudas. De cualquier forma, es sabido que los OC son indicadores del grado de higiene con la que han sido manipulados los alimentos durante su obtención o transformación. En tal caso, los niveles de OC que se encontraron en los chiles revelan más bien un alimento de pobre calidad microbiana.

Los OC comúnmente se emplean como indicadores de la eficiencia de los procesos de desinfección de materiales y equipo. Estos niveles pueden explicarse de dos maneras: una intensa exposición a la contaminación durante el cultivo, recolección, transporte y comercialización sin ulterior desarrollo; o una discreta contaminación y en función de su riqueza en nutrientes, alta humedad y temperatura ambiente que favorece la multiplicación de los microorganismos. Este desarrollo puede ser tan activo que rápidamente alcancen su concentración máxima en el alimento. La segunda opción parecería la más viable, aunque en las condiciones prevalentes de producción y comercialización de los chiles, es posible la ocurrencia de ambas. Este señalamiento es de especial significado cuando los microorganismos involucrados tienen carácter patógeno, ya que se puede estar propiciando la contaminación y su desarrollo en el chile.

Como se puede apreciar, el chile serrano presentó una mayor frecuencia de Ct y *E. coli* que el chile jalapeño.

Se ha documentado que la presencia de coliformes sobre ensaladas de verduras, ocasionalmente incluye a *E. coli* enteropatógena (Duncan y Razzell, 1972; Ercolani, 1976; Geldreich y Bordner, 1971; Helmy y col., 1985; Khan y col., 1992 ).

Un brote causado por agua contaminada con *E. coli* O157:H7 (Rice y col., 1992), sustenta la posibilidad de contaminación cruzada en ensaladas de verduras y otros alimentos durante el procesamiento, comercialización y manipulación, lo cual justifica la necesidad de investigar la sobrevivencia y desarrollo de microorganismos patógenos en los chiles.

La contaminación cruzada durante la preparación, manipulación y comercialización, ha sido la principal causa de la presencia de bacterias patógenas en una gran cantidad de productos crudos de aparente alta calidad (productos delicatessen) (Abdul-Raouf y col., 1993).

Se puede decir que la frecuencia con la que se encontró *Salmonella* en los chiles es alta ya que en frutas y verduras la frecuencia con la que se aísla *Salmonella* por lo general se encuentra entre 0y 8% (FDA, 2001).

Cabe señalar que la dosis infectante de *Salmonella* puede ser tan baja como de 25 células (Gerba y col., 1996; Vought y Tatini, 1998). Por otro lado, en el caso de los individuos susceptibles se puede presentar la enfermedad con sólo 10 bacterias de la cepa apropiada de *Salmonella* (Carramiñana y col., 1997). Esta información es importante por que muestra la peligrosidad de *Salmonella* aun en concentraciones bajas.

Es probable que *Salmonella* haya contaminado los chiles desde el campo. *Salmonella* se ha aislado frecuentemente en agua (Cherry y col., 1972), que sirve como reservorio bacteriano y favorece la transmisión entre los huéspedes, ya que como *E. coli*, *Salmonella* está constantemente relacionada dentro de ambientes de

humanos infectados, animales de granja, mascotas y animales silvestres (Baudart y col., 2000). La contaminación del medio ambiente con *Salmonella* es debida exclusivamente a la transmisión de la bacteria a través de las heces contaminadas, ya sea a través de las aguas residuales de animales infectados o bien por las heces infectadas que puedan contaminar las aguas. Las aguas residuales pueden contener gran número de *Salmonella* y si esta agua se utiliza con fines agrícolas se pueden diseminar fácilmente. Cuando *Salmonella* se introduce en un hábitat puede permanecer viable durante muchos meses (ICMSF, 1996, 1998-b). *Salmonella* puede estar ampliamente diseminada en el suelo en ausencia de fertilización, como resultado de corrientes de agua o lluvia que arrastra material contaminado. *Salmonella* ha sido detectada frecuentemente en muestras de tierra recolectada de áreas agrícolas, en contraste con *E. coli* que tiene una baja capacidad de sobrevivencia en el suelo. Se cree que el suelo y las partículas de sedimento funcionan como nichos microecológicos y que algunas especies bacterianas pueden sobrevivir y tal vez multiplicarse (Winfield y Groisman, 2003).

Otro factor de contaminación, son los desechos humanos ya que aunque se han hecho esfuerzos para controlar y sanitizar estos desechos, *Salmonella* puede sobrevivir de 10 a 15 días en sistemas sépticos (Winfield y Groisman, 2003).

Por otra parte, *E. coli* O157:H7 se ha encontrado en aguas de embalse y de actividad recreativas (Ackman y col., 1997) y en fuentes de agua usadas para riego por aspersión de hortalizas. Se ha detectado en la heces de muchos animales incluyendo vacas lecheras y de engorda, pollos, cordero, cerdo, animales

---

---

domésticos, venados y conejos. Se ha demostrado que *E. coli* O157:H7 ha sobrevivido en estiércol seco y se ha encontrado en efluentes de granjas de vacas lecheras y de engorda cuyo proceso de abono permanece incompleto (ACMSF, 2000). En Estados Unidos, se examinó recientemente el rol de las prácticas agrícolas en la contaminación de las verduras frescas con microorganismos patógenos en lo concerniente al uso de estiércol como fertilizante en la producción de verduras (Sewell y Farber, 2001; Tauxe y col., 1997). El estiércol de bovino es una buena fuente de macro y micronutrientes, sin embargo, también es una fuente de contaminación de alimentos con bacterias patógenas y usarlo sin un tratamiento previo para la destrucción de patógenos incrementa el riesgo de contaminación de las verduras que crecen en suelos fertilizados (Ingham y col., 2004).

Aunque no existen reportes de estudios realizados en chile serrano y jalapeño, los resultados obtenidos se pueden relacionar con diferentes estudios que muestran altos niveles de microorganismos indicadores de higiene, de materia fecal y de patógenos en diversas ensaladas listas para el consumo humano (Copes, 2002; OPS, 1996; Torres y col., 1997) y además existen casos de salmonelosis que han sido asociados con el consumo de jitomate, melón y jugo de naranja no pasteurizado (CDC, 1993; Blostein, 1991; CDC, 1999). Una investigación prospectiva de la diarrea del viajero en los médicos que asistían a una conferencia en la Ciudad de México, reveló que *E. coli* enterotoxigénica explicaba aproximadamente el 45% de los casos de diarrea y que la enfermedad estaba relacionada con el consumo de ensaladas que contenían hortalizas crudas (ICMSF, 1998-a).

En este estudio, el 100% de las muestras analizadas de ambos tipos de chiles presentaron una calidad microbiológica pobre. Estos resultados coinciden con otros obtenidos a partir de ensaladas de verduras crudas, por ejemplo, en un estudio que se realizó con ensaladas de verduras crudas listas para su consumo obtenidas en diferentes restaurantes, se encontró que el 94.71 % de las muestras presentaban una calidad microbiológica inaceptable (Noguera, 2005).

Los resultados de la calidad sanitaria de los chiles, revelan la existencia de problemas graves de contaminación microbiana, por esta razón, en caso de que su consumo sea crudo, es necesaria la aplicación de un lavado y desinfección adecuados para eliminar o reducir los peligros microbianos. No obstante, para ello es necesario realizar la evaluación de métodos de desinfección para seleccionar el que permita eliminar el riesgo. La evaluación es importante ya que se sabe que para el caso de las frutas y verduras no existe un método de desinfección universal (Buck y col., 2003; Koseki y Itoh 2001; Park y col. 2001) es decir, un procedimiento puede ser eficiente para la desinfección de una verdura pero no para otra. En consecuencia diferentes investigadores recomiendan en la medida de lo posible, evaluar procedimientos de desinfección para cada verdura en particular.

**7.2. Estudios de comportamiento de *S. Typhimurium* y tres grupos patógenos de *E. coli* (ECET, ECEI y ECEP), del pH y humedad relativa en chile jalapeño y chile serrano crudo.**

Generalmente, la demostración de un microorganismo patógeno en un alimento es razón suficiente para condenarlo. La razón es que algunos como *Shigella*, muestran dosis infectante muy bajas (Cliver, 1990); por otra parte la mayoría de los microorganismos patógenos suelen manifestar potencial para desarrollar en los alimentos, lo que depende de una variedad de factores ecológicos (ICMSF, 1980). Su efecto sobre el destino de un microorganismo en particular, puede ser positivo (sobrevivencia / desarrollo) o negativo (inactivación) dependiendo de las condiciones prevalentes al momento de ingresar al alimento y de su manejo ulterior. En consecuencia, un alimento es más o menos peligroso dependiendo del tipo de microorganismos patógenos que contenga y de las facilidades que presente para su eventual desarrollo.

Existe limitada información sobre el comportamiento de grupos patógenos de *E. coli*, de importancia en los países subdesarrollados, en verduras crudas; en particular para el caso de Chile no existen estudios del comportamiento de estos grupos patógenos ni de *Salmonella*

Para realizar los estudios de comportamiento de los tres grupos patógenos de *E. coli* y *Salmonella* Typhimurium se utilizaron cepas resistentes al antibiótico Rifampicina, esto para evitar la interferencia de la flora microbiana nativa de Chile con el monitoreo del comportamiento de las cepas patógenas. Se utilizaron cepas de *E. coli* patógenas y *S. Typhimurium* resistentes a 100 ppm de Rifampicina. Esta concentración del antibiótico fue suficiente para inhibir la flora interferente.

---

---

Para todos los experimentos realizados se trabajó con mezclas de cepas patógenas de *E. coli* y *S. Typhimurium* del mismo grupo patógeno. El utilizar mezclas de diferentes cepas de un mismo microorganismo para evaluar su comportamiento en un alimento, es un procedimiento muy utilizado; se obtienen valores más representativos de su comportamiento que cuando se utilizan de manera individual o por separado (Fernández, 2000).

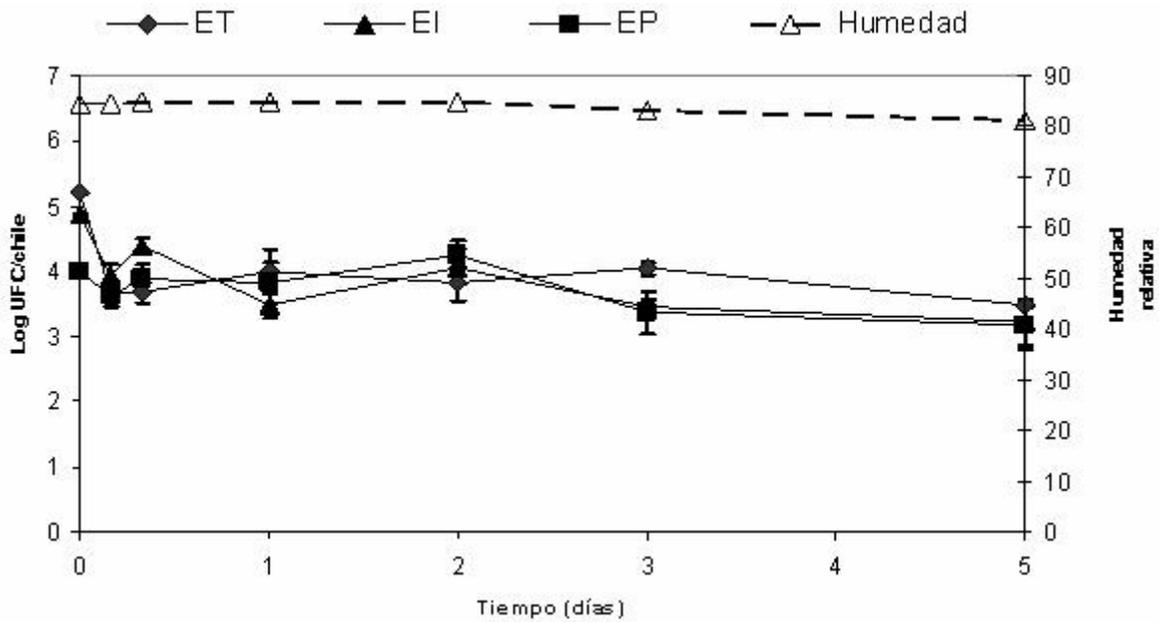
El comportamiento de los microorganismos se evaluó a  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  en la superficie de ambos tipos de chile y a  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y  $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$  en rebanadas de ambos tipos de chile. La razón de llevar a cabo los experimentos en estas condiciones, es que los chiles ya sea en la etapa del almacenamiento o cuando se consumen en forma cruda, en rebanadas o como ingrediente de salsas o ensaladas, frecuentemente son mantenidos a temperaturas similares a estas.

En este caso seleccionamos  $22^{\circ}\text{C}$  para determinar el comportamiento de los microorganismos patógenos en los chiles enteros debido a que es la temperatura ambiente promedio de zonas templadas como el centro de México. Aunque durante el almacenamiento de los chiles se emplean temperaturas bajas ( $18^{\circ}$ ,  $15^{\circ}$ ,  $10^{\circ}$  y  $5^{\circ}\text{C}$ ), nosotros seleccionamos solamente la de  $22^{\circ}\text{C}$  porque nos interesaba conocer el comportamiento del microorganismo en el caso de que este ingresara a los chiles desde el campo, durante el transporte o la comercialización de los chiles como comúnmente se realiza en México (a temperatura ambiente).

### **7.2.1. Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli* R<sup>+</sup> y *Salmonella* sobre la superficie de chile jalapeño y serrano a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .**

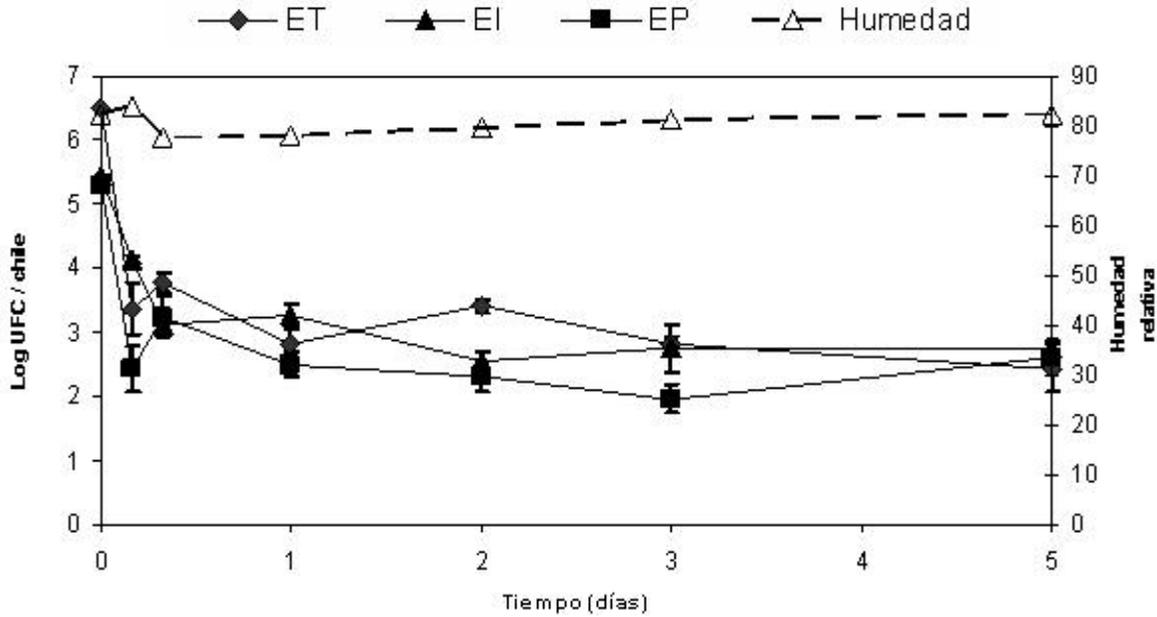
En general los tres grupos patógenos mostraron un comportamiento similar entre ellos sobre ambos tipos de chile (Figuras 8 y 9). Para el caso del chile jalapeño, los tres grupos patógenos de *E. coli*, se inactivaron ligeramente en las primeras 4 horas; posteriormente, el número de microorganismos prácticamente se mantuvo constante al menos hasta el quinto día que duró el estudio (Figura 8). Durante el estudio la humedad que se registró fue de alrededor de 82 % con límites de 81.2 a 84.4 % (Figura 8).

Para el caso del chile serrano, se observó una mayor inactivación de los tres grupos patógenos durante las primeras 4 horas del estudio (Figura 9) en comparación con lo observado en el chile jalapeño. En las tres cepas se observó una disminución de alrededor de 3 Log de UFC/chile (Figura 9), sin embargo, después de este decremento la concentración se mantiene prácticamente constante hasta el quinto día.



**Figura 8.** Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli* sobre la superficie de chile jalapeño y variación de la humedad relativa a  $22 \pm 2$  °C.

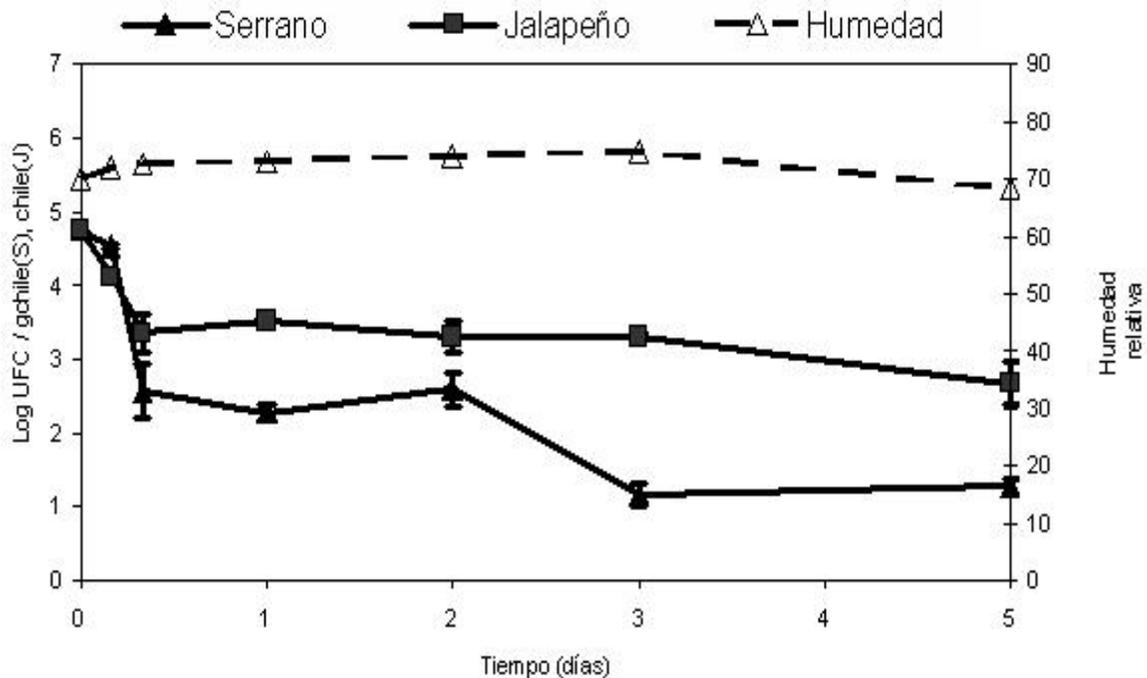
En este estudio se presentó un límite inferior de humedad relativa más bajo que el registrado en los estudios con el chile jalapeño; para el caso del serrano, el mínimo fue de 77.8 y el máximo de 84%.



**Figura 9.** Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli* sobre la superficie de chile serrano y variación de la humedad relativa a  $22 \pm 2$  °C.

Para el caso de *Salmonella*, al igual que lo observado con los grupos patógenos de *E. coli*, sobre ambos tipos de chile se presentó un marcado decremento de *Salmonella* en las primeras horas de almacenamiento (Figura 10). Se observó también una mayor inactivación del patógeno sobre el chile serrano que sobre jalapeño. Luego de este decremento, la concentración de *Salmonella* permanece constante en el chile jalapeño, no así en el serrano en donde se observa inactivación paulatina del patógeno. Bajo las condiciones de estudio, la humedad relativa fue menor que la registrada en los estudios de *E. coli*; en los estudios de *Salmonella* presentó un máximo de 74.8 y un mínimo de 68.3 % de humedad relativa. En este caso la humedad tampoco juega un papel importante en la

inactivación de *Salmonella*; se sabe que éste patógeno puede sobrevivir durante 1 año o mas en alimentos que tengan valores inferiores a los aquí descritos de humedad relativa (ICMSF, 1996).



**Figura 10.** Comportamiento de *Salmonella* Typhimurium sobre la superficie de chile serrano y jalapeño y variación de la humedad relativa a  $22 \pm 2$  °C.

En los tres estudios anteriores se aprecia en general una misma tendencia: un decremento acentuado en la concentración de la población en las primeras horas y posterior mantenimiento de la concentración de la población. Típicamente las gráficas de sobrevivencia de los microorganismos aparecen como líneas rectas con pendiente negativa. En ocasiones el trazo es distinto y aparecen líneas cóncavas, convexas o curvas bifásicas (Moatz, 1971). Se cree que las curvas

---

---

bifásicas son el resultado de una distribución no uniforme de células individuales con distinta termorresistencia; la gráfica representaría el comportamiento de poblaciones diferentes en ese carácter, dentro del mismo cultivo (Moatz, 1971). Hay que considerar, además, que cuando las células se encuentran en un alimento o adheridas y colonizando una superficie, la población en general puede ser más resistente. En un alimento sus constituyentes podrían conferir diferentes grados de protección al microorganismo dependiendo de la región o alimento donde se encuentren; como resultado, se tendría una sobrevivencia mayor de los microorganismos (Castro, 2001). Para el caso de los microorganismos patógenos que inoculamos sobre los chiles, la situación es semejante y es de esperar entonces que se obtengan curvas bifásicas ante células que contaminan un alimento y se adhieren al material.

A pesar de que en los chiles observamos un comportamiento bifásico en la sobrevivencia de los patógenos bajo estudio, la disminución que se presentó en las primeras horas no es tan marcada como la que se ha observado en otras verduras crudas (Castro y col., 2004; Rojas, 2005; Trepát, 2002).

Es importante destacar la poca inactivación de los grupos patógenos de *E. coli* y de *Salmonella* que se observó en el chile jalapeño. Al contrario, parecería que éstos proveen protección a los microorganismos patógenos ya que por lo general se ha observado que sobre verduras en las primeras horas de contactos más de 99.9 % de la población bacteriana patógena se inactiva (Fernández, 2000; Rojas, 2005).

La diferencia en la sobrevivencia de los microorganismos patógenos entre el chile jalapeño y serrano, puede ser debido a la posible presencia de antimicrobianos

---

---

naturales en el chile serrano. Es sabido que las frutas y verduras pueden contener diferentes compuestos con actividad antimicrobiana. Tales compuestos pueden localizarse en diferentes partes de las plantas, incluidas las hojas, tallos, semillas, frutos y raíces (Fernández, 2000). Algunas de las sustancias son constitutivas de los fluidos o tejidos de las plantas. Otras, se generan en respuesta a infecciones y ciertas condiciones de estrés provocadas por diversos factores. Estas sustancias antimicrobianas, pueden tener efecto variado sobre los microorganismos; algunas muestran un amplio espectro de inhibición, otras solo afectan a ciertos grupos: gram positivos o negativos, por ejemplo. La presencia de sustancias antimicrobianas contribuye a seleccionar el tipo y abundancia de microflora en el alimento. En las frutas, los ácidos presentes en el mesocarpio funcionan como un mecanismo protector contra la eventual invasión microbiana a las semillas. Es común entre las plantas de la familia *Umbelliferae* como el perejil, el apio y las zanahorias, y *Rutaceae*, como la toronja, limas y naranjas, la producción de fitoalexinas, algunas de ellas del grupo de las furocumarinas (Fernández, 2000). La producción de estas sustancias se incrementa, cuando estos vegetales entran en una condición de estrés por efecto de factores ambientales (cambios en la temperatura o exposición a iones metálicos) o microbianos (infección por bacterias u hongos). Otros compuestos naturales en los vegetales con actividad antimicrobiana incluyen las antocianinas, algunos derivados de las clorofilas, glucósidos fenólicos, derivados del ácido hidroxicinámico y la cafeína (Fernández, 2000).

Es posible también, que para el caso de los grupos patógenos de *E. coli* la humedad relativa haya contribuido a las diferencias observadas en el

---

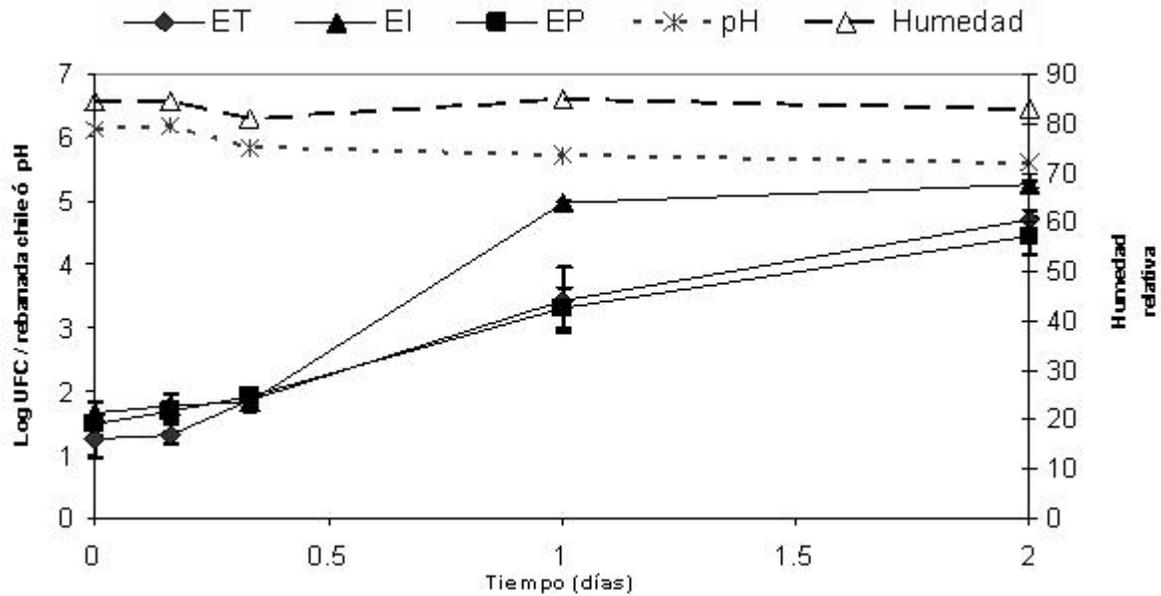
---

comportamiento de estos patógenos sobre los dos tipos de chile (Figura 8 y 9). La humedad relativa fue más baja durante los estudios de comportamiento de *E. coli* con el chile serrano que con el jalapeño. Es sabido que la humedad relativa afecta la actividad de agua ( $A_w$ ) de los alimentos (Fernández, 2000), en consecuencia, sería de esperar menor  $A_w$  en la superficie de los chiles serranos que en los de los jalapeños durante la realización de los experimentos. Se sabe que la  $A_w$  tiene influencia directamente proporcional en la sobrevivencia de los microorganismos (Fernández, 2000); es decir, a menor  $A_w$  menor sobrevivencia. Independientemente de que provoque la inactivación de los microorganismos sobre los chiles, ésta no es total. Y como se observó, aun después de 5 días el microorganismo se encuentra en una concentración de riesgo elevado.

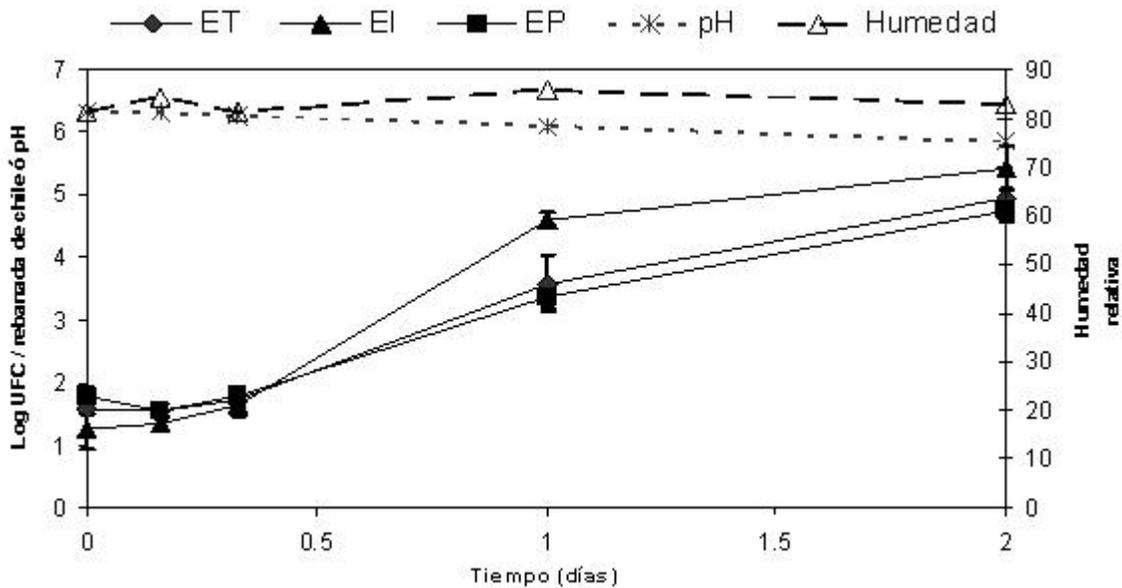
#### **7.2.2. Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli* R<sup>+</sup> en rebanadas de chile jalapeño y serrano a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y $5 \pm 2^\circ\text{C}$ .**

A diferencia de lo que se observó en los chiles completos, en las rebanadas almacenadas a  $22^\circ\text{C}$ , los tres grupos patógenos de *E. coli* y *Salmonella* se multiplicaron en ambos tipos de chiles (Figuras 11-12). Para el caso de *E. coli*, los tres grupos patógenos incrementaron ligeramente su número en las primeras 8 horas sobre las rebanadas de chile jalapeño (Figura 11); el grupo de ECEI alcanzó un máximo de aprox. 5 Log de UFC/rebanada a las 24 h. En este mismo tiempo, la concentración promedio de los otros dos grupos fue de aprox. 3 Log. Estos grupos patógenos alcanzaron un máximo de 4 Log a las 48 h (Figura 11). Durante el estudio la humedad relativa osciló de 81.2 a 84.9 % (Figura 11). Desde el inicio

el chile jalapeño presentó un pH ligeramente ácido (6.12 en promedio) el cual disminuyó hasta 5.61 a lo largo del estudio.



**Figura 11.** Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli*, del pH y humedad relativa en rebanadas de chile jalapeño a  $22 \pm 2$  °C.

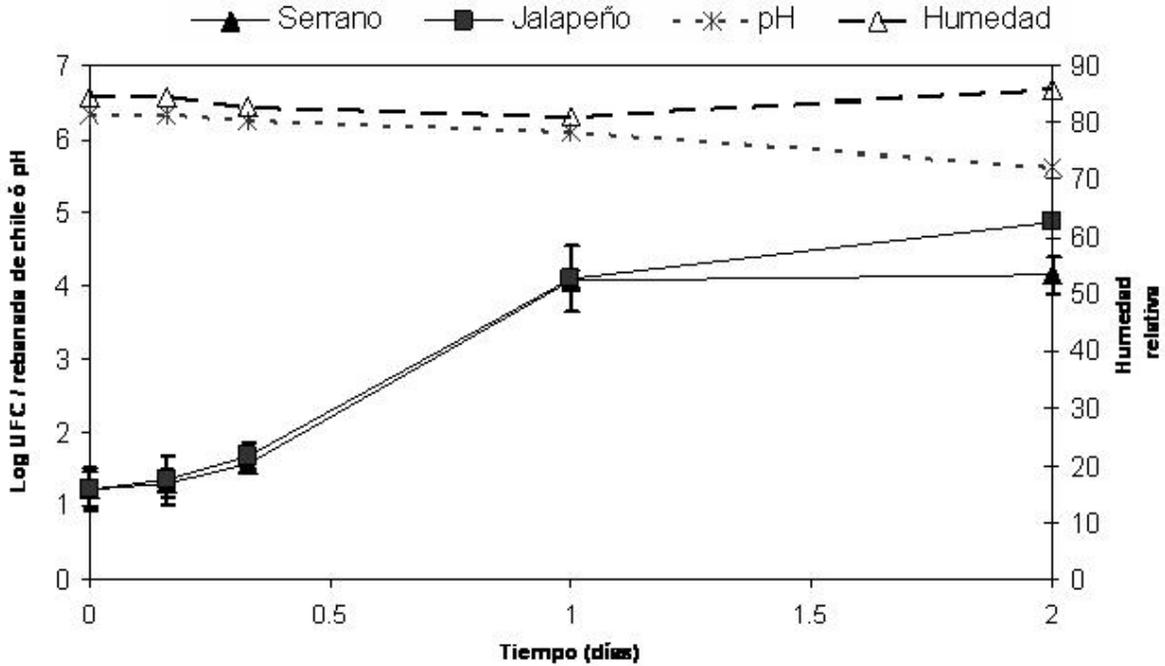


**Figura 12.** Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli*, del pH y humedad relativa en rebanadas de chile serrano a  $22 \pm 2$  °C.

En las rebanadas de chile serrano, los tres grupos patógenos mostraron un comportamiento muy semejante al observado en el jalapeño (Figura 12). Los tres grupos patógenos alcanzaron una concentración aproximada de 4 Log de UFC/rebanada a las 24 h; la máxima concentración se observó a las 48 h (aprox. 5 Log UFC/rebanada). La humedad tuvo un valor mínimo de 81.2 % y un máximo de 86 %. En este tipo de chile el pH inicial fue en promedio de 6.33 y disminuyó progresivamente hasta 5.85 a las 48 horas (figura 11).

Es importante destacar que en ambos tipos de chiles la ECEI mostró mayor actividad y también alcanzó mayor concentración.

Finalmente, *Salmonella* mostró un comportamiento estadísticamente igual en ambos tipos de chile (Figura 13). Al igual que lo observado con los grupos patógenos de *E. coli*, el desarrollo de *Salmonella* se presenta después de las primeras 8 h, de tal manera que a las 24 h se ha alcanzado una concentración promedio de 4 Log de UFC/rebanada de chile. Esta concentración se mantuvo constante hasta las 48 h en el chile serrano pero no en el jalapeño en donde se registró una concentración final cercana a 5 Log de UFC/rebanada (Figura 13). En este estudio la humedad relativa se mantuvo prácticamente constante en ambos tipos de chiles, no obstante, se registró ligero aumento a las 48 horas; la máxima registrada fue de 86% y la mínima fue de 81.2 % (Figura 13). El pH inicial y final de los chiles estadísticamente fue el mismo ( $p < 0.05$ ) que el registrado en los estudios de *E. coli* (Figuras 11 y 12); por cuestiones de apreciación, en la Figura 13 sólo se reporta el pH registrado en el chile serrano.



**Figura 13.** Comportamiento de *Salmonella* Typhimurium, del pH y humedad relativa en rebanadas de chile serrano y jalapeño a  $22 \pm 2$  °C.

A pesar de que las rebanadas de ambos tipos de chiles mostraron desde el inicio un pH ácido, este no fue un factor que inhibiera el desarrollo de los microorganismos patógenos; se sabe que tanto *E. coli* como *Salmonella* pueden desarrollar en medios ácidos incluso hasta con un pH de 3.5 (ICMSF, 1999). No obstante, es probable que el microorganismo no haya alcanzado una mayor concentración en el chile debido al pH del alimento; se ha reportado que conforme el pH del medio disminuye la concentración final del microorganismo también disminuye en comparación a la observada a pH 7 (ICMSF, 1999). La humedad

---

---

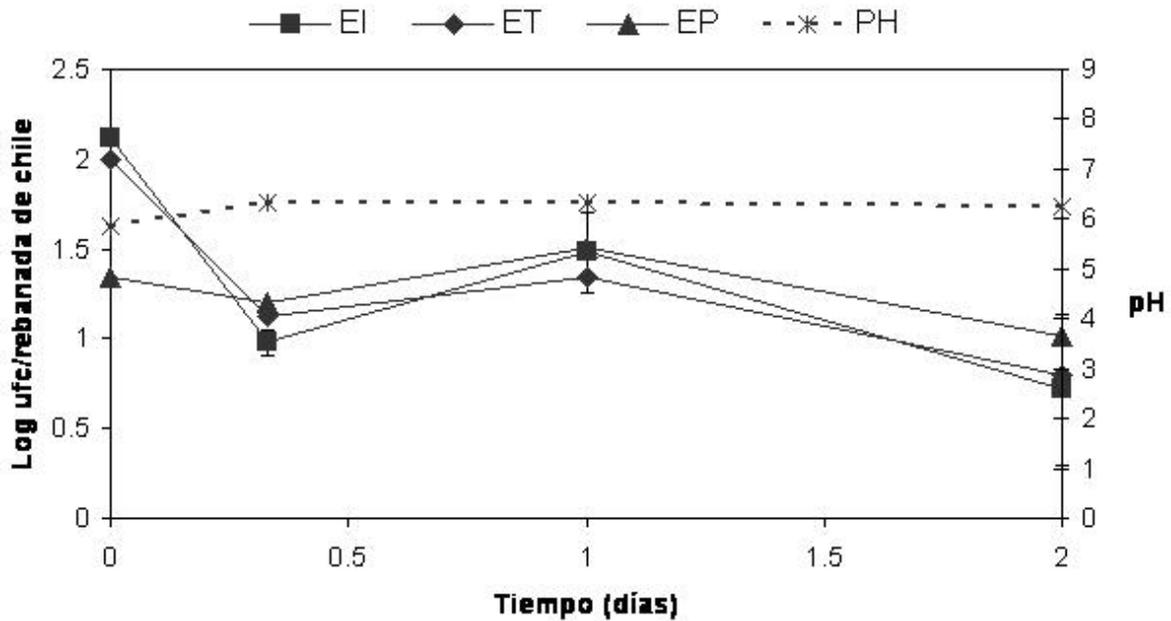
relativa registrada durante los experimentos tampoco fue limitante para el desarrollo de los patógenos.

El desarrollo de los patógenos en las rebanadas de ambos tipos de chiles a temperatura ambiente, revela que el chile es un sustrato que soporta el desarrollo de estos microorganismos, lo cual lo convierte en un alimento de riesgo (Fernández, 2000).

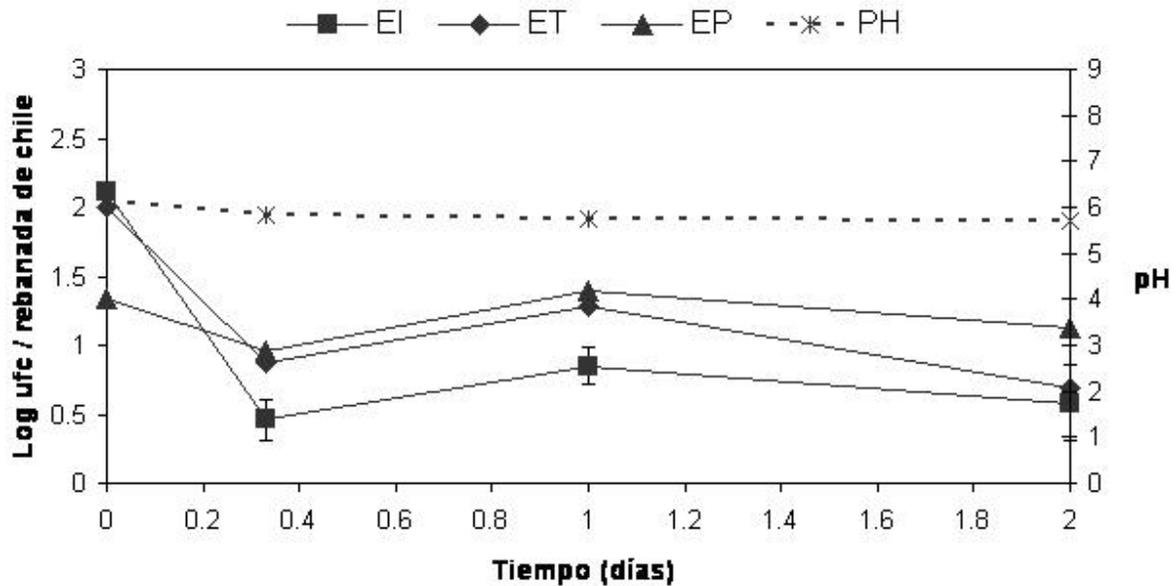
Aunque no hay estudios de comportamiento de estos patógenos realizados en rebanadas de chile jalapeño y serrano, existen estudios realizados en rebanadas de jícama, papaya y sandía a temperatura ambiente donde se ha evaluado la habilidad de bacterias enteropatógenas de sobrevivir y crecer en estas frutas; se ha reportado que estos patógenos incrementan su población en 2 log al transcurrir 6 horas (del Rosario y Beuchat, 1995). Conner y col. (1995) obtuvieron un aumento de 2 a 4 log en bacterias almacenadas a 25°C durante 56 días. También se observó un rápido crecimiento de *E. coli* en pepino mínimamente procesado mantenido a 21 °C (Abdul-Raouf y col.,1993).

Contrario a lo observado en las rebanadas inoculadas y almacenadas a 22° C, cuando éstas fueron almacenadas en refrigeración ( $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ) ninguno de los tres grupos patógenos de *E. coli* ni *Salmonella* se multiplicaron (Figuras 14-16). En ambos tipos de chile se observó una disminución de los tres grupos patógenos en las primeras 8 horas (Figuras 14 y 15); sin embargo, en el chile jalapeño, en este tiempo, sólo se observó una disminución de aproximadamente 1 Log (Figura 14) mientras que en el serrano fue de casi 2 Log (Figura 15). En ambos tipos de chile, después de este decremento la concentración de los tres grupos patógenos se

mantuvo prácticamente constante al menos hasta el segundo día que duro el estudio. Bajo estas condiciones de estudio el pH de las rebanadas se mantuvo prácticamente constante; sólo se observaron pequeñas variaciones desde 6.85 a 6.26 y de 6.12 a 5.8 para chile jalapeño y serrano respectivamente.



**Figura 14.** Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli* y del pH en rebanadas de chile jalapeño a  $5 \pm 2$  °C.



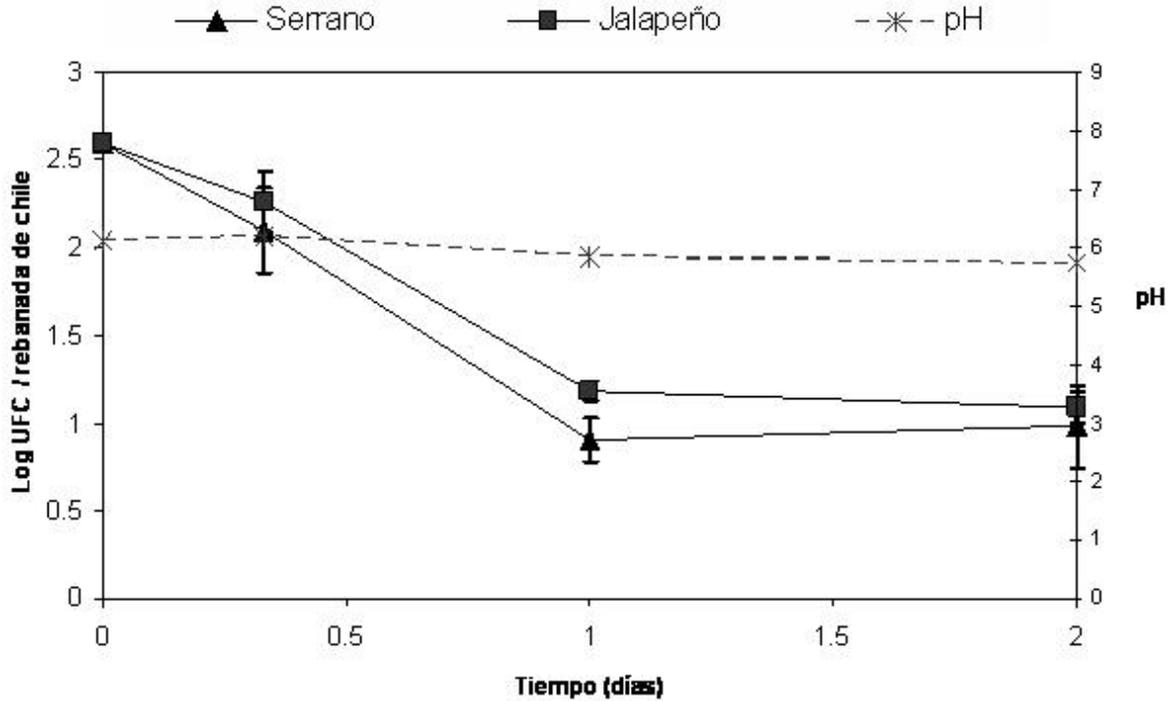
**Figura 15.** Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli* y del pH en rebanadas de chile serrano a  $5 \pm 2$  °C.

No existen reportes sobre la capacidad de desarrollo en refrigeración de los grupos patógenos de *E. coli* en chile para comparar nuestros resultados. Sin embargo, existen algunos estudios donde se ha observado multiplicación de estos grupos patógenos en refrigeración, por ejemplo, Rojas (2005), encontró que los tres grupos patógenos fueron capaces de multiplicarse en rebanadas de jitomate, pepino, lechuga picada y cilantro picado, mantenidos en refrigeración. No obstante, en los estudios referidos, la multiplicación de los microorganismos se presentó después del tercer día de almacenamiento de los vegetales. En los chiles sólo realizamos los estudios hasta el segundo día; por lo tanto, cabe la posibilidad

de que los grupos patógenos de *E. coli* puedan multiplicarse en los chiles si se incrementará la duración del estudio.

Bajo las condiciones de estudios de los chiles, nuestros resultados concuerdan con los reportados por Abdul-Raouf y col., (1993), que no obtuvieron disminución significativa en la concentración, cuando *E. coli* patógena fue inoculada en carne y almacenada por 72 h a 5°C. McIngvale y col. (2000), señalan que la temperatura de almacenamiento a 5 y 12 °C no tiene un efecto aparente en la sobrevivencia de *E. coli* O157:H7. Knudsen y col. (2001), observaron una mayor sobrevivencia de *E. coli* en rebanadas de fresas que en el fruto completo cuando fueron refrigeradas.

Finalmente, *Salmonella* mostró un comportamiento semejante al de los grupos patógenos de *E. coli* en ambos tipos de chiles (Figura 16): una disminución marcada en la recuperación del patógeno dentro de las primeras 24 horas y no hubo modificación de la concentración después de éste decremento. En este estudio el pH disminuyó ligeramente de 6.12 a 5.73 (Figura 16).



**Figura 16.** Comportamiento de *Salmonella Typhimurium* y del pH en rebanadas de chile serrano y jalapeño a  $5 \pm 2$  °C.

La sobrevivencia de las cepas patógenas de *E. coli* y *Salmonella* en la superficie del chile jalapeño y el chile serrano aunado al potencial para multiplicarse en las rebanadas de ambos tipos de chiles a 22° C, y la sobrevivencia de los patógenos en las rebanadas mantenidas en refrigeración, revela la existencia de un riesgo que debe ser considerado.

Los resultados muestran que existen posibilidades reales de la presencia al menos de *Salmonella* en ambos tipos de chiles. Sobre éstos el patógeno puede sobrevivir e incluso multiplicarse cuando la integridad del chile es dañada. Aunque la refrigeración impedirá la multiplicación de *Salmonella* y *E. coli* en las rebanadas de chile, el patógeno se mantendrá vivo y en riesgo latente.

Los resultados de nuestro estudio muestran la importancia de realizar un adecuado lavado y desinfección de los chiles. Aunque el lavado de los productos frescos con agua potable es útil tanto en la práctica comercial como en los hogares, no deben sobrestimarse los efectos del agua de enjuagado sobre el nivel de contaminación, puede arrastrar el 90% de la materia contaminante de un producto agrícola (tierra y otros residuos), pero tiene un efecto limitado sobre los microorganismos de la superficie, ya que pueden permanecer  $10^5$  microorganismos/g o  $\text{cm}^2$  tras el lavado (ICMSF, 1999). Además, al efectuar el lavado hay que tener en cuenta las características del agua (temperatura, acidez, dureza, contenido mineral y carga microbiana), la cantidad de agua empleada, la fuerza aplicada, si se utiliza cepillado o no, así como la posibilidad de adicionar a la misma agentes desinfectantes (sosa, cloro y sus derivados, agua oxigenada, ozono, vapor, sulfitos, dióxido de azufre, etc.).

Las soluciones a base de hipoclorito son las más comúnmente usadas; se recomienda el empleo de niveles de cloro de 50 ppm (Floros, 1993). Estas soluciones deben mantenerse en contacto con el vegetal al menos durante 1 min.

Algunos autores sugieren el empleo de concentraciones de cloro más altas: 200-300 ppm (Beuchat, 1996). En cualquier caso, si los productos están muy sucios

puede utilizarse un detergente antes del desinfectante. No obstante, a veces esta operación puede producir un aspecto más húmedo en el vegetal y la penetración de agua puede facilitar el acceso de los microorganismos a través de las heridas de los productos.

Además, la capa de cera natural que cubre los vegetales se elimina parcialmente durante el lavado y esto facilita su contaminación y proliferación microbiana, y aun con el uso de desinfectantes para reducir la población bacteriana de frutas y verduras, su potencial de toxicidad, no puede remover por completo o inactivar los microorganismos sobre el producto fresco (Koseki e Itoh 2001; Park y col. 2001).

Debido a lo anterior, varios investigadores coinciden en que es necesario efectuar una evaluación de los procedimientos de desinfección para cada verdura en particular, ya que al momento no existe un procedimiento efectivo para eliminar o reducir la carga de microorganismos patógenos a niveles seguros aplicable a todas las verduras (Buck y col., 2003). En consecuencia, es necesario realizar evaluaciones de procedimientos de desinfección de Chile para seleccionar uno que sea efectivo.

No obstante, el control de los riesgos asociados al consumo de los chiles crudos no debe limitarse a la aplicación de un desinfectante, debe abarcar la prevención de la contaminación y la del desarrollo. Las medidas para atender estas acciones son específicas para cada tipo de microorganismo y alimento. Por ello, es importante conocer como punto de partida la frecuencia con la que microorganismos patógenos se encuentran en los chiles, determinar el tipo de

microorganismos patógenos prevalentes en los chiles y, por supuesto, determinar el comportamiento de estos patógenos en los chiles.

En consecuencia, es necesario tomar precauciones durante el manejo de los chiles para prevenir su contaminación y de productos que los contengan como ingrediente crudo, ya que una vez contaminados los alimentos, la temperatura de refrigeración no constituye una limitante en el desarrollo y sobrevivencia de los patógenos utilizados en este estudio.

Finalmente, en tanto no se tenga certeza de la forma en como se maneja el chile o los productos a base de chile (ensaladas, salsas, entre otros) que se ofrecen para su consumo inmediato en diferentes establecimientos (restaurantes, fondas, vía pública, etc.) la población debería de abstenerse de consumir estos productos.

## VIII. CONCLUSIONES

- ❖ Los chiles presentaron pobre calidad microbiológica, la media de OC para el chile jalapeño fue de alrededor de  $2.2 \times 10^7$  UFC/g y para el chile serrano de  $8.3 \times 10^6$  UFC/g.
- ❖ El 28 y 50 % de las muestras de chile jalapeño y serrano, respectivamente, presentaron indicios de contaminación fecal.
- ❖ *Salmonella* se encontró en el 10 y 12 % de las muestras de chile jalapeño y chile serrano, respectivamente.
- ❖ Los grupos patógenos de *E. coli* y *S. Typhimurium* sobreviven en ambos tipos de chile al menos 5 días a temperatura ambiente y al menos 2 días a temperatura de refrigeración.
- ❖ Los tres grupos patógenos de *E. coli* y *Salmonella* se multiplicaron en las rebanadas de ambos tipos de chiles a temperatura ambiente pero no en refrigeración.
- ❖ La concentración del patógeno alcanzada a las 24 h en las rebanadas de chiles a 22°C tanto por los tres grupos patógenos de *E. coli* como por *S. Typhimurium* fue mayor o igual a la dosis mínima infectante que exhiben estos patógenos.
- ❖ Ambos tipos de chiles resultaron ser alimentos de riesgo para la población cuando son consumidos crudos y sin un tratamiento antimicrobiano terminal.

- ❖ Es necesario evaluar y aplicar procedimientos de desinfección eficientes para eliminar o reducir a niveles seguros los peligros microbiológicos potencialmente presentes en los chiles si su consumo va ser crudo.

**IX. BIBLIOGRAFÍA**

1. Abdul-Raouf, U.M., Beuchat, L.R. and Ammar, M.S. 1993. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1999–2006.
2. ACMSF, 2000. Microbiological status of ready-to-eat fruits and vegetables. Advisory Committee on the Microbiological of Food (ACMSF).
3. AESA (Agencia Española de Seguridad Alimentaria). Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid. 2003. p. 27-30.
4. Ackman, D.; Marks, S.; Mack, P.; Caldwell M.; Root, T., Birkhead, G. 1997. Swimming-associated haemorrhagic colitis due to *Escherichia coli* O157:H7 infection: evidence of prolonged contamination of a fresh water lake. 1997. *Applied Microbiology.* (1):1-8.
5. Alford, J.A. y Palumbo, S.A., 1969. Integration of SALT, pH, and temperature on the growth and survival of *Salmonellae* in ground pork. *Applied Microbiology.* (4): 528-32.
6. AOAC (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist). 1990. *Fruits and Fruits Products.* Vol. , p: 37.
7. Badaway, A.S., Gerba, C.P., Kelly, L.M. 1985. "Survival of rotavirus SA-11 on vegetables", *Food Microbiol.*, 2:199-20.
8. Banwart J.G. 1982. *Microbiología Básica de los Aliemntos*, Ed. Bellatena, España. p. 32-33.

- 
- 
9. Baudart, J., K. Lemarchand, A. Brisabois, and P. Lebaron. 2000. Diversity of *Salmonella* strains isolated from the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the ribosomal DNA spacer regions. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1544–1552.
  10. Bayne, H.G. and Michener, H.D. 1975. Growth of *Staphylococcus* and *Salmonella* on frankfurters with and without sodium nitrite. *Appl. Microbiol.* 30: 844-849.
  11. Berrang, M.E., R.E. Brackett, y L.R. Beuchat. 1989. “Growth of *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables stored under controlled atmosphere,” *J. Food Prot.*, 52: 702 – 705.
  12. Beuchat, L.R. 1996. “Pathogenic microorganisms associated with fresh produce,” *J. Food Prot.*, 59: 204-216.
  13. Bharathi, S., Ramesh, M.N. & Varadaraj, M.C. 2001. Predicting the behavioural pattern of *Escherichia coli* in minimally processed vegetables. *Food Control*, 12, 275–284.
  14. Blostein, J. 1991. An outbreak of *Salmonella javiana* associated with consumption of watermelon. *J. Environ. Health* 56:29–31.
  15. Bryan, F.L., 1998. What the sanitarian should know about staphylococci and salmonellae in non dairy products. II. *Salmonellae*. *J. Milk Food Technol.* 31: 131-140.
  16. Buck, J.W., Wakcott, R.R. y Beuchat, L.R. 2003. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. *Plant Health Progress*.

- 
- 
17. Cámara, H.; Sánchez, M.; Torija, I. 2003. Frutas y Verduras Fuentes de Salud. Departamento de Nutrición y Bromatología II. Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. p. 47-49.
  18. Carramiñana, J. J., Yanguela, J., Blanco, D., Rota, C., Agustín, A. I., Ariño, A., y Herrera, A. 1997. Incidence and distribution of serotypes throughout processing in spanish poultry slaughterhouse. *J. Food Prot.* 60(11): 1312-1317.
  19. Castro, del C. N.; Chaidez, Q. C.; Rubio, C. W. y Valadez, T. J. 2004. Sobrevivencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en frutos minimamente procesados. *Rev. Cubana Salud Pública.* 30:83-6.
  20. Castro, R. J. 2001. Adhesión e inducción al estado viable no cultivable de *Vibrio cholerae* O1 sobre el exoesqueleto de camarón y jaiba. Tesis de Doctorado. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.
  21. CDC (Center for Disease Control), 1991. Multi-state outbreak of *Salmonella poona* infections-United States and Canada. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 40: 549-552.
  22. CDC (Center for Disease Control), 2004. Outbreaks of *Salmonella* infections associated with eating Roma tomatoes-United States and Canada. *J. Food Prot.* 68: 1840-7.
  23. Centers for Disease Control and Prevention. 1993. Multistate outbreak of *Salmonella* serotype Montevideo infections. Publication EPI-AID 93-97. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga.
  24. Centers for Disease Control and Prevention. 1999. Outbreak of *Salmonella* serotype Muenchen infections associated with unpasteurized orange juice—United States and Canada. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 48:582-585.

- 
- 
25. Cherry, W. B., J. B. Hanks, B. M. Thomason, A. M. Murlin, J. W. Biddle, and J.M. Croom. 1972. Salmonellae as an index of pollution of surface waters. *Appl. Microbiol.* 24:334–340.
  26. Christian, J.H.B. and Stewart, B.J., 1973. Survival of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella newport* in dried foods, as influenced by water activity and oxygen: 107-109, In: *The Microbiological Safety of Food*, Hobbs, B.C. and Christian J.H.B. (Eds.). *Academ. Press. London, Ltd.*
  27. Cliver, D.O. 1990 viruses: 275-292. In: *Foodborne Diseases*. Cliver, D.O (Ed), *Acad. Press Inc.* 48: 337-42.
  28. Conner DE, Kotrola JS. 1995. Growth and Survival of *Escherichia coli* O157:H7 under Acidic Conditions. *Applied and Environmental Microbiology.* 61:382-385.
  29. Copes, J. 2002. Análisis de las condiciones de higiene y seguridad en ensaladas listas para consumo. *Tecnología y sanidad de los alimentos*. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de la Plata. Argentina.
  30. del Rosario BA, Beuchat LR. 1995. Survival and Growth of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Cantaloupe and Watermelon. *Journal of Food Protection*; 58:105-107.
  31. Dewitt D, Gerlanch N. 1990. *The whole chili pepper book*. Boston: Little Brown and Co. p. 72-73.
  32. Duncan D. W. and Razzell, W.E. 1972. *Klebsiella* biotypes among coliform isolated from forest environments and farm produce. *Appl. Microbiol.* 24 : 933-938.
  33. Ercolani, G. L. 1976. Bacteriological quality assessment of fresh marketed lettuce and fennel. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:847- 852.

- 
- 
34. Ewing WH. 1985. Identification of *Enterobacteriaceae*. 4th. Edition, Elsevier. p. 85-89.
35. FDA, 1999. Rosa Linda Santos, Investigador, U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Food and Drug Administration (Nogales, Arizona).
36. FDA. 2001. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Analysis and Evaluation of Preventive Control Measures for the Control and Reduction / Elimination of Microbial Hazards on Fresh and Fresh-Cut Produce. Chapter IV. On line: <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift3-toc.html>
37. FDA/CFSAN, 2001. Bacteriological Analytical Manual Online, <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>, equivalente a Bacteriological Analytical Manual, 1988, 8ª ed. AOAC Intern. USA.
38. Feachem, R. G., Bradley, D. J., Garelick, H. y Mara, D. D. 1983. *Salmonella*, enteric fevers and salmonellosis. En: Sanitation and disease: Health aspects of excreta and wastewater management, pp. 251-286.
39. Fernández, E E. 1981. Microbiología Sanitaria Agua y Alimentos. vol. 1. Editado por la Universidad de Guadalajara. México. p. 649-648, 652-655, 665-669, 671-673, 683, 686, 704-705, 754-755, 766-769, 774, 795-798, 804-805, 210-215, 330-331.
40. Fernández E. E., Ayala C., and Saldana L. 1989. Survival and growth of *Salmonella* and *Shigella* on sliced fresh fruit. J. Food Prot. 42: 471-473.
41. Fernández, E E. 2000. Microbiología e inocuidad de los alimentos. Editado por la Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. p. 25-27, 69-71, 274-278, 450, 564-567.

- 
- 
42. Fernández, E. y Yañez, L., 2001. Adherencia y coonización de *Salmonella* en jitomate y sobrevivencia en reservorios dentro de invernaderos hidropónicos. Agros S. A. de C. V., Megafresnos del Bajío S. A. de C. V.
43. FIRA (Fideicomisos Intituidos en Relación con la Agricultura), 2003. Ing. Mario A. Lamas Nolasco. Perspectivas de la red de Chile 2003. Dirección de Análisis de Cadenas Productivas y Servicios Técnicos Especializados.
44. Floros, J.D. 1993. The shelf life of fruits and vegetables. Shelf Life Studies of Foods and Beverages: Chemical, Biological, Physical, and Nutritional Aspects (G. Charambous, ed.), Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
45. Geldreich, E. E., and R. H. Bordner. 1971. Fecal contamination of fruits and vegetables during cultivation and processing for market. A review. J. Milk Food Technol. 34:184-195.
46. Gerba, C. P., Rose, J. B., Y Hass, C. N. 1996. Sensitive populations: who is at risk?. International Journal Food Microbiology. 30:113-123.
47. Gobierno del Estado de Hidalgo, 2004.  
[www.hidalgo.gob.mx/estado/recursos/agricultura.asp](http://www.hidalgo.gob.mx/estado/recursos/agricultura.asp), 2004
48. Goepfert, J.M. y Chung, K.C., 1970. Behavior of *Salmonella* during the manufacture and storage of a fermented sausage product. J. Milk Food Technol. 33: 185-191.
49. Guo X., Chen J., Brackett R. E., and Beuchat L. R. 2001. Survival of *Salmonellae* on and in Tomato Plants from the Time of Inoculation at Flowering and Early Stages of Fruit Development through Fruit Ripening. Applied and Environmental Microbiology 67, 4760–4764.

- 
- 
50. Gutiérrez C. L., Montiel V. E., Aguilera P. P., González A. MC. 2000. Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. Salud Publica Mex ;42:490-495.
51. Hahn, S.S. and Appleman, M.D., 1952. Microbiology of frozen orange concentrate. I. Survival of enteric organims in orange frozen concentrate. Food Technol. 6: 156-158.
52. Helmy, Z. A., A. Abd-El-Bakey, and Z. Z. Daw. 1985. Microbiological studies on Egyptian market salads. Acta Aliment. Pol. 14:151-154.
53. ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods). 1980. Microbial ecology of Foods. I. Factors Affecting Life and Death of Microorganisms. Acad. Press.
54. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), 1996. *Listeria monocytogenes*. Microorganisms in Foods 5. Microbiological specifications of food pathogens. Blackie Academic and Professional Aspen Publishers, Ing. Galthersburg, Maryland. U.S.A.
55. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), 1998-a. Microorganisms of Foods 6. Microbial Ecology of Food Commodities. Aspen Publishers, Ing. Galthersburg, Maryland. U.S.A.
56. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), 1998-b. Microorganismos de los Alimentos , Caracterísricas de los patógenos microbianos. Ed Acribia, España. p. 147-155, 255-266.
57. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), 1999. Microorganismos de los Alimentos 2, Métodos de muestreo para análisis

---

---

microbiológicos: Principio y aplicaciones específicas. 2da Edición. Ed Acribia, España. p. 177-178.

58. Ingham C., Losinski A., Andrews P., Breuer E., Breuer R., Wood M. y Wright H., 2004. *Escherichia coli* Contamination of Vegetables Grown in Soils Fertilized with Noncomposted Bovine Manure: Garden-Scale Studies. *Applied and Environmental Microbiology*. 70: 6420–6427.

59. James M. 2002. *Microbiología Moderna de los Alimentos*, ed. Acribia, cuarta edición, España. p. 123-124, 366-369, 481-494.

60. Jonston, LM., Jaykus LA, Moll D, Martinez MC, Anciso J, Mora B. y Moe CL. 2004. A field study of the microbiological quality of fresh produce. Department of Food Science, College of Life Science and Agriculture, North Carolina State University, USA.

61. Khan, M.R., Saha, M.L. y Kibria, A.H.M.G. 1992. A bacteriological profile of salad vegetables in Bangladesh with special reference to coliforms. Abstract, *Lett. Appl. Microbiol.* 14 (3) 88.

62. Knudsen DM, Yamamoto SA. y Harris LJ. 2001. Survival of *Salmonella* spp. And *Escherichia coli* O157:H7 on Fresh and Frozen Strawberries. *J. Food Prot.* 64:1483-1488.

63. Koseki, S. y Itoh, K. 2001. Prediction of microbial growth in freshcut vegetables treated with acidic electrolyzed water during storage under various temperature conditions. *Journal of Food Protection* 64,1935–1942.

64. Koseki, S., Yoshida K., Isobe S. and Itoh, K. 2001. Decontamination of lettuce using acidic electrolyzed water. *Journal of Food Protection* 64, 652–658.

- 
- 
65. Lembeck F. y Columbus, 1987. Capsicum and capsaicin: Past, present and future. *Acta Physiol Hung.* 69: 265-273.
66. López C. L., Fernández O. M., Costa D. R., Franco M. J., Alejandro B T. 1995. Creencias sobre el consumo de chile y la salud en la ciudad de México. *Salud Publica De México.* 37, p. 339-343.
67. McIngvale SC, Chen XQ, McKillip JL, Drake MA. 2000. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in buttermilk as Affected by Contamination Point and Storage Temperature. *Journal of Food Protection*; 63:441-444.
68. Marth, E.H. 1969. Salmonella and salmonellosis associate with milk and milk products. A review. *J. Dairy Sci.* 52: 283-315.
69. Mattick-b, K. L.; Jorgensen, F.; Legan, J. D.; Cole, M. B.; Porter, J.; Lappin-Scott, H. M. and Humphrey T. J. 2000. Survival and Filamentation of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis PT4 and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium DT104 at Low Water Activity. *Applied and Environmental Microbiology.* 66: 1274-1279.
70. Mendez E., 2006. Frecuencia y comportamiento de Coliformes termotolerantes, *E. coli* y grupos patógenos de *E. coli* , en ensaladas de verduras crudas listas para su consumo obtenidas de restaurantes. Tesis de Licenciatura en Química en Alimentos. Centro de Investigaciones Químicas. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
71. Merino A.L., 2005. Importancia de los vegetales que se consumen crudos en la transmisión de enfermedades de origen alimentario. SIIC. Instituto Regional de Medicina. Argentina.

- 
- 
72. Moatz, W A. 1971. Kinetics of thermal death of bacteria. *J. Bacteriol.* 105:165-171.
73. Mossel, D.A., Corry, J.E.L., Strujik, C.B. and Baird, R.M. 1995. Essentials of the Microbiology of Foods. John Wiley and Sons, Great Britain.
74. Nguyen-the, C y Carlin, F. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruit and vegetables. *Crit. Revs. In food. Sci. & Nutr.* 34: 371- 401.
75. Noguera Y., 2005. Frecuencia de *Salmonella*, *E. coli* y Organismos coliformes en ensaladas listas para su consumo. Tesis de Licenciatura en Química en Alimentos. Centro de Investigaciones Químicas. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
76. Norma Mexicana FF-025-1982. Productos alimenticios no industrializados para uso humano - fruta fresca chile – (*Capsicum Sp*) especificaciones. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
77. Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
78. Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del Número Más Probable. Secretaría de Salud. México.
79. OPS. 1996. Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública. OPS/HCP/HCV/ 96,22. Washington, 176.
80. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA), 2001. Coordinación Regional de Inocuidad de Alimentos, Manual para el control y aseguramiento de la calidad e inocuidad de frutas y hortalizas frescas. p. 18, 44.

- 
- 
81. Parish, M.E., Narciso, J.A. and Friedrich, L.M., 1997. Survival of *Salmonella* in orange juice. *J. Food Safety*. 17: 273-281.
82. Park, C.E. y Marth, E.H., 1972. Behavior of *Salmonella typhimurium* in skim milk during fermentation by lactic acid bacteria. *J. Milk Food Technol*, 35: 482-488.
83. Park C.-M., Hung Y.-C., Doyle M.P., Ezeike G.O.I. y Kim C. 2001. Pathogen reduction and quality of lettuce treated with electrolyzed oxidizing and acidified chlorinated water. *Journal of Food Science* 66, 1368–1372.
84. Ponce E., Pla, R., Sendra, E., Guamis, B. y Mormur, M. 1999. Destruction of *Salmonella enteritidis*. Inoculated in liquid whole egg by high hydrostatic pressure: Comparative study in selective and non selective media. *Food Microbiology* 16,357-365.
85. Ray B. 2000. *Fundamental Food Microbiology*. Second edition. Ed. CRC. Washington, D.C. p. 36, 337-343.
86. Rice, E. W., C. H. Johnson, D. K. Wild, y D. J. Reasoner. 1992. Survival of *Escherichia coli* 0157:H7 in drinking water associated with a waterborne disease outbreak of hemorrhagic colitis. *Lett. Appl. Microbiol.* 15:38-40.
87. Ries, A.A., Zara, S. y Langkop, C., 1990. A multistate outbreak of *Salmonella* chester linked to imported cantaloupe. *Prog. Abst. 30<sup>th</sup> Interscience Conf. Antimicrob. Agents Chemother., Am. Soc. Microbiology.* Abs 915.
88. Roberts, D., Hooper, W. y Greenwood, M. 2000. *Microbiología práctica de los alimentos*. Ed. Acribia S.A.. España. p. 79-81.

- 
- 
89. Rojas, M. 2005. Comportamiento de tres grupos patógenos de *E. coli* en 4 tipos de verduras crudas. Tesis de Licenciatura. Química en Alimentos; Centro de Investigaciones Químicas. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
90. Sewell, A. M. y J. M. Farber. 2001. Foodborne outbreaks in Canada linked to produce. *J. Food Prot.* 64:1863–1877.
91. Solomon, H. M. and Kautter, D. A. 1988. Outgrowth and toxin production by *Clostridium botulinum* in bottled chopped garlic. *J. Food Prot.* 51 : 862-865.
92. Subgerencia de Desarrollo Agropecuario, Dirección de Mercadeo y Agroindustria, Servicio de Información de Mercados, 2002. [Http://www.fao.org](http://www.fao.org).
93. Tauxe, R., H. Kruse, C. Hedberg, M. Potter, J. Madden, y K. Wachsmuth. 1997. Microbial hazards and emerging issues associated with produce: a preliminary report to the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. *J. Food Prot.* 60:1400–1408.
94. Torres, M. R., Rodríguez, M. O., Navarro, H.V. y Martínez, N. 1997. El consumo de frutas puede ser de alto riesgo para la salud. Laboratorio de Microbiología Sanitaria del CUCEI. Gaceta Universitaria. Guadalajara, Jal, México.
95. Trepas, Q. M. 2002. Incidencia y comportamiento de *Salmonella* y *Listeria* en pechugas de pavo curadas. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Veterinaria.
96. U.S. Dept. Agriculture y Food and Drug Adm. 1979. An Evaluation of *Salmonella* Problem. Nat. Acad. Sci. Washington, D.C.
97. Valadez A. 1994. Producción de Hortalizas, ed. Limusa, México. p. 185-197.

- 
- 
98. Vanderzant, C. y Splittstoesser, D. F. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd ed. American Public Health Assoc. Washington.
99. Vought, J. V. y Tatini, S. R. 1998. *Salmonella enteritidis* contamination of ice cream associated with a 1994 multistate outbreak. Journal of Food Protection. 61(1):5-10.
100. Warner J., 2002. Mexican-style restaurant sauces may contain *E. coli*, Skipping the Sauce May Avoid Montezuma's Revenge. Reviewed by Smith M. Medical News. WebMD.
101. Wethington, M.C. y Fabian, F.W., 1950. Viability of food poisoning Satafilococci and Salmonellae in salad dressing and mayonnaise. Food Res. 15: 125-134.
102. Winfield D.M. and Groisman A.E. 2003. Role of Nonhost Environments in the Lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. Applied and Environmental Microbiology. p. 3687–3690 Vol. 69.
103. <http://www.mercanet.cnp.go.cr> 2005. Subgerencia de desarrollo agropecuario dirección de mercadeo y agroindustria servicio de información de mercados.

## X. ANEXOS

Anexo 1. Cuantificación de OC, CT, *E. coli* y frecuencia de *Salmonella* en chile jalapeño

Número de muestra	OC (UFC/g)	CT (NMP/g)	<i>E. coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella</i> (+/-)
1	5.3x10 <sup>5</sup>	93	<3	+
2	7.4x10 <sup>5</sup>	20	3	-
3	1x10 <sup>7</sup>	75	<3	-
4	1.8x10 <sup>5</sup>	14	3.6	-
5	5.4x10 <sup>6</sup>	6	<3	-
6	2.8x10 <sup>6</sup>	3	<3	+
7	2.5x10 <sup>5</sup>	20	<3	-
8	7.5x10 <sup>5</sup>	75	<3	-
9	1.8x10 <sup>6</sup>	150	<3	-
10	1.5x10 <sup>6</sup>	<3	<3	-
11	7.1x10 <sup>5</sup>	7.2	<3	-
12	1.4x10 <sup>7</sup>	<3	<3	+
13	6.8x10 <sup>5</sup>	3.6	<3	-
14	4.1x10 <sup>7</sup>	<3	<3	-
15	3.9x10 <sup>6</sup>	<3	<3	-
16	8.8x10 <sup>5</sup>	9	3	-
17	1.7x10 <sup>6</sup>	15	15	-
18	6.7x10 <sup>5</sup>	20	3	-
19	3.3x10 <sup>6</sup>	6.1	3	-
20	1.8x10 <sup>6</sup>	<3	<3	-
21	2.2x10 <sup>6</sup>	*1100	*1100	+
22	1.3x10 <sup>6</sup>	1100	6.2	-
23	1.2x10 <sup>6</sup>	12	<3	-
24	5.2x10 <sup>6</sup>	7.3	<3	-
25	1.6x10 <sup>8</sup>	9	<3	-
26	2.3x10 <sup>7</sup>	39	<3	-
27	7.5x10 <sup>6</sup>	9.1	<3	-
28	6.9x10 <sup>5</sup>	<3	<3	-
29	4.1x10 <sup>7</sup>	3.6	<3	-
30	7.2x10 <sup>7</sup>	<3	<3	-
31	3.1x10 <sup>6</sup>	9.4	<3	-
32	1.3x10 <sup>7</sup>	1100	3.6	+
33	5.6x10 <sup>6</sup>	290	64	-
34	1.1x10 <sup>7</sup>	*1100	9.1	-
35	6.9x10 <sup>6</sup>	1100	28	+
36	4.4x10 <sup>7</sup>	*1100	20	-
37	6.6x10 <sup>7</sup>	210	<3	-
38	1.2x10 <sup>8</sup>	21	3.6	-
39	9.8x10 <sup>7</sup>	20	<3	-

(CONTINUACIÓN)

<b>Número de muestra</b>	<b>OC (UFC/g)</b>	<b>CT (NMP/g)</b>	<b><i>E. coli</i> (NMP/g)</b>	<b><i>Salmonella</i> (+/-)</b>
40	1.4x10 <sup>8</sup>	15	<3	-
41	3.9x10 <sup>7</sup>	44	<3	-
42	7.5x10 <sup>6</sup>	20	<3	-
43	1.1x10 <sup>7</sup>	19	<3	-
44	1.8x10 <sup>6</sup>	64	<3	-
45	1.3x10 <sup>7</sup>	7.2	<3	-
46	1.8x10 <sup>7</sup>	27	<3	-
47	1.4x10 <sup>7</sup>	11	<3	-
48	1.1x10 <sup>7</sup>	290	<3	-
49	2.7x10 <sup>7</sup>	*1100	11	-
50	2.3x10 <sup>7</sup>	*1100	3.6	-

+ : presencia

- : ausencia

\* : mas de

**Anexo 2. Cuantificación de OC, CT, *E. coli* y frecuencia de *Salmonella* en chile jalapeño.**

<b>Número de muestra</b>	<b>OC (UFC/g)</b>	<b>CT (NMP/g)</b>	<b><i>E. coli</i> (NMP/g)</b>	<b><i>Salmonella</i> (+/-)</b>
1	4.4x10 <sup>6</sup>	6.2	< 3	+
2	4.5x10 <sup>5</sup>	14	< 3	-
3	2.3x10 <sup>5</sup>	14	< 3	-
4	4.8x10 <sup>5</sup>	9.1	< 3	-
5	4.5x10 <sup>5</sup>	11	< 3	+
6	6.5x10 <sup>5</sup>	11	3.6	-
7	5.9x10 <sup>6</sup>	210	43	-
8	5x10 <sup>7</sup>	9.1	3.6	-
9	5x10 <sup>6</sup>	< 3	< 3	-
10	1.x10 <sup>6</sup>	7.2	< 3	-
11	1.x10 <sup>6</sup>	3	< 3	-
12	3x10 <sup>6</sup>	150	< 3	-
13	4.5x10 <sup>5</sup>	< 3	< 3	-
14	6.6x10 <sup>6</sup>	3	< 3	-
15	5.2x10 <sup>5</sup>	15	3	-
16	1.3x10 <sup>4</sup>	3	< 3	-
17	8.8x10 <sup>3</sup>	< 3	< 3	-
18	7.5x10 <sup>4</sup>	3	< 3	-
19	1.6x10 <sup>5</sup>	3.6	< 3	-
20	1.8x10 <sup>5</sup>	< 3	< 3	-
21	6.8x10 <sup>3</sup>	3.6	< 3	-
22	3.6x10 <sup>4</sup>	14	3.6	+
23	5.7x10 <sup>4</sup>	< 3	< 3	-
24	5.7x10 <sup>6</sup>	15	< 3	-
25	9.5x10 <sup>5</sup>	27	< 3	-
26	1.3x10 <sup>6</sup>	120	< 3	-
27	2.8x10 <sup>6</sup>	1100	9.1	-
28	1.5x10 <sup>5</sup>	23	< 3	-
29	4.3x10 <sup>6</sup>	15	3.6	-
30	4.5x10 <sup>6</sup>	24	6.2	-
31	4.6x10 <sup>6</sup>	210	3	-
32	5.7x10 <sup>6</sup>	3	< 3	-
33	2.4x10 <sup>6</sup>	210	11	-
34	1.3x10 <sup>5</sup>	*1100	3.6	-
35	1.4x10 <sup>4</sup>	150	3.6	+
36	9.5x10 <sup>3</sup>	93	3.6	-
37	2x10 <sup>6</sup>	150	20	+
38	2x10 <sup>4</sup>	7.3	3	-
39	4x10 <sup>7</sup>	7.3	3.6	-

(CONTINUACIÒN)

Número de muestra	OC (UFC/g)	CT (NMP/g)	<i>E. coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella</i> (+/-)
42	2.2x10 <sup>7</sup>	210	23	+
43	2.2x10 <sup>7</sup>	36	15	-
44	1.9x10 <sup>7</sup>	460	< 3	-
45	2x10 <sup>7</sup>	1100	< 3	-
46	3x10 <sup>7</sup>	1100	3.6	-
47	3.5x10 <sup>5</sup>	*1100	27	-
48	1.3x10 <sup>7</sup>	*1100	42	-
49	1.5x10 <sup>7</sup>	*1100	6.1	-
50	9x10 <sup>7</sup>	*1100	15	-

+: presencia

- : ausencia

\* : mas de