



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS PARA LA INACTIVACIÓN DE

Salmonella typhimurium

DE INTERÉS SANITARIO EN ALIMENTOS.

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO

AGRÓNOMO FITOTECNISTA

GENERACIÓN: 41

PRESENTA

AIDE ESTHER SÁNCHEZ GODÍNEZ

MODALIDAD: INDIVIDUAL

NÚMERO DE CUENTA: 1322444

ASESORES

DRA. ANA TARIN GUTIÉRREZ IBÁÑEZ

DRA. ROSA LAURA OCAÑA DE JESÚS



Campus Universitario El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Edo. De Méx.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIAS	¡Error! Marcador no definido.
AGRADECIMIENTOS	¡Error! Marcador no definido.
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
RESUMEN	viii
ABSTRAC	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	4
2.1. Objetivo General	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
III. HIPÓTESIS.....	4
IV. JUSTIFICACIÓN	5
V. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
5.1. Inocuidad.....	6
5.1.1. Inocuidad Alimentaria	6
5.1.1.1. Peligro	7
5.1.1.1.1 Peligro Físico	7
5.1.1.1.2 Peligro Químico	8



5.1.1.1.3 Peligros Biológicos	8
5.1.1.1.4. Peligro Radiológico	9
5.1.1.2. Riesgo microbiológico en la producción y distribución de frutas y hortalizas	9
5.1.1.3. Diferencias entre desinfectar y sanitizar	12
5.1.2. Clasificación de Métodos de Desinfección	13
5.1.2.1. Métodos Físicos	14
5.1.2.2. Métodos Químicos	15
5.1.3 Agentes Desinfectantes	16
5.1.3.1 Halógenos y Compuestos Halogenados	16
5.1.3.2. Hipoclorito de Sodio	17
5.1.3.3. Dióxido de Cloro.....	18
5.1.3.4. Bromo	19
5.1.3.5. Yodo.....	19
5.1.3.6. Plata coloidal.....	19
5.1.3.7. Compuestos Alcalinos.....	20
5.1.3.8. Compuestos Iónicos	20
5.1.3.9. Compuestos Amónicos Cuaternarios (Quats)	21
5.1.4.0. Ácidos Orgánicos.....	21
5.1.4.1. Ácido láctico	23
5.1.4.2. Compuestos de Oxígeno Activo	24

5.1.4.3. Ácido Peracético	25
5.1.4.4. Ozono.....	25
5.1.4.4. Nuevas Tecnologías	25
5.1.4.5. Irradiación	25
5.1.4.6. Impulsos De Luz	26
5.1.4.7. Plasma Atmosférico no Térmico.....	26
5.2. Tratamientos de Desinfección de Frutas y Hortalizas.....	27
5.2.1. Formas de Aplicación de Desinfectantes	28
5.2.1.1. Aplicación por Aspersión.....	28
5.2.1.2. Aplicación por Inmersión.....	29
5.3. Tipos de Microorganismos de Interés en la Industria Alimentaria	29
5.3.1. Microorganismos Indicadores en Alimentos	30
5.3.1.1. Bacterias Gram (positivas y negativas).....	31
5.3.1.2. Virus.....	32
5.3.1.4. Micobacterias	33
5.3.1.5. Mohos y Levaduras	33
5.3.1.6. Mesófilos Aerobios	34
5.3.1.7. Coliformes Totales.....	34
5.3.1.8. Coliformes Fecales.....	35
5.4. Principales Microorganismos Patógenos de Interés Alimentario	35

5.4.1. <i>Listeria</i> spp.....	36
5.4.1.2. <i>Clostridium perfringens</i>	37
5.4.1.3. <i>Clostridium botulinum</i>	38
5.4.1.4. <i>Escherichia coli</i>	38
5.4.1.5. <i>Shigella</i>	39
5.4.1.6. <i>Vibrio cholerae</i>	39
5.4.1.7. <i>Campylobacter jejuni</i>	39
5.4.1.8. <i>Streptococos</i>	40
5.4.1.9. <i>Hepatitis</i>	40
5.4.2.0. <i>Cisterculosis</i>	41
5.4.2.1. <i>Bacillus cereus</i>	41
5.4.2.2. <i>Leptospira</i>	42
5.5. <i>Salmonella</i>	42
5.5.1. <i>Salmonella typhimurium</i>	43
5.5.1.1. Epidemiología	44
5.5.1.2. Casos de <i>Salmonella typhimurium</i>	44
5.6. Influencia de los Factores Ambientales Sobre el Crecimiento Bacteriano	46
5.6.1. Temperatura	46
5.6.1.1. Efectos del pH.....	47
5.6.1.2. Clases de Microorganismos con Relación al pH.....	47

5.6.1.3. Factores de Resistencia de los Microorganismos a los Desinfectantes.....	48
5.7. Métodos Utilizados Para el Análisis Microbiológico de los Alimentos	50
5.7.1 Recuento en Placa	50
5.7.1.1. Recuento Microscópico Directo.....	51
5.7.1.2. Método de Identificación de Enteropatógenos.....	51
5.7.1.3. Métodos Basados en Pruebas Bioquímicas.....	51
5.7.1.4. Métodos Basados en Tinción Diferencial	52
5.7.1.5. Métodos Basados en Pruebas Moleculares	52
5.7.1.6. Sondas de Ácido Nucleicos.....	52
5.7.1.7. Marcadores Basados en la Técnica de PCR.....	53
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
6.1. Cepa Bacteriana	54
6.1.1.1. Preparación del Inóculo	54
6.1.1.2. Preparación de Soluciones Desinfectantes.....	55
6.1.1.3. Desarrollo de la Prueba.....	56
6.1.1.4. Cálculo Para la Reducción Bacteriana.	57
6.1.1.5. Análisis Estadístico	57
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
VIII. CONCLUSIONES	65
IX. SUGERENCIAS.....	65



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Mecanismos Mediante los Cuales los Alimentos se Pueden Contaminar con Microorganismos Patógenos. Fuente: FAO, 2011	11
Figura 2. Clases de Microorganismos con Relación a la Temperatura (Martin, 2016) ...	47
Figura 3. Crecimiento Bacteriano de <i>Salmonella typhimurium</i> en agar de <i>Salmonella-Shigella</i>	55
Figura 4. Desarrollo de Análisis Microbiológico.....	56
Figura 5. Comparación de Medias de Tres Métodos de Inactivación de <i>Salmonella typhimurium</i> a tres Tiempos de Contacto.	60
Figura 6. Efecto del Ácido Láctico sobre <i>Salmonella typhimurium</i> a tres tiempos de contacto.	60
Figura 7. Efecto de la plata coloidal (Microdyn) sobre <i>Salmonella typhimurium</i> a 2, 5 y 8 minutos de contacto.....	61
Figura 8. Efecto del Cloro sobre <i>Salmonella typhimurium</i> a tres tiempos de contacto..	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
Cuadro.1. Efecto del ácido láctico, cloro y plata coloidal sobre la inactivación de <i>Salmonella typhimurium</i>	58
Cuadro. 2. Análisis de Varianza (ANDEVA) de los recuentos obtenidos de <i>Salmonella typhimurium</i> sometida a tres métodos de inactivación y tres tiempos de contacto	59
Cuadro.3. Porcentaje de reducción bacteriana de <i>Salmonella typhimurium</i>	63

COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS PARA LA INACTIVACIÓN DE *Salmonella typhimurium* DE INTERÉS SANITARIO EN ALIMENTOS

Aide Esther Sánchez Godínez*Ingeniero Agrónomo Fitotecnista. Universidad
Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas.

Directora de Tesis: Ana Tarín Gutiérrez Ibañez¹. Asesora: Rosa Laura Ocaña de
Jesús².

^{1,2} Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México.
Carretera Toluca. Ixtlahuaca km 11.5 Campus Universitario el Cerrillo Piedras Blancas,
Código postal 50200, Toluca, Estado de México.tel. (fax)2 96 55 29.

aidesan18@hotmail.com, atarini@uaemex.mx, rossylau_hugobesh@hotmail.com

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos causan trastornos intestinales principalmente por la ingestión de alimentos que contienen cantidades considerables de bacterias patógenas o toxinas. Por lo tanto, la higiene de frutas y verduras después de la cosecha es una práctica obligada, la desinfección es un procedimiento para disminuir el número de microorganismos de forma que los que sobrevivan no influyan en la calidad microbiológica de los alimentos.

Los desinfectantes deberán contar con la capacidad de desnaturalizar sus moléculas constitutivas o interrumpir sus procesos metabólicos para destruir rápidamente los microorganismos, debido a que se utilizan para minimizar la contaminación de productos por patógenos que afectan la salud humana. Por lo anterior el objetivo principal de esta

investigación fue evaluar la concentración y eficiencia durante diferentes tiempos de exposición de un ácido orgánico contra dos métodos químicos comúnmente utilizados para la inactivación de *Salmonella*. Se realizaron pruebas de reducción bacteriana de *Salmonella typhimurium* utilizando hipoclorito de sodio, plata coloidal y ácido láctico, los resultados mostraron un efecto de reducción bacteriana en todos los desinfectantes durante el mismo tiempo de exposición, sin embargo; el desinfectante con mayor efectividad fue plata coloidal (Microdyn) con el 91% de eficiencia en el minuto 8. En el caso del ácido láctico su efectividad fue del 88%, el hipoclorito de sodio fue el de menor efectividad con un 83% de efecto de reducción sobre la bacteria ambos en el mismo minuto que la plata coloidal (Microdyn). De acuerdo con los resultados de la presente investigación, las concentraciones evaluadas en los tiempos de exposición no obtuvieron un porcentaje de reducción bacteriana satisfactoria del 99.99% establecido por la NOM-181-SSA1-1998.

**COMPARISON OF THREE METHODS FOR THE INACTIVATION OF
Salmonella typhimurium OF SANITARY INTEREST IN FOOD**

Aide Esther Sánchez Godínez*Ingeniero Agrónomo Fitotecnista. Universidad
Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas.

Directora de Tesis: Ana Tarín Gutiérrez Ibañez¹. Asesora: Rosa Laura Ocaña de
Jesús².

^{1,2} Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México.
Carretera Toluca. Ixtlahuaca km 11.5 Campus Universitario el Cerrillo Piedras
Blancas, Código postal 50200, Toluca, Estado de México.tel. (Fax)2 96 55 29.
aidesan18@hotmail.com, atarini@uaemex.mx, rossylau_hugobesh@hotmail.com

ABSTRAC

Food-borne diseases mainly cause intestinal disorders and are caused by the ingestion of food containing considerable amounts of pathogenic bacteria or toxins. Therefore, post-harvest fruit and vegetable hygiene is an obligatory practice, disinfection is a procedure to reduce the number of microorganisms so that those who survive do not influence the microbiological quality of food. Disinfectants must have the ability to denature their constituent molecules or disrupt their metabolic processes to rapidly destroy microorganisms, because they are used to diminish the product contamination by pathogens that affect the human health, by previous the primary target of this investigation was to evaluate the concentration and efficiency during the time of exhibition of a physical method against two chemical methods commonly used that they reduce the microbial deterioration of these products.



Bacterial *Salmonella* typhimurium reduction tests were performed using colloidal silver sodium hypochlorite and lactic acid, the results showed a bacterial reduction effect on all disinfectants during the same exposure time, nevertheless; the disinfectant with greater effectiveness was colloidal silver (Microdyn) with 91% of efficiency in minute 8. In the case of lactic acid effectiveness was 88% sodium hypochlorite was the least effective with an 83% reduction effect on bacteria.

According to the results of this research, the concentrations evaluated at exposure times did not have a satisfactory bacterial reduction of 99.99% as expected NOM-181-SSA1-1998.

I. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de frutas y hortalizas cuyo consumo es en fresco se estima en 1.244 millones de toneladas al año, de las cuales 772.7 millones corresponden a las hortalizas y 471.3 a las frutas debido a la globalización y a la demanda de alimentos, por ser considerados de gran aporte nutrimental (FAOSTAT, 2002).

Esta situación presenta un paradigma que se relaciona con la seguridad alimentaria, esto a pesar de los avances considerables hechos en la ciencia y tecnología de los alimentos; la seguridad de estos sigue siendo una cuestión de preocupación hasta el día de hoy, ya que los alimentos pueden ser contaminados por diferentes agentes como pueden ser biológicos (microorganismos como bacterias, hongos, parásitos y virus), físicos (piedras, metales, astillas) químicos (sustancia ajena al producto) y radiológicos (irradiación, impulsó de luz, etc.); estos agentes pueden contaminar un alimento durante el proceso en la produccion. Si un alimento contaminado es ingerido por el consumidor puede causar un desorden, provocando algún tipo de daño o enfermedad (Kaferstein, 2008).

Anteriormente las toxiinfecciones alimentarias se habían relacionado mucho más al consumo de productos de origen animal, no obstante, el aumento en el consumo de productos mínimamente procesados ha sido asociado a un aumento en la proporción de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (UMFDA, 2002).

Los microorganismos son contaminantes naturales de frutas y hortalizas frescas que pueden estar presentes en toda la cadena productiva, provocando alteraciones y toxiinfecciones por enteropatógenos (Fernández, 2000).

De acuerdo con los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 48 millones de personas se enferman, 128,000 son hospitalizadas y 3,000 mueren cada año por infecciones y enfermedades transmitidas a través de alimentos (USDA, 2011). Los patógenos de mayor incidencia en los productos hortofrutícolas son virus (hepatitis A) y norovirus; parásitos (*Cyclospora cacayetanensis*, *Cryptosporidium parvu*); y bacterias (*Bacillus cereus*, *Clostridium* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter* spp., y *Yersenia enterocolitica*) (Berger *et al.*, 2010).

En México la salmonelosis se considera dentro de los mayores problemas de salud, estudios dirigidos a este género señalan que infecciones causadas por los serotipos de *S.* entérica, *S.* typhimurium, *S.* thipi, y *S.* paratyphi, son las causas más importantes de mortalidad (Zaidi *et al.*, 2006).

Las Buenas Prácticas Agrícolas y el saneamiento de frutas y hortalizas desde su cosecha son prácticas obligadas que pueden disminuir hasta un 50% o más las pérdidas por descomposición y evitar el riesgo de un brote alimentario por el ataque de estos microorganismos (Sargent *et al.*, 2000).

Existen una gran variedad de métodos utilizados para reducir la población de microorganismos en la industria alimentaria (Corbo *et al.*, 2006). Los métodos químicos, físicos y tecnologías nuevas que han demostrado ser moderadamente eficientes en la reducción de los patógenos contaminantes (Parish *et al.*, 2003).

Los métodos utilizados para aplicar los tratamientos de descontaminación y las características del procedimiento afectan a la recuperación de microbiota nativa y microorganismos patógenos (Pirovani *et al.*, 2004). Los métodos químicos de limpieza y

desinfección de las superficies de los productos usualmente implican la aplicación de lavado mecánico en presencia de desinfectantes, seguido de enjuague con agua potable (Wei y Hammes, 2006). Se pueden utilizar varios agentes desinfectantes para el lavado de frutas y verduras con la intención de reducir el riesgo de contaminación microbiana, ayudando en la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos (Zagory, 1999). La evaluación de la eficacia de métodos de desinfección se ve afectada en gran medida por factores, tales como las propiedades fisicoquímicas del agua de lavado y el tipo de producto (Gil *et al.*, 2009).

Algunos de los nuevos agentes químicos que han ganado interés en los últimos años incluyen el dióxido de cloro, ozono, ácidos orgánicos y ácidos peroxiacético de hidrogeno (Joshi *et al.*, 2013). Sin embargo, existen diversos puntos de vista en cuanto al uso de ácido láctico, plata coloidal y cloro, las investigaciones se han basado a características particulares de cada desinfectante y no se han reportado trabajos que comparen la efectividad entre estos tres sanitizantes y sobre todo contra un enteropatógeno que en México es la principal causa de enfermedades gastrointestinales.

Por todo lo expuesto anteriormente, el objetivo principal de esta investigación es evaluar la efectividad de tres diferentes métodos de desinfección para disminuir la presencia de *Salmonella typhimurium* en alimentos.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Evaluar la efectividad de tres diferentes métodos de desinfección para disminuir la carga bacteriana de *Salmonella typhimurium* en alimentos.

2.2. Objetivos Específicos

- Comprobar la efectividad de tres diferentes desinfectantes empleados para asegurar la inocuidad en alimentos.
- Comparar la efectividad de un ácido orgánico contra dos métodos químicos comúnmente utilizados como tratamientos de desinfección en inocuidad alimentaria.

III.- HIPÓTESIS

La efectividad de los métodos de desinfección químicos comparado con un ácido orgánico (tecnología limpia) tendrán el mismo efecto en la disminución de carga bacteriana de *Salmonella typhimurium*.

IV.-JUSTIFICACIÓN

La producción de frutas y hortalizas inocuas es una prioridad para asegurar la salud del consumidor y evitar rechazos de los mercados nacionales e internacionales. Debido a la detección de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, se han implementado prácticas de producción que reducen los riesgos de contaminación en la producción de alimentos. La inocuidad de un alimento representa la garantía de que no causara daño al consumidor. La presencia de patógenos en los alimentos es una razón frecuente para el rechazo de productos, además de que genera situaciones de enfermedad, pérdidas económicas y problemas sociales.

El proceso de desinfección consiste en eliminar a los microorganismos, por lo tanto, el saneamiento de los alimentos después de la cosecha es una práctica obligada que puede disminuir hasta un 50% o más las pérdidas de descomposición debido al ataque de estos. Por ello los desinfectantes se utilizan ampliamente para minimizar la contaminación de productos por patógenos que afectan la salud humana. Así el saneamiento de recipientes de cosecha, soluciones de lavado, cepillos rotativos, cintas transportadoras, clasificación y otros equipos de procesamiento, se convierte en una necesidad fundamental cuando se manipulan frutas y verduras.

Los agentes antibacterianos designados como desinfectantes son utilizados alternativamente como agentes esterilizadores, agentes de saneamiento o antisépticos. Por lo anteriormente expuesto la presente investigación se enfocó en evaluar la efectividad de tres diferentes métodos de desinfección para disminuir la carga bacteriana de *Salmonella typhimurium* en alimentos.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. Inocuidad

La inocuidad se define como la característica que garantiza que los alimentos que consumimos no causaran daño a nuestra salud, es decir que durante su producción se aplicaron medidas de higiene para reducir el riesgo de que los alimentos se contaminen por algún tipo de peligro químico (los metales pesados como plomo, arsénico, mercurio, y cadmio), físico (presencia de metales, anillos, restos de material de envasado, plásticos, vidrio, metales) y biológicos (microorganismos patógenos, bacterias, virus y parásitos), que pueden causar una lesión al momento de consumir un alimento (SENASICA, 2016).

5.1.1. Inocuidad Alimentaria

La inocuidad de los alimentos engloba acciones encaminadas a garantizar la máxima seguridad posible de los alimentos, las políticas y actividades que persiguen dicho fin deberán de abarcar toda la cadena alimenticia, desde la producción al consumo que puede entenderse como la implementación de medidas que reducen el riesgo proveniente de estresores biológicos y químicos (OMS, 2016).

Los alimentos están expuestos a muchos tipos de microorganismos, algunos de ellos con la capacidad de causar enfermedades a los consumidores (microorganismos patógenos). Esta carga microbiana puede aumentar si los alimentos son procesados, almacenados o manipulados bajo condiciones poco higiénicas. Para reducir el riesgo de contraer una enfermedad asociada al consumo de alimentos, es importante que se apliquen buenas prácticas sanitarias en el manejo de estos, tales como abastecimiento de agua potable,

lavado y desinfección de frutas y verduras, conservación en refrigeración, adecuada cocción de carnes y pescados, higiene personal, entre otras (COFEPRIS, 2015).

La limpieza de carnes, frutas y hortalizas (también denominada tratamiento superficial), es importante, ya que la mayor parte de la contaminación microbiana tiene lugar en la superficie y, probablemente migrarán al interior provocando contaminación del alimento. El objetivo del lavado es eliminar suciedad y residuos de materia orgánica, en cambio, con la desinfección se utilizan sustancias para reducir la carga microbiana, estas sustancias se conocen como bactericidas (COFEPRIS, 2015).

Es muy importante realizar primero el lavado y después la desinfección, porque la eficacia de los agentes bactericidas disminuye cuando hay altas concentraciones de bacterias y materia orgánica (COFEPRIS, 2015).

5.1.1.1. Peligro

El Codex define a un peligro alimentario como un agente biológico, químico, físico o radiológico presente en el alimento, o bien la condición en que la que se encuentra, puede causar un efecto adverso para la salud del consumidor (OMS, 2007). Estos se clasifican de la siguiente manera.

5.1.1.1.1. Peligro Físico

Se refiere a cualquier material extraño presente en un alimento que proceda de las operaciones de elaboración o por contaminación externa. Las posibles causas de este peligro son las malas prácticas por parte de los manipuladores (presencia de metales, anillos, etc.); defectos en el proceso (restos de material de envasado, plásticos, vidrio,

metales.); o contaminación de la materia prima (huesos, espinas, perdigones, cáscaras de frutos secos, etc.), entre otras (FAO, 2016).

5.1.1.1.2. Peligro Químico

Un peligro químico en frutas y hortalizas cuyo consumo es en fresco, pueden existir de forma natural o pueden añadirse durante la producción agrícola. Se considera un peligro químico los metales pesados como plomo, arsénico, mercurio, y cadmio que se pueden encontrar en los terrenos, cultivos y el agua, así como herbicidas, pesticidas, restos de productos de limpieza, como contaminantes de lubricantes, pinturas, entre otros (SAGARPA, 2016).

5.1.1.1.3. Peligros Biológicos

Son aquellos causados por microorganismos patógenos, bacterias, virus y parásitos que pueden reproducirse en los alimentos y se encuentran en el ambiente, causando toxiinfecciones alimentarias. Las infecciones implican el consumo de un número de microorganismos presente en el alimento que permite la multiplicación en el hospedador, generando la enfermedad, un ejemplo común es la salmonelosis provocado por *Salmonella* spp. Las intoxicaciones en cambio se producen por ingestión de toxinas preformadas por los patógenos, como la toxina estafilocócica (producida por *Staphylococcus aureus*) o la toxina botulínica (producida por *Clostridium botulinum*) (OMS, 2007).

5.1.1.1.4. Peligro Radiológico

La contaminación radioactiva es la presencia no deseada de compuestos radioactivos en el ambiente y en los alimentos; los componentes radioactivos llegan a los cultivos, al agua potable o al mar y contaminan los alimentos procedentes de estas fuentes. La radioactividad también puede aparecer de manera natural, y puede estar presente en el suelo, aire o agua. La contaminación natural de las rocas también puede llegar de forma fácil a los cultivos, al agua potable que la absorbe del suelo y al pescado y marisco que la captan del agua del mar, el problema se radioactiva de la actividad humana (Gimferrer, 2011).

Los componentes radioactivos pasan a través de la cadena alimentaria de la misma manera que la radioactividad, la gravedad del riesgo recae en la cantidad de contaminantes emitidos en el ambiente; cuando más haya, mayor riesgo de contaminación tendrá los alimentos (Gimferrer, 2011).

5.1.1.2. Riesgo microbiológico en la producción y distribución de frutas y hortalizas

El Codex Alimentarius define al riesgo como la función de la probabilidad de un efecto nocivo para la salud y de la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de un peligro o peligros en los alimentos. Por lo tanto, en las distintas etapas que un producto debe pasar desde la cosecha hasta el consumo tanto en fresco como procesado proveen innumerables oportunidades para incrementar el nivel de contaminación que naturalmente trae del campo. La presencia de materiales extraños dentro del envase o sobre el producto, tales como suciedades (tierra, deposiciones animales, grasas o aceites de maquinarias, cabellos humanos, etc.), insectos vivos o muertos, restos vegetales, de materiales de empaque, etc.

es profundamente rechazada por los consumidores. Sin embargo, como normalmente se debe a descuidos o irresponsabilidades en la preparación o manipuleo, son fáciles de detectar y eliminar. Mucho más preocupante es la presencia de microorganismos perjudiciales para la salud, no visibles a simple vista ni detectables a través de cambios en la apariencia, sabor, color u otra característica externa. Se ha demostrado que determinados patógenos tienen la capacidad de persistir sobre el producto lo suficiente como para constituir un peligro para el ser humano y de hecho se han reportado numerosos casos de enfermedades asociadas al consumo de frutas y hortalizas (FAO, 2003).

Si bien algunos microorganismos peligrosos forman parte de la flora natural del suelo o del ambiente, la vía fecal o urinaria (humano, animal de producción, doméstico o salvaje) es la principal fuente de contaminación y que llega a las frutas y hortalizas fundamentalmente a través del agua usada en riegos o lavados. El uso de estiércoles o residuos cloacales como enmiendas o fertilizantes orgánicos, así como la presencia de animales en el lote de producción es otra fuente de contaminación (Fig.1).

La producción frutihortícola es altamente demandante de mano de obra, y las condiciones higiénicas a las que los operarios y trabajadores rurales están expuestos constituyen otra posible fuente de contaminación. En primer lugar, normalmente los lotes de producción están alejados de los baños o instalaciones para el aseo personal. Además, cuando se contrata mano de obra migratoria, ésta se radica en el lugar en condiciones precarias hasta terminar el trabajo. Aparte de la instalación de baños portátiles, es necesario que toda persona que manipule alimentos comprenda la importancia de una estricta higiene personal (FAO, 2003).

El tipo de producto también tiene influencia. Por ser más ácidas, las frutas tienden a ser colonizadas por hongos, mientras que en las hortalizas predominan las bacterias. Las plantas bajas o rastreras como frutillas y hortalizas de hoja en general están más expuestas a la contaminación por el suelo, agua de riego y animales que las de alto porte, por ejemplo, árboles frutales (FAO, 2011).

La cosecha, al igual que todas las operaciones en que el producto es manipulado, provee numerosas oportunidades para la contaminación a través de las lesiones que exponen los tejidos internos liberando exudados y otros jugos vegetales sobre el resto, condición necesaria para que los microorganismos presentes en las manos y ropa de los operarios, herramientas de cosecha o envases tengan la oportunidad de establecerse. La contaminación en cualquier punto de la cadena se exagera por un inadecuado manejo de las condiciones, particularmente temperatura, a la que el producto es expuesto hasta el consumo (Fernández, 2000; Ocaña *et al.*, 2014).

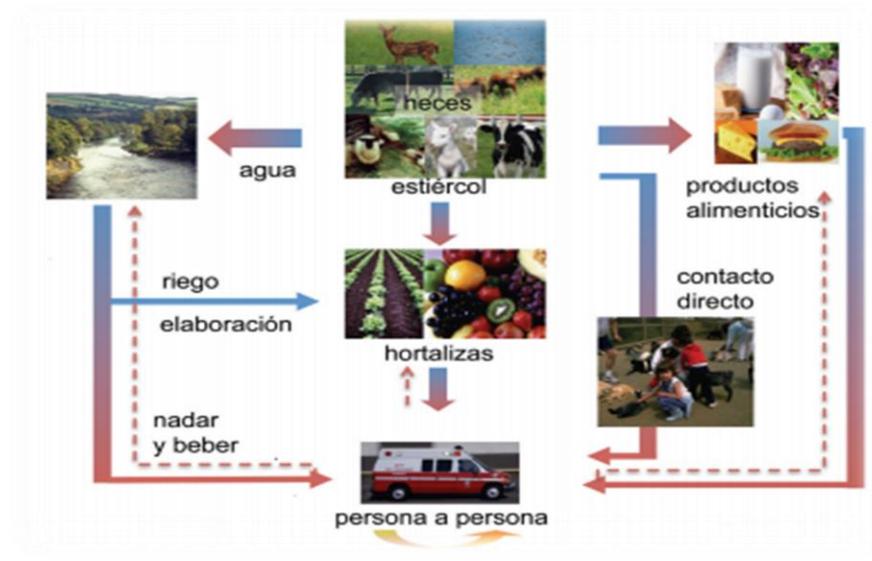


Figura 1. Mecanismos Mediante los Cuales los Alimentos se Pueden Contaminar con Microorganismos Patógenos. Fuente: FAO, 2011

5.1.1.3. Diferencias entre desinfectar y sanitizar

En la industria de la limpieza, hay muchos malentendidos sobre desinfectantes y sanitizantes. Los términos son frecuentemente intercambiados en discusiones, y mucha gente cree que significan lo mismo. A pesar de que son similares, hay diferencias entre sanitizar y desinfectar.

La EPA (Agencia de Protección Ambiental) (CVA, 2015). Define a los desinfectantes como los productos que son usados en superficies duras inertes para destruir o inactivar de manera irreversible a hongos y bacterias, pero no necesariamente a las esporas. Los productos desinfectantes se dividen en dos tipos principales: los de uso en hospitales y los de uso general. Los primeros son los más importantes para el control de infecciones y se usan en instrumental médico, pisos, paredes, ropa de cama y otras superficies. Los de uso general son la mayor fuente de productos usados en los hogares, albercas y purificadores de agua (Meigs, 2019). Desde un punto de vista legal (según la EPA), los desinfectantes deben reducir el nivel de bacterias patógenas en un 99.999 por ciento durante un lapso superior a 5 minutos pero que no exceda a 10 minutos (CVA, 2015).

Sanitizar es hacer que algo esté higiénico, como limpiar o desinfectar y estar higiénico es estar libre de elementos como suciedad y microorganismos patógenos que ponen en peligro la salud. Los sanitizantes se usan para reducir, pero no necesariamente para eliminar, los microorganismos de los ambientes inertes a niveles considerados como seguros, como lo determinan los códigos o reglamentos de salud pública. Estos incluyen productos de contacto y sin contacto con los alimentos. Los enjuagues desinfectantes para superficies como platos y utensilios de cocina, así como los equipos y utensilios usados

en las lecherías, plantas procesadoras de alimentos y establecimientos de alimentos y bebidas incluyen los sanitizantes de contacto con los alimentos. Estos productos son importantes ya que son usados donde se colocan y almacenan los productos alimenticios comestibles. Los sanitizantes sin contacto con los alimentos incluyen equipo para el manejo de aire, equipos de cultivo de hongos, envoltura o revestimiento, camas, bandejas, pisos, paredes y pasillos (Meigs, 2019).

Un sanitizante es un químico que reduce el número de microorganismos a un nivel seguro. No necesita eliminar el 100 por ciento de todos los organismos para ser efectivo. Los sanitizantes no matan virus y hongos, en una situación de preparación de alimentos, el sanitizante debe reducir la cuenta de bacterias en un 99.999 por ciento. Los sanitizantes requieren matar el 99.999 por ciento de los organismos presentes en 30 segundos (CVA, 2015).

5.1.2. Clasificación de Métodos de Desinfección

Como ya se mencionó con anterioridad desinfectar significa tratar los productos limpios mediante un proceso eficaz para destruir o reducir substancialmente las cantidades de microorganismos que implican un riesgo para la salud pública (UMFDA, 2002). Para asegurar la calidad e inocuidad de las frutas y hortalizas es necesario minimizar la contaminación de los productos por la presencia de microorganismos patógenos que puedan afectar la salud del consumidor (Garmendia y Silvana, 2006).

La importancia del método de desinfección utilizado es reducir al máximo el inóculo de patógenos vegetales que puedan afectar la calidad del producto durante el almacenamiento poscosecha (Babalola, 2003).

El mejor método es prevenir la contaminación; sin embargo, esto no siempre es posible y el uso de técnicas que reducen o eliminan patógenos por lo tanto es de extrema importancia para prevenir brotes transmitidos por alimentos (Corbo *et al.*, 2006).

5.1.2.1. Métodos Físicos

En este tratamiento se hace mención a la remoción mecánica, los tratamientos térmicos y la irradiación se clasifican de la siguiente manera: por calor la cual consiste en la aplicación de calor húmedo en superficies previamente limpiadas, para elevar su temperatura hasta 80 °C, con agua caliente mediante el contacto o inmersión en agua caliente a temperatura no menor de 80 °C durante 2 minutos como mínimo y vapor. Mediante mangueras que emitan vapor a temperatura no menor de 96°C, acercándose lo más posible a las superficies durante 2 a 3 minutos (Babalola, 2003).

La desinfección a temperaturas de 80 y 85°C, con agua caliente ya sea por inmersión, y o pasteurización, se ha descrito como aplicaciones potenciales (Huffman, 2002). Una alternativa al tratamiento del agua caliente es el uso del vapor. La ventaja principal es que la temperatura es mayor a los 100°C y tiene mayor capacidad de penetración (James *et al.*, 2007). El vapor limpia y desinfecta, mientras que el vacío elimina el agua residual, las suciedades y contaminaciones (Morgan *et al.*, 1995).

La pasteurización con vapor ha tenido resultados similares de descontaminación que el agua caliente (Nutsch *et al.*, 1997). En Estados Unidos se usa “Steam Pasteurization Systems (SPS)”, que consiste en una cabina de pasteurización por vapor situada al final de la línea de producción. Esta medida está autorizada por USDA y también es usada en Europa (Dorsa, 1997).

La eficacia de la irradiación ionizante en la eliminación de patógenos que se encuentran en alimentos depende del tipo del microorganismo, tipo del alimento, la temperatura, la presencia de oxígeno y de agua (Farkas, 1998).

La pasteurización es un proceso tecnológico que se lleva a cabo mediante el uso de calor y se aplican dosis pasteurizantes de 2,5/3 kGy (kilogray: unidades de medición de la radiación) para la carne refrigerada que permiten eliminar los microorganismos patógenos no esporulados de procedencia entérica, saprofitos alterantes. No causa efectos desfavorables en los caracteres organolépticos del producto (Lawrie, 1981).

El congelamiento y el almacenaje a temperaturas de congelación reducen la prevalencia y el número de bacterias patógenas sobre productos adecuados para esta tecnología (Georgsson y Geirsdóttir, 2006).

La refrigeración retarda el crecimiento de la mayoría de las bacterias y las temperaturas apenas por encima del punto de congelación pueden matar o lesionar a las bacterias. Pueden formar cristales de hielo dentro de las bacterias y la ruptura de la célula membrana, o se pueden producir cambios químicos que matan el organismo (Li y Torres, 1993).

5.1.2.2. Métodos Químicos

Las intervenciones químicas consisten en la aplicación de químicos de grado alimenticio a la superficie de los alimentos para inhibir o para matar los microorganismos (Smulders y Greer, 1998).

Los métodos de limpieza y desinfección de la superficie de los productos usualmente implican la aplicación de lavado mecánico en presencia de desinfectantes (Wei *et al.*, 2006). Se pueden utilizar diferentes agentes desinfectantes para el lavado de frutas y

verduras con la intención de reducir el riesgo de contaminación microbiana, ayudando en la prevención de enfermedades poscosecha y enfermedades transmitidas por alimentos (Zagori, 1999).

Este método involucra el uso de agentes químicos como desinfectantes superficiales. En general estos desinfectantes químicos se utilizan en soluciones acuosas, sin embargo, existen algunos casos de desinfectantes gaseosos (Garmendia y Silvana, 2006).

5.1.3 Agentes Desinfectantes

Un agente desinfectante son sustancias químicas que pueden destruir o reducir substancialmente las cantidades de microorganismos presentes en el agua de lavado y enfriamiento, reduciendo así la contaminación cruzada de la cual se clasifican de la siguiente manera (UMFDA, 2002).

5.1.3.1 Halógenos y Compuestos Halogenados

El cloro (de la lengua griega chloros, significando “verde pálido”). El gas de cloro es amarillo verdoso, es dos y media veces más pesado que el aire, tiene un olor sofocante y desagradable, y es excesivamente venenoso. Es un poderoso oxidante, blanqueador y desinfectante. El cloro es el desinfectante más utilizado en la industria alimentaria, se utiliza ampliamente para la desinfección de superficies en contactos con alimentos y también para reducir la carga microbiana del agua utilizada en diferentes operaciones, el cloro es uno de los desinfectantes más comunes que se utiliza en casa, oxida componentes celulares (Hernández, 2017).

La capacidad del cloro para destruir microorganismos depende de la cantidad de cloro residual libre, es decir, el cloro restante después de que reaccione con la materia orgánica, en el agua (Gavin y Weddig, 1995).

El cloro es una sustancia peligrosa. Es muy corrosivo en solución concentrada y las salpicaduras pueden producir quemaduras y lesiones oculares. Se requieren precauciones adecuadas cuando se manejan soluciones o polvos de cloro concentrado.

Las formas principales de cloro usados incluyen hipoclorito de sodio (NaClO), hipoclorito de calcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$), y cloro gaseoso (Cl_2). El hipoclorito de sodio es comercializado frecuentemente en soluciones de 12 a 15%. El hipoclorito de calcio con frecuencia es vendido en polvo o en tabletas en formulaciones de 65%. Sin embargo, no se disuelve fácilmente (especialmente en agua fría) y las partículas sin disolver pueden dañar los frutos y vegetales. Para prevenir esto, primero se disuelve el polvo o los gránulos en una pequeña cantidad de agua tibia antes de adicionar al tanque. Si se usa tabletas para continua administración, de baja liberación de cloro, se debe asegurar que las tabletas sean colocadas donde el agua circule bien alrededor de ellas. El cloro gaseoso viene en cilindros de gas presurizado y se debería manejar cuidadosamente de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. Cuando el cloro se disuelve en agua se forma ácido hipocloroso y ácido clorhídrico estableciéndose un equilibrio entre las distintas sustancias (Garmendia *et al*, 2006).

5.1.3.2. Hipoclorito de Sodio

Es una solución clara de ligero color amarillento y un olor característico. El hipoclorito de sodio tiene una densidad relativa de 1,1 (5.5% de solución acuosa) el uso doméstico

normalmente contiene 5% de hipoclorito de sodio (con un pH de alrededor de 11, es irritante). Si está a mayor concentración, contiene un 10 a 15% de hipoclorito de sodio (con un pH alrededor de 13, se quema y es corrosivo) (Lenntech, 2013).

El hipoclorito de sodio es de amplio espectro con actividad germicida contra virus, bacterias ácido-alcohol resistentes y no acidas, esporas, hongos, algas y protozoos, al tiempo que presenta un riesgo ambiental mínimo. Sin embargo, la toxicidad del cloro para los microorganismos varía ampliamente, y depende de las condiciones del agua, la temperatura y las especies de organismos (King, 2001).

La actividad inhibitoria o letal depende de la cantidad de cloro libre en el agua que entra en contacto con las células microbiana. El hipoclorito de sodio rápidamente pierde actividad en contacto con la materia orgánica o exposición al aire, luz o metales. Los componentes del tejido de frutas y verduras pueden neutralizar el hipoclorito de sodio, reduciendo su efecto antimicrobiano (Zhang y Farber, 1996). El efecto de soluciones de hipoclorito sobre microorganismos en la superficie de frutas y hortalizas está bien documentado (Garmendia *et al*, 2006). En general se utiliza en concentraciones entre 50 y 200 ppm durante 1 o 2 minutos (FDA, 2012). Las máximas reducciones alcanzadas son de aproximadamente 2 log UFC/g, siendo en muchos casos similares a las alcanzadas por tratamiento con agua.

5.1.3.3. Dióxido de Cloro

Entre ellas se encuentra su poca estabilidad, la resistencia de los virus y su tendencia a explotar a altas concentraciones, él dióxido de cloro se descompone a temperaturas superiores a los 30° C (86° F) y si se expone a la luz (Beuchat, 1998).

5.1.3.4. Bromo

El bromo ha tenido un uso limitado en el tratamiento del agua de lavado. Puede ser utilizado solo o en combinación con cloro, donde se ha observado un efecto sinérgico. Se dispone de poca información relativa a la eficacia del bromo solo o combinado con cloro como agente de desinfección de frutas y hortalizas (UMFDA, 2002).

5.1.3.5. Yodo

Las soluciones de yodo están menos afectadas por el contenido de materia orgánica del agua de lavado que el cloro, sin embargo, pueden teñir el equipo utilizado para manipular frutas y hortalizas y reaccionar con el almidón para formar un color azul-púrpura. Por esta razón, su aplicación en frutas y hortalizas se limita a los productos sin almidón. Es un antiséptico cutáneo y oxida componentes celulares y forma complejos con las proteínas (Hernández, 2017).

5.1.3.6. Plata coloidal

La plata proteica (la plata utilizada para la desinfección de frutas y verduras) es el tipo más común de los llamados “productos a base de plata coloidal”. Este tipo de plata consiste en una combinación de partículas metálicas de plata y una cubierta proteica, y puede ser fácilmente producida, simplemente agregando agua a un polvo a base de plata proteica, el cual es vendido por varias compañías de productos químicos. Esta tecnología de producción tiene más de 100 años de antigüedad. Aunque las compañías comercializan este tipo de productos con el nombre de plata coloidal su verdadero nombre “plata

proteica”. Estos productos tienen por lo general grandes partículas de plata, tan grandes que no pueden permanecer suspendidas en el sustrato en el que se encuentran, por lo que necesitan de un aditivo proteico el cual evite que estas sedimenten (las partículas pueden ser hasta 10,000 veces más grandes que el tamaño ideal). Entre los diferentes aditivos proteicos que pueden ser utilizados, el más común es la gelatina (grentina). Las moléculas de gelatina encapsulan las partículas de plata, confiriéndoles una mayor flotabilidad, evitando que se hundan. La presencia de gelatina crea un riesgo de contaminación bacteriana y es uno de los peligros de utilizar la plata proteica, además que, debido a la alta concentración de grandes partículas de plata, se sabe que los productos a base de plata proteica causan Argiria, una condición anormal que causa que la piel se torne gris-azulosa y daños en la vista (Secretaría de Salud, 2015).

5.1.3.7. Compuestos Alcalinos

No eliminan esporas, pero son bactericidas y fungicidas, algunas veces viricidas principalmente se utiliza el etanol e isopropanol al 70-80 % (Hernández, 2017).

5.1.3.8. Compuestos Iónicos

Fosfato Trisódico (FTS), es una solución de lavado al 15% durante un tiempo de contacto de 15 segundos ha demostrado ser eficaz para la eliminación de *Salmonella* en tomates. Los patógenos parecen diferir en su resistencia al FTS, siendo *Listeria monocytogenes* resistente y *E. coli* O157:H7 sensible. Son necesarias más investigaciones para conocer el espectro de acción del FTS y su efecto sobre las características de calidad de los productos tratados (Zhuang y Beuchat, 1996).

5.1.3.9. Compuestos Amónicos Cuaternarios (Quats)

Estos compuestos se usan normalmente para la desinfección de paredes, suelos, drenajes, equipos y otras superficies en contacto con los alimentos en las plantas de procesamiento de frutas y hortalizas. No están aprobados para el contacto directo con los alimentos, los Quats pueden tener una utilidad limitada en el tratamiento de frutas y hortalizas algunos de ellos son: $\text{Co}(\text{OH})\text{NO}_3$ (Hidroxi nitrato de Cobalto), $\text{Bi}(\text{OH})_2\text{NO}_3$ (Nitrato Dihidróxido de Bismuto), KH_2PO_4 (Sulfato Hidrógeno de Calcio), KHSO_3 (Fosfato Dihidrógeno de Calcio), NaHSO_3 (Sulfito Ácido de Sodio), Co_2S_3 (Sulfuro Cobáltico), $\text{Bi}(\text{OH})_2\text{NO}_3$ (Nitrato Hidrácido de Bismuto), y NO_3 (Nitrato Hidroxilo de Cobalto) (FDA, 2001).

5.1.4.0. Ácidos Orgánicos

Los ácidos orgánicos se producen a partir del metabolismo natural de las frutas y hortalizas. Los ácidos acético, láctico, cítrico, succínico, málico, tartárico, benzoico y sórbico son los principales ácidos orgánicos que existen de forma natural en los productos frescos. Su actividad de descontaminación ha sido atribuida a una reducción en la permeabilidad de la membrana celular bacteriana (Castillo *et al.*, 1994).

Los ácidos orgánicos son muy utilizados para prevenir el desarrollo microbiano en alimentos. Su uso se basa en lograr un bajo pH que impida la proliferación de microorganismos no deseados. Sin embargo, también tienen acción antimicrobiana por sí mismo. En este sentido son activos pH ácidos, en sus formas no ionizadas. En esta forma el ácido pasa a través de la membrana celular llegando al citoplasma. Debido a que el pH

intracelular es cercano a la neutralidad, el ácido se disocia dentro de la célula, acidificando el interior celular causando efectos inhibidores de reacciones enzimáticas y sistemas de transporte (Foegeding y Busta, 1991).

Los ácidos orgánicos se han utilizados también como desinfectantes sobre alimentos. La eficiencia de los ácidos orgánicos como desinfectantes varía con el tipo de ácido y el microorganismo que se busca inhibir. Su aplicación puede tener efectos negativos en atributos sensoriales como el sabor y el aroma de los productos tratados (Garmendia, 2006).

El poder antimicrobiano de los ácidos orgánicos se debe a su forma no disociada, la cual depende del pH, y tiene más importancia que la disminución del pH extracelular que estos produzcan (Samelis *et al.*, 2000). La forma disociada al ser un anión es altamente polar y, por lo tanto, no atraviesa fácilmente la membrana plasmática de los microorganismos; por el contrario, su forma no disociada sí atraviesa la membrana. Una vez en el interior de la bacteria, el ácido puede disociarse y entonces afecta directamente al pH intracelular microbiano (Doors, 1983). Esto puede afectar gravemente a su metabolismo, ya que afecta al gradiente de protones y de carga eléctrica con el exterior, e interfiere con los sistemas de transporte de aminoácidos y fosfatos. Además, muchas enzimas esenciales para el metabolismo microbiano se inactivan a pH ácido (Mountney y O' Malley, 1965). También ocasionan un aumento del turgor celular; al producirse la disociación del ácido en el interior de la célula, la concentración interna de aniones va a aumentar, esto desencadena un mecanismo de compensación de la carga eléctrica que obliga a la bacteria a aumentar los niveles de Na⁺ y K⁺, lo que lleva a un aumento mayor de la fuerza iónica intracelular y del turgor, originando un gran aumento de la presión mecánica sobre la pared del

microorganismo, lo que hace que eventualmente estalle (Juven *et al.*, 1974). Estos aditivos son reconocidos generalmente como seguros (GRAS), no presentan residuales tóxicos, por lo cual no necesitan ser declarados en la etiqueta del alimento tratado o de los productos elaborados a partir de las mismas (Cutter y Sigarusa, 1994). Sensorialmente, la aplicación de ácidos sobre alimentos puede ocasionar decoloración de los tejidos; sin embargo, la mayoría de las veces estos cambios desaparecen o se hacen menos evidentes después del enfriamiento (Suppakul *et al.*, 2003).

5.1.4.1. Ácido láctico

El ácido láctico, ácido 2-hidroxiopropanoico ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$), es un líquido incoloro o ligeramente café, parecido a un jarabe, obtenido a partir de la fermentación del azúcar. También se encuentra como componente natural de las carnes producido por la glucólisis post-mortem. Está incluido en la lista de los ingredientes GRAS (21 CFR 184.1067, reconocidos generalmente como seguros) de la FDA (Administración de Alimentos y Drogas), sin límite superior de ingesta para seres humanos (Directiva CE95/2) (Genigeorgis *et al.*, 1989), es producido por una clase de bacteria homofermentativa, llamada bacteria ácido láctica, reportes indican tiene efectos bacteriostáticos y bactericidas; soluciones acuosas de ácido láctico sirven para descontaminar (Woolthuis y Smulders, 1985). Su actividad antimicrobiana está directamente ligada al pH por cuanto la mayoría de los microorganismos no resisten valores inferiores a 4.0 (Beuchat, 1998).

El uso de ácido láctico es limitado a concentraciones altas, ya que estas influyen en la calidad del producto, ya que puede alterar el color de algunos alimentos (Edwards y Fung, 2006). Los ácidos orgánicos aumentan la vida media del producto modificando la

atmósfera del empaque del producto porque aumentan la fase no esporulada del microorganismo (Greer y Dilts, 1995). La acción antimicrobiana se atribuye al cambio de pH del medio, la desnaturalización de las proteínas y afecta el funcionamiento de la membrana celular por medio del ion lactato en el ciclo energético de los microorganismos (López *et al.*, 2002). Las desventajas de este químico es el efecto corrosivo sobre los equipos de aspersión. Se ha demostrado que el uso a temperaturas elevadas aumenta este efecto. Además, crece la preocupación de microorganismos ácido resistentes (Dickson, 1991). La acción bactericida del ácido láctico sobre las bacterias Gram negativas, especialmente el grupo de las enterobacterias se debe a que produce una desorganización de la capa de lipopolisacáridos presentes en la superficie de la membrana externa, los cuales se encargan de la permeabilidad de la barrera de esta (Helander *et al.*, 1997). Al ser hidrosoluble, el ácido láctico tiene acceso al periplasma bacteriano a través de las proteínas “porinas” de la membrana exterior (Ockerman *et al.*, 1974). Su forma no disociada penetra la membrana citoplasmática, produciendo disminución del pH intracelular y una ruptura de la fuerza protón motriz transmembrana (Ojeda y Vásquez, 2009)

5.1.4.2. Compuestos de Oxígeno Activo

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es un desinfectante para los productos frescos y cortados, la aplicación del peróxido de hidrógeno como agente desinfectante está limitada a algunas frutas y hortalizas debido al blanqueamiento de los pigmentos de antocianina en productos como las fresas y frambuesas y a la oxidación de compuestos fenólicos de hongos que provocan una pérdida de color (Sapers *et al.*, 1998).

5.1.4.3. Ácido Peracético

Este ácido (C₂H₄O₃), se forma por la reacción del ácido acético y el peróxido de hidrógeno con catalizadores. Se ha observado su eficacia en la reducción de recuentos microbianos en el agua de lavado de productos y en superficies de frutas aprobado en los E. U. para su uso en el agua de lavado o para la aplicación directa en frutas y hortalizas enteras o cortadas (Hei, 1998).

5.1.4.4. Ozono

El ozono (O₃) destruye los microorganismos con mucha mayor rapidez que el cloro, debido a su elevado potencial de oxidación. El efecto letal del ozono en los microorganismos se produce a través de su acción oxidativa, *Salmonella typhimurium*, *S. enterocolitica*, *S. aureus*, y *L. monocytogenes* son sensibles al tratamiento en agua ozonizada a una concentración de 20 ppm (Restaino *et al.*, 1995).

5.1.4.4. Nuevas Tecnologías

Actualmente se están investigando muchas nuevas tecnologías para tratar frutas y hortalizas frescas, algunas ya están disponibles, aunque aún no se utilizan a escala comercial (UMFDA, 2002).

5.1.4.5. Irradiación

La irradiación propaga en forma de ondas electromagnéticas (rayos UV, rayos gamma, rayos X) los cuales se aplica normalmente para inhibir los patógenos de poscosecha y para

proteger la calidad del producto. La irradiación puede ser eficaz para eliminar microorganismos patogénicos de las superficies de los productos. La irradiación puede ser eficaz para eliminar microorganismos patogénicos de las superficies de los productos. Una dosis de irradiación de 1 kGy ha demostrado su eficacia en la destrucción de *Listeria monocytogenes* en pimientos cortados (Farkas *et al.*, 1997).

5.1.4.6. Impulsos De Luz

Es una combinación de un 25% de luz ultravioleta, un 45% de luz visible y un 30% de luz de infrarroja) son eficaces cuando la luz puede penetrar en las superficies de los alimentos o en medios transparentes como jugos claros. Este método utiliza la resistencia de determinados microorganismos al tratamiento, otros tratamientos poscosecha, humedad y temperatura de los productos (Dunn, 1996).

5.1.4.7. Plasma Atmosférico no Térmico

El Plasma Atmosférico No Térmico (PANT) es una tecnología que consiste en la utilización de gases ionizados con una gran capacidad de inactivación microbiana, siendo destacable el hecho de que presenta además otras ventajas muy importantes, como son el bajo coste de aplicación, el empleo de tiempos de tratamiento cortos a bajas temperaturas, la posibilidad de tratar una amplia variedad de alimentos, tanto líquidos como sólidos, previamente envasados y el ser una tecnología sostenible, se genera mediante la aplicación de un campo eléctrico o electromagnético a un gas. Él plasma está constituido principalmente por moléculas y átomos los cuales están disociados en forma de iones en estado o no de excitación con capacidad de inactivar microorganismos como bacterias, mohos, levaduras, esporas, virus y parásitos. Recientemente se publicó un artículo en

‘Food Research International’, donde se presenta resultados obtenidos en relación con la eficacia antimicrobiana de plasmas generados a partir de diferentes gases sobre las dos serovariedades de *Salmonella* más frecuentemente implicadas en casos de salmonelosis, *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, tras su exposición a diversas situaciones adversas a las que frecuentemente se ven sometidos los microorganismos en la industria alimentaria. (Calvo *et al.*, 2015).

5.2. Tratamientos de Desinfección de Frutas y Hortalizas

La aplicación de buenas prácticas de higiene durante la producción y transporte de frutas y hortalizas combinadas con el Análisis de Peligro Puntos Críticos de Control (HAPPC por sus siglas en inglés) ciertamente minimizan la contaminación y reducen el riesgo de las enfermedades asociadas con los alimentos (Beuchat, 1998). Sin embargo, esto no garantiza la obtención de un producto inocuo, el uso de tratamientos de desinfección se vuelve indispensable para incrementar la seguridad del alimento.

La desinfección se refiere al proceso por medio del cual se obtiene una eficaz destrucción o reducción del número de microorganismo de importancia en salud pública cuya actividad compromete la inocuidad o las características sensoriales de un alimento, sin afectar la calidad del producto o la seguridad del consumidor (FDA, 1998).

En microbiología generalmente se expresa los datos de reducción de población microbiana como logaritmos o porcentaje. La reducción microbiana puede ser expresadas como \log_{10} de UFC donde los logaritmos de reducción de 1, 2, 3, 4 y 5 equivalen a porcentajes de eficacia de Reducción de 90, 99, 99.9, 99.99 y 99.999% respectivamente (Sapers, 2001).

5.2.1. Formas de Aplicación de Desinfectantes

La mayoría de los métodos requieren de contacto físico con la superficie y por los diferentes tamaños existe la posibilidad de que una parte quede sobre expuesta mientras que otra no tenga contacto con el desinfectante. Por ejemplo, los tratamientos que requieren de rayos de energía, como luz ultravioleta, puede que no tengan acceso a área donde el rayo es bloqueado por una protuberancia que hace sombra en un área de las hortalizas. En el momento de aplicar métodos de desinfección se debe tener un buen diseño para evitar toda esta clase de inconvenientes (Sastry *et al*, 2000).

5.2.1.1. Aplicación por Aspersión

La aplicación por aspersión es el método más común. Sin embargo, el ángulo de la aplicación y la presión en la cual una solución es aplicada, esta afecta en los resultados de los tratamientos. La limpieza por aspersión se realiza mediante el bombeo de la solución de limpieza desde un depósito a través de un sistema de conducción, proyectando mediante boquillas de aspersión dicha solución sobre la superficie sucia. La presión de trabajo puede variar desde magnitudes tan bajas como 14 kPa hasta otras tan elevadas como 13800 kPa. En general, cuanto más alta es la presión de aspersión, mayores son las fuerzas mecánicas que actúan sobre la superficie metálica para eliminar la suciedad. Estos efectos mecánicos son especialmente importantes para la eliminación de partículas insolubles como polvo, pequeñas partículas metálicas, o carbonilla (Cleantool, 2001).

Para optimizar el funcionamiento de la aspersión se debe tener en cuenta la boquilla adecuada (flujo, patrón de aspersión, tamaño de la partícula y velocidad), mantenimiento preventivo, evaluar la posición y el cubrimiento de la boquilla (Hugas y Tsigarida, 2008).

5.2.1.2. Aplicación por Inmersión

La inmersión es el método de limpieza más versátil, particularmente se utiliza para la limpieza de piezas con formas irregulares, configuraciones cilíndricas y tubulares o cajas que no se puedan limpiar adecuadamente utilizando sistemas de aspersion. Las formas de aplicación de este método pueden variar desde la inmersión manual de una pieza, agitación de una cesta conteniendo varias piezas en una cuba de inmersión a temperatura ambiente, hasta instalaciones altamente automatizadas operando a temperaturas elevadas con agitación controlada (Cleantool, 2001).

Se puede mejorar la eficacia de la limpieza por inmersión, desplazando el agua por medio de agitadores de hélice alojados en el depósito o moviendo el producto en el seno del agua por medio de paletas de movimiento lento. Estos procedimientos tienden a deteriorar los productos delicados. También se puede agitar haciendo burbujear aire, procedimiento útil para productos delicados como fresas, espárragos etc. (Lage, 1998).

5.3. Tipos de Microorganismos de Interés en la Industria Alimentaria

Antes de desarrollar un plan de desinfección es conveniente definir el tipo de microorganismos sobre los que se desea actuar, para prevenir o reducir su presencia en las superficies, ambientes e instalaciones de las salas de trabajo. En muchos casos, el desinfectante debe ejercer su acción sobre más de un tipo de microorganismo. En la industria alimentaria es posible encontrar cuatro grupos microbianos que pueden causar toxiinfecciones en los consumidores:

- Mohos y levaduras.

- Bacterias (Gram positiva, Gram negativa y en forma esporulada).
- Micobacterias.
- Virus (Encapsulados o no)

Cada uno de estos grupos de microorganismos tiene características biológicas específicas que influyen sobre su capacidad para adaptarse a la presencia de agentes desinfectantes. Los microorganismos: bacterias, micoplasmas, mohos y virus están envueltos por una membrana citoplasmática. Esta membrana delimita al microorganismo del medio externo, y tiene gran importancia en los intercambios moleculares entre el interior de la célula y el exterior, además de ejercer un efecto protector de la misma. La membrana citoplasmática está compuesta, fundamentalmente, por una doble capa lipídica en la que se insertan proteínas, y está formada por fosfolípidos. En la parte central de la bicapa de lípidos se encuentra una zona hidrófoba y en la periferia presenta una parte hidrófila. Estas características influyen sobre la resistencia a los principios activos biocidas (Russel, 1997).

5.3.1. Microorganismos Indicadores en Alimentos

La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental porque influye en su conservación, sobre todo, porque los microorganismos presentes en ellos pueden ser causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en inglés denominadas “foodborne illnesses” (Pierson y Smoot, 2001).

La detección en el laboratorio de los microorganismos patógenos puede ser muy complicada, muy lenta y/o muy costosa para determinaciones rutinarias. Además, es concluyente cuando se encuentra un microorganismo patógeno, pero puede haber casos

en que no se detecte por razones circunstanciales como el clima o la cantidad de individuos que está contaminando, a pesar de que el manejo del alimento implique un riesgo de que el patógeno aparezca en cualquier momento (Koburger *et al.*, 2003). Por estas razones las normas en materia de alimentos generalmente establecen la calidad microbiológica en términos de microorganismos indicadores en alimentos (Fernández *et al.*, 2000).

Debido a que los patógenos bacterianos forman parte del medio ambiente, pueden contaminar fácilmente las frutas y hortalizas si no se manipulan adecuadamente antes del consumo (Yábar *et al.*, 2005).

Los principales microorganismos indicadores en alimentos son:

- Indicadores de condiciones de manejo o de eficiencia de proceso: mesófilos aerobios (o cuenta total), cuenta de hongos y levaduras y cuenta de coliformes totales.
- Indicadores de contaminación fecal: Coliformes fecales, *E. coli*, *Salmonella* spp, Enterococos. *Clostridium perfringens*.

La selección de indicadores en un alimento depende fundamentalmente de los riesgos implicados y de lo que se requiera saber para liberar, controlar o mejorar el alimento, manteniendo el enfoque preventivo.

5.3.1.1. Bacterias Gram (positivas y negativas)

Las bacterias tienen capacidad de sintetizar una pared anexa a la membrana citoplasmática. Esta pared presenta diferencias entre distintos tipos de bacterias y permite diferenciarlas en bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas (Pierson y Smoot, 2001). Una primera diferencia entre ellas se aprecia al comparar el espesor de la pared en

ambos tipos de bacterias, en las bacterias Gram positivas, como en *Estafilococos aureus*, el espesor oscila entre 20-80 nm; en tanto que en bacterias Gram negativas, como *Escherichia coli*, su espesor oscila entre 10-15 nm. Sin embargo, la pared de las bacterias Gram negativa es más compleja que las de las bacterias Gram positiva. Esta mayor complejidad proporciona a la pared un mayor grado de impermeabilidad a las sustancias, excepto para aquellas que pueden penetrar por los poros de las células. Por tanto, las bacterias Gram negativas son menos sensibles a los desinfectantes que las bacterias Gram positivas. Además, ciertas bacterias, como *Bacillus spp* y *Clostridium spp*, son capaces de formar esporas cuando el medio que les envuelve les es hostil. Las esporas constituyen, de este modo, un medio de resistencia de las bacterias a los agentes antimicrobianos, y pueden causar contaminaciones de los alimentos, resistir los tratamientos térmicos o de conservación y ocasionar toxiinfección alimentaria, puesto que cuando las condiciones son favorables pueden volver al estado vegetativo con sus características iniciales y tienen la posibilidad de multiplicarse de nuevo (Russel, 1997).

5.3.1.2. Virus

En los virus, su cápside está formada fundamentalmente por un solo tipo de proteínas. Una primera distinción entre los virus está basada en la presencia o no de una envoltura lipídica. Los que la poseen se denominan virus encapsulados, frente a los virus no encapsulados que carecen de esta envoltura. Paradójicamente, la resistencia a las materias activas biocidas es mayor en los virus no encapsulados, pues los agentes químicos alteran la envoltura lipídica y los vuelve más sensibles a su acción. Los virus no encapsulados se adaptan mejor a los desinfectantes al carecer de esta envoltura, ser fisiológica y

morfológicamente más sencillos, y por tanto más flexibles (Fernández, 2000; Russell, 1997).

5.3.1.4. Micobacterias

Las micobacterias son organismos ubicuos que se pueden encontrar en la tierra, aguas, alimentos, en la superficie de suelos y maquinaria. Algunas son muy conocidas, como el *Mycobacterium tuberculosis*, causante de la tuberculosis. Las micobacterias, además de poseer una pared compleja, producen una pared de naturaleza cérea, que proporciona gran resistencia a la desecación, y por tanto la posibilidad de sobrevivir en el medio ambiente durante años, además de incrementar su resistencia a los desinfectantes (Stanga, 2010).

5.3.1.5. Mohos y Levaduras

Los mohos son hongos microscópicos, presentes principalmente en medios húmedos. Los principales problemas de salud que ocasionan son debidos a los compuestos orgánicos volátiles que producen, las micotoxinas, y la contaminación del aire por esporas que pueden ser inhaladas. Tanto los mohos como las levaduras poseen una resistencia a los compuestos biocidas intermedia entre las bacterias Gram positivas y las bacterias Gram negativas (Russell, 1997).

Las levaduras son hongos microscópicos, generalmente, unicelulares. Pueden provocar alergias y en ciertos casos infecciones sistémicas. Su pared celular está formada por un esqueleto de quitina que la protege de las agresiones fisicoquímicas (Russell, 1997). Se pueden encontrar ampliamente distribuidos en la naturaleza, formando parte del

microbiota normal de un alimento o como agentes contaminantes de estos. Un pequeño porcentaje de levaduras pueden alterar los alimentos causando su deterioro debido a la utilización de carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos, originando un mal olor alterando el sabor y color de la superficie de los productos contaminados, además permiten el crecimiento de bacterias patógenas (Frazier *et al.*, 1993).

5.3.1.6. Mesófilos Aerobios

Son todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse de 30 a 37°C, siendo su temperatura óptima 35°C. Son indicadores de las condiciones de salubridad de un alimento, un recuento elevado indicaría que la materia prima y su manipulación fue deficiente (Moreno *et al.*, 2014).

5.3.1.7. Coliformes Totales

Son bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, fermentan la lactosa a $35^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ con la producción de ácido y gas, catalasa positivos móviles en su gran mayoría por medio de flagelos tienen una importancia relevante como indicadores de contaminación de agua y los alimentos. La mayoría pueden encontrarse principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente es decir homeotermos, los coliformes son un grupo ampliamente utilizados en la microbiología de los alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas, su determinación se basa principalmente en la fermentación de la lactosa (Camacho y Ortigón, 2009).

Entre ellas se encuentran *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, la prueba más relevante utilizada para la determinación de coliformes es la hidrólisis de

lactosa el rompimiento de este disacárido es catalizado por la enzima β -D-galactosidasa. Para la determinación de la β -D galactosidasa se utilizan medios cromogénicos tales como el Agar Chromocult para coliformes. Actualmente, no se recomienda para la evaluación de la calidad de las aguas debido a que muchos de sus miembros pueden encontrarse de forma natural en aguas, suelos o vegetación (Camacho y Ortegón, 2009).

5.3.1.8. Coliformes Fecales

Los coliformes fecales son un grupo específico de bacterias coliformes, se encuentran el tracto intestinal de mamíferos y aves, son capaces de proliferar a 45°C estas bacterias se liberan al medio ambiente a través de heces humanas y de animales. La prueba de coliforme fecales positiva indica un 90% de probabilidad de que el coliforme aislado sea *E. coli* (Moreno *et al.*, 2014).

El recuento de coliformes puede incluir toda una serie de bacterias diferentes, según la muestra, el medio, la temperatura de incubación y los criterios utilizados para la lectura. Esta variabilidad puede ser la causa de discrepancias entre los datos obtenidos en laboratorios diferentes, una prueba sólo para las bacterias lactosa positivas puede llevar a resultados falsamente seguros en los casos en los que predominan las lactosas negativas de (*Salmonella*) en los alimentos (Grant *et al.*, 2014).

5.4. Principales Microorganismos Patógenos de Interés Alimentario

Pueden contaminar las frutas y hortalizas a través de la infiltración de aguas residuales en los campos, el riego con agua contaminada, la presencia de animales en el campo o un abonado incorrecto. El número de bacterias necesario para provocar enfermedades

humanas varía con el tipo de organismo, la edad y el estado del huésped, en algunos casos es necesario de diez a un millón de bacterias patogénicas por gramo o cm² de superficie del alimento para que se produzca una enfermedad (FDA, 2012). Los principales microorganismos reportados por la FDA son: patógenos transmitidos por los alimentos pueden afectar seriamente a cualquier persona (FDA, 2012).

5.4.1. *Listeria spp.*

La listeriosis, cuyo agente etiológico es *Listeria monocytogenes*, pertenece al Filum Firmicutes de la clase Bacilli, es gram positivo, con forma de bacilo y produce flagelos a RT, pero no a 37°C se sitúa entre las enfermedades transmitidas por alimentos de mayor relevancia, esta bacteria se encuentra en la tierra y el agua, puede crecer incluso dentro de las temperaturas frías de un refrigerador. Es frecuente encontrarla en carnes rojas y en pollo crudo, también se relaciona con productos lácteos no pasteurizados (Pisarro, 2007).

5.4.1.1. *Staphilococcus*

Es un género de bacterias que pertenece a la familia estafilocócáceas de la clase Bacilli, son cocos anaerobios facultativos producen catalasa, lo que la diferencia de los estreptococos. Es un microorganismo que se encuentra ampliamente diseminado en el ambiente ya que posee características particulares de virulencia y resistencia contra antibióticos, lo cual representa un grave problema de salud, esto es, gracias a que su distribución se extiende a nivel mundial y el impacto en la morbimortalidad es considerable a nivel comunitario e intrahospitalario. En los humanos, causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas y su principal impacto es ocasionado por las cepas de *S. aureus*, que son sumamente resistentes a la meticilina (MRSA) y otros antibióticos que antes eran eficaces contra el tratamiento de las infecciones.

Se encuentra principalmente en nariz, garganta y lesiones cutáneas, los alimentos relacionados son productos cárnicos, aves, lácteos y mayonesa (Gutiérrez *et al.*, 2003).

5.4.1.2. *Clostridium perfringens*

Es una bacteria anaeróbica Grampositiva, capsulada, esporulada e inmóvil del Filum Firmicutes perteneciente a la clase Clostridia, a carencia de flagelos y la esporulación poco frecuente lo diferencian de otras especies del género. Se halla principalmente en el intestino de animales, el ser humano, suelo y polvo, se ha encontrado en altas cantidades en productos derivados de carnes, aves y derivados (Habibi, 2009).

5.4.1.3. *Clostridium botulinum*

Es una bacteria anaeróbica (es decir que crece en la ausencia de oxígeno), Gram positiva, en forma de bacilo, de la clase Clostridia, es una formadora de esporas y que produce una potente neurotóxica (un veneno que afecta el sistema nervioso). Las esporas permiten que la bacteria sobreviva en un estado latente, hasta que vuelva a estar expuesta a las condiciones adecuadas en las que pueda crecer y reproducirse. Esta bacteria puede encontrarse en comida, suelo, vegetales, carne y pescado, alimentos enlatados, alimentos envasados al vacío y envueltos en forma hermética. Se relacionan principalmente con conservas poco ácidas de vegetales, produce una toxina que provoca el botulismo, una enfermedad que causa la parálisis muscular (Pisarro, 2007).

5.4.1.4. *Escherichia coli*

Grupo de bacterias miembro de la familia de las enterobacterias es un bacilo gramnegativo, no exigente, oxidasa negativa, catalasa positiva, anaerobio facultativo, que pueden producir diversas toxinas mortales, suele vivir en el intestino de los vacunos, la principal fuente es la carne de res (hamburguesas), productos frescos no cocidos, leche cruda, jugo sin pasteurizar y agua contaminada. Se han aislado tanto del suelo como de aguas residuales, de vegetales en descomposición, de heces animales, salas de mataderos, así como de alimentos frescos, ahumados y congelados, las cepas del género *Listeria* presentan una gran capacidad para adherirse a superficies vivas e inertes y, requieren solo un corto espacio de tiempo para la unión e iniciar la adhesión (Keskinen, 2008).

5.4.1.5. *Shigella* spp

Es un género de bacterias con forma de bacilo perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, Gram negativa, inmóvil, no formadora de esporas e incapaces de fermentar la lactosa, Son coliforme fecales anaerobias facultativas con fermentación ácido-mixta. Se transmite fácilmente de persona a persona a través de la comida, como consecuencia de una higiene deficiente especialmente por lavarse mal las manos, se puede encontrar en (ensaladas, productos lácteos, ostras crudas, carne molida de res, pollo y agua sucia), el agua contaminada es una de las principales fuentes de Shigellosis; solamente los seres humanos son portadores de esta bacteria. (Pisarro, 2007).

5.4.1.6. *Vibrio cholerae*

Es una bacteria Gram negativa con forma de bastón (un bacilo) curvo que provoca el cólera en humanos, junto con otra especie de género *Vibrio* pertenece a la subdivisión gamma de las proteobacterias. Se presenta naturalmente de estuario (donde se mezcla el agua dulce de los ríos con el agua salada del océano), causa cólera, una enfermedad que puede provocar la muerte si no es tratada, vive muy bien en el medio acuoso y salino. El agua contaminada es una de las principales fuentes de contaminación de pescado y mariscos crudos o que no estén bien cocidos u otros alimentos (Borek, 2012).

5.4.1.7. *Campylobacter jejuni*

Especie del género *Campylobacter*, es un bacilo que responde negativamente a la tinción de Gram, presenta movilidad mediante uno o dos flagelos polares (que se encuentran en sus extremos). El género *Campylobacter* agrupa 18 especies, entre las que destacan *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, como agentes importantes de diarrea en el

ser humano, y *Campylobacter fetus*, en pacientes comprometidos. Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, reconociendo como reservorio natural a una gran variedad de animales tanto domésticos como de vida silvestre, tales como ganado vacuno, cerdos, ovejas, aves de corral, cabras, perros, gatos y roedores, entre otros. Las aves de consumo y sus subproductos constituyen uno de los principales reservorios y fuente de infección humana (Smith *et al.*, 2000).

5.4.1.8. Streptococos spp

Grupo de bacterias formado por cocos Gram -positivos pertenecientes al filo Firmicutes y al grupo de las bacterias ácido-lácticas, estas bacterias crecen en cadenas o pares, donde cada división celular ocurre a lo largo de un eje. Este microorganismo es conocido por la gran cantidad de proteínas extracelulares que produce, factores de virulencia, que incrementa la patogenicidad de este, al desencadenar una respuesta inespecífica en el sistema inmunológico del paciente. un coco Gram positivo aerobio, es uno de los patógenos bacterianos más importantes en seres humanos, agente causal más frecuente de faringitis agudas bacterianas, además infecciones cutáneas incluidas erisipela, impétigo, celulitis y cuadros sistémicos severos como fascitis necrosante, miositis y síndrome del shock tóxico, la leche cruda y huevos son fuentes de contaminación (Borek, 2012).

5.4.1.9. Hepatitis

Pertenece al género Hepatovirus de la familia picornaviridae, es un virus pequeño (60-70 nm), icosaédrico, tiene seis proteínas estructurales, de las cuales tres forman un complejo con ARN cubierto por una envoltura proteica. La hepatitis vírica aguda es una enfermedad

infecciosa del hígado causada por distintos virus que replican en los hepatocitos, caracterizada por necrosis hepatocelular e inflamación su medio de contaminación es mediante heces fecales humanas directa o a través del agua, también se relaciona con mariscos mal cocidos, emparedados, ensaladas, entre otros (Smith *et al.*, 2000).

5.4.2.0. Cisticercosis

Las cisticercosis son enfermedades parasitarias causadas por la presencia en los tejidos de cisticercos, metacestodos o formas larvales, juveniles o intermedias de varias especies de cestodos del género *Taenia*. Los huevos de *Taenia solium* miden unos 30 μm , están cubiertos por la membrana de la oncosfera y el embrióforo, lo que les confiere gran resistencia. Son la forma infectiva en la cisticercosis. Los cisticercos se ubican con mayor frecuencia en ojos, sistema nervioso central, tejido subcutáneo y músculo esquelético. Se contemplan dos formas de cisticercos, celuloso y racemoso. (Carpio *et al.*, 2016).

Los cisticercos del tipo celuloso (los más frecuentes) miden unos 5 - 10 mm de longitud, están formados por un compartimiento interno, que engloba al escólex y el canal espiral y uno externo, que contiene el líquido vesicular (0.5 ml) y una cubierta externa.

Se aprecian como vesículas blanco-amarillentas, de forma ovalada o redondeada, con el escólex visible en su interior, con apariencia de un pequeño gránulo blanquecino.

(Carpio *et al.*, 2016).

5.4.2.1. *Bacillus cereus*

Un bacilo gram positivo, esporulado, anaerobio facultativo y móvil, la spora es ovoidea, central y no deformantes. Esta bacteria puede encontrarse con cierta facilidad en una gran

proporción de alimentos en muchas ocasiones se relaciona con el consumo de arroz, sin embargo, se ha asociado a otros cereales (Smith *et al.*, 2000).

5.4.2.2. *Leptospira* spp

La *Leptospira* es una bacteria muy fina, de 6 a 20 μm de largo y 0,1 a 0,2 μm de ancho, flexible, helicoidal, con las extremidades incurvadas en forma de gancho, extraordinariamente móvil, aerobia estricta, que se cultiva con facilidad en medios artificiales. Puede sobrevivir largo tiempo en el agua o ambiente húmedo, templado, con pH neutro o ligeramente alcalino. Transmitida por las ratas y los ratones, la infección ocurre cuando las personas tienen contacto con superficies, suelo, agua o alimentos contaminados con la orina y otros corporales de ratones y ratas u otros animales infectados (Carneiro, 2004).

5.5. *Salmonella* spp

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Son bacterias Gram negativas no esporuladas, anaerobias facultativas, mesófilas con una temperatura óptima de crecimiento de 35 – 37 °C y un rango de 5 - 46 °C. Se localiza en el intestino humano y animal, siendo eliminado por las heces, se le ha relacionado con alimentos de origen animal (huevos, mayonesa, carnes, aves, leche, pescado), también en productos de pastelería y verduras. El género *Salmonella* es el agente causal de diferentes infecciones intestinales, conocidas como salmonelosis (Caffer, 2014).

La salmonelosis humana puede dividirse en dos síndromes, la fiebre entérica, que incluye la fiebre tifoidea causada por *S. typhimurium* y la fiebre paratifoidea que es patológica y

clínicamente similar a la tifoidea, pero con síntomas menos fuertes, causada por *S. paratyphi* A, B, o C. La fiebre entérica implica una infección sistémica, debido a la invasividad de la bactericida y la gastroenteritis o envenenamiento por alimentos, la cual es la más común de las infecciones, causada por muchos serotipos este tipo de infecciones no es acompañado de una infección sistémica, los serotipos más comunes en la salmonellosis no-tifoidéica son *S. typhimurium* y *S. enteritidis* (Calva, 2001).

5.5.1. *Salmonella typhimurium*

La *S. typhimurium* es una bacteria anaeróbica facultativa, del Filum Proteobacteria de la clase Gamma proteobacteria que puede en ocasiones sobrevivir en bajas condiciones de oxígeno. Pertenece al serotipo 9,12, en base a los epítopes de la tivelosa, la azúcar repetida en su antígeno O. El antígeno flagelar "d" es el más preponderante, aunque algunas cepas de Indonesia poseen otro antígeno denominado "z"; lo que significa que expresan un flagelo muy diferente en secuencia de aminoácidos al encontrado en las cepas de otras regiones del mundo. Además de los antígenos O y H, tiene en su exterior una cápsula de polisacáridos denominada Vi (por antígeno de "virulencia"). La *S. typhimurium* produce ácido a partir de glucosa, maltosa y sorbitol, sin la producción de gas; pero no fermenta la lactosa, sacarosa, la ramnosa y otros azúcares. Produce nitrito a partir de nitrato y también produce ácido sulfhídrico. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C (Calva, 2001).

5.5.1.1. Epidemiología

S. typhimurium causa la fiebre tifoidea en humanos, quienes son sus únicos hospedantes, esto abre importantes preguntas sobre qué genes determinan dicha especificidad, las cuales se podrán abordar en vista de los recientes proyectos de secuenciación del genoma de diferentes serotipos, incluyendo la *S. typhimurium* CT18 (con resistencia múltiple a antibióticos proveniente de Vietnam); la *S. typhimurium*, que se postula reproduce el mecanismo de la infección humana en el ratón; o la *S. gallinarum* que produce una fiebre entérica en las gallinas. La fiebre tifoidea prevalece principalmente en países en vías de desarrollo, donde normalmente significa un reto a las autoridades en salud pública. Existen aproximadamente 17 millones de casos anuales con casi 600,000 muertes, principalmente en Asia y África (Calva, 2001).

5.5.1.2. Casos de *Salmonella typhimurium*

En el periodo 2001-2002, en Estados Unidos se detectaron brotes de *Salmonella* spp. y dos personas murieron presuntamente por consumo de melones de México, según el reporte emitido, la contaminación ocurrió debido a condiciones laborales insalubres en las huertas de producción, lo que llevo a la suspensión parcial de las importaciones de melón mexicano (Castillo *et al.*, 2004).

Durante 2008 y 2009, en estados unidos se detectó la presencia de *Salmonella* spp. en tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mil), chile (*Capsicum annuum* L.), hierbas y cebollines (*Allium schoenoprasum*). El valor de las exportaciones de tomate fresco y refrigerado disminuyeron 40.7% lo que represento pérdidas millonarias (Mejía y López,

2008). De enero a agosto de 2011 se detectaron 106 casos de salmonelosis por el consumo de papaya de origen mexicano contaminada por *Salmonella agona* (FDA, 2012).

En 2018 Canadá informo sobre la detección de *S. typhimurium* a partir de la muestra de un paciente pediátrico, la cual contiene plásmidos conjugativos que portan genes de resistencia incluyendo a ampicilina, cefalosporinas de espectro extendido, fluoroquinolonas, cloranfenicol y trimetoprima-sulfametoxazol (OMS, 2018). En 2018 estados Unidos de América notifico dos casos, con resistencia extendida en viajeros preventivos de Pakistán donde actualmente se registra un brote de *S. typhimurium* H58, de acuerdo con los datos recolectados en 2016 por la Red Latinoamericana de Vigilancia de Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA) la circulación de *S. typhimurium* en Latinoamérica y Caribe, es limitada. En efecto, Argentina, Bolivia, Chile, Costa Rica, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, República Dominicana, Uruguay y Venezuela no reportaron aislamientos de *S. typhimurium* Brasil, Cuba y Perú reportaron menos de diez aislamientos por país, todos ellos sensibles a fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación. Ecuador reportó 8 aislamientos, 4 de los cuales fueron resistentes a ciprofloxacina y uno a cefalosporinas de tercera generación. Guatemala reportó 13 aislamientos, 2 de los cuales presentaron resistencia a fluoroquinolonas y ninguno a cefalosporinas de tercera generación. Colombia reportó 204 aislamientos y El Salvador 298 aislamientos de *S. typhimurium* con porcentajes altos de resistencia a fluoroquinolonas (12,7 y 40% respectivamente) pero sin resistencia a cefalosporinas de tercera generación (OMS, 2018).

En resumen, hasta el momento no se ha notificado circulación en Latinoamérica y el Caribe de *S. typhimurium* con resistencia a fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera

generación. Debido a que la *S. typhimurium* puede transmitirse por la ingestión de alimentos y de agua contaminada con heces u orina de enfermos y portadores, la colaboración entre distintos sectores, incluidos agua y saneamiento, así como autoridades en inocuidad de alimentos, es indispensable para abordar con eficacia la prevención. La fiebre tifoidea es común en lugares con poca higiene y falta de agua potable, por lo que el acceso a agua potable y saneamiento adecuado, y una buena higiene entre los manipuladores de alimentos (OMS, 2018).

5.6. Influencia de los Factores Ambientales Sobre el Crecimiento Bacteriano

El crecimiento de los microorganismos está influenciado por los factores ambientales, dichos factores determinan la distribución de los microorganismos en la naturaleza, nos permiten controlar sus actividades los principales factores que afectan el crecimiento son: temperatura, pH, disponibilidad de agua (presión osmótica) y oxígeno; otros factores pueden ser presión hidrostática y radiaciones (Gómez, 2009).

5.6.1. Temperatura

Es uno de los principales factores que afectan el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos, cada microorganismo tiene sus temperaturas cardinales **Fig. 2** que son:

-Temperatura mínima: por debajo de la cual no hay crecimiento (por gelificación de la membrana y por detenerse prácticamente el transporte de los nutrientes/gradiente de protones).

-Temperatura Máxima: por encima de la cual no existe crecimiento (por desnaturalización proteica, y por colapso y rotura de la membrana).

-Temperatura Óptima: A la que se le da el crecimiento óptimo (porque las reacciones enzimáticas alcanzan su máxima velocidad (Martín, 2016).

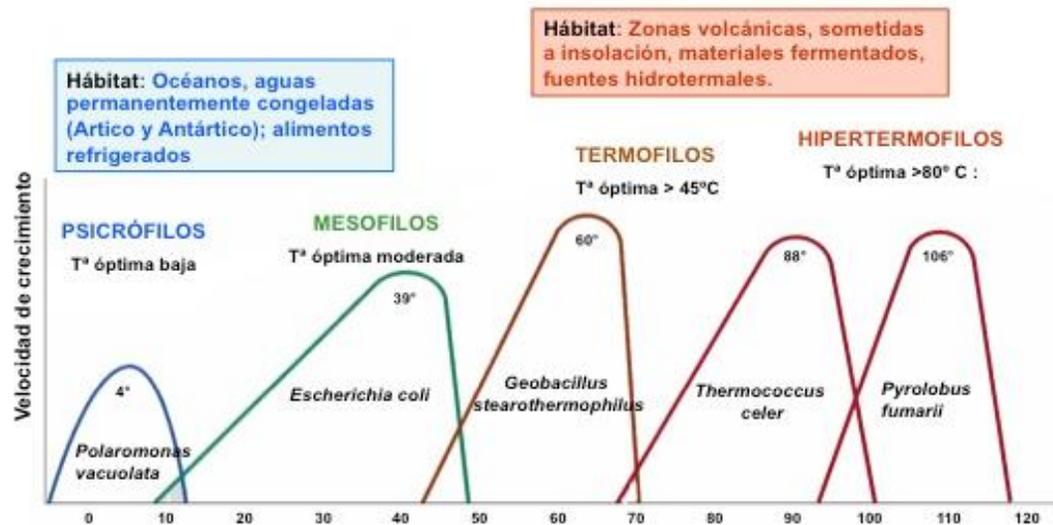


Figura 2. Clases de Microorganismos con Relación a la Temperatura (Martín, 2016)

5.6.1.1. Efectos del pH

El pH es otro de los factores determinantes para el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos, la tolerancia de las bacterias a los cambios de pH es limitada, cambios bruscos producen la muerte. Las variaciones del pH del medio causan alteraciones como en la estabilidad de la membrana plasmática y otras envueltas, en el intercambio de hidrogenesis, también en la concentración interna de los mismos (las bacterias mueren si su pH es < 5.5) (Ortiz, 2003).

5.6.1.2. Clases de Microorganismos con Relación al pH

Cada especie crece en un rango determinado de pH y tiene un pH óptimo de crecimiento, en los microorganismos los acidófilos con un rango de 0-5,5 (*Thiocacillus ferrooxidans*),

para los neutrófilos su rango aproximado es de 5-5.8 que es para la mayoría de las bacterias y los alcalofilos un aproximado de 8.5-11.5 (*Bacillus alcalophilus* de 10-6) (Martin, 2016).

5.6.1.3. Factores de Resistencia de los Microorganismos a los Desinfectantes

El factor de mayor incidencia en la resistencia de los microorganismos a las materias activas biocidas es la composición de la pared celular. Esta resistencia tiene un carácter innato y determina el espectro de actividad de los desinfectantes. En función de las características morfológicas de los microorganismos, descritas en el punto anterior, cada grupo microbiano reacciona de distinto modo a los desinfectantes (Stanga, 2010).

Russel (1997) estudia esta diferencia entre diferentes microorganismos, observando que los virus encapsulados son muy sensibles a los desinfectantes, en tanto que las esporas son extremadamente resistentes. Después de los virus encapsulados, la mayor sensibilidad es, por este orden, para las bacterias Gram positivas, mohos, bacterias Gram negativas, virus no encapsulados, y micobacterias. Además de la resistencia innata en función de los factores morfológicos, los microorganismos pueden desarrollar resistencia a los productos biocidas, denominada resistencia adquirida. La incidencia de este tipo de resistencia a los desinfectantes es muy inferior a la que se presenta frente a los antibióticos, debido a que la actividad antimicrobiana que realizan estos últimos se ejerce sobre una zona objetivo de la célula, en tanto que la acción biocida de los desinfectantes es más difusa y no puede señalarse un único punto de actuación, lo que minimiza en cierto modo la presencia de microorganismos resistentes a los principios activos desinfectantes (Wiley, 2010). La resistencia adquirida es el resultado de un cambio a nivel del genoma, que provoca una

mutación y posterior selección de los microorganismos por el desinfectante, es decir, se produce una selección natural de los microorganismos que han adquirido el nuevo carácter genético. Una mutación espontánea a nivel de un cromosoma puede otorgar a un organismo un carácter que le proporcione resistencia a una materia activa biocida, posteriormente, al multiplicarse transmite el gen de la resistencia, este carácter será cada vez más dominante en la población presente en la industria, siempre que se efectúe la desinfección de sus instalaciones con el mismo principio activo, y se vayan eliminando los microorganismos que no posean la mutación. Las modificaciones en el material genético que permiten a los microorganismos adaptarse, actúan a distintos niveles: producción de nuevos enzimas resistentes, cambios en la estructura interna de la célula, modificación de la permeabilidad de la membrana citoplasmática y modificación de la estructura de la pared celular. Estos cambios producen un incremento de la resistencia de los microorganismos, a las concentraciones usuales de empleo de los desinfectantes. En ocasiones, además, una disminución de las dosis utilizadas del producto desinfectante puede comportar una mayor supervivencia de las bacterias. En este sentido, se ha demostrado que la utilización sistemática de concentraciones subletales de desinfectantes puede potenciar este problema (Underwood *et al.*, 2007), facilitando en ciertos casos la formación de esporas. Con el objetivo de mantener una concentración efectiva del desinfectante, es importante corregir las causas que pueden disminuir su eficacia: presencia de materia orgánica y suciedad sobre las superficies a tratar, la caducidad del producto (ej. Clorados) con la consiguiente pérdida de concentración y eficacia, reducido tiempo de actuación antes del enjuague final, utilizar las dosis recomendadas por el fabricante, monitorizar periódicamente las dosis reales aplicadas, etc. Todo ello justifica,

en ocasiones, la necesidad de efectuar rotaciones entre las desinfectantes con distintas materias activas

5.7. Métodos Utilizados Para el Análisis Microbiológico de los Alimentos

El número de organismos se establece mediante la cuenta de unidades formadoras de colonias, existen diversos métodos para cuantificar el número de microorganismos presentes en medios de cultivos sintético-sólidos o líquidos (Ortiz, 2003). Los principales métodos utilizados para identificación y cuantificar la presencia de microorganismos son:

5.7.1 Recuento en Placa

Es el método más utilizado para la determinación del número de células viables o unidades formadoras de colonias en un alimento, una ventaja importante de esta técnica es que mide el número de células viables y requiere por lo general 24 horas para que se formen colonias visibles (Camacho *et al.*, 2009). Esta técnica no detecta a todos los microorganismos presentes, pero si las más significativas para la calidad de los alimentos, por ejemplo, a los mesófilos que son un indicador general de la población que puede estar presente en una determinada muestra (Adams *et al.*, 2006).

Se basa en contar las Unidades Formadas en Colonias (UFC) presentes en un gramo o cultivo de elección después de un cierto tiempo de incubación a la temperatura adecuada proviene de un microorganismo o de un agregado de ellos de la muestra bajo estudio (Camacho *et al.*, 2009).

5.7.1.1. Recuento Microscópico Directo

Se utiliza tanto para células viables como para las no viables y se prepara en porta objetos, se tiñen con un colorante adecuado y se procede a contar las células (Castillo, 2004).

5.7.1.2. Método de Identificación de Enteropatógenos

La importancia de separar las cepas patógenas de las no patógenas, al igual que la diferencia entre grupos de especies ha hecho que se desarrollen sistemas de clasificación intraespecíficos. En cambio, no hay un método ideal ya que generalmente se deberá disponer de recursos necesarios para aplicar varios métodos y así poder identificar una cepa en el enterogrupo que le corresponda (García, 2014).

5.7.1.3. Métodos Basados en Pruebas Bioquímicas

Las pruebas bioquímicas han sido ampliamente utilizadas para diferenciar bacterias, estas pruebas se fundamentan en demostrar si el microorganismo es capaz de fomentar azúcares, la presencia de enzimas, la degradación de estos y la producción de compuestos coloreados, entre otros. Aún bacterias fuertemente relacionadas pueden separarse en dos especies diferentes en base a pruebas bioquímicas. Por ejemplo, las bacterias entéricas Gram negativas forman un grupo muy grande y heterogéneo cuyo hábitat natural es el tracto gastrointestinal de humanos y otros animales. Esta familia, Enterobacteriácea, incluye a varios patógenos que causan síndromes diarreicos, un gran número de ensayos ha sido desarrollados con el objeto de identificar rápidamente al patógeno, para que posteriormente el profesional médico, con base en el informe, indique el tratamiento

adecuado o para que los epidemiólogos puedan localizar la fuente de la infección (García, 2014; Rapley, 2000).

5.7.1.4. Métodos Basados en Tinción Diferencial

Es posible sacar conclusiones con la morfología de una bacteria, examinando una lámina que fue sometida a un proceso de tinción diferencial, estos criterios morfológicos encabezan las primeras etapas del proceso de identificación bacteriana. La mayor parte de las bacterias teñida con Gram, la podemos clasificar como Gram positivas y Gram negativas, un examen microscópico del portaobjeto teñido por medio de la coloración de Gram o de una tinción diferencial es útil para obtener una información rápida sobre la calidad de una determinada muestra (Giese, 2001).

5.7.1.5. Métodos Basados en Pruebas Moleculares

Los métodos más utilizados para la identificación microbiana, los podemos clasificar en base a si tienen en cuenta características fenotípicas o aquellos basados en características genotípicas. En la mayoría de los casos la identificación a un solo método, si no a la combinación de más de uno como la identificación de bacterias en base a criterios morfológicos, tinción diferencial, pruebas bioquímicas y serológicas (Espinosa *et al.*, 2004).

5.7.1.6. Sondas de Ácido Nucleicos

Se fundamenta en complementariedad de bases de ácidos nucleicos. Se definen como secuencias de oligonucleótidos de Ácido Desoxirribonucleico (ADN) marcados, con un

elemento radioactivo (^{32}P , ^{125}I , ^{35}S , ^3H , ^{14}C) o con una proteína unida a una enzima como la fosfatasa alcalina. Estas sondas se utilizan para la detección de una secuencia complementaria de Ácido Desoxirribonucleico (ADN) o Ácido Ribonucleico (ARN), presente en el agente que se desea identificar (Louie *et al.*, 2000).

5.7.1.7. Marcadores Basados en la Técnica de PCR

La reacción en cadena de la polimerasa PCR (Polymerase Chain Reaction), es un método con amplias aplicaciones en la Biología molecular. Desde su desarrollo en 1985, la especificidad, sensibilidad y velocidad de esta técnica ha permitido desarrollar muchos métodos para un amplio rango de áreas de investigación biológica y para toda clase de microorganismos. Dicha técnica tiene varias aplicaciones en Microbiología, incluyendo Genética, Sistemática, Ecología Microbiología de suelo, Patología vegetal, Microbiología médica, Biotecnología y muchas otras (Louie *et al.*, 2000).

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

La fase experimental fue desarrollada en el Laboratorio de Calidad de los Productos Agropecuarios de la Facultad de Ciencias Agrícolas perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de México.

Se realizaron ensayos *in vitro* para evaluar tres diferentes métodos de desinfección: hipoclorito de sodio a la concentración sugerida comercialmente, nitrato de plata solución comercial (4 gotas) y ácido láctico a 1.5 mL

6.1. Cepa Bacteriana

Se emplearon cepas de *Salmonella typhimurium*, donada por el Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana del Hospital Infantil de México "Federico Gómez". La cepa se reactivó a partir de una solución agua-glicerol (50:50) que se encontraba en ultracongelación a una temperatura de -20 °C. Se reactivaron mediante un preenriquecimiento en Agua Peptonada Amortiguada (APA) 0.1% para restaurar las células de *Salmonella* a una condición fisiológica estable; enriquecimiento en Caldo Soya Trypticaseína (CST) con el propósito de incrementar las poblaciones de *Salmonella* e inhibir otros organismos presentes en la muestra; selección en medios sólidos-selectivos agar Salmonella Shigella (BD BIOXON) y agar Xilosa Lisina Desoxicolato (DIBICO) que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a *Salmonella* y permite el reconocimiento visual de colonias (NOM-114-SSA1-1994).

Se tomó como referencia el crecimiento característico para cada medio selectivo y diferencial se realizó una tinción de Gram, así como los resultados de las pruebas IMViC (producción de indol, movilidad, prueba de rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato de Simmons), complementadas con producción de ureasa, ácido sulfhídrico y con descarboxilación de ornitina (Wirtanen y Salo, 2003).

6.1.1.1. Preparación del Inóculo

A partir de cajas Petri con crecimiento bacteriano (Figura 3) se transfirió una asada a tubos de ensaye con 9 mL de CST y se incubó a una temperatura de 35° C por 24 h.



Figura 3. Crecimiento Bacteriano de *Salmonella typhimurium* en agar de Salmonella-Shigella

Fotos: Sánchez Godínez, 2018.

6.1.1.2. Preparación de Soluciones Desinfectantes

La preparación de los desinfectantes se realizó en 500 mL de agua destilada, para el Hipoclorito de Sodio (Cloralex) se agregaron 5 gotas con ayuda de una pipeta Pasteur. La Plata Coloidal (Microdyn) se preparó con 4 gotas (concentración sugerida por el fabricante). Para la solución del ácido láctica se agregó al agua 1.5 mL de éste, las tres soluciones preparadas se taparon y agitaron en una placa con agitación, durante un periodo de 10 minutos.

A continuación, se realizaron las diluciones seriadas como se indica en la Figura 4.

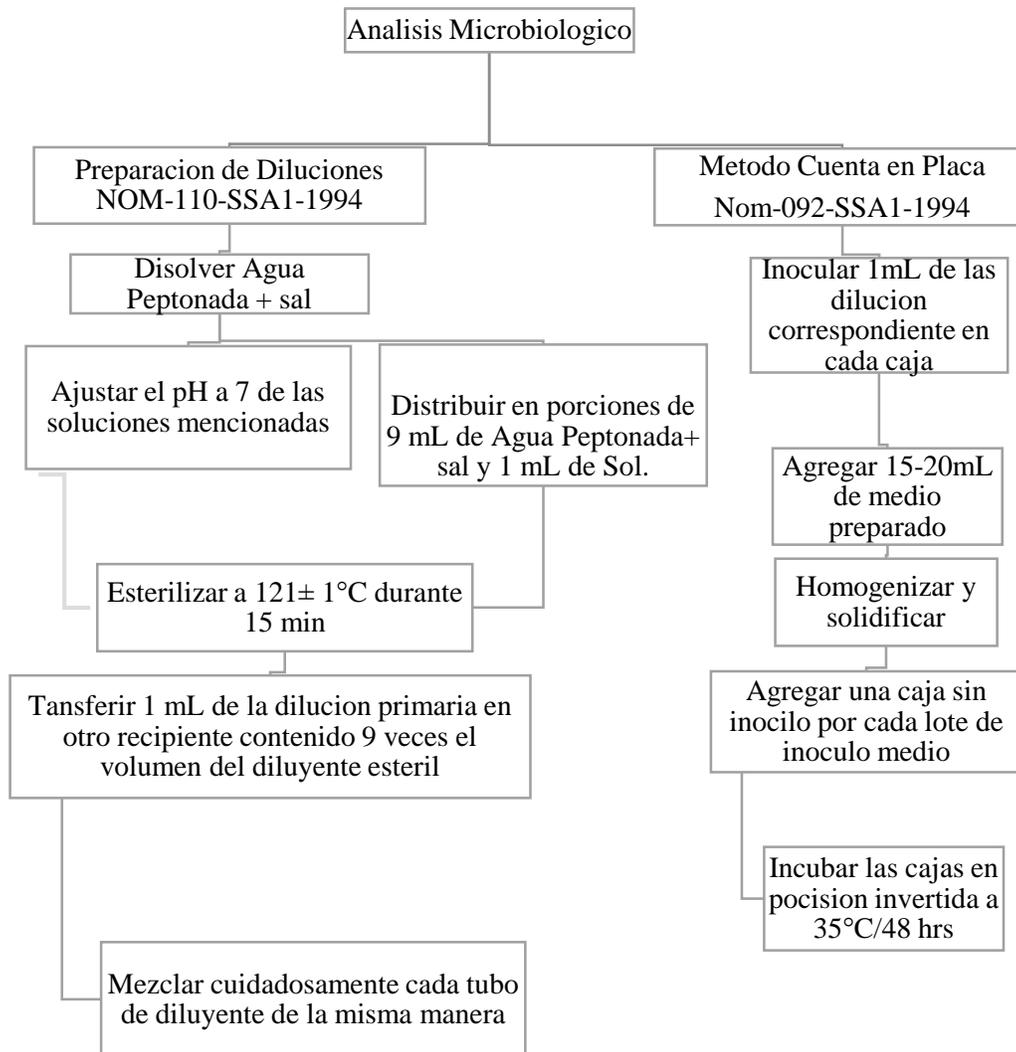


Figura 4. Desarrollo de Análisis Microbiológico

6.1.1.3. Desarrollo de la Prueba

Los tres tratamientos se analizaron por triplicado y consistieron en inocular *Salmonella typhimurium* en Caldo Soya Trypticaseína (CST) a una concentración 2.6×10^3 UFC/ mL, esta solución se puso en contacto con los diferentes desinfectantes a los 2, 5 y 8 minutos

contando con un grupo testigo, al cual no se realizó ningún proceso. Posteriormente de los tratamientos a los diferentes tiempos de contacto se realizaron diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} . A partir de las diluciones se tomó 1 mL y se transfirió por triplicado a cajas con Agar Bilis Rojo Violeta (ABRV), éstas fueron incubadas a 35°C durante 48h, agregando 1 cajas sin inóculo (blanco), para corroborar que no existiera contaminación.

Transcurrido el tiempo de incubación se realizó el conteo de las UFC/mL y se calcularon los porcentajes de reducción bacteriana de acuerdo con la NOM-181.SSA1-1998.

6.1.1.4. Cálculo Para la Reducción Bacteriana.

La reducción bacteriana se calculó a partir de la recuperación de células después de los tratamientos. Aplicando la siguiente fórmula:

Reducción = diferencia antes del tratamiento y después del tratamiento

$$\text{Reducción} = (\log_{10} \text{ UFC/mL antes de tratamiento} \\ - \log_{10} \text{ UFC/mL después tratamiento})$$

6.1.1.5. Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los datos se evaluó, aplicando un Análisis de Varianza (ANDEVA) para tiempo de contacto y tratamiento mediante el programa Stat Graphics Centurión XVI. Al existir diferencias significativas se aplicó la prueba de comparación múltiple de medias, de acuerdo con el criterio de Tukey.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De manera general los resultados mostraron diferencia significativa entre los tratamientos empleados, obteniendo mejores resultados con plata coloidal *Microdyn* (Cuadro 1 y Figura 7). Resultados que resaltan la importancia de otros estudios que se han llevado a cabo con plata para ser utilizado como agente microbicida de amplio espectro, lo sitúan como uno de los candidatos a ser el arma fundamental en la lucha contra cepas resistentes a los antibióticos de uso común (Ramírez, 2009). La eliminación parcial como se muestra en este trabajo hace énfasis en que la concentración de los sanitizantes, el tiempo de contacto, la cantidad de materia orgánica y el pH, son importantes para inhibir la presencia de microorganismos (González y Rojas, 2005).

Cuadro. 1.Efecto del ácido láctico, cloro y plata coloidal sobre la inactivación de *Salmonella typhimurium*.

DESINFECTANTE	($\bar{x} \pm DS$)
Ácido láctico	70.8±26.4ab
Plata coloidal	54.8±28.17a
Cloro	78.1±34.4b
$P \leq 0,05$	0.0677

Renglones con diferente letra indica diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

Como ya se mencionó anteriormente el tiempo de contacto es un factor muy importante, en este caso el tiempo evaluado fue a 2, 5 y 8 minutos, con diferencia significativa para todos los casos (Cuadro 2) con presencia aun a los 8 minutos, esto resalta lo encontrado

por Ramírez (2009) quien menciona los microorganismos pueden desarrollar resistencia a algún agente, ya sea físico o químico, temporal o permanente, es un mecanismo evolutivo de adaptación que pretende asegurar la supervivencia del organismo. La resistencia en particular a un agente químico nocivo se genera mediante uno o una combinación de los siguientes mecanismos: inactivación, modificación del lugar del blanco de acción, modificación de la permeabilidad de la membrana celular, o la sobreproducción del blanco de acción hasta sobrepasar la acción nociva de éste.

Cuadro. 2. Análisis de Varianza (ANDEVA) de los recuentos obtenidos de *Salmonella typhimurium* sometida a tres métodos de inactivación y tres tiempos de contacto

Tratamiento	Tiempo de contacto en minutos			$p \leq 0,05$.
	2 ($\bar{x} \pm DS$)	5 ($\bar{x} \pm DS$)	8 ($\bar{x} \pm DS$)	
Ác. Láctico	95.1 \pm 3. 2a	82.0 \pm 2.8b	35.5 \pm 3.0c	0.0000
Plata coloidal	85.6 \pm 3. 7a	6.0 \pm 10.2b	20.0 \pm 5.6c	0.0000
Cloro	118.1 \pm 5.4a	79.1 \pm 6.8b	37 \pm 3.7c	0.0000

Medias seguidas de las mismas letras señalan ausencia de diferencias significativas por test de Tukey ($p \leq 0,05$).

- ✚ \bar{x} : Media Aritmética
- ✚ DS: Desviación Estándar
- ✚ $p \leq 0,05$: Diferencia Estadística

Aunado a esto es importante conocer el porcentaje de eficiencia para la aplicación de un producto, ya que este resaltaré la eficiencia de un producto aplicado como desinfectante los cuales serán utilizados a lo largo de la cadena productiva y en la transformación

alimenticia permitiendo reducir el contenido microbiano en los productos comestibles, controlar el deterioro de los alimentos, así como, reducir la posibilidad de transmisión de agentes patógenos (Izumi, 1999).

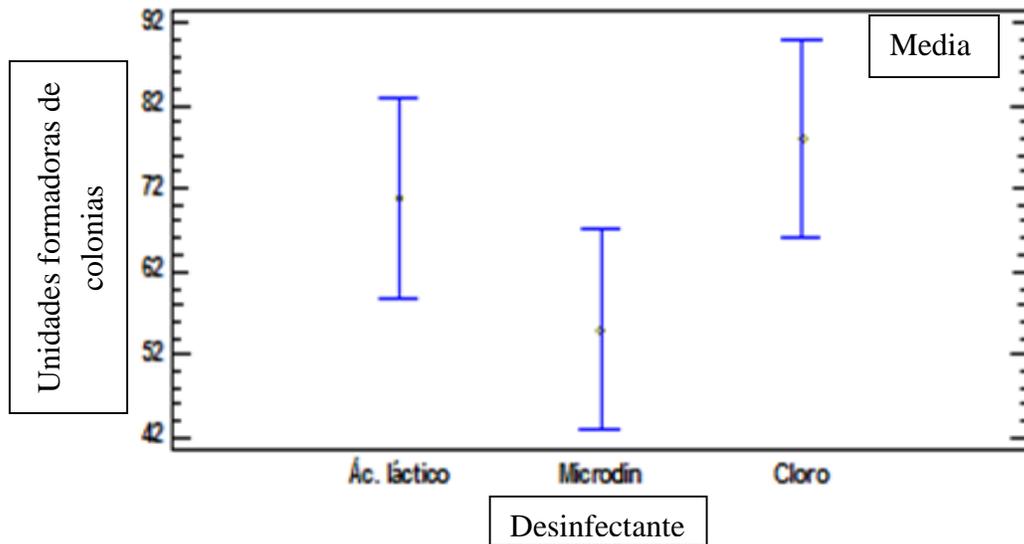


Figura 5. Comparación de Medias de Tres Métodos de Inactivación de *Salmonella typhimurium* a 2,5 y 8 tiempos de Contacto.

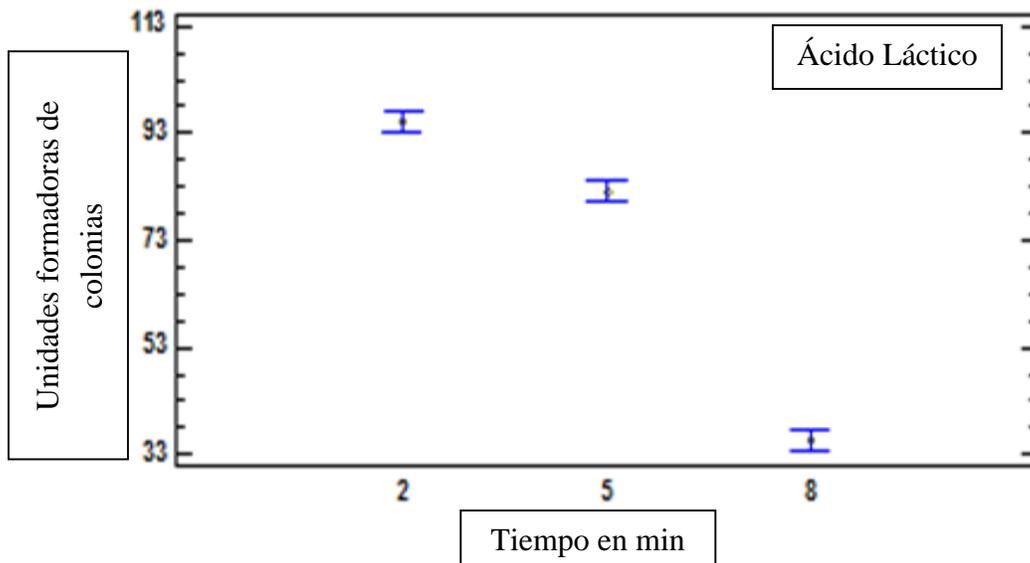


Figura 6. Efecto del Ácido Láctico sobre *Salmonella typhimurium* a tres tiempos de contacto.

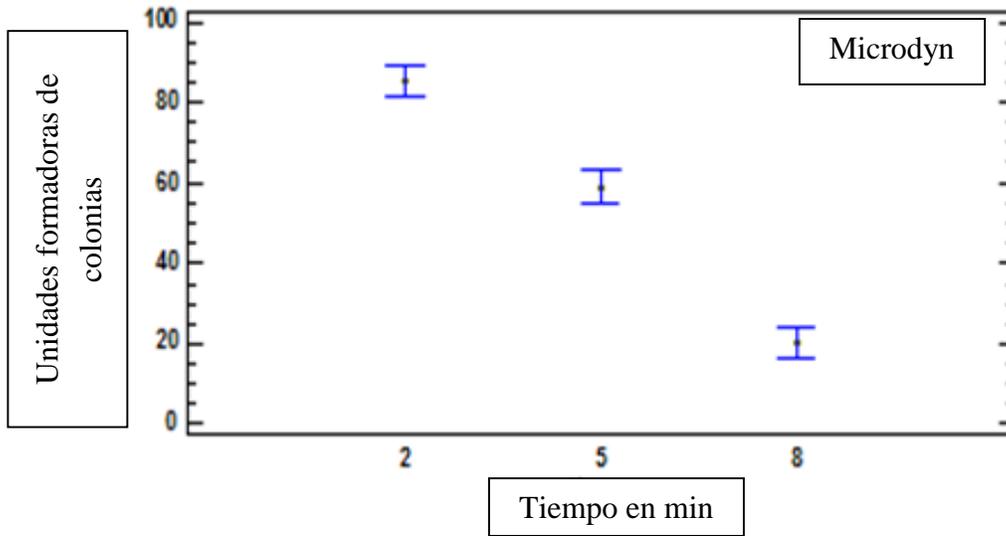


Figura 7.Efecto de la plata coloidal (Microdyn) sobre *Salmonella typhimurium* a 2, 5 y 8 minutos de contacto.

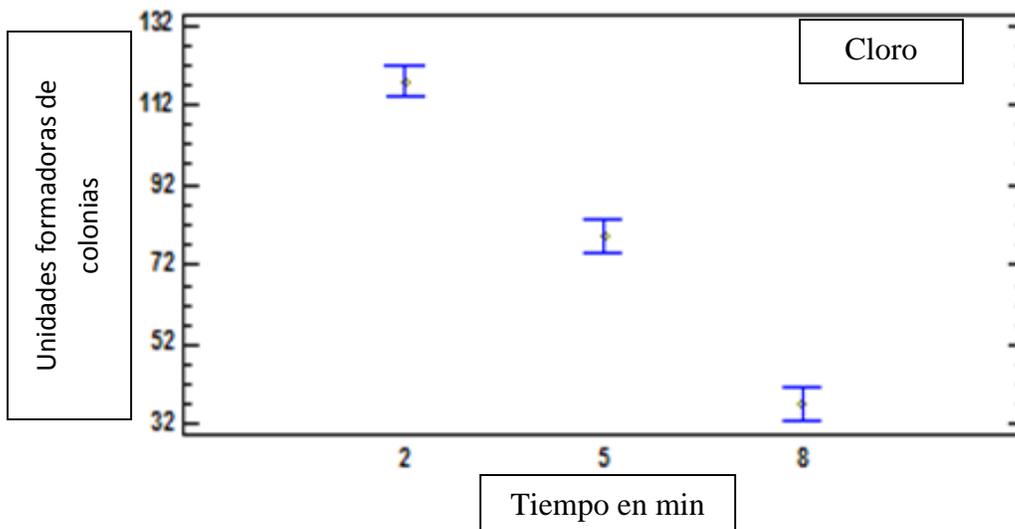


Figura 8.Efecto del Cloro sobre *Salmonella typhimurium* a tres tiempos de contacto.

En la **figura 5** se muestra el efecto de reducción bacteria en cada uno de los desinfectantes en los diferentes tiempos de exposición. El hipoclorito de sodio (Cloralex) en los tiempos de exposición obtuvo una eficiencia del 83% a los 8 minutos sobre la bacteria de

Salmonella. Barak *et al.* (2003) evaluó la inmersión en una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio redujo el 90% de la carga inicial de las bacterias en la superficie de melón. Por otro lado, Parnell *et al.* (2005) lograron reducciones de 1.8 ciclos log, después de la inmersión de melón durante 60 s en una solución de 200 ppm de cloro, para evaluar lo anterior se considera un buen desinfectante, pero reconoce que cada tipo de fruta y hortaliza tiene una composición y características físicas y únicas y está expuesta a diferentes condiciones. El cloro es el desinfectante más utilizado en la industria alimentaria por su bajo costo, pero en algunos trabajos se ha resaltado la baja o nula efectividad de enteropatógenos como *Salmonella*, además de ser peligroso para operarios y altamente contaminante (García y Robles, 2017).

En el caso del ácido láctico se obtuvo una eficiencia del 88% aplicado en el minuto 8. Sin embargo, los resultados contrastan con los obtenidos por Rupasinghe *et al.* (2006) quienes reportaron una disminución de 4 log, cuando evaluaron la eficiencia del ácido láctico (1.5) combinado con el ácido peracético (800) ppm en manzanas inoculadas con *Salmonella*. Se ha reportado que el ácido láctico puede tener dos mecanismos posibles de acción antimicrobiana: es una habilidad para atravesar la membrana celular, en esta disociación del ácido en la célula, acidifica el interior de esta y la otra, en su viabilidad específica para reducir la actividad acuosa (Rupasinghe *et al.*, 2006).

En donde obtuvo un porcentaje de reducción bacteriana con mayor eficiencia fue con la plata coloidal (Microdyn) ya que en el minuto 8 se obtuvo una eliminación del 91%. Estos resultados coinciden con (Haytham *et al.*, 2015) quien empleo nitrato de plata para inhibir el mismo microorganismo. En otros estudios las frutas (tomate de árbol) fueron analizadas microbiológicamente y los resultados de los recuentos coinciden con las poblaciones

microbianas en frutas y verduras frescas reportadas en la literatura que oscilan entre 10^2 y 10^9 UFC/g (Roever 1998). Sin embargo, ni en las concentraciones evaluadas y en ninguno de los tiempos de exposición obtuvo un porcentaje de reducción bacteriana satisfactoria, se tendrá que utilizar un mayor tiempo de exposición con dosis más altas o igual para obtener los resultados deseados, Por lo anterior y según la NOM -181-SSA1-1998, que establece que el porcentaje de reducción bacteriana debe ser igual o mayor al 99.9% para considerarse un desinfectante viable para ser utilizado.

El mostrar la falta de efectividad de manera *in vitro* permite formar un panorama de que pasaría al hacerse presente en frutas y hortalizas ya que en muchas ocasiones por la naturaleza del producto es poco accesible al sitio donde se encuentran los microorganismos, ya que éstos pueden estar en la superficie o alojarse en heridas o aberturas naturales de difícil acceso e incluso transportarse por medio de la raíz hasta el fruto (Ocaña *et al.*, 2015)

La importancia que tiene la producción de un alimento inocuo radica en crear confianza al consumidor y a la posibilidad de acceder a mercados extranjeros. La presencia de microorganismos patógenos de *Salmonella* en alimentos es de los principales intereses de salud pública, debido a su incremento en frecuencia impactando a la población.

Cuadro. 3. Porcentaje de reducción bacteriana de *Salmonella typhimurium*

% de Eficiencia	Hipoclorito de Sodio (Clorox)	Plata coloidal (Microdyn)	Ac. Lac.
2 minutos	52%	66%	63%
5 minutos	67%	78%	67%

8 minutos	83%	91%	88%
-----------	-----	-----	-----

La plata coloidal presenta mayor eficiencia (Cuadro 3), sin embargo, su uso no es tan recomendado por los daños a la salud que genera debido a que en muchas ocasiones esta plata es sustituida por plata proteica, la cual causa Argiria una enfermedad causada por la ingestión de la plata elemental, del polvo de plata o de los compuestos de la plata. El efecto más dramático de la Argiria es que la piel esta coloreada azul o gris azulada. La Argiria generalizada o Argiria local. Argirosis es la condición correspondiente relacionada con el ojo. Se cree que esta condición es permanente, además se propicia el crecimiento de bacterias. Esto pasa cuando la proteína (gelatina) encapsula a la partícula de plata, evitando que la plata mate a la bacteria (Secretaria de Salud, 2015).

Por otro lado, el ácido láctico tuvo mayor eficiencia a comparación que el cloro el cual es mayormente usado en la industria alimentaria, es importante resaltar el daño al ambiente y al ser humano que su uso presenta (Secretaria de Salud, 2015), mientras que el ácido láctico han sido descritos como fuertes agentes antimicrobianos debido a la reducción del pH, la permeabilidad de la membrana y la acumulación de aniones (Parish *et al.*, 2003, Ramos *et al.*, 2013) y mayor efectividad en microorganismos Gram negativos como es el caso de *Salmonella typhimurium*.

VIII. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del experimento y de muestreo utilizadas en este trabajo, los resultados muestran un efecto de reducción bacteriana sobre *Salmonella typhimurium*, sin embargo, no cumplen con la eficiencia de eliminación esperada del 99.9%.

Los mejores resultados se obtuvieron con la plata coloidal y el ácido láctico, el segundo con gran potencial por su naturaleza orgánica. Es importante el tiempo de contacto, la concentración y las condiciones de aplicación para la efectividad de un desinfectante sobre microorganismos enteropatógenos como *Salmonella typhimurium*.

IX. SUGERENCIAS

Para lograr la efectividad esperada se sugiere en trabajos posteriores probar con un mayor tiempo de contacto en los desinfectantes así mismo probar una mezcla de plata coloidal con ácido láctico.

Realizar análisis de desinfección en frutas y hortalizas para comparar la eficiencia de los desinfectantes evaluados de manera *in vitro* contra microorganismos indicadores en alimentos.

Cuando se recomiende algún sistema de desinfección en productos horto- frutícolas se debe tomar en cuenta el efecto sobre las características organolépticas.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Adams.P, S., Renner, S., Shashidhara, L.S. 2006. Recuento en Placa/Métodos para el análisis Microbiológico Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos. Disponible en: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/notices/alert/xdr-typhoid-fever-pakistan>.
- Babalola, O.O. 2003. Molecular Techniques: An overview of Methods for the detection of bacteria. African J. of Biotechnology Chan, O.Ch., Wolf, M., Hepperle, D. and Casper. Methanogenic archaeal community in the sediment of an artificial partitioned acidic bog lake. FEMS Microbiology Ecology.
- Barak J.E., Forester H., Sommer. F. 2003. Principles of Postharvest pathology and managment of decays of edible horticultural crops ,3311. University of California, ANR pub., pp. 163-195.
- Benarde, M.A., Snow, W.B., Olivieri, P. and Davidson, B. 1967. Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide. Appl. Microbiol.
- Berger, C., Kannan, R., Myneni, S., Renner, S., Shashidhara, L.S., Technau, G.M. 2010. Cell cycle independent role of Cyclin E during neural cell fate specification in Drosophila is mediated by its regulation of Prospero function.
- Beuchat, L.R. 1998. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: A review. World Health Organization.
- Borek, A.L.2012."Detection of Streptococcus pyogenes virulence factors by multiplex. Brote de fiebre tifoidea extensivamente resistente en Pakistán. Salud del viajero. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos. Disponible en: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/notices/alert/xdr-typhoid-fever-pakistan>.

- Calvo P, Watts DB, Ames RN, Kloepper JW, Torbert HA 2015. Microbial based inoculants impact nitrous oxide emissions from an incubated soil medium containing urea fertilizers. J Environ Qual.
- Calva. E. 2001. *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. UNAM: Instituto de Biotecnología.
- Castillo A., I. Mercado, M. Lucia, R. Y. Martínez, P. J. De León, A. E. Murano, & R.G. Acuff. 2004. Salmonella contaminación during Production of cantaloupe: a bionational study. J. Food Prot.
- Castillo, A. and Escartin, E.F. 1994. Survival of Campylobacter jejuni on sliced watermelon and papaya. J. Food Prot. Disponible en [www. Campylobacter jejuni on sliced watermelon and papaya/mx](http://www.campylobacterjejuni.org). Consultado en 20 de Noviembre de 2018.
- Camacho, M Giles. Ortegón A. 2009. Técnicas para el análisis Microbiológico de Alimentos. Obtenido de [http://depa.fquim.unam.mx/a_archivero/tecnic-Basicas-Coliformes-en-placa Pdf](http://depa.fquim.unam.mx/a_archivero/tecnic-Basicas-Coliformes-en-placa-Pdf) .Consultado el 15 de octubre de 2018.
- Carpio A, Fleury A, Romo PharmD ML, Abraham R, Fandiño J, Durán JC, Cárdenas G, Moncayo J, Rodríguez CL, San-Juan D, Serrano-Dueñas M, Takayanagui O, Sander JW. 2016. [New diagnostic criteria for neurocysticercosis: Reliability and validity](#). Disponible en [www.validity](http://www.validity.org). Consultado el 28 de Septiembre.
- Carneiro M. García L, Rodríguez C. 2004 Leptospirosis asociada a la exposición ocupacional. Estudio Clínico y Epidemiológico. Revista Chilena de Epidemiología.p.35.

- Caffer M.I.2014. Manual de Procedimientos para la Caracterización de Salmonella. Ministerio de Salud de Argentina, Subsecretaría de Investigación. Disponible en: www.cdc.gov/ncidod/dbmd/gss/publications/documents/Argentina//Manual_procedimientos_Salmonella.pdf(Consultado 16 de octubre de 2018).
- Corbo M.R., Del Nobile.A. Sinigaglia M. 2006. Anovelapproach for calculating shelf lif of minimally processed vegetables. International Journal of Food Microbiology.
- COFEPRIS. Comisiones Estatales para la Protección contra Riesgos Sanitarios. 2015. Sistema de Transferencia Electrónica de Avance de Proyectos (STEAP). Buenas Prácticas para la Preparación de Alimentos. Disponible en: <http://revistacofepris.salud.gob.mx/n/no2/queatinotepase.html>
- Cutter, C. N.; Siragusa, G. R. (1994). Efficacy of Organic acids against Escherichia coli O157:H7 attached to beef carcass tissue using a pilot scale model carcass washer. J. Food Prot., 57: 97-103 p.
- CVA (Centro de Valor Agregado). 2015. La diferencia entre sanitizar y desinfectar. Asesoría e Incubación de productos Agroalimenticios. Gobierno del Estado de Jalisco. Disponible en: <https://cva.jalisco.gob.mx/prensa/noticia/497>
- Cleantool. 2001. Evaluación y diseño innovador de procesos de limpieza de superficies metálicas. Disponible en: <http://www.cleantool.org/?lang=es> Consultado enero 2019.

- Dickson, J. S.1991. Control of Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes and Escherichia coli 0157:H7 on beef in a model espray chilling system. J. Food Sci., 56: 191-193 p.
- Doors, S.1983. Organic acids. (I A.L. Branen and P.M. Davidson, Antimicrobials in foods. Marcel Dekker Inc. New York), 75-108 p
- Dorsa, W. 1997. New and established carcass decontamination procedures commonly used in the beef processing industry. Journal of Food protection, 60 (9): 1146-1151 p.
- Dunn, J. 1996. Pulsed light and Pulsed electric field for foods and eggs. Poultry Sci. Microbiología de los Alimentos. Pruebas bioquímicas tradicionales de alta resolución para identificación manual de enterobacterias.p.24.
- Edwards, J. R.; Fung, D. 2006. Prevention and decontamination of Escherichia coli o157:h7 on raw beef carcasses in commercial beef abattoirs. Journal of rapid methods and automation in microbiology., 14 (1): 1-95 p.
- Espinosa H., T. C. 2004. Caracterización morfológica, fisiológica y molecular de tres cepas fúngicas productoras de pigmentos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo Coahuila, México. 85p.
- Farkas, J., Saray, T., Mohacsi-Farkas, C., Horti, K. and Andrassy, E. 1997. Effects of low-dose gamma radiation on shelf-life and microbiological safety of pre-cut/prepared vegetables. Adv. Food Sci. Disponible en: [http:// www.Effects of low-dose gamma radiation on shelf-life and microbiological safety of pre-cut/prepared vegetables.pdf](http://www.Effects of low-dose gamma radiation on shelf-life and microbiological safety of pre-cut/prepared vegetables.pdf). Consultado el 28 de Diciembre de 2018.

- Farkas, J. 1998. Irradiation as a method for decontaminating food: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 44 (3): 189–204 p.
- FAO. 2016. Unidad de Inocuidad y Calidad de los Alimentos Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Centro de enlace de la Infosan en la FAO.
- FAOSTAT. 2002. Estadísticas datos agrícolas. Disponible en: <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>. (Consultado septiembre 15 de 2018).
- FAO. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. **Andrés F. López Camelo**. 2003. Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas / Del campo al mercado. Disponible en: <http://www.fao.org/3/y4893s/y4893s00.htm#Contents>.
- FAO. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. 2011. *Importacia de Escherichia coli en los alimentos*. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf
- FDA Food and Drug Administration. 1998. Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables. U.S. Food and Drug Administration. Fecha de consulta: enero 2019.
- FDA. 2001. Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. U.S. Food and Drug Administration, Center for Food. Disponible en

<http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift3exec.htm>. Consultado en 30 de Septiembre.

- FDA.2012.Food and Drug Administration. Brote de origen alimentario podría estar relacionado con la papaya distribuida por Agromod Produce,Inc.U.S.Food and Drug Administration.Disponible en <http://www.fda.gov/New-sEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2011/ucm266453.htm>Accesado (Consultado Septiembre 8 de 2018).
- Fernández E.E. 2000 Microbiología e inocuidad de los alimentos. Universidad Autonoma de Querétaro. Querétaro, México p.11.
- Frazier, A, Campa. 1993. Microbiología de los Alimentos.Epaña: Acribia.45-48.2014 pruebas bioquímicas tradicionales de alta resolución para identificación manual de enterobacterias. Acta bioquímica clínica latinoamericana.
- Foegeding, P.M. Y Bausta F.F. 1991. Chemical food Preservatives. En Block SS (ed). Disinfection, Sterization and Preservation Lea and Febiger. Philadelphia. p 802-832.
- García, F.M. y Robles S.L. 2017. Evaluación de desinfectantes para el control de microorganismos en frutas y verduras. Revista Iberoamericana de Tecnología y Pos cosecha.p.67-85.
- Garmendia, G., Silviana, V. 2006. Métodos para la Desinfección de frutas y verduras. Horticultura Avanzada. Facultad de Química. 197:18-27.

- Gavin, A. and Weddig, L.M. 1995. Canned Foods: Principles of Thermal Proceses Control, Acidification and Container Closure Evaluation. The Food Processors Institute, Washington, D.C., p. 35.
- Genigeorgis, C. A.; Dutulescu, D.; Garazabar, J. F. 1989. Prevalence of *Listeria* spp in poultry meat at the supermarket and slaughterhouse level. *J Food Prot.*, 52: 618–624 p.
- Georgsson, F.; Geirsdóttir, M. 2006. The influence of freezing and duration of storage on *Campylobacter* and indicator bacteria in broiler carcasses. *Food Microbiology*, 23: 677–683 p.
- Gimferrer.2011. Riesgo radiológico en los alimentos. Seguridad Alimentaria, Seguridad Alimentaria. Disponible en <http://www.peligro-radiologico/seguridad -alimentaria>. Consultado el 13 de noviembre de 2018.
- Gil M.I., Selma M.V., Lpez-Glvez F. Allende A. 2009. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology*. Disponible en http:/ Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology*. Consultado en 03 de enero 2019.
- Giese, J. 2001. New microorganism detection Methods introduced. *Food Technology*.
- Gómez- López V.M. 2009. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. *Food Control* 20.
- González, T. y R. Rojas. 2005. Enfermedades transmitidas por alimentos y por: prevención y diagnóstico. *Rev. Salud Pub Mex.*

- Gutiérrez OE, Ramírez Messner I, Vidal. 2003. Contaminación de los alimentos por *Vibrio colerae*, Coliformes fecales, *Salmonella*, Hongos, Levaduras y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante el 2003.
- Grant, K. A. Dickinson, J.H., Payne, M. J., Campbell, S., Collins. D. and Kroll, R.G. 1993. Use of polymerase Chain reaction and 16S rRNA sequences for the rapid detection of *Brochothrix spp.* in food. *J. of Applied Bacteriology*.
- Greer G. Dilts B.D. 1995. Lactic acid inhibition of the growth of spoilage bacteria and cold tolerant pathogens. *Int J Food Microbiol*, 25, 141-151.
- Habibi M.B. y Haddad M.H. 2009. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. *Food Control* 20.
- Haytham M.M. 2015. *Journal of Radiation Research and Applied Science*. 8: 265-275
- Hei, R.D. 1998. Peracetic acid applications to vegetable and fruit flume transport waters improved storage stability and yielded superior reduction of microbial contaminants during processing. Abstract 65-3, Annual Meeting of the Institute of Food Technologists, Atlanta, GA.
- Helander, I. M.; von Wright, A.; Mattilasandholm, T. M. 1997. Potential of Lactic acid bacteria and novel Antimicrobials against gram-negative bacteria. *Trends in food Science y Technology*, 8: 146-150 p.
- Hernández, Gabriela 2017. Control microbiano por agentes físicos y químicos. Disponible en https://issuu.com/gabrielahernandezhernandez3/docs/control_bacteriano_agentes_fisicos (Consultado enero 6 de 2019).

- Huang Y. R, Hung Y.C., Hsu S.Y., Huang Y.W., Hwang D.F. 2008. Applications of electrolyzed water in the Food industry. Food Control.
- Huffman, R. D. 2002. Current and future Technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. Revista Meat Science, 62 (3): 285- 294 p.
- Hugas, M. & Tsigarida, E. 2008. Pros and cons of carcass decontamination: the role of the European food safety authority. Meat Science. 78: 43-52.
- Izumi H. 1999. Electrolyzed water as a Disinfectant for Fresh-cut vegetables. Journal of Food Science and Technology.
- James, M., Black, P., Carmichael, P., Conner, C., Dudley, P., Fox, A., Frost, D., Honour, L., MacBeath, J., McCormick, R., Marshall, B., Pedder, D., Procter, R., Swaffield, S. and William, D. 2007. Learning How to Learn: Tools for Schools (London: Routledge).
- Joshi K., Mahendran R., Alagusundaram K., Norton T., Tiwari B.K. 2013. Novel disinfectant for fresh produce. Trends in Food Science & Technology.
- Juven, B. J.; Cox, N. A.; Mercuri, A. J. 1974. A hot acid treatment for eliminating Salmonella from chicken meat. J. Food Milk Technol., 37: 237-239 p.
- Kaferstein, F. .2008. Incidence of Salmonellae in Clams, Oysters, Crabs and Mullet. Actions to reverse the upward curve of foodborne illness. Journal of Food Control.
- Keskinen, M. 2008. Essays on Sound Technologies in Narrative Fiction. Universidad de Michigan. Lexington Books, 2008. p157

- King K. R. 2001. The Presence of Bacterial Pathogens in Recirculating Aquaculture System Biofilms and Their Response to Various Sanitizers, Doctor of Philosophy in Food Science and Technology, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia.
- Koburger, I.2003. Incidence of Salmonellae in Clams, Oysters, Crabs and Mullet. Journal of Food Protection: May 1984, Vol. 47, No. 5, pp. 343-345.
- Lage F. A. 1998. Operaciones de Preparación de Materia prima, limpieza en seco y húmedo. Disponible en: <http://html.operaciones-de-preparacion-de-las-materias-primas.html>. Consultado diciembre 2018.
- Lawrie, R. A. 1981. Ciencia de la Carne. Ed. Acribia. Zaragoza. España, 355 p.
- Lenntech. 2013 a. Peracetic Acid as a Disinfectant. Disponible en: <http://www.lenntech.es/procesos/desinfeccion/quimica/desinfectantes-acido-paracético.htm>. Consultado 05 febrero 2019.
- Li; K. Y.; Torres, J. A. 1993. Effects of temperature and solute on the minimum water activity for growth and temperature characteristic of selected mesophiles and psychrotrophs. Journal of Food Processing and Preservation, 17: 305-318 p.
- Louie, M., Louie, L. and Simor, A. E. 2000. The role of ADN amplification technology in the diagnosis of infectious diseases. CMAJ 163(3):301-309.
- López, V.; Romero, R.; y Ureta V. 2002. Acción germicida in vitro de productos desinfectantes de uso en la industria de alimentos. ALAN. vol. 52,

no.1 Disponible en el URL: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000100011&lng=es&nrm=iso. Fecha de Consulta: 23 de Julio 2015.

- Malley J. P. 1995. A new paradigm for drinking water disinfection. En: 17th Ozone Word Congress, Strasbourg, CD-ROM, pp. Sesión 1-Part 1.
- Martín S. I. 2016. Departamento de Microbiología de la UGR Obtenido en <http://microbiologia.ugr.es/>. Fecha de consulta: 19 de enero 2019.
- Martín Martín, Iliana Vega Galindo, Cynthia Hermelinda; Peña Ramírez, Lorena Elizabeth; Ramírez López, Roque; Orozco López, Carmen Leticia; Villagrán de la Mora, Blanca Zuamí. 2010 comparación de la efectividad del hipoclorito de sodio al 6 % como desinfectante en rábano (*Rhapanus sativus*). Revista Salud Publica; Edición Especial 7.
- Markets for Organic Fruit and Vegetables - Opportunities for Developing Countries in the Production and Export of Organic Horticultural Products. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/004/y1669e/y1669e00.htm>.
- Meigs Beyer, David. 2019. ¿Qué es un Desinfectante o Sanitizante? The Pennsylvania State University. Penn State Extension. Disponible en: <https://extension.psu.edu/que-es-un-desinfectante-o-sanitizante>
- Meireles A., Giaouris E., Simies M. 2016. Alternative disinfection Methods to chlorine for use in the fresh-cut industry. Food Research International.
- Mejía. A.A., y H.R. López. 2008. Propositiones de ciudadanos legisladores. Senado de la república. Segundo periodo Comisión Permanente. Gaceta 16.

- Morgan, N.S., Heintzelman, M.B., Mooseker, M.S. 1995. Characterization of myosin-IA and myosin-IB, two unconventional myosins associated with the Drosophila brush border cytoskeleton. Biol. 172: pp:51-71.
- Mountney, E. J.; O' Malley, J. (1965). Acids as poultry meat preservatives. Poultry Sci., 44: 582-586 p.
- Moreno ,B.,Diez,V.,Garcia,Ma.L.Menes,I.,Gutiérrez, L. y Polledo.F.2014 .Obtenido de http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092_ssa14.html.Fecha de consulta: 16 Enero 2019
- Nutsch, A.; Phebus, R.; Reiman, J.; Shafer, D.; Leising, J.; Kastner, C. 1997. Evaluation of steam pasteurization process in a commercial beef processing facility. Journal of food protection, 60 (5): 485-492 p.
- NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Norma Oficial Mexicana. México.
- NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Norma Oficial Mexicana. México.
Disponible en:<http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasic-Diluciones.pdf>. Consultado 20 de enero 2019.
- NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Norma Oficial Mexicana. México.
- NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos. Norma Oficial Mexicana. México.

- NOM-181-SSA1-1998, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Requisitos sanitarios que deben cumplir las sustancias germicidas para tratamiento de agua, de tipo doméstico. Disponible en: <http://www.aduanas-mexico.com.mx/claa/ctar/normas/nm181ass.htm>
- Ocaña R.L., Gutiérrez A.T., Sánchez J.R., Mariezcurrena M.D., Velázquez G., Laguna A., Rojas I. 2015. Microbiological quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) produced under greenhouse conditions in five Municipalities of the State of México 84:45-50.
- Ockerman, H. W.; Borton, R. J.; Cahill, V. R.; Parrett, N. A.; Hoffman, H. D. 1974. Use of acetic and lactic acid to control the quantity of microorganisms on lamb carcasses. J. Milk Food Technol., 37: 203-204 p.
- Ojeda, J. C.; Vásquez, V. G. 2009. Aplicación de ácidos orgánicos en la reducción de microorganismos aerobios mesófilos y coliformes totales y fecales en canales de bovinos. En: Revista Tecnológica ESPOL, 20: 20 p.
- Ortiz.M.2003. Alternative Methods Microbiology the food. Departamento de Microbiología de la UGR Obtenido en <http://microbiologia.ugr.es/>. Fecha de consulta:19 de enero 2019.
- OMS. 2007.Organizacion Mundial de la Salud. Enfoques integrados para la gestión de inocuidad de los alimentos a lo largo de toda la cadena alimentaria de las Autoridades de Reglamentación sobre Inocuidad de los Alimentos Marrakech, Marruecos. Disponible en: http://www.adiveter.com/ftp_public/articulo1086.pdf. Consultado el 18 de octubre 2018.

- OMS. Organización Mundial de la Salud. 2018. Inocuidad de los alimentos.2018, de OMS. Disponible en: <http://www.who.int.Organicacion Mundial de la Salud>. (Consultado septiembre 2 de 2018).
- OMS. Organización Mundial de la Salud .2016. Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Disponible en <http://www.secretaría De La Infosan/Inocuidad/OMS.mx>. Consultado el 05 de septiembre.2018
- Parish M.E., Beuchat L.R., Suslow T.V., Harris L.J., Garrett E.H., Farber J.N. 2003. Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.
- Parnell, T. L, Harris, L. J. y Soslow, T.V.2005.Rudicing Salmonella on caantabupes and haney dew melons usin wash practice food Service, and Consumer preparation. International Journal of Food Microbiology 99(1):59-70.
- Pérez-Roth, E., Claverie-Martin, F., Villar, Mendez-Alvares, S. 2001. Multiplex PCR for simultaneous identification of *Staphylococcus aureus* and detection of methicillin and mupirocin resitance. J. of Clinical Microbiology, p.39.
- Pierson M. y Smoot L. 2001 Indicator microorganisms and Microbiological Criteria. In: Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers en ed.Dolye.AMS Press.USA.71-87.
- Pirovani M., Piagentini A., Gemes D., Arkwright S.2004. Reduction of chlorine concentration and microbial load during washing-disinfection of shredded lettuce. International Journal of Food Science& Technology.

- Pizarro Antonio G. 2007. Microbiología general 2006-2007 Ecología de los alimentos.
- Pollack, Susan 2001. Consumer Demand for Fruit and Vegetables: The U.S. Example. Capítulo 6, “Changing Structure of Global Food Consumption and Trade”. Economic. Research Service. U.S. Department of Agriculture, Agriculture and Trade Report.
- Rapley R. 2000. Recombinant DNA technology. In. Walker, J. M. and R. Rapley. Molecular Biology and Biotechnology (4th ed). RSC. London UK. 563p.
- Ramirez. 2009. Designation of O174 and O175 to temporary O groups OX3 and OX7, and six new E. coli O groups that 147 include Verocytotoxin-producing E. coli (VTEC): O176, O177, O178, O179, O180 and O181. APMIS 112.
- Ramos, E., Price, M., Rohrbaugh, M., Lai, Z.C. 2003. Identifying functional cis-acting regulatory modules of the yan gene in Drosophila melanogaster. Dev. Genes Evol. 213(2): 83-89.
- Restaino L., Frampton E.W., Hemphill J.B., and Palnikar P. 1995. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. Appl. Environ. Microbiol.p.45-56.
- Richardson, S.D., Thruston, A.D., Caughran, T.V., Collete, T.W., Patterson, K.S. and Lykins, B.W. 1998. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. Food Technol, p.52-58.

- Roberts, J. y D. Orden. 1999. A Framework for Analyzing Technical Trade Barriers in Agricultural Markets. Washington: United States Department of AgriculturaSAGARPA.2016. Secretaria de Agricultura Ganadería Recursos Naturales Pesca y Alimentación. Obtenido en [http://www.Sagarpa.gob.mx/cierre -produccion -nacional](http://www.Sagarpa.gob.mx/cierre-produccion-nacional). Fecha de consulta agosto 4 2018.
- Robles, J.M.2017. EVALUACIÓN DE DESINFECTANTES PARA EL CONTROL DE MICROORGANISMOS EN FRUTAS Y VERDURAS Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 18, núm. 1, pp. 9-22 Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C.
- Roever, C. 1998. Microbiological safety evaluation and recommendations on fresh produce. Food Control 9/Ciencia y Tecnología Alimentaria. Disponible: <file:///C:/Users/hp/Downloads/nitrato%20%20de%20plata.pdf>.(Consultado 20 de marzo de 2019).
- Rubén Morones Ramírez. 2009. Revista Digital Universitaria. EL USO DE LA Plata En Los Antibióticos Del Futuro; Volumen 10 Número 10 ISSN: 1067-6079 Coordinación de Publicaciones Digitales. DGSCA-UNAM.
- Rupasinghe, V.; Boulter-Bitzer, J. and Odumeru, J. 2006. Lactic acid improves the efficacy of anti-microbial washing solutions for apples. J. Food Agric. Environ. p:44-48.
- Russel A. D., James R. Furr, Jean-Yves Maillard. 1997. Microbial susceptibility and resistance to biocides, .ASM News, nº 63, p. 481-487.
- SAGARPA. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación.2016. Manejo integrado de plagas. Disponible en:

<http://www.sagarpa.gob.mx/peligro/químico/%20de%20plagas.pdf>.

Consultado el 25 de septiembre de 2018.

- Sapers, G.M. and Simmons, G.F. 1998. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. Food Technol. Disponible en <http://www.Food Technol fruits.mx>. Consultado el 25 de noviembre de 2018.
- Sargent S.A., Ritenour M.A., Brecht J.K. 2000. Handling, Cooling and Sanitation Techniques for Maintaining Postharvest Quality. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Science, EDIS.
- Samelis, J.; Kakouri, A.; Rementzis, J. 2000. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria 77 dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. Food Microbiology, 17(3): 329-340 p.
- Sastry, S. K, Datta, A. K. Worobo, R. W. 2000. Ultraviolet light. Journal of Food Science Supplement p.65:90.
- Secretaria de Salud. 2015. Plata coloidal, características, peligros y aplicación. Gobierno de México. Disponible en: www.gob.mx/salud/en/articulos/plata-coloidal-caracteristicas-peligros-y-aplicacion.
- SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad Agroalimentaria 2016. Una definición clara de Inocuidad. Obtenido: <http://www.senasica.gob.mx>. Consultado el 05 de octubre 2018.
- Suppakul, P.; Miltz, J.; Sonneveld, K.; Bigger, S W. (2003). Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications.

Journal of Food Science: Concise Reviews and Hypotheses in Food Science,
68(2): 408-420 p.

- STAFGRAPHICS Centurión XVI, Versión 16.2.04
- Smith KE, Bender JB, Osterholm MT. 2000. Antimicrobial resistance in animals and relevance to human in animals and relevance to human infections. In: Nachmakin I, Blaser MJ, eds. *Campylobacter*, Washington DC: ASM.
- Smulders, F. J., & Greer, G. G. 1998. Integrating microbial decontamination with organic acids in HACCP programmers for muscle foods: Prospects and controversies. *International Journal of Food Microbiology*, 44 (3): 149–169.
- Stanga, M. WILEY-VCH. 2010. *Sanitation. Cleaning and Disinfection in the Food Industry*.
- Tugas, J., Tsigarida. S. 2008. Multiplex nuclear acid sequence-based amplification for simultaneous detection of several enteric viruses in model ready-to-eat foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:6603–6610.
- Underwood S., K. Stephenson, W.N. Fawley, J. Freeman, S.D. Baines, R.C. Jr Owens M.H. Wilcox. 2007 Effects of hospital cleaning agents on spore formation. N American and UK outbreak *Clostridium difficile* strains. The General Infirmary at Leeds & University of Leeds, U.K., Maine Medical Center, Portland, U.S.
- USDA. *Accurate and Useful Statistics in Service to U.S. Agriculture 2011. Providing Timely.* Obtenido de USDA Sitio web: <https://www.nass.usda.g>. Providing Timely, Accurate and Useful Statistics in Service (Consultada Junio 23 de 2018).

- UMFDA, 2002. Institute for Food Safety And Applied Nutrition Mejorando la Seguridad y Calidad de Frutas y Hortalizas Frescas: Manual de Formación para Instructores. Disponible en: http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/others/docs/maryland_manual.pdf.(Consultado el 25 de septiembre de 2018).
- Ukuko, D.O. y Sapers, G.M. 2001. Effect of sanitizer treatments on Salmonella Stanley attached to the surface of cantaloupe and cell transfer to fresh-cut tissues during cutting practices. *Journal of Food Protection* 64:1286-1291.
- Wei W.G. y Hammes W. P.2006.Indigenous microorganisms from Iceberg lettuce with adherence and antagonistic potential for use as protective culture. *Innovative Food Science&EmergingTechs*.
- Wiley, M.H.2010.Modelling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology* 56:1875-1881.
- Wirtanen G. y Salo S.2003.Desinfection in food processing – efficacy testing of disinfectants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*.
- Woolthuis, C. H. J.Smulders, F. J. M. 1985. Microbial decontamination of calf carcasses by lactic acid sprays. *J. Food Prot* 48: 832-837 p.
- Yabar Villanueva Emilio Fredy 2005.Microbiología de alimentos criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentaria. Universidad Nacional del Centro del Perú.p.99-106.

- Zaidi Usmani, B.R. Singh, J. Musarrat 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ 101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. p. 99.
- Zagory D. 1999. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. Postharvest Biology and Technology. Disponible en <http://www.Microbiol/effectiveness of trisodium phosphate for killing Salmonella montevideo on tomatoes>. Consultado el 28 de Febrero 2019.
- Zhang, S., J.M Farber. 1996. The Effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. Food Microbiol.13:311-321.
- Zhuang, R.Y. and Beuchat, L.R. 1996. Effectiveness of trisodium phosphate for killing *Salmonella montevideo* on tomatoes. Disponible en <http://www.Microbiol/effectiveness of trisodium phosphate for killing Salmonella montevideo on tomatoes>. Consultado el 15 de Febrero 2019.

