

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA



DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN PUNTO DE VENTA DE CHILE JALAPEÑO (*Capsicum annum*) Y CHILE SERRANO (*C. annum var accuminatum*) E IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS MICROBIOLÓGICOS DURANTE SU CULTIVO. ESTUDIO DE LA REGIÓN DE CADEREYTA JIMENEZ, N.L.

POR:

IBQ. KARINA GUADALUPE MOLINA LOYA

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN MICROBIOLOGÍA.

AGOSTO, 2012

FIRMAS

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Doctora Norma Laura Heredia Rojas y al Doctor José Santos García Alvarado por ser parte de mi comité de tesis, por darme la oportunidad de formar parte del laboratorio de Bioquímica y Genética de Microorganismos y además por dejarme participar en este importante proyecto.

Quiero agradecer a CONACYT por proporcionar la beca la cual fue de gran apoyo para la realización de la maestría.

Gracias al Doctor Juan León, a Anna Fabiszewski, Faith Bartz y a la Doctora Lee-Ann Jaykus por su importante asesoría y apoyo necesario para el inicio del proyecto de tesis.

Agradezco a la Dra. Luisa Solís, a la M.C. Fabiola Venegas, a Aldo Galván y Roberto Blancas por el apoyo brindado durante mi estancia en el laboratorio.

Agradezco al Doctor Roberto Mercado Hernández por su valioso apoyo en los resultados estadísticos de este proyecto.

Agradezco a todas las personas que de una u otra forma formaron parte importante para la realización del proyecto.

Gracias a Dios, a mi familia por el amor y consejos brindados, a mis amigos (as) por compartir tantos momentos felices conmigo.

DEDICATORIA

A Dios ya que esta siempre a mi lado y guía mi camino.

A mi madre la mujer que más admiro y que me ha enseñado el significado de fortaleza, a mi padre trabajador incansable siempre dispuesto a ayudar, a ustedes que me han visto crecer y que han hecho grandes sacrificios para ayudarme a ser lo que soy, les dedico todo mi trabajo y esfuerzo, que aunque no estamos juntos físicamente se que su amor y comprensión me seguirá a donde quiera que vaya, ustedes son mi razón para seguir adelante. Los amo

A mi prometido, mi novio, mi amigo, mi todo quien ha estado a mi lado desde hace 8 años, gracias por todo el apoyo incondicional que siempre me has dado, gracias por enseñarme a luchar por mis sueños y a no darme por vencida nunca. A ti te dedico todos mis éxitos ya que tú eres parte de ellos. Te amo

A mis hermanos Ale, Sara y Luis con quienes he peleado, reído y llorado, gracias a ustedes he aprendido el verdadero significado de la familia los amo.

A mis sobrinos Isis, Sofía y Derian quienes siempre saben hacerme reír a carcajadas.

A mis amigos, ángeles y compañeros de trabajo quienes siempre tenían palabras de aliento, gracias por su compañía y consejos cuando más los necesite, gracias ya que aún siendo de otro estado me hicieron sentir como en casa todo el tiempo, le doy gracias a Dios por ponerlos en mi camino.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
1. RESUMEN	16
2. ABSTRACT.	17
3. INTRODUCCIÓN.	18
4. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.	21
5. ANTECEDENTES.	22
5.1. Generalidades del chile jalapeño (<i>Capsicum annuum</i>)	22
5.1.1. Época de siembra.	23
5.1.2. Cultivo de Chile jalapeño (<i>C. annuum</i>) en Nuevo León.	24
5.1.3. Merma de producto por deterioro.	25
5.2. Fuentes de contaminación de frutas y verduras.	26
5.2.1. Pre-cosecha.	28
5.2.1.1. Agua de riego.	29
5.2.1.2. Suelo.	30
5.2.2. Cosecha.	32
5.2.3. Post-cosecha.	34
5.2.4. Punto de venta.	35
5.3. Microorganismos indicadores.	37
5.3.1. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios (ACP).	38
5.3.2. Microorganismos coliformes.	38
5.3.2.1. Coliformes totales.	38
5.3.2.2. Coliformes fecales.	39
5.3.3. <i>E. coli</i>	39
5.3.4. Enterococos.	40
5.4. Bacterias Patógenas en alimentos.	42
5.4.1. <i>Salmonella</i> spp.	42
5.4.2. <i>E. coli</i> O157:H7.	43
5.5. Brotes de enfermedades causadas por vegetales cultivados en México.	46

5.5.1. Brote de Hepatitis A asociado con cebollín.	46
5.5.2. Brote de Salmonella serotipo Poona asociada con melón.	47
5.5.3. Brote de Salmonella serotipo Saintpaul asociada con tomate y chile.	48
6. HIPOTESIS.	50
7. OBJETIVOS.	51
7.1. Objetivo general.	51
7.2. Objetivos particulares.	51
8. MÉTODOS.	52
8.1. Análisis de la calidad microbiológica de chile jalapeño y chile serrano en punto de venta.	52
8.1.1. Muestreo.	52
8.1.2. Análisis microbiológicos.	53
8.1.2.1. Microorganismos indicadores.	53
8.1.2.1.1. Preparación de la muestra.	53
8.1.2.1.2. Determinación de cuenta total de mesofilicos aerobios (MA)	53
8.1.2.1.3. Determinación de coliformes totales (CT).	53
8.1.2.1.4. Determinación de coliformes fecales (CF).	54
8.1.2.2. Microorganismos patógenos.	54
8.1.2.2.1. Determinación de E. coli O157:H7.	54
8.1.2.2.2. Determinación de Salmonella spp.	55
8.1.2.2.2.1. Preenriquecimiento.	55
8.1.2.2.2.2. Enriquecimiento selectivo.	55
8.1.2.2.2.3. Aislamiento.	55
8.1.2.2.2.4. Identificación bioquímica.	56
8.1.2.2.2.5. Prueba de ureasa.	57
8.1.2.2.3. Confirmación de patógenos presuntivos.	57
8.1.2.2.3.1. Extracción de DNA.	57
8.1.2.2.3.2. Amplificación.	58
8.2. Análisis de la contaminación durante la cadena de producción en campo. .	58
8.2.1. Selección del lugar de muestreo.	59

8.2.2. Toma de muestra de suelo.	60
8.2.3. Toma de muestra de vegetal.	60
8.2.4. Toma de muestra de manos.	62
8.2.5. Toma de muestra de agua.	63
8.2.6. Análisis microbiológicos.	64
8.2.6.1. Preparación de muestra compuesta.	64
8.2.6.2. Análisis de microorganismos indicadores por dilución.	64
8.2.6.2.1. Determinación de microorganismos coliformes totales y coliformes fecales y E. coli.	64
8.2.6.2.2. Determinación de Enterococos.	65
8.2.6.3. Análisis de microorganismos indicadores por filtración.	65
8.2.6.3.1. Método de filtración.	65
8.2.6.3.2. Determinación de coliformes totales, coliformes fecales y E. coli.	66
8.2.6.3.3. Determinación de Enterococos.	67
8.3. Pruebas estadísticas.	67
9. RESULTADOS.	69
9.1. Resultados del análisis microbiológico en punto de venta.	69
9.1.1. Cuenta total de microorganismos mesofilicos aerobios (MA).	69
9.1.1.1. Análisis del tallo y parte comestible del vegetal.	70
9.1.1.2. Análisis de muestras por municipio de compra.	72
9.1.1.3. Análisis de muestras por establecimiento de compra.	74
9.1.2. Coliformes totales (CT).	76
9.1.2.1. Análisis del tallo y parte comestible del vegetal.	78
9.1.2.2. Análisis de muestras por municipio de compra.	80
9.1.2.3. Análisis de muestras por establecimiento de compra.	81
9.1.3. Coliformes fecales (CF).	83
9.1.3.1. Análisis del tallo y parte comestible del vegetal.	85
9.1.3.2. Análisis de muestras por establecimiento de compra.	87
9.1.4. Microorganismos Patógenos.	89
9.2. Resultados del análisis microbiológico en campo.	90

9.2.1. Muestreo.	90
9.2.2. Microorganismos coliformes totales (CT).	91
9.2.2.1. Resultados por cadena.	91
9.2.2.2. Resultados por muestra.	92
9.2.3. Microorganismos coliformes fecales (CF)	94
9.2.3.1. Resultados por cadena.	94
9.2.3.2. Resultados por muestra.	95
9.2.4. E. coli (EC).	97
9.2.4.1. Resultados por cadena.	97
9.2.4.2. Resultados por muestra.	99
9.2.5. Enterococos (E).	100
9.2.5.1. Resultados por cadena.	100
9.2.5.2. Resultados por muestra.	102
10. DISCUSIÓN.	104
10.1. Análisis del chile jalapeño y serrano en punto de venta.	104
10.2. Análisis microbiológico del chile jalapeño en campo.	106
11. CONCLUSIONES.	110
12. LITERATURA CITADA.	111
13. APÉNDICES.	125
13.1. APÉNDICE I.	125
13.2. APÉNDICE II.	127

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Producción de chile en el estado de Nuevo León.	25
2. Oligonucleótidos usados y especie que identifican.	58
3. Prueba Kolmogorov-Smirnov.	68
4. Rangos de presencia de la microorganismos mesofílicos aeróbicos en chile jalapeño y serrano.	69
5. Cuentas de microorganismos mesofílicos aerobios comparadas entre las variedades de producto y las diferentes partes del vegetal analizadas.	71
6. Cuentas de microorganismos mesofílicos aerobios obtenidas de muestras colectadas en diferentes municipios del área Metropolitana de Monterrey, N.L.	73
7. Rangos de microorganismos mesofílicos aerobios de acuerdo al tipo de establecimiento de donde provenía la muestra.	75
8. Rangos de microorganismos coliformes totales de acuerdo a la variedad de vegetal analizado.	76
9. Rangos de microorganismos coliformes totales de acuerdo a la parte del fruto analizada.	78
10. Cuentas de microorganismos coliformes totales obtenidas de muestras colectadas en diferentes municipios del área Metropolitana de Monterrey, N.L.	80
11. Rangos de microorganismos coliformes totales de acuerdo al establecimiento de donde se adquirieron.	82
12. Rangos de microorganismos coliformes fecales en chile jalapeño y serrano. . .	83
13. Rangos de microorganismos coliformes fecales de acuerdo a la parte del vegetal analizada.	86
14. Rangos de microorganismos coliformes fecales de acuerdo al establecimiento de compra.	88
15. Descripción de muestras analizadas.	92
16. Rangos de microorganismos coliformes totales presentes en las muestras analizadas.	93

17. Rangos de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras analizadas.	96
18. Rangos de E. coli presentes en las muestras analizadas.	99
19. Rangos de Enterococcus presentes en las muestras analizadas.	102

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica	Página
1. Niveles de microorganismos mesofílicos aerobios en chile serrano y chile jalapeño.	70
2. Distribución de microorganismos mesofílicos aerobios presentes en las diferentes variedades de chile.	70
3. Niveles de microorganismos mesofílicos aerobios presentes en las diferentes partes del vegetal.	71
4. Distribución de microorganismos mesofilos aerobios en las diferentes partes del vegetal analizado.	72
5. Niveles de microorganismos mesofílicos aerobios obtenidos en el chile jalapeño (J) y serrano (S) agrupados por municipios de muestreo.	73
6. Distribución de microorganismos mesofílicos aerobios presentes en chile jalapeño y serrano en los diferentes municipios analizados.	74
7. Niveles de microorganismos mesofílicos aerobios obtenidos en las diferentes variedades de vegetal agrupados por establecimiento de compra.	75
8. Distribución de los microorganismos mesofílicos aeróbicos en chile jalapeño y serrano dependiendo del tipo de establecimiento donde fueron adquiridos. . .	76
9. Niveles de microorganismos coliformes totales obtenidos en las diferentes variedades de vegetal.	77
10. Distribución de microorganismos coliformes totales en chile jalapeño y serrano.	77
11. Niveles de microorganismos coliformes totales presentes en chile jalapeño y serrano, tanto en el fruto como en el tallo.	79
12. Distribución de los microorganismos coliformes totales en chile jalapeño y serrano dependiendo de la parte del fruto que fue analizada.	79
13. Niveles de microorganismos coliformes totales presentes en chile jalapeño y serrano, adquiridos en diferentes municipios.	80
14. Distribución de los microorganismos coliformes totales en chile jalapeño y serrano dependiendo del municipio de donde fueron adquiridos.	81

15. Niveles de microorganismos coliformes totales presentes en chile jalapeño y serrano, de acuerdo al tipo de establecimiento de donde se adquirieron las muestras.	82
16. Distribución de los microorganismos coliformes totales en chile jalapeño y serrano dependiendo del tipo de establecimiento donde fueron adquiridos.	83
17. Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras de jalapeño de los diferentes municipios.	84
18. Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras de chile serrano de los diferentes municipios.	85
19. Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en la parte comestible de las variedades de chile muestreadas.	86
20. Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en la parte del tallo de las variedades de chile muestreadas.	87
21. Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras de supermercado de los diferentes municipios.	88
22. Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras de mercados populares de los diferentes municipios.	89
23. Porcentaje de muestras presuntivas de Salmonella y E. coli O157:H7 presentes en chile jalapeño y serranos.	90
24. Niveles de coliformes totales obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.	91
25. Distribución de coliformes totales en las distintas cadenas analizadas.	92
26. Niveles de coliformes totales obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.	93
27. Distribución de coliformes totales en las distintas cadenas analizadas por producto.	94
28. Niveles de coliformes fecales obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.	95
29. Distribución de coliformes fecales en las distintas cadenas analizadas.	95
30. Niveles de coliformes fecales obtenidos en el análisis de las muestras.	97
31. Distribución de coliformes fecales en las distintas muestras analizadas.	97
32. Niveles de E. coli obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.	98
33. Distribución de E. coli en las distintas cadenas analizadas.	98
34. Niveles de E. coli obtenidos en el análisis de las diferentes muestras.	99

35. Distribución de E. coli en las distintas muestras analizadas.	100
36. Niveles de Enterococcus obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas. . .	101
37. Distribución de Enterococcus en las distintas cadenas analizadas.	101
38. Niveles de Enterococcus obtenidos en el análisis de las diferentes muestras. .	102
39. Distribución de Enterococcus en las distintas muestras analizadas.	103

LISTA DE SÍMBOLOS Y NOMENCLATURA

\$	Pesos
%	Porcentaje
>	Mayor que
<	Menor que
=	Igual que
°	Grados
°C	Grados Celsius
µg/ml	Microgramos por mililitro
µl	Microlitros
µmol/l	Micromol por litro
cm	Centímetros
dm	Decímetros
g	Gramos
gl	Grados de libertad
ha	Hectáreas
l	Litros
-	Menos
ml	Mililitros
mmol/l	Milimol por litro

msnm	Metros sobre el nivel del mar
N	Normal
NaCl	Cloruro de sodio
pH	Potencial Hidrógeno
TLCAN	Tratado de Libre Comercio de América del Norte
Ton	Toneladas
UFC/g	Unidades Formadoras de Colonias por gramo
UFC/ml	Unidades Formadoras de Colonias por mililitro
v	Voltios

1. RESUMEN

De 1990-2005, 713 brotes y aproximadamente 34000 casos de enfermedades fueron asociados con el consumo de frutas o verduras frescas contaminadas con patógenos (Ailes et al., 2008). Dentro de la gran variedad de tipos de chile que se cultivan en México, el jalapeño (*Capsicum annuum*) es uno de los de mayor importancia socioeconómica por su amplio consumo y alta redituabilidad. Anualmente en el país, se siembran alrededor de 40 mil hectáreas, con un rendimiento promedio de 12 toneladas por hectárea y un volumen de producción de 600 mil toneladas. De esta producción se exportan a los Estados Unidos cerca de 30 mil toneladas (6%). Uno de los reportes más importantes y más recientes de Estados Unidos fue el brote de contaminación con *Salmonella* serotipo Saintpaul debido a la contaminación de chile jalapeño importado de México resultando en 1442 casos de enfermedad en 43 estados (Cuíte et al., 2009). Debido a la escasa o nula información que se tiene sobre el perfil microbiológico del chile jalapeño, este estudio permitió conocer el perfil microbiológico del chile jalapeño y del chile serrano en punto de venta mediante la colecta de un total de 80 muestras de chile jalapeño y de chile serrano, provenientes de supermercados y mercados populares ubicados en Monterrey, N.L. y su área metropolitana, en el análisis de microorganismos indicadores y patógenos se encontró diferencia significativa entre las cuentas del tallo y la parte comestible del vegetal, además se encontró una muestra de tallo de chile jalapeño contaminada con *Salmonella* spp., no se encontró diferencia significativa entre los diferentes establecimientos donde se adquirieron los vegetales, sin embargo se encontró diferencia significativa entre los diferentes municipios de donde se recolectaron las muestras. En el muestreo en campo, se trabajaron 2 granjas productoras de chile jalapeño ubicadas en Cadereyta Jimenez, N.L. donde se tomaron un total de 84 muestras de producto, agua de riego, suelo y manos de trabajadores, las cuales se analizaron para microorganismos indicadores encontrando cuentas bajas en el producto, además se encontró que no existe una gran variación en el perfil microbiológico del chile jalapeño en las diferentes granjas muestreadas de municipios que se dedican a la agricultura en Nuevo León, se requieren estudios más amplios para conocer si la contaminación se produce durante su crecimiento y cosecha o durante la manipulación en el punto de venta.

2. ABSTRACT

From 1990 to 2005, 713 outbreaks and approximately 34000 disease cases were associated with fresh fruits and vegetables contaminated with pathogens (Ailes et al., 2008). Within the wide variety of chile cultivated in Mexico, the jalapeño (*Capsicum annuum*) is one with bigger socioeconomic importance because of his high consumption and high yield. Yearly within the country, 40000 hectare are planted, with an average yield of 12 tons per hectare and a production volume of 600 000 tons. From this production, 30 000 tons (6%) are exported to US.

One of the most important and recent reports from US was the Saintpaul serotype *Salmonella* contamination outbreak due jalapeño contaminated imported from Mexico, it resulted in 1442 disease cases among 43 states (Cuite et al, 2009). Due this lack or no information about the jalapeño microbiological profile, this study allowed to know this profile and the Serrano profile in point of sale, where 80 total samples of jalapeño and Serrano were collected, from supermarkets and popular markets located within Monterrey, N.L. and its metropolitan area. In the analysis of indicators and pathogens microorganisms a significant bacteria count difference was found between the stem and the edible part of the plant; also a sample of jalapeño stem was found contaminated with *Salmonella* spp., no significant difference was found between the different establishments where this vegetables were bought, however, a significant difference was found between the different municipalities where samples were collected.

In the field sampling, 2 producing farms were studied located in Cadereyta, N.L. where 84 product total samples were taken from water for irrigation, to ground and workers hands. Those samples were analyzed for indicator microorganisms founding low bacterial counts within the product, besides no big variation was found in the jalapeño microbiological profile between the different farms sampled from municipalities dedicated to agriculture in Nuevo Leon. Wider studies are required to know if contamination is produced while the plant is growing and harvested, or while it is manipulated in the point of sale.

3. INTRODUCCIÓN

La industria de frutas y vegetales frescos ha evolucionado rápidamente durante las últimas dos décadas debido a la nueva tendencia de comer productos menos procesados. Así mismo, en los Estados Unidos, se ha observado que las personas son más conscientes acerca de los beneficios que proporciona a la salud el comer productos frescos (Johnston et al., 2005).

Sin embargo, así como ha ido en aumento la industria de productos frescos también se han incrementado los brotes de enfermedades asociados a estos, de 0.7% en 1970 a 13% de 1990-2005, durante estos años, 713 brotes y aproximadamente 34000 casos de enfermedades fueron asociados con el consumo de frutas o verduras frescas contaminadas con patógenos (Ailes et al., 2008; Sivapalasingam et al., 2004).

Reportes más recientes del 2011 muestran un aumento considerable de 9.4 millones de casos de enfermedades, 55,961 hospitalizaciones y 1,351 muertes anuales causadas por el consumo de alimentos contaminados (CDC 2011).

Aunado a esto, la globalización del suministro de alimentos puede introducir nuevos riesgos para la seguridad alimentaria y ampliar el potencial de difusión de alimentos contaminados. Por ejemplo, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC), reportó 155 brotes de Salmonella enterica serotipo Poona producidos en varios estados en la primavera de los años 2000, 2001 y 2002 asociada con el consumo de melones originarios de las granjas mexicanas y el más reciente en julio del 2011 en donde un total de 99 personas se vieron afectadas por el brote de Salmonella Agona (en 23 estados), investigaciones en laboratorio relacionaron este brote con papayas frescas importadas de México.

Estos brotes de enfermedades causadas por el consumo de alimentos frescos, además de tener importancia en la salud pública, tienen un alto impacto en las

exportaciones de estos productos y en la economía de países cuya principal actividad económica es la exportación; siendo uno de estos países México.

Entre los principales productos agroalimentarios que México exporta a diferentes países del mundo, destacan el tomate, legumbres y hortalizas frescas, chiles y pimientos, aguacate, melón, sandía, papaya, trigo, cebollas, productos de panadería, café sin tostar y descafeinar, hortalizas congeladas y cítricos. La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación de México (SAGARPA), reportó que durante el primer semestre del 2008, las exportaciones agroalimentarias y pesqueras de México al mundo, registraron un crecimiento del 13.6% al pasar de \$7,971 millones de dólares en el mismo período del 2007 a \$9,057 millones de dólares en el 2008 (SAGARPA 2009). Así mismo, las ventas al exterior de productos alimenticios han registrado un incremento constante en los últimos seis años al pasar de \$8,259 millones de dólares en el año 2002 a \$15,103 millones de dólares en el año 2007 (SAGARPA 2008).

Las exportaciones agroalimentarias que realizó México durante 2010 marcaron un nuevo record histórico, al ubicarse en las 18 mil 192 millones de dólares, 12.5 % más que el año anterior (dos mil millones de dólares más), reveló un reporte del Grupo de Trabajo de Estadísticas de Comercio Exterior, integrado por el Banco de México, el Instituto Nacional Estadística y Geografía, y la Secretaría de Economía (SAGARPA 2011).

El principal destino de las exportaciones agroalimentarias es la región TLCAN (EE.UU. y Canadá), ya que más del 75% de las ventas totales del sector se destinan a esos países. Los países pertenecientes a la Unión Europea, son el segundo destino en importancia de las exportaciones agroalimentarias de nuestro país, que participan con aproximadamente el 5% del total (SAGARPA 2011).

Estas cantidades proporcionan una idea de la importancia de mantener e implementar programas para aumentar la calidad de los productos frescos mexicanos que son consumidos en nuestro país y otros países.

Sin embargo, esta calidad puede verse afectada si los productos frescos se deterioran fácilmente debido a su flora residente o por la falta de buenas prácticas agrícolas. Los tipos y niveles de microorganismos en frutas y vegetales frescos varían con el producto y el nivel de procesamiento después de la cosecha. En general, *Pseudomonas fluorescens*, *Erwinia herbicola* y *Enterobacter agglomerans* son los principales constituyentes de la flora de la mayoría de los vegetales. Además, León et al., (2009) reportó que *Leuconostoc* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterobacter agglomerans*, hongos y levaduras pueden ser encontrados también en varias frutas y vegetales y estas bacterias que normalmente están presentes no se consideran como un riesgo para los humanos.

Con pequeñísimas excepciones, las bacterias que son patógenas para los humanos no deberían de estar presentes en frutas y verduras frescas, al menos no en niveles que causen enfermedades, por ejemplo, los niveles seguros estimados para *E. coli* (EHEC) es menor de 50 organismos, con un rango aceptable de 50 a 100 UFC/g (Deisingh y Thompson, 2003). La mayoría de estos productos se contaminan con patógenos con el contacto de humanos y heces de animales. Las bacterias patógenas como *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* O157:H7 suelen ser transmitidos por heces de animales ya sea directa o indirectamente a través de agua o suelo contaminado (León et al., 2009).

4. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Entre los principales productos agroalimentarios que México exporta a diferentes países del mundo, destacan el tomate, legumbres y hortalizas frescas, chiles, pimientos, aguacate, melón, sandía, papaya, trigo, cebollas, productos de panadería, café sin tostar y descafeinar, hortalizas congeladas y cítricos. En el año 2000, el 86.3% de las exportaciones mexicanas de productos agroalimentarios y pesqueros se destinaron al mercado de los Estados Unidos (SAGARPA 2008). Los ingresos que obtuvo México en exportaciones de productos agropecuarios en el año 2008 fueron de \$7, 894,648 (INEGI, 2009).

En el estado de Nuevo León los municipios en donde se cultiva el chile jalapeño (*C. annuum*) son Montemorelos y Cadereyta Jiménez, siendo este último el que cuenta con mayor superficie sembrada, aproximadamente 880 ha según un censo realizado por la SAGARPA en el 2004, donde también se destaca que la producción promedio anual de chile jalapeño en Nuevo León fue de 14,840 Ton (Hernández, 2006)

En el 2007 la producción promedio anual de chile jalapeño (*C. annuum*) en Tamaulipas fue de 125,448.50 Ton ocupando el 5° lugar nacional (SAGARPA, 2009).

Recientemente, en Estados Unidos se reportó un brote de *Salmonella* serotipo Saintpaul debido a la contaminación de chile jalapeño (*C. annuum*) importado de México, resultando en 1442 casos de enfermedad en 43 estados (Cuite et al., 2009).

Es por esto que se debe realizar una evaluación de la contaminación microbiológica del chile jalapeño (*C. annuum*) cultivado en México e implementar las buenas prácticas agrícolas en el campo, ofreciendo de esta manera productos frescos seguros para la salud del consumidor. En este estudio se analizará la calidad microbiológica en punto de venta y se identificarán directamente en el campo las posibles fuentes de contaminantes patógenos a las que puede estar expuesto tanto el chile jalapeño (*C. annuum*) como el chile serrano (*C. annuum* var *accuminatum*).

5. ANTECEDENTES

5.1. Generalidades del chile jalapeño (*Capsicum annuum*).

Las especies de *Capsicum* son, casi sin excepción, plurianuales. La planta, de tallo leñoso, forma normalmente un arbusto de hasta 15 dm de altura; aunque algunas variedades alcanzan tamaños superiores (Montes, et al., 2004; Muñoz y Pinto 1966).

Montes et al. (2004) reportó que su forma de propagación es mediante semillas que se mantienen viables hasta por tres años si se conservan en un ambiente adecuado. El fruto es una baya con varias celdas las cuales están ligeramente unidas entre sí pues los tabiques que las separan no están interconectados. El género *Capsicum* está muy distribuido a nivel mundial y se encuentra en gran diversidad de formas, tamaños, colores y niveles de picor o pungencia. En general como lo mencionan Laborde y Pozo en 1982 en su publicación, los chiles picantes se pueden clasificar en dos grupos:

- a. Frutas largas y carnosas que pertenecen a la variedad de *Capsicum annuum*
- b. Frutas pequeñas que pertenecen a la variedad de *Capsicum minimum*.

Están compuestos en un gran porcentaje por agua, en promedio un 74.3%, el contenido de proteína es de 2.3% y el de carbohidratos de 15.8%; otros de los componentes son vitaminas y minerales (Montes, et al., 2004; Pozo, 1981).

Dentro de las especies cultivadas de los chiles, *Capsicum annuum* es la más ampliamente conocida y la de mayor importancia económica, ya que presenta una distribución mundial (Pickersgill, 1969). El centro de origen y/o domesticación de *C. annuum* es Mesoamérica, más propiamente México y Guatemala (Pickersgill, 1971). México es el país que presenta la mayor variabilidad de formas cultivadas y silvestres, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en todo el país. Esta diversidad ha sido descrita con base en la clasificación comercial de los frutos, realizada dentro de diversos tipos de chile (Montes, et al., 2004).

Las características vegetativas son también muy variables (Eshbaugh, 1975). Su cultivo va desde cerca del nivel del mar, hasta los 2500 msnm, abarcando diferentes regiones del país, razón por la cual se encuentra chile en el mercado todo el año. Así mismo su consumo es muy generalizado en fresco e industrializado en diversas modalidades (Montes, et al., 2004).

Dentro de la gran variedad de tipos de chile que se cultivan en México, el jalapeño es uno de los de mayor importancia socioeconómica por su amplio consumo, alta redituabilidad y gran demanda de mano de obra. Anualmente en el país se siembran alrededor de 40 mil hectáreas, con un rendimiento promedio de 12 toneladas por hectárea y un volumen de producción de 600 mil toneladas. De esta producción se exportan a los Estados Unidos cerca de 30 mil toneladas (6%), principalmente en la época que comprende de enero a abril (Lujan et al., 2009).

Ante la importancia que representa el cultivo del chile jalapeño para México, es necesario generar y dar a conocer técnicas de producción que ayuden a solucionar los problemas más apremiantes e incrementen su productividad (Lujan et al., 2009).

5.1.1 Época de siembra

El cultivo de chile jalapeño se conoce como Cultivo de temporada caliente, ya que se adaptan a temperaturas entre 18 y 24°C y no toleran las heladas (Martínez y Moreno, 2009).

El Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pesqueras (INAFAP, 2009), menciona que la época de siembra del chile jalapeño depende de los riesgos de daños por heladas tardías que se quieran correr, del rendimiento y calidad óptima del fruto y de la época en que se desea cosechar el producto. A continuación se presentan las épocas de siembra de este vegetal:

Siembra Temprana. Del 20 al 28 de febrero. Las probabilidades de heladas son de 17 al 38% y su nivel de rendimiento es el más alto que se puede obtener, pues entre más temprano se siembre las plantas logran un mayor desarrollo.

Siembra Intermedia. Comprende del 1 al 15 de marzo, donde las probabilidades de heladas son del 30%.

Siembra Tardía. Comprende del 16 al 31 de marzo, con probabilidades de heladas de 4 a 22%.

Después del 15 de marzo, las siembras disminuyen su producción en 370 kilogramos por hectárea por cada día de retraso en promedio, debido al acortamiento del ciclo, y se tiene un mayor daño por plagas y enfermedades (Lujan et al., 2009)

5.1.2 Cultivo de chile jalapeño (*C. annuum*) en Nuevo León

Aún que la superficie sembrada es mucho menor que los principales estados productores, la importancia radica en que genera mucha mano de obra, destacando que Monterrey es un centro de consumo, además de que es la puerta para la comercialización para otros estados e incluso su exportación (Hernández, 2006).

Los cultivos hortícolas que se siembran en el estado de Nuevo León son diversos; sin embargo el cultivo de chiles representa una de las hortalizas más importante para el distrito de Montemorelos y de este distrito el municipio de Cadereyta Jiménez es el que tiene mayor superficie sembrada de hortalizas (SAGARPA, 2003); según el censo realizado en el 2004, arrojó como resultado que en la zona se siembran 1100 ha de las cuales el 80% sembrado es chile de diferentes variedades (880 ha). En el estado de Nuevo León, de acuerdo con las cifras disponibles del sistema SIAP-SARGARPA, aporta en promedio el 1.5% del volumen total de la producción nacional (Hernández, 2006).

La tabla 1 muestra la producción de chile en el estado de Nuevo León, en el año 2010 se observa un incremento de las hectáreas sembradas, cosechadas y en la producción (SAGARPA 2010).

Tabla 1.-Producción de chile en el estado de Nuevo León

	Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosecha (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
1	CADEREYTA JIMENEZ	834.00	762.00	17,676.00	23.20	11,777.83	208,185.00
2	GALEANA	40.00	40.00	1,000.00	25.00	7,000.00	7,000.00
3	VALLECILLO	38.00	38.00	538.00	14.16	6,894.98	3,709.50
4	LINARES	27.50	27.50	962.50	35.00	7,000.00	6,737.50
5	MONTEMORE LOS	5.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		944.50	867.50	0.92	37,663.18	32,672.81	

Fuente: SAGARPA, 2010

5.1.3. Merma de producto por deterioro

El problema de plagas y enfermedades por deterioro es uno de los más serios para los agricultores del estado de Nuevo León ya que es una lucha que se da año con año, causando pérdidas muy considerables tanto en el cultivo de chile y el de tomate. Tan solo en la región se han llegado a perder desde un 40 hasta un 60% de la producción de chiles (Martínez 2009).

Los factores que afectan la sobrevivencia y el crecimiento de patógenos y organismos causantes de deterioro en frutas y vegetales son muy variados, teniendo por ejemplo las características físicas de cada vegetal, así como las superficies rugosas e irregulares de las hojas o la superficie rígida del melón la cual puede servirle para aislar microorganismos y protegerlos de la eliminación o inactivación. Un gran número de grietas y crestas le proporciona una superficie mayor y mayores oportunidades para la inserción de patógenos. Estas grietas y la naturaleza hidrofóbica de la cera en algunas frutas y vegetales pueden impedir que las soluciones desinfectantes lleguen a los microorganismos ocultos. Los componentes del tejido de frutas y vegetales también pueden neutralizar el cloro, provocando que no sea efectivo para eliminar microorganismos (León et al., 2009).

Un ejemplo de esto es el estudio realizado por Liao et al. en el 2010 donde encontraron que al inocular chile jalapeño y el tallo de este con *Salmonella Saintpaul*, esta se adhería mejor a las superficie rugosa del tallo que a la superficie lisa de la parte comestible.

Así mismo no solo influye la superficie de los vegetales, sino también el empaclado final y el modo de preparación de los mismos, por ejemplo las ensaladas empacadas en bolsa listas para su consumo, pueden proporcionar las condiciones para la proliferación y sobrevivencia de patógenos, debido a que las superficies de vegetales cortados excretan nutrientes, los cuales pueden ser utilizados para su crecimiento, además se ha reportado que patógenos como *E. coli O157:H7* y *Listeria monocytogenes* han mostrado que se adhieren a las superficies de lechuga picada y penetran al tejido interno lo que provoca una barrera de protección para estas bacterias contra los desinfectantes químicos utilizados (Takeuchi and Frank 2000).

5.2. Fuentes de contaminación de frutas y verduras

En la trayectoria que recorren los alimentos del campo a la mesa se tienen múltiples fuentes de contaminación. Esta trayectoria puede ser dividida en varias etapas:

- Pre-cosecha.
- Cosecha.
- Post-cosecha.
- Venta-consumidor.

Las frutas y vegetales pueden contaminarse con patógenos humanos en cualquier etapa de la cadena. Si no se tienen medidas de control adicional para minimizar la contaminación, los patógenos pueden existir e incluso crecer. Dependiendo del hospedero, la virulencia del patógeno y la dosis, el consumo de frutas y verduras contaminadas puede resultar en enfermedad y en algunos casos hasta muerte (León et al., 2009).

Los estándares de higiene en la cosecha, de irrigación y de almacenamiento pueden variar ampliamente en diferentes países, en donde el potencial de contaminación de vegetales puede ser incrementado y los consumidores pueden ser expuestos a altos números y/o diferentes cepas de microorganismos patógenos (Heaton and Jones, 2008).

En 1998 el gobierno de Estados Unidos por medio de la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA) implementó una guía relacionada con las “Buenas Prácticas Agrícolas“(GAPs) titulada Guía para Minimizar los Peligros Microbianos de Seguridad Alimentaria para las Frutas y Vegetales Frescos (Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables, USFDA-CFSAN, 1998). En este documento se identificaron los factores de riesgo en los cuales se puede implementar un control de contaminación microbiológica en frutas y vegetales frescos en la etapa de pre-cosecha y cosecha, estos incluyeron temas como la calidad microbiológica del agua, uso del abono y del compostaje, así como la higiene y salud del trabajador.

En México los sistemas que minimizan los riesgos de contaminación en el campo, son las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y Buenas Prácticas de Manejo (BPM), las cuales tienen por objetivo prevenir la contaminación de productos hortofrutícolas con microorganismos patógenos, sustancias tóxicas y materiales extraños; durante el crecimiento, cosecha, selección, embalaje, almacenado y transporte (Ávila 2004).

Las BPA y BPM incluyen actividades relacionadas con el uso del terreno de cultivo, calidad del agua de uso agrícola y del agua para consumo humano, así como las prácticas de uso; manejo de fertilizantes y plaguicidas; control de plagas urbanas, higiene de las instalaciones de trabajo, instalaciones sanitarias y transporte y salud e higiene de los trabajadores. A partir de julio de 2001, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación adquiere competencia en materia de Inocuidad Alimentaria. Esto estableció atribuciones específicas para el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), el cual a través de la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera (DGIAAP) establece un Programa Nacional para promover, difundir y capacitar a los productores

Hortofrutícolas nacionales en materia de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manejo (Ávila, 2004).

En el Reino Unido existen directrices generales disponibles para productores agrícolas que aconsejan sobre el tratamiento de fertilizantes, su correcta aplicación y calidad de agua de riego utilizada con el objetivo de limitar la contaminación de los cultivos, dichas directrices se encuentran disponibles en el Código de Buenas Prácticas Agrícolas del Departamento del Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (Department of the Environment, Food and Rural Affairs, 2009).

Cada uno de estos documentos apoyan a las personas dedicadas a la agricultura, independientemente del país del que se trate, con un fin común: la producción de alimentos inocuos. Sin embargo aún llevando a cabo y aplicando las recomendaciones ahí descritas, siguen existiendo múltiples riesgos que pueden causar la contaminación de los alimentos.

5.2.1 Pre-cosecha

Esta etapa es considerada como la primera etapa de la cadena de la granja a la mesa, e incluye sembrado, crecimiento, riego y otras actividades y tratamientos asociados con la planta madura (León et al., 2009).

De acuerdo a Doyle y Erickson (2007), existen dos factores importantes que pueden incrementar la contaminación de microorganismos patógenos en los vegetales:

1. Proximidad de la parte comestible de la planta al suelo. Los tubérculos como las zanahorias, cebollas, papas, etc. o cultivos que crecen cerca al suelo como lechuga, tomate, cilantro, etc. tienen más probabilidad de contaminarse.
2. Concentración de patógenos en suelo contaminado en el cual crece el vegetal. Altas poblaciones de microorganismos patógenos en el suelo incrementan la probabilidad que el vegetal este contaminado al momento de la cosecha. Así mismo altas concentraciones de contaminación en agua de irrigación se

convertirá en altas cargas de contaminación en el suelo y en altas probabilidades de contaminación en la planta.

5.2.1.1 Agua de riego

Dondequiera que el agua entre en contacto con productos frescos, la calidad de ésta determina el potencial de contaminación de patógenos. La fuente del agua de riego, cómo es distribuida y el tipo de riego que es usado, son factores importantes que influyen en la contaminación de frutas y vegetales frescos (USFDA-CFSAN, 1998).

El estudio de Steele y Odumeru, (2004) menciona que el riesgo de transmisión de enfermedades por la presencia de microorganismos patógenos en el agua de riego es influenciado por el nivel de contaminación y aunque generalmente el agua subterránea tiene buena calidad, la calidad en aguas residuales es muy pobre por lo que requiere tratamientos extensivos antes de que pueda ser usada en cultivos.

Por otro lado, el riego de cultivos es uno de los mejores usos de aguas residuales debido a que contiene nutrientes (nitrógeno, fosfatos, potasio y oligo-elementos) que son aprovechados por las plantas, a pesar de que en múltiples estudios se ha demostrado que el uso de aguas residuales sin tratar ha sido implicada como una de las fuentes más importantes de contaminación de vegetales con microorganismos patógenos. (Goyal et al. 1977; Doyle 1990; Wei et al. 1995; Assadian et al. 2005).

Además, el potencial de contaminación de los vegetales vía agua de irrigación está aumentando en el mundo, por el uso de agua residual no tratada en aproximadamente el 10% de los cultivos (Anon 2003). También se ha encontrado en diversos estudios que el uso de aguas residuales para el riego de cultivos, particularmente en áreas áridas con recursos de agua limitados de los países en desarrollo a aumentado en las últimas dos décadas (Mara & Cairncross 1989; Okafo et al. 2003), a pesar que la organización mundial de la salud recomienda que los vegetales que se comerán crudos deberán de ser irrigados solo con aguas residuales biológicamente tratadas para su desinfección,

conteniendo niveles de coliformes no mayores a 100 UFC por 100 ml en el 80% de las muestras (WHO, 1975).

En el estudio realizado por Steele et. al. 2005, se recolectaron 500 muestras de agua de irrigación de 17 granjas diferentes ubicadas al sur de Ontario, Canadá durante la temporada de riego del 2002, dichas muestras fueron analizadas para la identificación de microorganismos indicadores como: coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y estreptococos fecales, tomando en cuenta los niveles aceptables de estos microorganismos de acuerdo a las directrices para la protección del agua para uso agrícola publicadas por el Consejo Canadiense de Ministros de Medio Ambiente (The Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Agricultural Water Uses published by the Canadian Council of Ministers of the Environment, CCME) los resultados obtenidos fueron los siguientes: entre el 70.6 – 96.4% de las muestras de agua de irrigación se encontraban dentro de los niveles aceptables de coliformes fecales, entre el 78.0 – 98.2% de las muestras obtuvieron valores aceptables de *E. coli*, para estreptococos fecales 81% de las muestras fueron aceptables, pero en contraste solo el 8.10% de las muestras fueron aceptables para coliformes totales. Esto sugiere que el agua usada para riego de cultivos de vegetales que se consumen sin tratamiento térmico previo debe de ser analizada regularmente para asegurar que la calidad del agua utilizada es aceptable. Así como también sugiere que la contaminación encontrada en el agua se puede transferir a los vegetales, influyendo en la calidad microbiológica del vegetal fresco listo para su consumo.

5.2.1.2 Suelo

Los microorganismos patógenos pueden estar presentes de forma natural en el suelo, como *Listeria spp.*, o pueden ser incorporados en el suelo por la adición de materia orgánica como fertilizante. Los microorganismos patógenos encontrados en el suelo pueden contaminar los cultivos directamente durante la lluvia o durante el riego (Nicholson et al., 2005).

Al igual que las aguas residuales son utilizadas como fuente de nutrientes para los cultivos, los desechos animales en forma de estiércol son ampliamente utilizados para la tierra de los cultivos, ya que es una de las técnicas más económicas y ambientalmente sustentables debido a su tratamiento y reuso (Islam, et al 2004).

Sin embargo el uso de estiércol como fuente de nutrientes para los vegetales ayuda a introducir microorganismos patógenos directamente al cultivo pudiendo contaminar directamente al producto o al agua de irrigación (Heaton and Jones, 2008).

Los tiempos de sobrevivencia de los microorganismos patógenos a menudo son inconsistentes y reflejan variabilidad en ambientes de propagación y tratamientos de residuos orgánicos. Kadva et al., 1998 demostró que la aireación de estiércol ovino disminuyó la sobrevivencia de *E. coli* O157:H7 de más de 365 a 120 días.

El estiércol animal y los desechos biológicos sólidos pueden proporcionar fertilizantes eficaces y seguros si son tratados de manera adecuada. Si el tratamiento es inadecuado o si no se utiliza tratamiento alguno, el riesgo de contaminación de las frutas y hortalizas con microorganismos patógenos es extremadamente elevado. La tasa de supervivencia de los contaminantes en el estiércol y su transferencia a las cosechas depende de un cierto número de factores, que incluyen el tipo de suelo, la tasa de aplicación del estiércol, el pH del suelo, el método de transformación en abono y el momento de su aplicación (Ingham et al., 2005).

La aplicación continua de estiércol no tratado en un suelo podría dar lugar a una amplia supervivencia y crecimiento de microorganismos patógenos, lo cual incrementa el riesgo tanto de contaminación en el suelo como de diseminación de la contaminación a los lugares circundantes (Lineback et al., 2002).

Aún con el uso de estiércol que ha sido tratado adecuadamente, no es posible eliminar completamente las bacterias, parásitos y virus de este, sin embargo los productores pueden enfocarse en utilizar otras estrategias para minimizar los niveles de

contaminación microbiana. Dichas estrategias pueden ser activas (uso de compostas, pasteurización, etc.) o pasivas (paso del tiempo) (Lineback et al., 2002).

Un tema especialmente polémico es el tiempo que debe pasar entre la aplicación del fertilizante y la cosecha. “The National Organic Standards” recomienda dejar pasar un intervalo de tiempo de 90 – 120 días entre la aplicación del fertilizante y la cosecha, dependiendo si la parte comestible de la planta entra en contacto con el suelo (Bihn and Gravani, 2005).

Algunos comercializadores de vegetales solicitan que el estiércol no se haya aplicado como fertilizante durante 5 años antes de la siembra, o en casos extremos solicitan que el estiércol nunca se haya aplicado a los cultivos (Bihn and Gravani, 2005).

5.2.2. Cosecha

La etapa de cosecha en los campos de cultivo marca el inicio de una cadena de operaciones que alteran el estado fisiológico de los vegetales. Principalmente esta el daño mecánico que se produce al cortar el vegetal, esta operación crea superficies susceptibles a contaminarse con bacterias patógenas si no se manejan adecuadamente (Doyle and Erickson, 2007).

Las fuentes de contaminación en esta fase son variadas, debido a que puede influir la contaminación que ocurrió durante la pre-cosecha. Además, el tipo de contaminación que pueda ocurrir durante y después de la cosecha son afectados si los vegetales son empacados en el campo (listos para su distribución inmediata) o si el producto es sujeto a un lavado y seguido del empacado en la planta de procesamiento (área de empacado) (León et al., 2009).

Durante la cosecha. En una encuesta realizada a granjas y a empacadoras en varios estados de Estados Unidos se encontró que el 94% de hectáreas sembradas de frutas y el 87% de hectáreas sembradas de vegetales eran cosechadas a mano (USDA,

2001). Esto es una fuente de contaminación considerable si no se le da la importancia adecuada a la higiene de los trabajadores, así mismo si algunos de los trabajadores se encuentra enfermo y es portador de patógenos entéricos sin mostrar síntomas. Algunos brotes han sido relacionados a trabajadores del campo, igualmente la mayoría de las granjas participantes contestaron que no requerían que sus trabajadores se lavaran las manos antes de la cosecha. Además poco personal de las granjas estaba familiarizado con los términos de control de calidad mencionados en la guía de la FDA, tales como buenas prácticas de manufactura (GMPs), buenas prácticas agrícolas (GAP), el análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) (Clayton, 2006).

La significancia de la contaminación de productos vegetales durante el crecimiento y la cosecha no está bien establecida debido a que una vez que el brote ocurre, es difícil determinar si la fuente de contaminación fue específicamente durante la pre-cosecha. Sin embargo, para la mayoría de los productos, la contaminación ocurre en la superficie de los mismos, existiendo evidencia que agentes patógenos pueden tener lugar por la acción capilar por los espacios o grietas y/o tejido dañado de la planta durante su producción (León et al., 2009).

La FDA dentro del documento “Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables” incluye un apartado de Consideraciones Generales para la Cosecha (General Harvest Considerations), las cuales incluyen las siguientes:

- Las instalaciones utilizadas para almacenar el producto fresco deberán de estar limpias, desinfectadas y sin presencia de plagas antes de la cosecha.
- Eliminar contenedores dañados que dificulten su limpieza para evitar contaminación microbiana de los vegetales.
- Los contenedores usados para transportar el vegetal listo para su consumo deberán de ser limpiados y desinfectados continuamente.
- Asegurar que el producto que es lavado, refrigerado o empacado en el campo, no se contamina en el proceso.

- Eliminar tanta suciedad y lodo como sea posible del producto fresco antes de que abandone el campo.

5.2.3. Post-cosecha

Un producto fresco recibe mucho menos tratamiento después de la cosecha; algunos productos son empacados y enviados sin ningún tratamiento previo, mientras que otros son lavados, saneados y empacados antes de ser enviados. Muchos de los productos frescos pasan a través de áreas especializadas llamadas áreas de empacado. El objetivo de los empaques es preparar al producto, que viene directamente del campo, para su distribución, cabe destacar que en ciertos cultivos como los de melón, cilantro y perejil, tienen una contaminación significativamente más alta cuando salen del área de empacado para ser distribuidos que cuando salen del campo y se mandan directamente su distribución. Esto sugiere que ciertos procesos que se llevan a cabo en el empacado tienen una contaminación cruzada y/o proliferación microbiana, desafortunadamente es difícil determinar si las superficies de equipos pueden ser fuente de contaminación hacia los productos o viceversa (Castillo et al., 2004).

En estudios realizados demuestran que los vegetales frescos en las etapas finales del empacado (bandas transportadoras, bandas sin fin y cajas) aumentaban el riesgo de contaminarse con *E. coli* que aquellos productos en las etapas iniciales del empacado como el cesto de cosecha o tanque de lavado (Ailes et al., 2008), lo que hace suponer que la carga microbiana en las bandas transportadoras parece estar altamente relacionada con los niveles microbiológicos en los productos frescos.

También se ha observado altos niveles de coliformes fecales y *E. coli* en las manos de los trabajadores del área de empacado, indicando que el personal que maneja los vegetales es una importante fuente de contaminación (Greig et al., 2007; León et al., 2009).

Sin embargo, existen en el mercado productos para los que es muy importante el uso de empaque ya que preserva la calidad y seguridad del producto que contiene, desde el momento de la manufactura hasta el momento que es usado por el consumidor, además de que lo protege de daños físicos, químicos y biológicos. Cuando el empaque falla, el resultado será un producto que no es seguro para su consumo, sobre todo cuando existe una pérdida de la integridad resultando en la contaminación con organismos indeseables (Cutter, 2002).

5.2.4. Punto de venta

Una encuesta de Food Standards Agency en el Reino Unido, mostró que el 63% de las personas usan supermercados grandes para hacer la mayoría de sus compras relacionadas con alimentos, mientras que solo el 2% usa tiendas locales pequeñas, por lo tanto, si se introducen vegetales contaminados en las instalaciones de un supermercado grande, otros alimentos se pueden ver afectados, así mismo, la probabilidad de que un mayor número de consumidores llegue a enfermarse es mayor (Anon, 2007).

En los pasados 5 años, se han realizado un gran número de estudios para determinar la incidencia de bacterias como *E. coli* O157:H7, *Salmonella* y *L. monocytogenes* en granja y en punto de venta. Estos estudios no apoyan las conclusiones que indican que los vegetales orgánicos tienen más riesgo de contaminarse con patógenos que los vegetales convencionales, por el contrario mencionan que es más probable que el tipo y forma del vegetal tenga mayor influencia para la contaminación de patógenos (Mukherjee et al., 2004, 2006; Phillips and Harrison 2005).

Además es generalmente conocido que un simple lavado con agua a nivel de punto de venta o en el hogar no elimina completamente la presencia de microorganismos patógenos en los vegetales, solo puede ser capaz de reducir el número de estos. Como se ha mencionado anteriormente puede ser que los mismos manipuladores de alimentos contaminen el producto por la falta de las prácticas de higiene recomendadas, como el

lavado de manos antes de preparar alimentos o prevenir la contaminación cruzada entre carne cruda e ingredientes de ensaladas (Clayton and Griffith, 2004; León, et al., 2009).

Adera et al., (1999) realizó un estudio donde de 81 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos entre 1990 y 1994, los trabajadores fueron a quienes se le atribuyó el origen de la contaminación ya que en el 98% de estos brotes, los trabajadores tenían patógenos en sus manos.

Debido a esto, la FDA incluyó una guía de métodos para prevenir la contaminación de alimentos por las manos de los trabajadores. En este Código se indica que el lavado de manos debe de tomar al menos 20 segundos e incluir un chorro de agua caliente y jabón. Este código también especifica que la contaminación de alimentos se puede prevenir con el uso de barreras como guantes, papel encerado y utensilios. Sin embargo varios investigadores opinan que el uso de guantes promueve un deficiente lavado de manos (Clayton and Griffith, 2004).

En un estudio llevado a cabo por la FDA en el 2001 se encontró que el lavado de manos inapropiado fue observado en el 73% de los empleados en establecimientos de servicio completo.

Green et al., (2006) realizaron observaciones a los trabajadores de restaurantes en nueve estados de Estados Unidos (California, Connecticut, New York, Georgia, Iowa, Minnesota, Oregón, Rhode Island y Tennessee) en donde se observó que el 27% de los trabajadores trataban de lavar sus manos cada vez que realizaban una actividad diferente, encontrando también que el 28% de estos no usaban el jabón indicando. De los descubrimientos más inquietantes fue que las manos fueron lavadas solo en el 23% de los trabajadores que manejaban productos crudos de origen animal.

Debido a todo lo anterior es muy importante tomar en cuenta todas las recomendaciones de las Buenas Prácticas Agrícolas y las Buenas Prácticas de Manufactura, así como es importante tomar conciencia del cuidado de los vegetales

desde el inicio de la cadena productiva hasta el consumidor final ya que son múltiples los factores que ponen en riesgo la inocuidad de los mismos.

5.3. Microorganismos indicadores

La detección de patógenos en frutas y verduras es complicada debido a que en la mayoría de las ocasiones los tiempos de detección son largos, además de metodología complicada y de altos costos. Por esta razón, es usada la detección y enumeración de microorganismos indicadores en lugar de la detección directa de patógenos. La presencia de estos organismos normalmente resulta por la contaminación directa o indirecta con materia fecal y por lo tanto sirve como “marcador” de que ha ocurrido una contaminación fecal y como consecuencia una presencia potencial de patógenos. Algunos de los microorganismos indicadores más comunes en los alimentos incluyen bacterias coliformes fecales, coliformes totales, E. coli, enterococos totales y microorganismos mesófilos aerobios (Pierson and Smoot, 2007).

León et al., en el 2009 reportó que para que un microorganismo sea clasificado como indicador debe de cumplir con las siguientes características:

1. Debe de ser un miembro de la flora intestinal de los animales de sangre caliente.
2. Debe de estar presente cuando los microorganismos patógenos están presentes.
3. Debe de estar presente en mayor número que los microorganismos patógenos.
4. Debe de tener características de resistencia similares a los patógenos.
5. Debe de ser detectable mediante métodos rápidos, sencillos y económicos.
6. No deben de ser patógenos.

5.3.1. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios (ACP)

El conteo de estos microorganismos es usado para estimar el número total de bacterias viables en una muestra. (León et al., 2009).

Además, son los más valiosos como indicadores del estado microbiológico existente en determinados alimentos y como evaluadores de la vida útil del alimento. Incluyen todas aquellas bacterias que pueden crecer a temperatura moderada de 30 a 37 °C en un medio aerobio. El ensayo para cuenta total de bacterias mesofílicas aerobias de alimentos perecederos refrigerados como leche, carnes y pescado, puede ser utilizado para indicar el estado del equipo utilizado, así como también permite evaluar el tiempo y la temperatura durante el almacenamiento y distribución del producto (James, 1992).

La variedad de especies y tipos diferenciables por sus necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno, disponible, etc., hacen que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente y la misma refleja si el manejo sanitario del producto ha sido el adecuado (NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa).

5.3.2. Microorganismos coliformes

Los organismos coliformes son indicadores de contaminación o suciedad en el ambiente (León et al., 2009). Se dividen en 2 grupos: Coliformes totales y Coliformes fecales.

5.3.2.1. Coliformes totales

Pertenecen a la familia de las enterobacteriaceae e incluye a organismos aerobios y anaerobios facultativos, gram-negativos que fermentan lactosa con producción de gas en 48 horas a 35°C. Coliformes totales incluyen a organismos como *Echerichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Estos indicadores son usados normalmente para

determinar la calidad del agua potable. Se utilizan ampliamente en plantas de tratamiento de agua, ya que son unos de los mejores indicadores para determinar la eficiencia del tratamiento en la planta (Bitton, 2005).

Sin embargo, los coliformes totales no son de los mejores microorganismos para usar con indicadores de contaminación fecal en vegetales, debido a que en muestras de suelo pueden estar presentes en gran número (León et al., 2009).

5.3.2.2. Coliformes fecales

Los microorganismos coliformes fecales son asociados con el tracto intestinal de animales de sangre caliente (incluyendo los humanos) (León et al., 2009). Son bacterias termotolerantes los cuales tienen la capacidad de fermentar lactosa en 48 horas a 44.5°C. Estos organismos muestran un patrón de sobrevivencia similar a los de microorganismos patógenos pero su utilidad como indicadores de protozoarios o contaminación viral es limitada (Bitton, 2005).

5.3.3. E. coli

Escherichia coli es una bacteria anaerobia facultativa, Gram-negativa que se encuentra naturalmente en humanos y animales como parte de su microflora intestinal. Sin embargo, algunas cepas son capaces de causar enfermedades que van desde una simple diarrea hasta provocar el síndrome urémico hemolítico (HUS) (García and Heredia, 2009).

Los tipos patogénicos de *E. coli* diarreogénicas son clasificadas en al menos seis grupos distintos: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* adherente difusa (DAEC) y *E. coli* enteroagregativa (EAEC). De estas solo los primeros cuatro grupos han sido implicados en enfermedades por el consumo de agua o alimentos (Feng and Weagant, 2002).

EPEC es la causante de la mayoría de las enfermedades diarreicas de infantes en países en desarrollo. Se caracteriza por una diarrea acuosa persistente, sin sangre o mucosa, normalmente acompañada de fiebre y vómito (García and Heredia, 2009).

Se ha reportado que *E. coli* sobrevive temperaturas de congelación a -20°C y almacenamiento a temperaturas frías. Tiene usual resistencia al calor y a las concentraciones de sal como la mayoría de los patógenos. Se ha reportado que crece a pH tan bajos como en la mayonesa, sidra de manzana, jugo de manzana y productos lácteos (Betts, 2000).

E. coli puede contaminar gran variedad de alimentos en diferentes formas, incluyendo manos contaminadas y por el contacto indirecto con agua contaminada. Ha sido reportado en alimentos como vehículos de contaminación como por ejemplo queso, salmón, yogurt, ensalada de frutas, melón, pasteles, vegetales, salami y más notablemente en carne molida de res. Sin embargo, se ha establecido que el proceso de pasteurización para alimentos refrigerados (70°C por 2 minutos) usado para eliminar *Listeria spp.* también puede servir para el control de *E. coli* (García and Heredia, 2009).

En general, los pacientes más vulnerables a las infecciones producidas por *E. coli* son personas muy jóvenes como niños, así como adultos mayores e individuos con defensas bajas o inmunosuprimidos. La calidad microbiológica satisfactoria para *E. coli* en Estados Unidos es < 20 UFC/g con rango aceptable de 20 a 100 UFC/g (García and Heredia, 2009).

5.3.4. Enterococos

Los enterococos son cocos Gram positivos, con resultado negativo a la prueba de la catalasa, inmóviles, anaerobios facultativos, no forman endosporas ni cápsulas y no son inhibidos por las sales biliares (Harwood et al., 2000).

Son encontrados casi exclusivamente en el tracto intestinal de humanos y animales, mientras que otros son contaminantes del ambiente presentes en el suelo, agua y vegetales (León et al., 2009).

Antiguamente, los enterococos eran parte de un subgrupo del género *Streptococcus*, pero en 1984 fueron transferidos al género *Enterococcus*. En la actualidad se admiten 16 especies que son: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. malodoratus*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. cecorum*, *E. sacharolyticus*, *E. columbae*, *E. dispar*. Este género se pueden diferenciar del grupo de los *Streptococcus faecalis* por su habilidad de crecer a 10 y 45°C a un pH de 9.6 y en un medio con 6.5% de NaCl (Harwood et al., 2000).

Los enterococos pueden tener un papel significativo como indicadores de prácticas de limpieza y desinfección deficientes en las industrias de alimentos, debido a su gran resistencia a la desecación, a las temperaturas bajas y elevadas, así como a los detergentes y desinfectantes, bajo pH y bajas concentraciones de sodio como se mencionó anteriormente. Precisamente por su resistencia a la congelación, los enterococos son los indicadores preferidos de prácticas de limpieza y desinfección deficientes en las industrias de congelación de alimentos. Y por su resistencia al calor, pueden sobrevivir a los tratamientos térmicos que permitirían también la supervivencia de virus en algunos alimentos pasteurizados o deshidratados (Poig-Duran, 2002).

Los resultados de varios estudios sugieren que los enterococos pueden ser mejores indicadores de contaminación fecal que los organismos coliformes, por ejemplo en el estudio realizado por Harwood et al., (2000) donde estableció que *Enterococcus* spp. puede sobrevivir por más tiempo en ambientes marinos que coliformes fecales y que el índice de supervivencia a través de procesos de tratamiento de aguas residuales es mayor que la de coliformes fecales. Esto se podría relacionar con el riesgo de enfermedad por patógenos presentes en aguas marinas o dulces.

5.4. Bacterias patógenas en alimentos

5.4.1 Salmonella spp.

Salmonella es una de las principales causas de las enfermedades transmitidas por alimentos en todo el mundo (García and Heredia, 2009).

Este género comprende a organismos bacilos Gram negativos, aerobios facultativos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. Son móviles, con flagelos peritricos y con una temperatura óptima de crecimiento de 37°C (D' Aoust et al., 2001) y son capaces de adaptarse a pH ácidos (Foster and Hall, 1990).

Así mismo este género está dividido en dos especies, *S. enterica* y *S. bongori*. Hasta la fecha se han identificado más de 2500 serotipos y la mayoría de estos tienen el potencial para infectar humanos y diferentes especies de animales (D' Aoust et al., 2001)

Los serotipos de *S. enterica* pueden diferir en la especificidad del huésped, así como en las características clínicas y epidemiológicas. Por ejemplo, el serotipo Typhi solo infecta a humanos, mientras que los serotipos Typhimurium y Enteritidis infectan a un gran número de huéspedes incluyendo humanos, roedores y aves. Así como también muestran distintas rutas de transmisión (García and Heredia, 2009).

Este microorganismo cuenta con factores de virulencia que contribuyen a su patogénesis, así como la habilidad para invadir células, poseer una cubierta completa de lipopolisacárido, capacidad para replicarse intracelularmente y tiene la posibilidad de producir toxinas (Rodríguez and Peregrina, 1999).

La fuente de contaminación más importante de este microorganismo incluye alimentos o agua contaminada con heces, ya que esta bacteria puede estar como estado portador del tracto gastrointestinal de animales y humanos. La vía de transmisión es

fecal-oral y en casos inusuales se puede presentar la transmisión directa de persona a persona (Hu and Kopecko, 2003).

Se ha encontrado que todas las salmonelas son patógenas para los humanos. Son responsables de varios síndromes clínicos como gastroenteritis, septicemia y fiebre tifoidea (Rodríguez and Peregrina, 1999; Madigan et al., 2004; Gallegos, et al., 2008).

La dosis infecciosa depende de cada serotipo, del tipo de cepa, de las condiciones de crecimiento y la susceptibilidad del hospedero. De acuerdo con el Manual de Bergey la dosis infecciosa puede ser de 10^8 a 10^9 células, sin embargo existen datos más recientes que indican que de 1 a 10 células pueden construir una dosis infecciosa para humanos (D'Aoust, 1997).

S. enterica se ha implicado en 2 de los mayores síntomas clínicos en humanos: enterocolitis y fiebre enterica. Sin embargo, la enfermedad más común y característica en humanos causada por *S. enterica* es la enterocolitis, esta enfermedad es caracterizada por dolor abdominal, diarrea, vomito y fiebre, la cual aparece después de 8-72 horas de la exposición al agente infeccioso. Así mismo, la fiebre tifoidea es una enfermedad gastrointestinal aguda la cual es originada por la invasión de *S. Typhi* o *S. Paratyphi* en los tejidos humanos, los síntomas incluyen diarrea acuosa, fiebre prolongada, nauseas y dolor abdominal. Esta enfermedad aparece después de 7 a 28 días de la exposición (García y Heredia 2009).

Una gran gama de frutas y vegetales frescos han sido implicados con infecciones de *Salmonella*, entre los más comunes se encuentran la lechuga, semillas germinadas, melones y tomates (Thunberg et al., 2002).

5.4.2. *E. coli* O157:H7

E. coli O157:H7 se reconoció desde 1982 como patógeno de alimentos y agua contaminada (Abong'ó, et al., 2008; Feng, 2001; Doyle et al., 1993). Se estima que en

Estados Unidos este microorganismo es causa de 73,000 enfermedades y 61 muertes al año (Deisingh and Thompson, 2004). De 1996 al 2000 en el Reino Unido se reportaron 1,724,315 casos de los cuales 1,026 fueron causados por este microorganismo (Goutam et al., 2005).

Los modos de transmisión de este patógeno pueden ser directa (persona a persona), vía fecal-oral o por contacto de animales infectados. En el caso particular de vegetales pueden ser contaminados cuando son irrigadas con agua contaminada o por el uso de materia orgánica contaminada (Abdoul, et al., 1993; Rivas, et al., 2007; Abong'o, et al. 2008). También se ha documentado que este microorganismo es capaz de internalizarse en las partes aéreas de las plantas, teniendo a la raíz como punto de entrada (Bernstein, et al., 2007).

Se ha calculado que la dosis infectiva de *E. coli* O157:H7 (EHEC) puede ser tan baja de entre 10 a 100 células (Nataro, 1998), no obstante, se han reportado rangos de 50-100 organismos y el periodo de incubación puede diferir de 1 a 8 días. Los síntomas pueden ser dolor abdominal con retortijones, seguida al día siguiente o a los 2 días por diarrea no sanguinolenta que progresa en las 24 o 48 horas siguientes a diarrea sanguinolenta, puede durar de 4 a 10 días. La principal complicación después de la infección con esta bacteria es el síndrome urémico hemolítico (HUS), el cual afecta principalmente a los niños (Deisingh and Thompson, 2003; Buchanan and Doyle, 1997; Feng, 2001).

Es por esto que el Comité Consultor de Alimentos y Productos Lácteos del Reino Unido (ACFDP), opina que alimentos listos para consumo deben de estar libres de *E. coli* O157H:7 (Deisingh y Thompson, 2003).

En el año 2000, se presentó un brote en Walkerton, Ontario donde 7 personas de la localidad murieron y 2300 enfermaron como resultado del suministro de agua contaminada proveniente del pozo de la ciudad, el cual contenía residuos de materia fecal de ganado que había sido arrastrado durante las fuertes lluvias de ese año. En el 2001,

100 casos de enfermedad fueron reportados en hogares de ancianos en Ontario mientras que en 2002 hubo otras preocupaciones acerca de agua contaminada en la parte Sur de Ontario. La investigación epidemiológica y microbiológica confirmó *E. coli* O157:H7 como la bacteria causante del brote (Deisingh y Thompson, 2003).

Igualmente uno de los brotes más relevantes que ha existido en Estados Unidos fue en el 2006, causado por espinacas frescas contaminadas con *E. coli* O157:H7, donde 102 personas fueron hospitalizadas, 31 desarrollaron el síndrome urémico hemolítico (SUH) y se confirmaron 3 muertes relacionadas con el brote. La FDA lanzó un comunicado de no consumir espinacas crudas y se retiró del mercado todas las marcas comerciales procesadas y distribuidas por la empresa "*Natural Selection Foods*". El mecanismo preciso de contaminación no ha sido determinado, aunque el 12 de octubre de ese mismo año las autoridades detectaron la misma cepa bacteriana en el estiércol de ganado en un rancho cercano a la planta procesadora y se sospechó que pudo haber sido la fuente de contaminación (CDC, 2006).

Para finales del 2006 un nuevo brote de enfermedades por alimentos contaminados se presentó en 5 diferentes estados de Estados Unidos por el consumo de lechuga en la cadena de comida rápida "Taco Bell". De 71 personas que presentaban enfermedad, se confirmaron 52 casos que tenían la misma cepa de *E. coli* O157:H7 identificada y clasificada por su ADN. Como parte de la investigación la FDA identificó que la fuente de contaminación pudo ser causada por lechuga rallada consumida en la cadena de restaurantes "Taco Bell" y debido a que varios restaurantes de diferentes estados estuvieron involucrados en el brote en el mismo periodo, se aseguró que la contaminación de lechuga ocurrió antes de que llegara a los restaurantes, el proveedor de esta cadena de restaurantes (ReadyPac), informó que recibió la lechuga de una gran variedad de fincas de todo el país, por lo cual no se supo con exactitud el origen de la lechuga contaminada (CDC, 2006).

5.5. Brotes de enfermedades causadas por vegetales cultivados en México

Aunque históricamente se han producido una gran cantidad de brotes en EUA por el consumo de frutas y vegetales, unos cuantos brotes han sido implicados con vegetales producidos en nuestro país, los cuales describimos a continuación:

5.5.1. Brote de Hepatitis A asociado con cebollín

El departamento de salud de Pennsylvania y el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC), investigó un brote de hepatitis A en Monaca, Pennsylvania, donde 555 fueron infectadas y 3 personas murieron. Se realizó un análisis de secuencia del virus el cual arrojó que las secuencias eran idénticas.

Este brote se dio en un restaurante, donde se identificó que ninguno de los trabajadores estaba enfermo de hepatitis A, así que estos no fueron responsables del brote. Se concluyó que las causantes del brote fueron los cebollines presentes en la salsa elaborada en este restaurante, y que la contaminación con VHA se presentó durante la distribución, crecimiento, cosecha, empaclado o refrigeración. Las investigaciones de trazabilidad de estos vegetales comprobaron que provenían de una o más granjas en México (CDC, 2003).

La secuencia genética de la cepa relacionada con el brote fue muy similar a las secuencias obtenidas de personas involucradas en brotes de hepatitis A en Tennessee, Georgia y Carolina del Norte durante septiembre del 2003 y se encontró que cebollines crudos de tres granjas de México fueron los responsables de estos brotes. La contaminación en la granja pudo haber ocurrido por trabajadores o niños infectados que estuvieron en contacto con el producto durante la cosecha o por el contacto de agua contaminada con VHA durante el riego, procesamiento o refrigeración del producto (CDC, 2003).

5.5.2. Brote de Salmonella serotipo Poona asociada con melón

Un total de 155 brotes de Salmonella serotipo Poona se presentaron en diversos estados de EUA durante los años 2000, 2001 y 2002 por el consumo de melón. La FDA en conjunto con las agencias estatales de regulación de alimentos realizaron investigaciones de rastreo de melón en los puntos de venta, donde se identificó que los melones eran provenientes de granjas de México. En respuesta a los brotes del 2000 y 2001 la FDA realizó investigaciones agrícolas en México y concluyó que no se establecieron medidas para minimizar la contaminación microbiana en las diferentes etapas del cultivo como riego, cosecha, empaque y refrigeración del melón. Las posibles fuentes de contaminación encontradas fueron el riego del campo con agua contaminada de aguas residuales, pocas o nulas prácticas de higiene por parte de los trabajadores de la granja que están implicados en el procesamiento (lavado y empaquetado) del melón, la existencia de plagas en el área de empaquetado de la granja y falta de limpieza y desinfección del equipo que entra en contacto con el melón (CDC, 2002).

En asociación con el brote en el 2001 la FDA ordenó detener la importación de melones proveniente de México y la empresa que recibía estas importaciones se retiró voluntariamente del mercado estos productos. En relación con el brote del 2002, el importador retiró voluntariamente el producto contaminado y la FDA emitió una alerta de importación de melón que detuvo la entrada a los puertos de Estados Unidos a todos estos productos provenientes de México (CDC, 2002).

La FDA en conjunto con el gobierno de México continúa trabajando en un programa de seguridad alimentaria para la producción, empaquetado y entrega de melón fresco (CDC, 2002).

5.5.3. Brote de Salmonella serotipo Saintpaul asociada con tomate y chile

Como base de este estudio se tomó en cuenta este brote ocurrido en el 2008 en Estados Unidos. A continuación se presenta en orden cronológico las acciones que se tomaron por parte del centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) y la FDA para evitar el aumento de personas enfermas y la propagación del brote.

El CDC anunció el brote de Salmonella serotipo Saintpaul el 2 de junio, 2008. Al día siguiente, 3 de junio, la FDA emitió una advertencia a consumidores en Texas y Nuevo México de no comer tomates rojos redondos, ya que después de las entrevistas, se identificó el consumo de tomates crudos como la fuente probable de las enfermedades (Cuite, 2009).

En 30 de junio siguiente, el CDC anunció que su investigación epidemiológica identificó focos de enfermedades entre personas que comieron en restaurantes y se realizaron investigaciones para identificar a los alimentos comúnmente consumidos con tomates, en los alimentos analizados se encontró un tipo de salsa que pudo haber sido la causante del brote. El 7 de julio el CDC identificó al cilantro y chile jalapeño fresco, ingredientes de la salsa, también pudieron haber estado implicados en el brote de S. Saintpaul. Dos días después, se reportó que el chile jalapeño causó algún tipo malestar en los pacientes del brote, así mismo se anunció que se evitara el consumo de chiles jalapeños y serranos crudos. Para el 17 de julio, la FDA retiró la advertencia de no comer tomates diciendo que ya no se encontraban en el mercado tomates frescos relacionados con el brote. Sin embargo la FDA advirtió que evidencias epidemiológicas mostraron que el chile jalapeño y serrano crudos probablemente estuvieron ligados con el mismo brote de Salmonella (Cuite, 2009).

El 21 de julio, Agrícola Zaragoza, Inc. hizo devolver los chiles jalapeño que fueron distribuidos en Georgia y Texas, debido al riesgo de que se pudieran contaminar sus productos con Salmonella. La recuperación del producto fue como resultado del

muestreo realizado por la FDA, en el cual revelaron que una compañía empacadora de chile jalapeño estaba contaminada con la misma cepa de *S. Saintpaul* responsable del brote (Cuite, 2009).

El 25 de julio, la FDA dio un aviso que el chile jalapeño y serrano producido en Estados Unidos no estaba relacionado con el brote de *S. Saintpaul*. Igualmente se anunció que la empresa Agrícola Zaragoza no fue la original fuente de contaminación. Al mismo tiempo la FDA anunció a los consumidores que evitaran el chile jalapeño y alimentos que pudieran contener chile que hubiera sido sembrado, cosechado o empacado en México. El 30 de julio la FDA extendió su advertencia de no consumir chile serrano crudo proveniente de México ni ningún alimento que lo contuviera (Cuite, 2009).

Finalmente el 28 de agosto el CDC anunció que el brote de *S. Saintpaul* parecía haber terminado. Ese mismo día la FDA levantó la advertencia con respecto al consumo de chile jalapeño y serrano de México (Cuite, 2009).

En última instancia se reportaron 1442 casos de enfermedad en 43 estados que fueron ligados con el brote. De éstos, al menos 286 casos resultaron en hospitalización, y la infección tal vez contribuyó a la muerte de dos personas. Las investigaciones sugieren que para cada caso reportado existen 38.6 casos sin reportar. Este brote de *S. Saintpaul* ha sido uno de los más grandes de Estados Unidos en más de una década, y es de importancia para la salud pública evitar este tipo de riesgos (Cuite, 2009).

Es por esto que la calidad e inocuidad de los alimentos que son consumidos crudos como frutas y vegetales debe estar presente desde el momento de la siembra hasta su consumo, para lo cual se requieren estudios en el campo y punto de venta que puedan ayudar a identificar los posibles riesgos de contaminación por patógenos. Esta investigación proporcionará datos sobre la calidad microbiológica del cultivo de chile jalapeño de gran importancia para los productores y consumidores.

6. HIPOTESIS

Las muestras tomadas del chile jalapeño (*C. annuum*), chile serrano (*C. annuum* var *accuminatum*) y del ambiente están contaminadas con microorganismos indicadores. Existe asociación entre los niveles microbiológicos en el producto con los niveles microbiológicos de las manos de trabajadores, agua y suelo.

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivo general

Identificar, mediante muestreos realizados en campo y punto de venta, el perfil microbiológico del chile jalapeño (*C. annuum*) y chile serrano (*C. annuum* var *accuminatum*) que se vende y se cultiva en el área metropolitana de Monterrey.

7.2. Objetivos particulares

- Determinar los niveles de contaminación por microorganismos indicadores y patógenos en el chile jalapeño (*C. annuum*) y serrano (*C. annuum* var *accuminatum*) en punto de venta en Monterrey, N.L.
- Realizar un muestreo en campo del producto, agua, suelo y de manos de los trabajadores.
- Identificar contaminación microbiana existente, mediante el análisis de las muestras previamente recolectadas.
- Determinar la asociación entre los niveles microbiológicos del producto y los niveles microbiológicos en manos, agua y suelo.

8. MÉTODOS

8.1. Análisis de la calidad microbiológica de chile jalapeño y chile serrano en punto de venta

8.1.1. Muestreo

Las muestras recolectadas en esta investigación se adquirieron en los municipios de Guadalupe, San Nicolás de los Garza, Monterrey, Escobedo y San Pedro Garza García del estado de Nuevo León durante el periodo de octubre del 2010 a enero del 2011.

Los lugares de muestreo fueron tiendas de autoservicio o supermercados y mercados populares de donde se colectaron un total de 80 muestras que comprendían 40 de chile jalapeño y 40 chile serrano, 20 esas muestras fueron recolectadas de supermercados y las 20 restantes de mercados populares. Se seleccionaron vegetales maduros sin ningún daño visible, se tomó la muestra de forma que tuviera el menor contacto con las manos y después fueron colocadas dentro de una bolsa y transportadas en frío al laboratorio para ser procesadas en un lapso no mayor a 24 horas después de su recolección.

Las muestras colectadas de chile serrano y chile jalapeño se separaron en dos partes para su procesamiento: el tallo y la parte comestible o fruto para realizar análisis de cuenta total de bacterias mesofílicas, coliformes totales, coliformes fecales, E. coli O157:H7 y Salmonella spp. por separado.

8.1.2. Análisis microbiológicos

8.1.2.1. Microorganismos indicadores

8.1.2.1.1. Preparación de la muestra

Se pesaron 10 g de la muestra a analizar y se le adicionaron 90 ml de agua peptonada al 0.1% a una bolsa estéril de plástico. Se homogenizó por 1 minuto en un homogeneizador peristáltico (Stomacher Labeasy), hasta obtener una suspensión completa y homogénea. En seguida se procedió a realizar diluciones, para lo cual, a partir de la muestra original se tomaron 200 µl y se colocaron en un tubo con 1800 µl de solución salina estéril al 0.85% y se homogenizó en un equipo vortex. Se realizaron 3 diluciones seriadas para analizar la parte comestible y 4 diluciones seriadas para analizar el tallo.

8.1.2.1.2. Determinación de Cuenta Total de Mesofílicos Aerobios (MA)

La realización de este análisis se llevó acabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Después de preparar las diluciones de las muestras colectadas, se colocaron 100 µl del tubo de dilución correspondiente en una placa estéril de 3 divisiones y se le agregó de 10 a 12 ml de agar cuenta en placa (ACP, Becton & Dickinson, MD, USA) previamente estéril temperados a 45°C, se mezclaron, se dejó solidificar y se incubaron a 35 °C por 48 horas. Para la lectura se seleccionaron placas que tenían un número de entre 25 a 250 UFC.

8.1.2.1.3. Determinación de Coliformes Totales (CT)

La realización de este análisis se llevó acabo de acuerdo con el Manual Analítico Bacteriológico (Bacteriological Analytical Manual, BAM, 2002) de la FDA. De las muestras preparadas, se tomaron 100 µl del tubo de dilución correspondiente y se

colocaron en una placa estéril de 3 divisiones a la que se le agregaron de 10 a 12 ml de agar bilis rojo violeta (RVBA, Becton & Dickinson, MD, USA) previamente hervido y temperado a 50 °C, se mezclaron y se dejó solidificar; una vez solidificado se adicionó una doble capa de aproximadamente 5 ml del mismo agar adicionado con 4-Metilumbeliferil- β -D-glucuronidato (MUG) y se dejó solidificar nuevamente; esta doble capa ayudó a diferenciar E.coli de entre los coliformes. Se incubaron a 35 °C por 24 horas. Se contaron colonias rojas-moradas rodeadas por precipitado de ácidos biliares y se seleccionaron placas que tenían entre 25 a 250 UFC, así mismo se observaron bajo luz ultravioleta para la detección de E. coli tomando como positivas las colonias que presentaban fluorescencia.

8.1.2.1.4 Determinación de Coliformes Fecales (CF)

Para conocer la existencia de coliformes fecales, de las placas de agar bilis rojo violeta se seleccionaron las colonias representativas, se pasaron a tubos con 5 ml de caldo E. coli (Becton & Dickinson, MD, USA) con campana de Durham, se incubaron a 48°C y se revisaron los tubos con producción de gas a 24 y 48 horas.

Para determinar el número de coliformes fecales por gramo se multiplicó el número de colonias sospechosas en el agar bilis rojo violeta por el porcentaje de tubos confirmados como positivos por el factor de dilución.

8.1.2.2. Microorganismos patógenos

8.1.2.2.1. Determinación de E. coli O157:H7

Para saber si E. coli O157:H7 estaba presente en las muestras analizadas, de los tubos con caldo E. coli confirmados como positivos se tomó una azada y se estriaron en agar eosina y azul de metileno (EMB, Becton & Dickinson, MD, USA) y en agar MacConkey-sorbitol (SMAC, Becton & Dickinson, MD, USA) suplementado con telurito y cefixima, se incubaron a 35 °C por 24 horas. Se tomaron como presuntivas las colonias

negras con centro oscuro y brillo metálico en agar EMB y colonias incoloras o beige sin brillo y resultado negativo a sorbitol en el agar SMAC.

8.1.2.2.2. Determinación de Salmonella spp.

La elaboración de este análisis se llevo a cabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos.

8.1.2.2.2.1. Preenriquecimiento

Se pesaron asépticamente 25 g de muestra y se le agregó 225 ml de caldo lactosado (LC, Dickinson and company, MD, USA) estéril como medio de preenriquecimiento, se dejó reposar por 1 hora a temperatura ambiente, pasado este tiempo se midió el pH con un potenciómetro (Hanna instruments), se ajustó a un pH de 6.8 ± 0.2 con hidróxido de sodio 1 N o ácido clorhídrico 1 N estériles y se mezcló. Se incubó a 35 °C por 24 horas.

8.1.2.2.2.2. Enriquecimiento selectivo

Una vez pasado el tiempo de incubación del preenriquecimiento se agitó suavemente la muestra y se tomo 1ml de la mezcla a un tubo que contenía 5 ml de caldo selenito cistina (CS, Becton & Dickinson, MD, USA) y 1ml a otro tubo con medio Vassiliadis-Rappaport (RV, Becton & Dickinson, MD, USA). Se incubó a 35 °C por 24 horas.

8.1.2.2.2.3. Aislamiento

Se tomó una azada de los tubos de CS y RV, previamente agitados y se estrió en el agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD, Becton & Dickinson, MD, USA), en agar Verde Brillante (VB, Becton & Dickinson, MD, USA) y en agar Salmonella Shigella (SS,

Becton & Dickinson, MD, USA). Se incubaron las placas a 35 °C por 24 horas. Se examinaron las placas para investigar la presencia de colonias típicas de Salmonella de acuerdo con las siguientes características:

Agar XLD: Colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro. En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras.

Agar VB: Colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido.

Agar SS: Colonias translúcidas, ocasionalmente opacas. Algunas colonias dan centro negro.

8.1.2.2.2.4. Identificación bioquímica

Se seleccionaron al menos dos colonias típicas de cada medio selectivo que se encontraban bien aisladas. Se tomó el centro de cada colonia y se inocularon 2 tubos, uno con agar triple azúcar hierro (TSI, Becton & Dickinson, MD, USA) y otro con agar hierro lisina (LIA, Becton & Dickinson, MD, USA), por estría en superficie inclinada y por punción en el fondo. Así mismo se inocularon tubos de TSI y LIA con su respectivo control positivo y negativo. Posteriormente se incubaron a 35 °C por 24 horas y se almacenaron en refrigeración las placas de los medios selectivos por si era necesario retomar más colonias.

Se observó el crecimiento en los tubos y se consideró presuntivamente positiva para Salmonella las colonias que dieron las siguientes reacciones: Agar TSI: En el fondo se observó el vire del indicador debido a la fermentación de la glucosa; en la superficie del medio se observó un color rojo más intenso que el medio original debido a la no fermentación de la lactosa ni de la sacarosa. En la mayoría de los casos se observó coloración negra a lo largo de la punción debido a la producción de ácido sulfhídrico.

Agar LIA: Se observó intensificación del color púrpura en todo el tubo por la descarboxilación de la lisina. La mayoría de las cepas de Salmonella producen ácido sulfhídrico en este medio con ennegrecimiento a lo largo de la punción.

8.1.2.2.2.5. Prueba de ureasa

Se seleccionaron al menos dos colonias típicas de cada medio selectivo que se encontraban bien aisladas. Se tocó al centro de cada colonia y se inoculó. Se utilizó como control positivo la cepa *Proteus mirabilis* ATTC 7002 para comparar el vire a color púrpura de las reacciones positivas y un control negativo con el color del medio original, se incubó a 35 °C por 24 horas.

Se descartaron los cultivos que dieron ureasa positiva y se conservaron los cultivos que dieron la prueba negativa (sin cambio de color en el medio).

8.1.2.2.3. Confirmación de patógenos presuntivos

Las muestras que arrojaron resultados positivos a los análisis de patógenos se confirmaron por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), tanto para *Salmonella* como para *E. coli* O157H:7 como se describe a continuación.

8.1.2.2.3.1. Extracción de DNA

Las cepas se sembraron en 5ml de caldo Infusión Cerebro Corazón (ICC, Becton & Dickinson, MD, USA) y se incubaron a 37 °C por 24 horas. Posteriormente se tomaron 0.5 ml del cultivo y se homogenizaron con 1 ml de amortiguador salino de fosfatos (PBS, 0.05M). Se centrifugó a 9000 x g por tres minutos y en seguida se realizaron dos lavados con PBS y finalmente uno con agua miliQ. El precipitado fue resuspendido en 50 µl de agua miliQ. Las muestras se diluyeron 1:10 con Tritón X-100 al 1%, y se calentaron en baño de agua a 95-100 °C por cinco minutos y en seguida se enfriaron inmediatamente en hielo. Después, se tomaron 2 µl que sirvió como templado para la amplificación.

8.1.2.2.3.2. Amplificación

A los 2 µl del ADN extraído se le adicionó 23 µl de la mezcla de reacción que contenía 50 mmol/l Tris-HCl (pH 8.5), 0.20 mmol/l KCl, 3 mmol/l MgCl₂, 0.25 mmol/l de cada uno de los 4 desoxirribunucleótidos (dATP, dGTP, dTTP y dCTP), 0.25 µmol/l de cada oligonucleótido (Tabla 2) y 0.9 U de Taq polimerasa. La amplificación de la reacción se llevó a cabo en un termociclador (TermoHybaid) usando el protocolo reportado por Wang et al. en 1997 que consistió en un ciclo de 94 °C por 15 segundos, 35 ciclos de 94 °C por 3 segundos, 50 °C por 10 segundos y 74 °C por 35 segundos y un ciclo final de 74 °C por 2 minutos y 45 °C por 2 segundos.

Tabla 2.- Oligonucleótidos usados y especie que identifican

Especies	Gen blanco	PCR primers 5'- 3'	Producto (pb)
Salmonella spp.	invA	Sal-3, TATCGCCACGTTTCGGGCAA Sal-4, TCGCACCGTCAAAGGAACC	275
E. coli O157:H7	hlyA	O157-3, GTAGGGAAGCGAACAGAG O157-4, AAGCTCCGTGTGCCTGAA	361

Fuente Wang, R.F., 1997

Los productos de la amplificación fueron separados en un gel de agarosa al 2% con una corriente de 120 v, posteriormente teñidos con bromuro de etidio (50 µg/ml) y finalmente visualizados bajo luz ultravioleta (Gel Logic 200, imaging system).

8.2. Análisis de la contaminación durante la cadena de producción en campo

Se trabajaron 11 granjas productoras de chile jalapeño ubicadas en Cadereyta, Nuevo León, las cuales aceptaron a participar en el estudio. El muestreo se llevó a cabo en la temporada de cosecha de chile jalapeño en el periodo de mayo a junio del 2011.

En la primera visita a cada granja se elaboró un mapa general de la misma, igualmente se tomaron las coordenadas de cada uno de cuadros de cultivo y del agua de pozo que se utilizaba para irrigar los cultivos. También se les realizó una entrevista a los encargados de las granjas, donde se incluían preguntas de logística: hectáreas de producto, fechas de cosecha, días de irrigación, así como la hora del día en la que se realiza la irrigación, equipo de trabajo, lugar de empaque, etc.

Se colectaron para análisis epidemiológico 11 cadenas de proceso de chile jalapeño en la temporada de crecimiento mencionada anteriormente. Se definió como cadena a los diferentes lugares y sustancias con las que el vegetal entró en contacto durante todo el proceso de crecimiento, recolección, distribución y hasta su salida de la granja (Agua, suelo, manos de los trabajadores, etc.).

En total se colectaron:

11 muestras de suelo.

11 muestras de enjuague de producto en pre-cosecha.

11 muestras de enjuague de producto en cosecha.

11 muestras de enjuague de manos en cosecha.

11 muestras de enjuague de producto en distribución.

11 muestras de enjuague de manos en distribución.

5 muestras de agua en el cultivo.

11 muestras del agua de pozo.

1 muestra de enjuague de producto en el empaque.

1 muestra de enjuague de manos en el empaque.

8.2.1. Selección del lugar de muestreo

Para seleccionar el lugar de donde se colectaron las muestras se utilizó una tabla de números aleatorios (Apéndice I) en donde se seleccionó un número al azar, este número representó el número de pasos que se caminó a lo largo del cultivo, si el número de pasos sobrepasó la longitud del cultivo, no se tomó la muestra, sino que se volvió a seleccionar otro número hasta que se consiguió un número que quedaba dentro de la

longitud del mismo. Posteriormente se seleccionó otro número aleatorio y este representó el número de pasos a caminar a lo ancho del cultivo, nuevamente si el número de pasos sobrepasó lo ancho del cultivo, no se tomó la muestra, sino que se seleccionó otro número hasta que se consiguió un número que quedaba dentro de lo ancho del mismo. Se repitió este procedimiento hasta conseguir los 3 puntos de muestreo aleatorios en cada cultivo.

8.2.2. Toma de muestra de suelo

Antes de tomar la muestra se revisó que el material estuviera completo y en condiciones adecuadas, una vez teniendo el material completo, se localizó el punto de muestreo siguiendo el procedimiento anteriormente descrito de selección del lugar del muestreo, se tomó la muestra de suelo antes de caminar por el área. Para esto, se insertó una cuchara estéril en el suelo a un ángulo de 45° y a una profundidad de 5 cm y se colocó gradualmente en posición paralela a la superficie del suelo, se repitió este procedimiento 7 veces en un patrón circular no mayor de 30 cm de diámetro, lo recolectado se colocó en una bolsa Whirl-Pak Nasco de 500 ml hasta completar una muestra con un peso mínimo de 100 g, se colocó la bolsa con suelo dentro de una hielera con geles fríos y se llenó el formato de recolección de muestras. Se repitió este procedimiento hasta conseguir las tres muestras de los tres diferentes puntos de muestreo aleatorio.

8.2.3. Toma de muestra de vegetal

Una vez teniendo el material completo y en condiciones adecuadas para tomar la muestra, se localizó el punto de muestreo siguiendo el procedimiento descrito anteriormente de selección del lugar del muestreo, se colocaron guantes de látex para evitar la contaminación de las muestras colectadas.

Se tomaron muestras del vegetal en diferentes etapas del proceso dentro de la granja; la primera muestra de producto se tomó en precosecha, es decir, antes de que el

vegetal estuviera en contacto con las personas que cosechan el vegetal, también se tomó muestra de producto en cosecha (una vez que el trabajador ha desprendido el vegetal de la planta), así mismo se tomó muestra del producto en distribución, entendiéndose como distribución al lugar donde el producto es recolectado en el campo de cultivo, colocado en arpillas o costales y después transportado a la empacadora o al punto de venta y por último se tomó muestra de producto en el empaque, entendiéndose esto como la instalación donde el producto es colocado en cajas o costales con maquinaria especializada y después transportado para su exportación o venta.

Para la muestra de producto en precosecha solamente se tomó producto adecuado para la cosecha, teniendo en cuenta que el vegetal estuviera maduro y que no presentara signos de daño por el sol o podrido, con unas pinzas estériles se tomó una muestra de 14 jalapeños, se colocó en una bolsa Whirl-Pak Nasco de 2 l con 500 ml de agua peptonada estéril al 0.1%, si en una planta no había vegetal suficiente para tomar la muestra, se colectó de una planta lo más cercana posible a la anterior, se agitó la bolsa con el producto vigorosamente por 30 segundos, posteriormente se le dio masaje a la superficie del producto por 60 segundos, tratando de masajear cada uno de los jalapeños contenidos en la bolsa, después se agitó nuevamente la bolsa por otros 30 segundos. Debido a que solo se iba a transportar el enjuague de producto, se sacó el jalapeño de la bolsa moviendo las manos desde la base hacia arriba con cuidado de no tirar el agua, se etiquetó la bolsa con la leyenda “Producto Precosecha 1”, se cerró la bolsa y se colocó en una hielera con geles fríos, se llenó el formato de colección de muestras y se repitió este procedimiento hasta completar los tres lugares de muestreo aleatorios.

Para la recolección de la muestra de producto en cosecha, distribución y empaque se siguió el siguiente procedimiento: Primeramente se le leyó al trabajador el consentimiento informado y se le preguntó si quería participar en el estudio, una vez que el manipulador aceptó participar se le pidió que colocara 14 jalapeños en una bolsa Whirl-Pak Nasco de 2 l con 500 ml de agua peptonada al 0.1% estéril. Por respeto al tiempo del trabajador, inmediatamente después de recolectar la muestra de producto se dejó la bolsa a un lado y se le pidió al trabajador muestra de sus manos (procedimiento

que se mencionará más adelante), una vez colectada esta muestra, se siguió el procedimiento anteriormente mencionado,

8.2.4. Toma de muestra de manos

Antes de tomar la muestra se revisó que el material estuviera completo y en condiciones adecuadas para tomar la muestra. Se tomó muestra de manos en los diferentes lugares donde existe personal en contacto con el producto: cosecha, distribución y empaque (si se estaba empacando producto); en los tres lugares se siguió la siguiente metodología:

Primeramente se leyó el guion oral del consentimiento informado al trabajador, una vez que el trabajador entendió la información y aceptó dar la muestra de lavado de manos se abrió la bolsa Whirl-Pak Nasco de 2 l con 750 ml de agua peptonada al 0.1%, se le pidió al manipulador que metiera una mano en la bolsa y la enjuagara por 30 segundos, después se le dio masaje a las manos del empleado por 60 segundos, asegurándose que se le dio masaje a cada dedo, la palma, la muñeca y que se limpió debajo de cada uña con las manos todavía sumergidas en el agua; y se le pidió que repitiera el mismo procedimiento con la otra mano, una vez tomada la muestra se le proporcionó al trabajador papel secante para que secara sus manos y se agradeció su ayuda, se cerró la bolsa y se etiquetó con la leyenda “Manos Cosecha, Distribución o Empaque” según el lugar donde se tomó la muestra, se colocó en una hielera con geles fríos, se llenó el formato de colección de muestra y repitió este procedimiento hasta completar los tres lugares de muestreo aleatorios tanto de cosecha como de distribución y empaque.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio tan pronto como fue posible para su análisis.

8.2.5. Toma de muestra de agua

Se tomó muestra de agua de dos lugares diferentes. El primer lugar donde se tomó muestra fue del agua en el campo de cultivo que se utiliza para irrigación y por lo tanto entra en contacto con la planta del producto analizado, a la cual se le llamó agua de sitio; y el segundo lugar correspondía al agua del pozo que abastece al cultivo de chile jalapeño, a la cual se le llamó agua fuente.

Se colectó el agua de sitio en el lugar más próximo donde el agua entra en contacto con el producto, como el sistema de riego era por goteo se tuvo que desconectar la manguera de la cintilla, ya que en esta manguera la presión era mayor que en la cintilla, por lo tanto, el tiempo de colecta de muestra era menor, se limpió la manguera con una torunda impregnada con hipoclorito de sodio, se dejó correr el agua por 30 segundos antes de colectar la muestra, se colectó 1.5 l de agua en una bolsa Whirl-Pak Nasco de 2 l estéril, cuidando que la manguera no tocara las paredes de las bolsas, se cerró la bolsa y se volvió a conectar la manguera a la cintilla. Se colocó la muestra en una hielera con geles fríos, se llenó el formato de colección de muestras, se repitió este procedimiento hasta completar los tres lugares de muestreo aleatorios.

Para colectar la muestra de agua de fuente se localizó el pozo que abastecía el cultivo, una vez ahí se limpió la manguera con una torunda impregnada con hipoclorito de sodio, se dejó fluir el agua por 30 segundos y se colectaron dos muestras de 2 l de agua en una bolsa Whirl-Pak Nasco estéril, cuidando que la manguera no tocara las paredes de las bolsas, se cerró la bolsa, se colocó la muestra en una hielera con geles fríos, se llenó el formato de colección de muestras. Las muestras fueron transportadas al laboratorio tan pronto como fue posible para su análisis.

8.2.6. Análisis microbiológicos

8.2.6.1. Preparación de muestra compuesta.

Una vez que llegaron las muestras al laboratorio se realizó una muestra compuesta que consistió en un total de 100 g de las tres muestras de suelo, 1500 ml de las tres muestras de producto, 2250 ml de las tres muestras de manos, 4.5 l de agua de sitio o 4 l de agua fuente. Para asegurar que las muestras fueran homogéneas se mezcló cada una de las bolsas que se tomaron en el campo, se rotó cada bolsa 360° lentamente en forma vertical 15 veces y de igual manera en forma horizontal 15 veces, y se agregaron las cantidades iguales de cada uno de los tres puntos de 1 campo. Posteriormente se homogenizó vigorosamente la muestra.

8.2.6.2. Análisis de microorganismos indicadores por dilución

Una vez teniendo la muestra compuesta homogénea se procedió a pesar 25 g de suelo, que posteriormente se agregaron a una bolsa Whirl-Pak de 200 ml con 75 ml de agua peptonada estéril al 0.1%, se le dio masaje por 60 segundos hasta obtener una mezcla homogénea y se dejó reposar 15 minutos y se procedió a la realización de diluciones, para lo cual, a partir de la muestra original se tomaron 500 µl y se colocaron en un tubo con 4.5 ml de solución salina estéril al 0.85% y se homogenizó en un equipo vortex y se repitió el mismo procedimiento haciendo dos diluciones seriadas. En el caso de las muestras de enjuague de manos y enjuague de producto, de la muestra compuesta homogénea se pasó directamente a hacer diluciones decimales tal como está especificado arriba.

8.2.6.2.1. Determinación de coliformes totales, coliformes fecales y E. coli

Para la determinación de microorganismos indicadores se tomaron 100 µl de las diluciones y se colocaron en una placa con aproximadamente 7 ml de agar Rapid E. coli 2 (Bio-Rad Laboratories Inc. Ca. USA) por el método de extensión en placa, se esperó a

que se secan en la placa. Las diluciones más concentradas se incubaron a 42 °C durante 24 horas para la determinación de coliformes fecales y *E. coli*, y las diluciones menos concentradas se incubaron a 37 °C por 24 horas, para la cuantificación de coliformes totales. Después de la incubación se contaron las colonias, considerando para coliformes totales y coliformes fecales las colonias de color azul o verde y para el conteo de *E. coli* se tomaron únicamente colonias con coloración morada.

8.2.6.2.2. Determinación de Enterococos

Para la determinación de Enterococos se tomaron 100 µl de las diluciones y se colocaron en una placa con 7 ml de agar KF Streptococcus (Becton & Dickinson, MD. USA), adicionado con 2,3,5-Cloruro de trifenil tetrazolio (TTC) al 1%, y se sembró por el método de extensión en placa; se esperó a que se secase el inoculo en la placa y se incubaron a 37 °C por 48 horas, para la cuantificación de Enterococcus se contaron las colonias de color rojo.

8.2.6.3. Análisis de microorganismos indicadores por filtración

8.2.6.3.1. Método de Filtración

Para este método se preparó el equipo de filtración como se muestra en la figura 1, una vez listo el equipo y utilizando unas pinzas estériles, se colocó una membrana estéril de poro de 0.45 µm (Cuadrícula hacia arriba figura 2) sobre el portafiltro poroso, posteriormente se colocó el embudo sobre el receptáculo, en seguida se colocó los volúmenes que se filtraron de las muestras mediante la bomba de vacío, una vez filtrado el volumen se retiró la membrana con el pinzas estériles y se colocó sobre el medio de cultivo (NOM-244-SSA1-2008).



Figura 1.- Equipo de filtración.

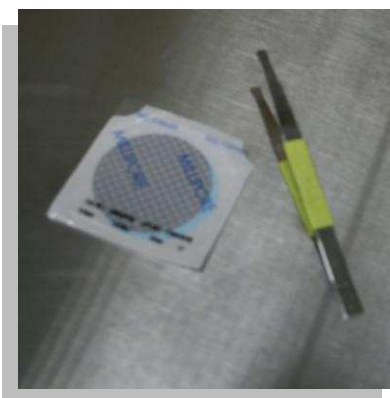


Figura 2.- Membrana estéril de poro de 0.45 μm y pinzas de acero inoxidable

Para asegurar que no existiera contaminación cruzada, se enjuagó el embudo de filtración con etanol al 70% y con agua estéril cada vez que se filtraban diferentes volúmenes y cada vez que filtraba una muestra diferente. Cada 10 muestras se hizo pasar por la membrana agua peptonada al 0.1%, posteriormente la membrana utilizada para este control se colocó en el medio de cultivo correspondiente y se incubó bajo las mismas condiciones de las muestras.

8.2.6.3.2. Determinación de coliformes totales, coliformes fecales y E. coli

Se utilizó el método de filtración descrito anteriormente para la determinación de coliformes totales, fecales y E. coli, se hizo pasar por un embudo de filtración volúmenes

de 50, 100 y 250 ml, una vez que se filtró el volumen correspondiente, cada membrana se colocó en una placa con 7 ml de agar Rapid E. coli 2, los volúmenes de 50 y 100 ml se incubaron a 37°C para la cuenta de coliformes totales, otro juego de placas con volúmenes filtrados de 50, 100 y 250 se incubaron a 42°C, para la cuantificación de coliformes fecales, se tomaron colonias que desarrollaron color azul o verde para los coliformes y para el conteo de E. coli se tomaron únicamente colonias con coloración morada.

8.2.6.3.3. Determinación de Enterococos

Para el caso de las muestras de agua, se hizo pasar por el embudo de filtración con una membrana estéril volúmenes de 50, 100 y 250 ml y posteriormente la membrana se colocó en una placa con 7 ml de agar KF Streptococcus. La incubación e interpretación se realizó de la misma manera descrita en la sección 8.2.6.2.2.

8.3. Pruebas estadísticas

Los resultados estadísticos se obtuvieron con el uso del programa SPSS Statistics 17.0. Para el estudio en punto de venta primeramente se hizo la prueba de Kolmogorov-Smirnov para conocer si las variables tienen una distribución normal, una vez teniendo estos resultados se realizó el Análisis de Varianza (ANOVA).

Tabla 3.- Prueba Kolmogorov-Smirnov

		LogMA	LogCT	LogCF
N		160	160	160
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.7310	4.4131	2.8078
	Std. Deviation	1.47741	1.59585	1.16635
Most Extreme	Absolute	.064	.061	.234
Differences	Positive	.064	.060	.232
	Negative	-.057	-.061	-.234
Kolmogorov-Smirnov Z		.814	.769	2.958
Asymp. Sig. (2-tailed)		.522	.596	.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

De acuerdo a los resultados de la tabla 3, se observó que las cuentas de Mesofilos Aerobios (LogMA) y de Coliformes Totales (LogCT) cuentan con una distribución normal ($\text{sig} > 0.050$), por lo tanto se realizó ANOVA y por el contrario los resultados de Coliformes Fecales (LogCF) no tienen una distribución normal ($\text{sig} < 0.050$) por lo que se realizó Tablas de Contingencia para analizar la relación entre 2 o más variables usando la prueba χ^2 de Pearson.

9. RESULTADOS

9.1 Resultados del análisis microbiológico en punto de venta

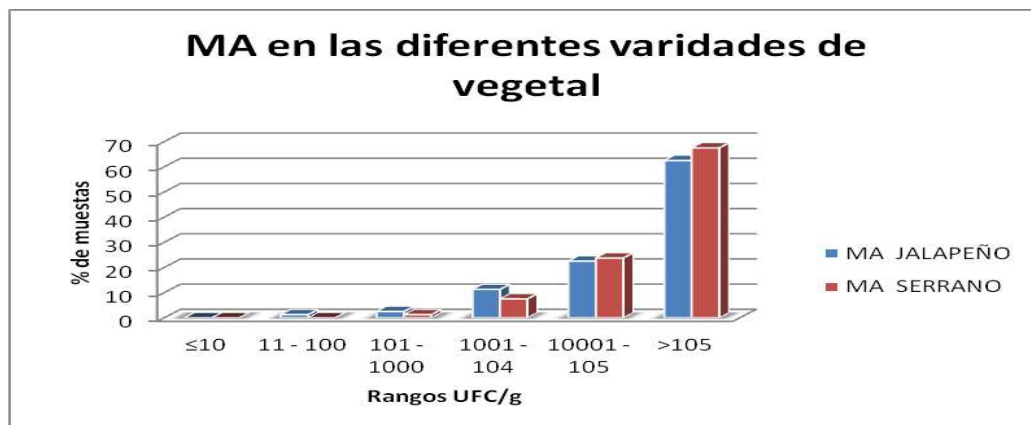
Un total de 160 muestras fueron recolectadas y analizadas durante el periodo de octubre del 2010 a enero del 2011. Los productos procesados incluyeron la parte comestible del chile serrano (40), tallo del chile serrano (40), chile jalapeño parte comestible (40), tallo del chile jalapeño (40). De las 40 muestras de cada variedad (serrano y jalapeño) de vegetal 20 fueron colectadas en supermercados o tiendas de autoservicio y las 20 restantes se colectaron de mercados populares y/o ambulantes.

9.1.1. Cuenta total de microorganismos mesofílicos aerobios (MA)

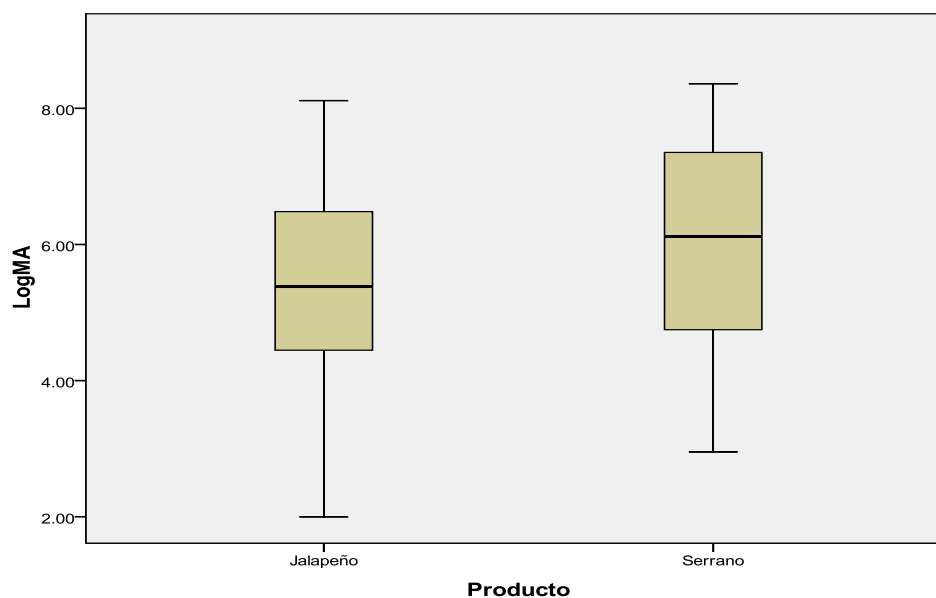
Al analizar los chiles jalapeños y serranos, se observó que más del 60% de las muestras tuvieron cuentas mayores a 10^5 UFC/g en ambas variedades de chile (Tabla 4). No se observó variación entre las diferentes variedades de vegetal (Grafica 1), sin embargo los resultados estadísticos mostraron que existía diferencia significativa ($P > 0.05$) entre las cuentas de organismos mesofilicos aerobios y las diferentes variedades de chile, siendo la variedad de chile serrano la que mostró mayor carga microbiana (Grafica 2, $F = 6.497$; $P = 0.012$).

Tabla 4.- Rangos de la presencia de microorganismos mesofílicos aeróbicos en chile jalapeño y serrano.

Número de muestras positivas (%)		
Rango de moos (UFC/g)	JALAPEÑO	SERRANO
≤ 10	0 (0)	0 (0)
$11 - 10^2$	1(1.25)	0 (0)
$101 - 10^3$	2(2.5)	1(1.25)
$1001 - 10^4$	9(11.25)	6(7.5)
$10001 - 10^5$	18(22.5)	19(23.75)
$>10^5$	50(62.5)	54(67.5)
Total	80(100)	80(100)



Grafica 1.- Niveles de microorganismos mesofílicos aerobios en chile serrano y chile jalapeño.



Gráfica 2.- Distribución de microorganismos mesofílicos aeróbios presentes en las diferentes variedades de chile ($P= 0.012$).

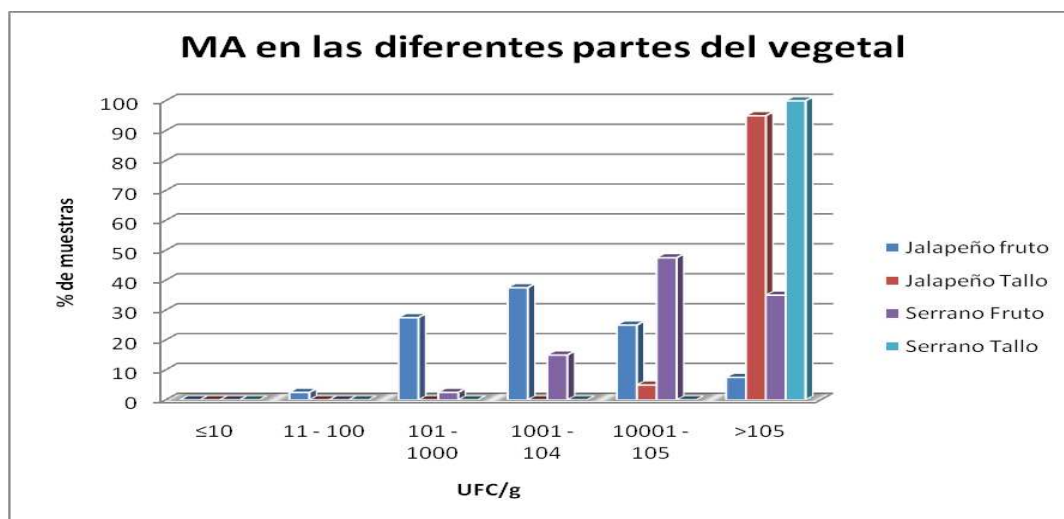
9.1.1.1. Análisis del tallo y parte comestible del vegetal.

Además se encontró que en las muestras de tallo de jalapeño las cuentas se encontraron por encima de 10^4 UFC/g, y en las muestras de tallo de serrano todas las cuentas se encontraron por encima de 10^5 UFC/g, sin embargo las cuentas de la parte comestible de las diferentes variedades se encontraron distribuidas de 10^1 hasta $>10^5$

UFC/g, en donde, el mayor porcentaje de muestras tanto de chile jalapeño como de chile serrano (40% y 47.5% respectivamente) tuvieron cuentas entre 10^4 y 10^5 UFC/g (Tabla 5).

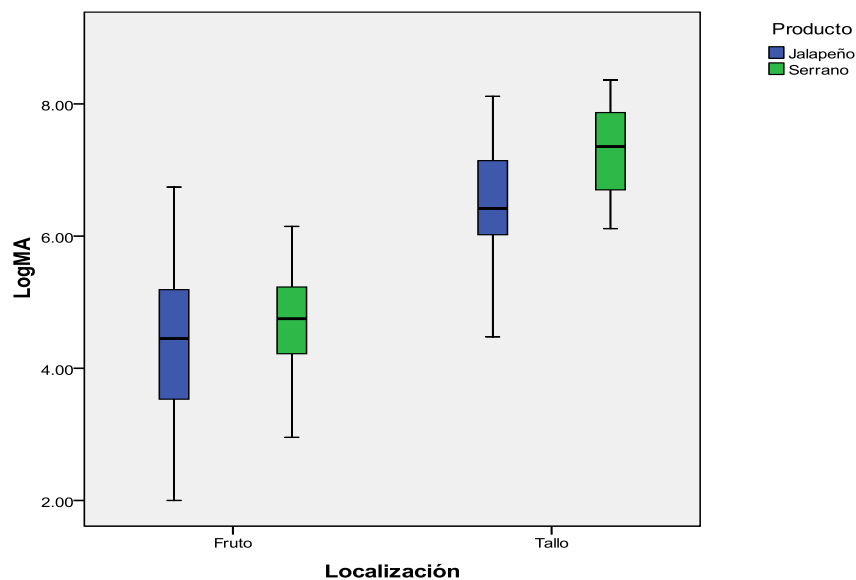
Tabla 5.- Cuentas de microorganismos mesofílicos aerobios comparadas entre las variedades de producto y las diferentes partes del vegetal analizadas.

Número de muestras con microorganismos en el rango (%)				
Rangos de moos (UFC/g)	JALAPEÑO		SERRANO	
	FRUTO	TALLO	FRUTO	TALLO
≤ 10	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
$11 - 10^2$	1(2.5)	0(0)	0(0)	0(0)
$101 - 10^3$	2(27.5)	0(0)	1(2.5)	0(0)
$1001 - 10^4$	9(22.5)	0(0)	6(15)	0(0)
$10001 - 10^5$	16(40)	2(5)	19(47.5)	0(0)
$>10^5$	12(30)	38(95)	14(35)	40(100)
Total	40(100)	40(100)	40(100)	40(100)



Grafica 3.- Niveles de microorganismos mesofílicos aerobios presentes en las diferentes partes del vegetal.

El análisis estadístico mostró que existía diferencia significativa ($P > 0.05$) entre las diferentes partes del producto analizadas (fruto y tallo), $F = 16.899$ $P = 0.000$ (Gráfica 4).



Gráfica 4.- Distribución de microorganismos mesofilos aerobios en las diferentes partes del vegetal analizado ($P = 0.000$).

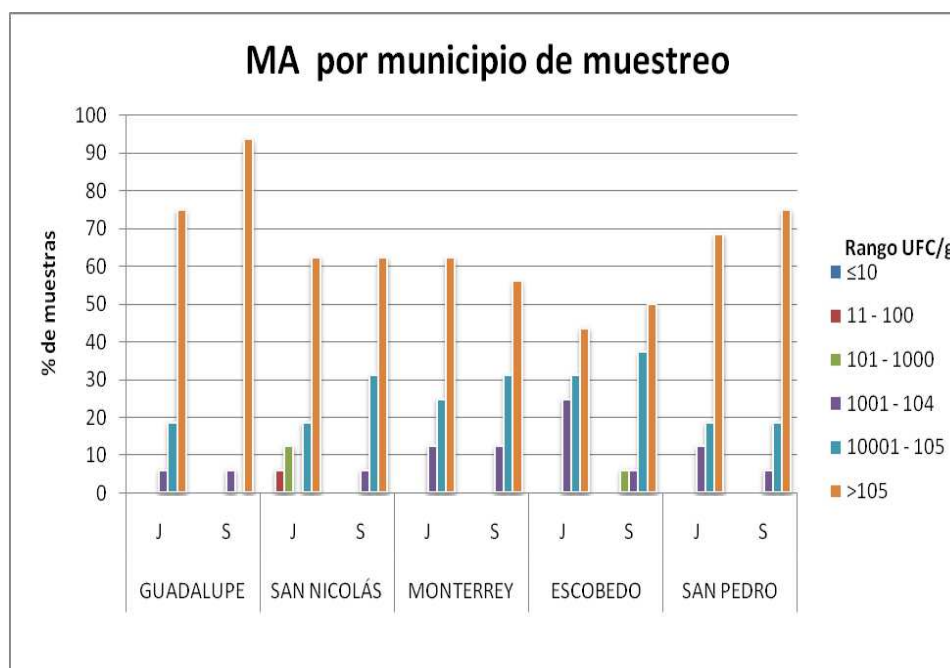
9.1.1.2. Análisis de muestras por municipio de compra.

Al comparar las cuentas de mesofílicos aerobios entre los diferentes municipios de donde provenían las muestras, encontramos que el municipio de Guadalupe fue el que presentó mayor número de muestras con cuentas mayores a 10^5 UFC/g tanto en chile jalapeño como en chile serrano con 75 y 93.75 % respectivamente (tabla 6). En tanto el municipio de Escobedo fue el que presentó menor porcentaje de muestras con cuentas mayores a 10^5 UFC/g con 43.75% correspondiente al jalapeño y 50% a serrano.

Tabla 6.- Cuentas de microorganismos mesofílicos aerobios obtenidas de muestras colectadas en diferentes municipios del área Metropolitana de Monterrey, N.L.

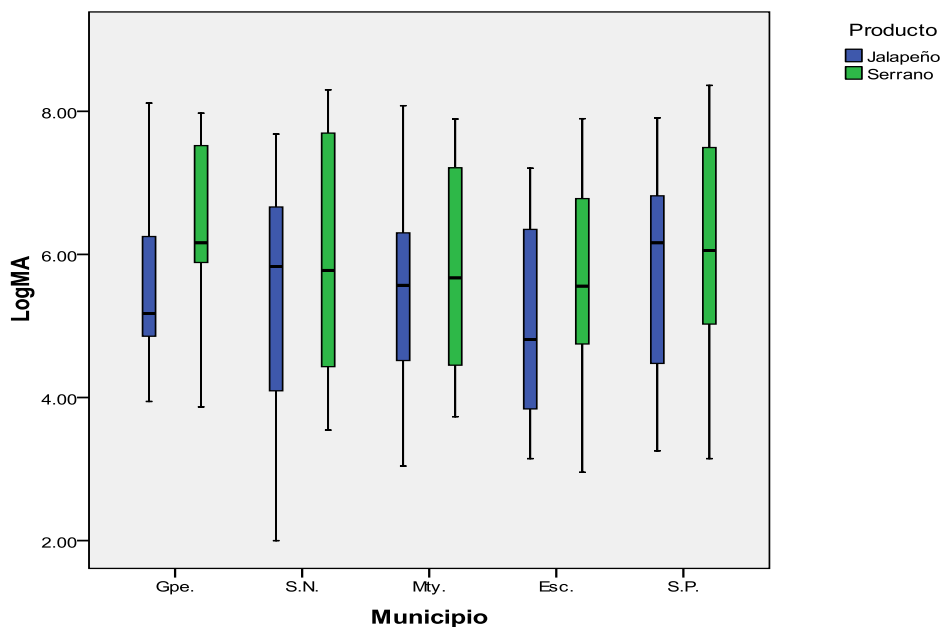
Número de muestras positivas (%)										
RANGOS UFC/g	GUADALUPE		SAN NICOLÁS		MONTERREY		ESCOBEDO		SAN PEDRO	
	J	S	J	S	J	S	J	S	J	S
≤10	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
11 – 10 ²	0(0)	0(0)	1(6.25)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
101 – 10 ³	0(0)	0(0)	2(12.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(6.25)	0(0)	0(0)
1001 – 10 ⁴	1(6.25)	1(6.25)	0(0)	1(6.25)	2(12.5)	2(12.5)	4(25)	1(6.25)	2(12.5)	1(6.25)
10001 – 10 ⁵	3(18.75)	0(0)	3(18.75)	5(31.25)	4(25)	5(31.25)	5(31.25)	6(37.5)	3(18.75)	3(18.75)
>10 ⁵	12(75)	15(93.75)	10(62.5)	10(62.5)	10(62.5)	9(56.25)	7(43.75)	8(50)	11(68.75)	12(75)
Total	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)

J= Jalapeño, S= Serrano



Grafica 5.- Niveles de microorganismos mesofílicos aerobios obtenidos en el chile jalapeño (J) y serrano (S) agrupados por municipios de muestreo.

Los resultados fueron evaluados mediante Análisis de Varianza el cual mostró que existía diferencia significativa ($P > 0.05$) en la cuenta de microorganismos mesofílicos aerobios dependiendo del municipio donde se obtuvieron las muestras (Gráfica 6, $F=2.754$ $P=0.031$).



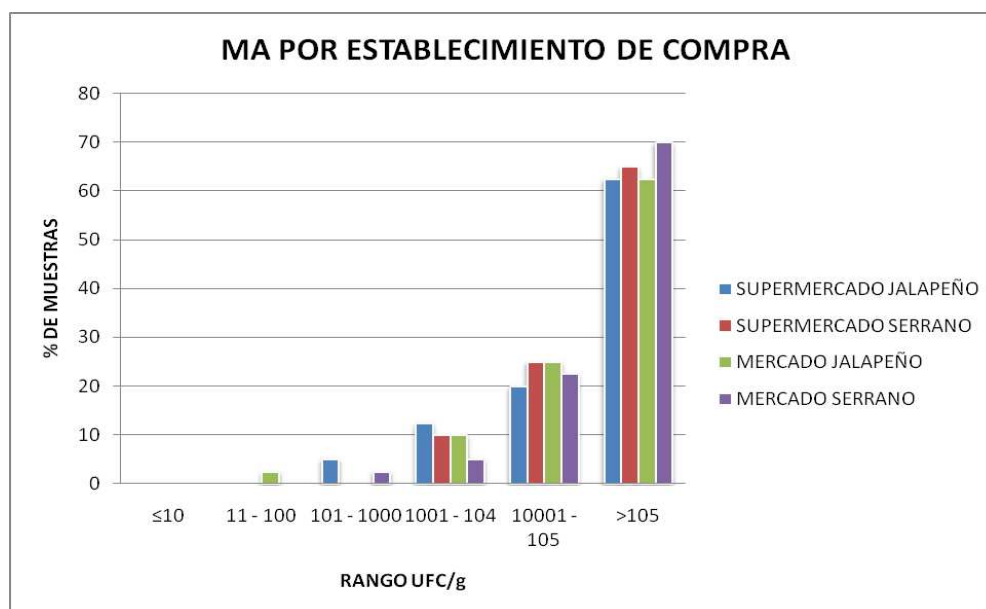
Gráfica 6.- Distribución de microorganismos Mesofílicos aeróbicos presentes en chile jalapeño y serrano en los diferentes municipios analizados. ($P = 0.031$)

9.1.1.3. Análisis de muestras por establecimiento de compra.

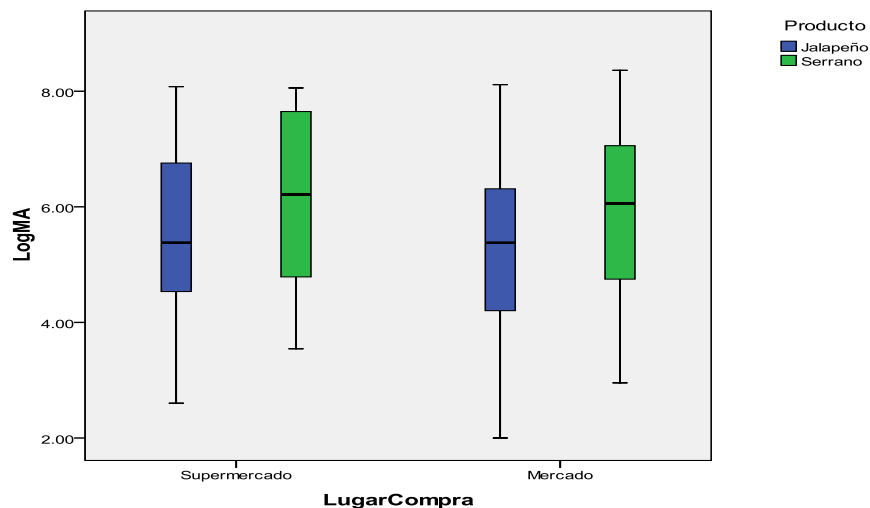
En la comparación de las cuentas de mesofílicos aerobios por el tipo de establecimiento de compra, se observó que el chile serrano adquirido en mercados pequeños tubo mayor porcentaje de muestras con cuentas mayores a 10^5 UFC/g (70%), así mismo de las adquiridas en supermercado las muestras de serrano fueron las de mayor número de cuentas por encima de 10^5 UFC/g con el 65% (Tabla 7, Gráfica 7), sin embargo al realizar el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa entre las cuentas de mesofílicos aerobios y los diferentes lugares de compra ($P= 0.135$). (Gráfica 8).

Tabla 7.- Rangos de microorganismos mesofílicos aerobios de acuerdo al tipo de establecimiento de donde provenía la muestra.

RANGOS UFC/g	Número de muestras positivas (%)			
	SUPERMERCADO		MERCADO	
	JALAPEÑO	SERRANO	JALAPEÑO	SERRANO
≤10	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
11 – 10 ²	0(0)	0(0)	1(2.5)	0(0)
101 – 10 ³	2(5)	0(0)	0(0)	1(2.5)
1001 – 10 ⁴	5(12.5)	4(10)	4(10)	2(5)
10001 – 10 ⁵	8(20)	10(25)	10(25)	9(22.5)
>10 ⁵	25(62.5)	26(65)	25(62.5)	28(70)
Total	40(100)	40(100)	40(100)	40(100)



Grafica 7.- Niveles de microorganismos mesofílicos aerobios obtenidos en las diferentes variedades de vegetal agrupados por establecimiento de compra.



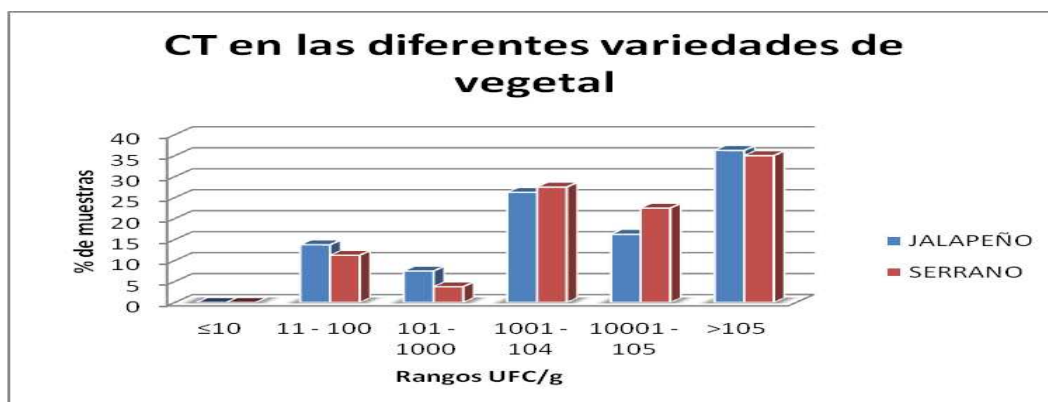
Grafica 8.- Distribución de los microorganismos mesofílicos aeróbicos en chile jalapeño y serrano dependiendo del tipo de establecimiento donde fueron adquiridos (P= 0.135).

9.1.2. Coliformes Totales (CT)

Según los resultados arrojados por las metodologías que se siguieron para la cuenta de organismos coliformes totales (CT); se observó que el chile jalapeño es la variedad con mayor carga microbiana teniendo un 36.25% de muestras con cuentas mayores de 10^5 UFC/g. (tabla 8).

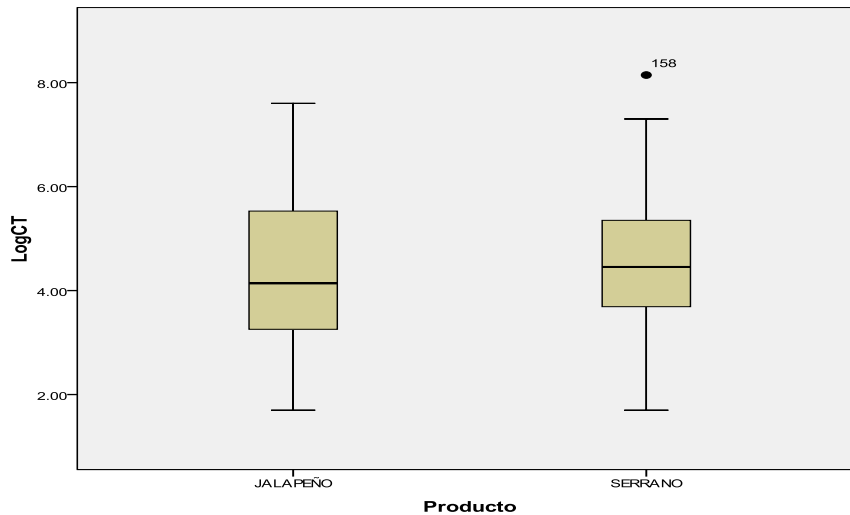
Tabla 8.- Rangos de microorganismos coliformes totales de acuerdo a la variedad de vegetal analizado.

Número de muestras positivas (%)		
Rangos de moos (UFC/g)	JALAPEÑO	SERRANO
≤ 10	0(0)	0(0)
$11 - 10^2$	11(13.75)	9(11.25)
$101 - 10^3$	6(7.5)	3(3.75)
$1001 - 10^4$	21(26.25)	22(27.5)
$10001 - 10^5$	13(16.25)	18(22.5)
$>10^5$	29(36.25)	28(35)
Total	80(100)	80(100)



Grafica 9.- Niveles de microorganismos coliformes totales obtenidos en las diferentes variedades de vegetal.

El análisis estadístico mostró que no existía diferencia significativa en las cuentas de coliformes totales ($P= 0.482$), entre las dos variedades de chile analizadas (gráfica 10).



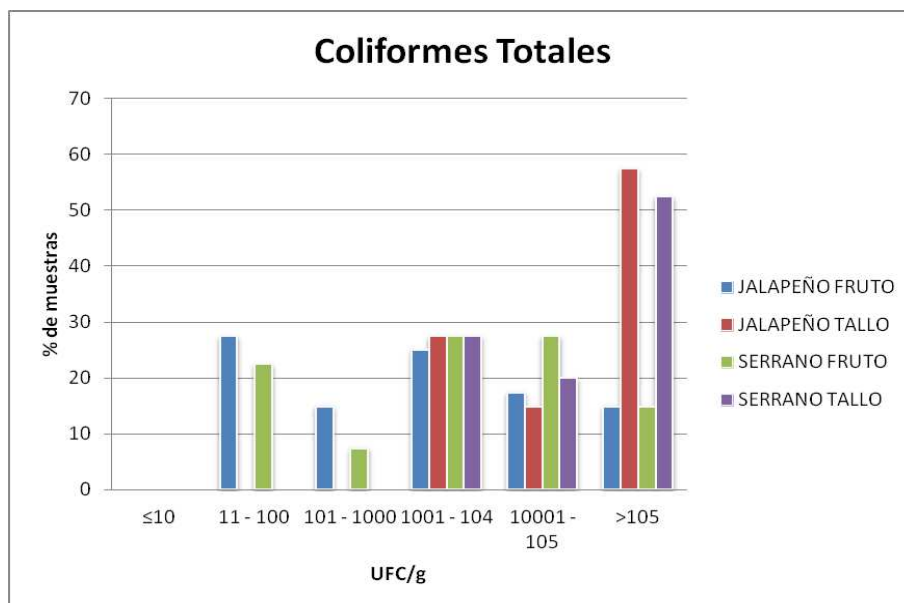
Grafica 10.- Distribución de microorganismos coliformes totales en chile jalapeño y serrano.

9.1.2.1. Análisis del tallo y parte comestible del vegetal.

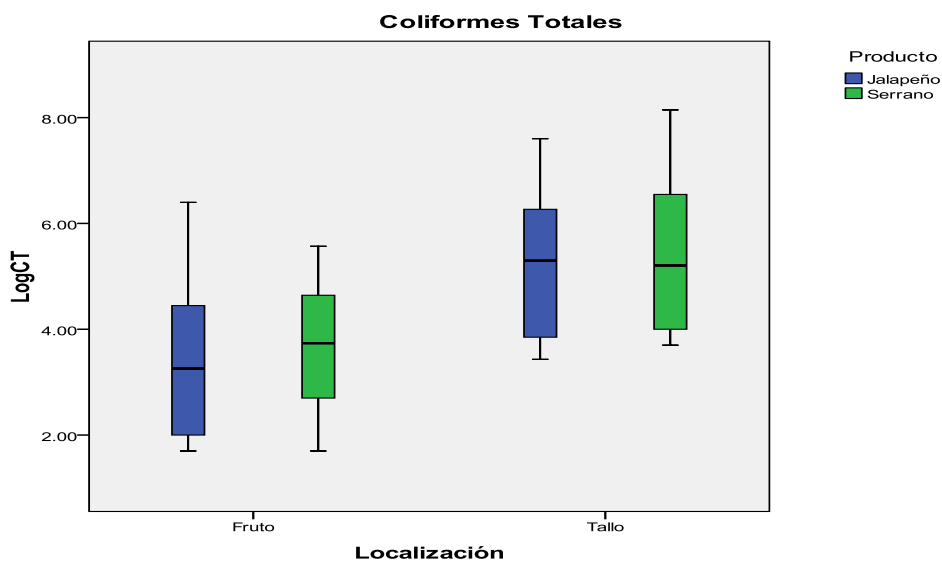
En general encontramos que el número de estos organismos en la mayoría de las muestras fueron elevados (grafica 11). En la tabla 9 se puede observar que al igual que los resultados de organismos mesofilicos aerobios, el mayor porcentaje de muestras que tuvieron cuentas mayores a 10^5 fueron las de tallo tanto de jalapeño como de serrano con 57.5 y 52.5 % respectivamente, mientras que en el fruto del chile jalapeño se encontró que el mayor porcentaje de muestras (27.5%) tuvieron cuentas de 11-100 UFC/g y en el fruto de chile serrano se observó que el 55% de las muestras tuvieron cuentas entre 10^3 - 10^5 UFC/g. El análisis estadístico mostró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre las dos regiones (tallo y fruto) analizadas (Grafica 12).

Tabla 9.- Rangos de microorganismos coliformes totales de acuerdo a la parte del fruto analizada.

Rangos de moos UFC/g	Número de muestras positivas (%)			
	JALAPEÑO		SERRANO	
	FRUTO	TALLO	FRUTO	TALLO
≤ 10	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
$11 - 10^2$	11(27.5)	0(0)	9(22.5)	0(0)
$101 - 10^3$	6(15)	0(0)	3(7.5)	0(0)
$1001 - 10^4$	10(25)	11(27.5)	11(27.5)	11(27.5)
$10001 - 10^5$	7(17.5)	6(15)	11(27.5)	8(20)
$>10^5$	6(15)	23(57.5)	6(15)	21(52.5)
Total	40	40	40	40



Grafica 11.-Niveles de microorganismos coliformes totales presentes en chile jalapeño y serrano, tanto en el fruto como en el tallo.



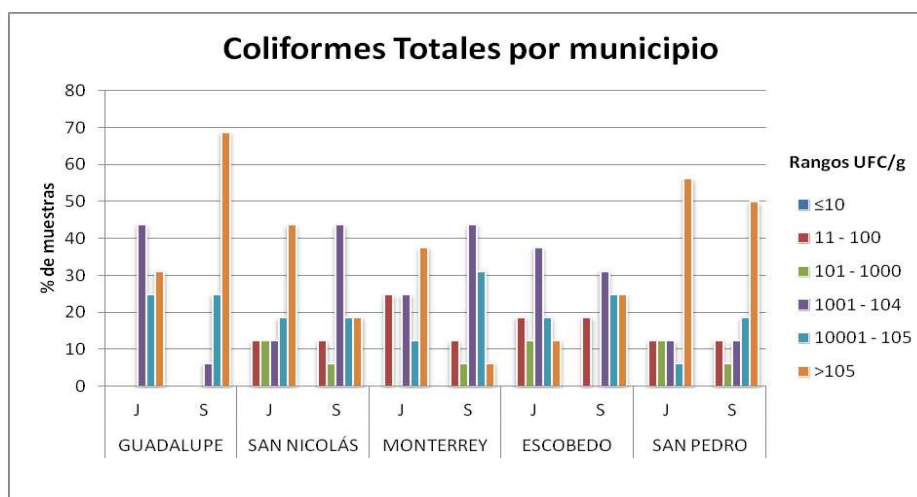
Grafica 12.- Distribución de los microorganismos coliformes totales en chile jalapeño y serrano dependiendo de la parte del fruto que fue analizada ($P = 0.000$).

9.1.2.2. Análisis de muestras por municipio de compra.

Cuando comparamos las cuentas de organismos CT entre los diferentes municipios de muestreo se encontró que 68.75% de las muestras analizadas de chile serrano del municipio de Guadalupe tuvieron cuentas mayores a 10^5 UFC/g (Tabla 10), mientras que el municipio de San Pedro el 56.25% mostró el mayor porcentaje de muestras de chile jalapeño con cuentas por encima de 10^5 UFC/g, sin embargo, los valores encontrados fueron menores a los reportados para microorganismos mesofílicos aeróbicos.

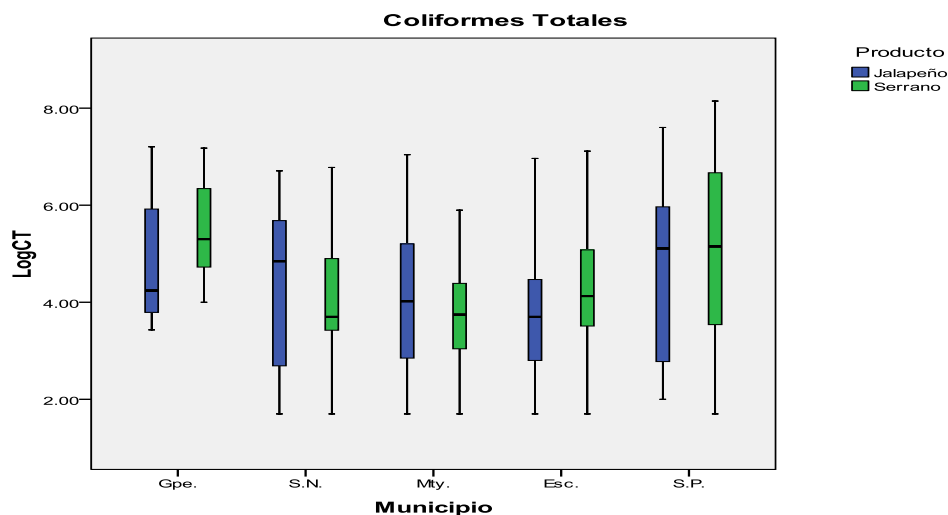
Tabla 10.- Cuentas de microorganismos coliformes totales obtenidas de muestras colectadas en diferentes municipios del área Metropolitana de Monterrey, N.L.

Número de muestras positivas (%)										
Rangos de moos UFC/g	GUADALUPE		SAN NICOLÁS		MONTERREY		ESCOBEDO		SAN PEDRO	
	J	S	J	S	J	S	J	S	J	S
≤ 10	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
$11 - 10^2$	0(0)	0(0)	2(12.5)	2(12.5)	4(25)	2(12.5)	3(18.75)	3(18.75)	2(12.5)	2(12.5)
$101 - 10^3$	0(0)	0(0)	2(12.5)	1(6.25)	0(0)	1(6.25)	2(12.5)	0(0)	2(12.5)	1(6.25)
$1001 - 10^4$	7(43.75)	1(6.25)	2(12.5)	7(43.75)	4(25)	7(43.75)	6(37.5)	5(31.25)	2(12.5)	2(12.5)
$10001 - 10^5$	4(25)	4(25)	3(18.75)	3(18.75)	2(12.5)	5(31.25)	3(18.75)	4(25)	1(6.25)	3(18.75)
$>10^5$	5(31.25)	11(68.75)	7(43.75)	3(18.75)	6(37.5)	1(6.25)	2(12.5)	4(25)	9(56.25)	8(50)
Total	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)	16(100)



Grafica 13.- Niveles de microorganismos coliformes totales presentes en chile jalapeño y serrano, adquiridos en diferentes municipios.

El análisis estadístico mostró que existía diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los municipios analizados con respecto a las cuentas de coliformes totales encontradas. (Grafica 14).



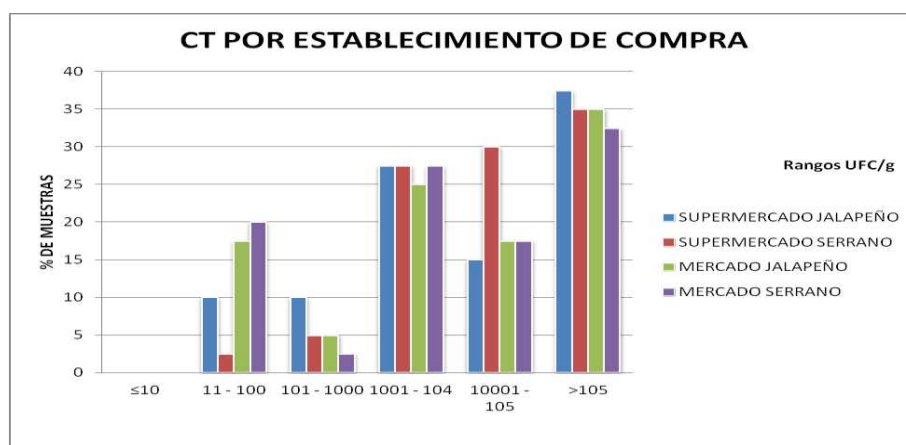
Grafica 14.- Distribución de los microorganismos coliformes totales en chile jalapeño y serrano dependiendo del municipio de donde fueron adquiridos. ($P = 0.008$).

9.1.2.3. Análisis de muestras por establecimiento de compra.

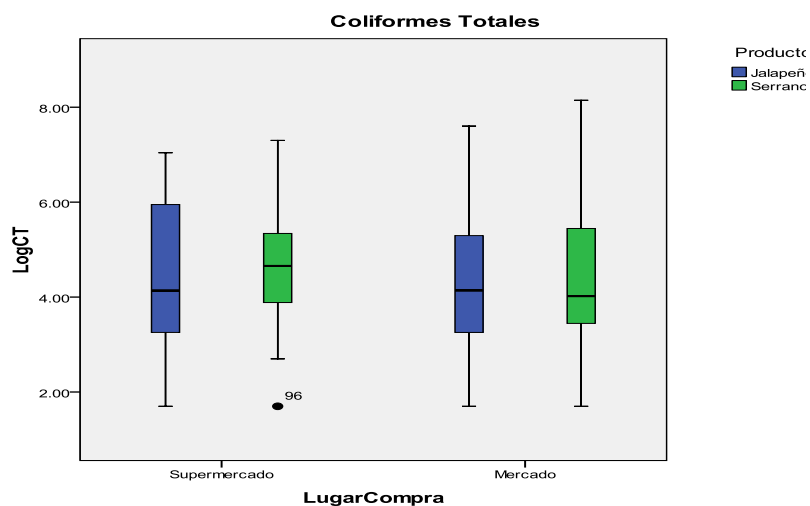
Comparando los resultados obtenidos de las cuentas de coliformes totales entre los diferentes establecimientos de compra (Tabla 11 y Grafica 15) se observó que 37.5% las muestras de chile jalapeño adquiridas en supermercado tuvieron cuentas mayores a 10^5 , en tanto que estos niveles fueron observados en el 32.5% de las muestras de serrano adquiridas en supermercado y en las muestras tanto de serrano como de jalapeño adquiridas en mercado mostraron porcentajes de entre 32.5 y 35%. No se encontró diferencia significativa entre las cuentas de coliformes totales de los diferentes establecimientos de compra (Grafica 16).

Tabla 11.- Rangos de microorganismos coliformes totales de acuerdo al establecimiento de donde se adquirieron.

Numero de muestras positivas (%)				
Rangos de moos UFC/g	SUPERMERCADO		MERCADO	
	JALAPEÑO	SERRANO	JALAPEÑO	SERRANO
≤ 10	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
$11 - 10^2$	4(10)	1(2.5)	7(17.5)	10(25)
$101 - 10^3$	4(10)	2(5)	2(5)	1(2.5)
$1001 - 10^4$	11(27.5)	11(27.5)	10(25)	11(27.5)
$10001 - 10^5$	6(15)	12(30)	7(17.5)	7(17.5)
$>10^5$	15(37.5)	14(35)	14(35)	13(32.5)
Total	40(100)	40(100)	40(100)	40(100)



Grafica 15.-Niveles de microorganismos coliformes totales presentes en chile jalapeño y serrano, de acuerdo al tipo de establecimiento de donde se adquirieron las muestras.



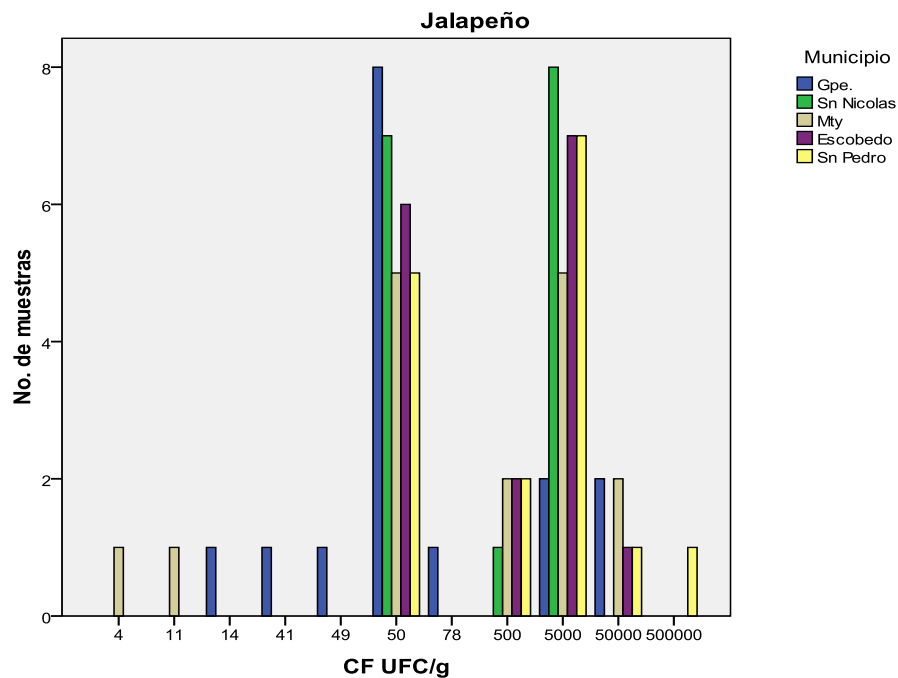
Grafica 16.- Distribución de los microorganismos coliformes totales en chile jalapeño y serrano dependiendo del tipo de establecimiento donde fueron adquiridos (P= 0.204).

9.1.3. Coliformes fecales (CF)

En general se encontraron muy bajos niveles de microorganismos coliformes fecales en las muestras de chile analizadas. El chile jalapeño presentó cuentas ligeramente más altas en comparación con el chile serrano.

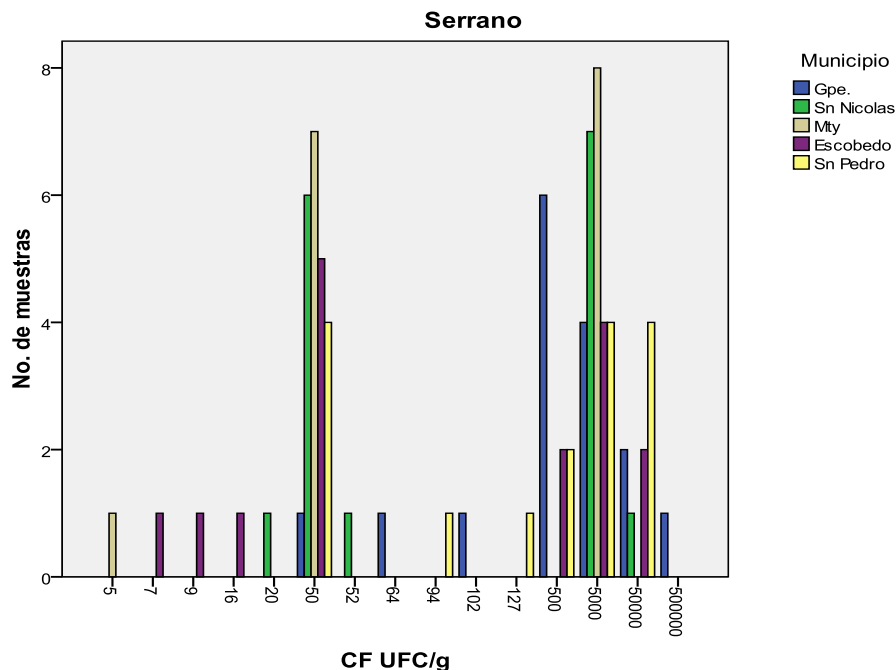
Tabla 12.- Rangos de microorganismos coliformes fecales en chile jalapeño y serrano

Número de muestras positivas (%)		
RANGO (UFC/g)	JALAPEÑO	SERRANO
≤ 10	1(1.25)	3(3.75)
$11 - 10^2$	36(45)	28(35)
$101 - 10^3$	7(8.75)	12(15)
$1001 - 10^4$	29(36.25)	27(33.75)
$10001 - 10^5$	6(7.5)	9(11.25)
$>10^5$	1(1.25)	1(1.25)
Total	80(100)	80(100)



Grafica 17.- Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras de jalapeño de los diferentes municipios.

El análisis estadístico mostró que no existía dependencia significativa entre las cuentas de coliformes fecales del chile jalapeño en los diferentes municipios muestreados ($\chi^2=37.647$ gl= 40 $P=0.577$).



Grafica 18.- Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras de chile serrano de los diferentes municipios.

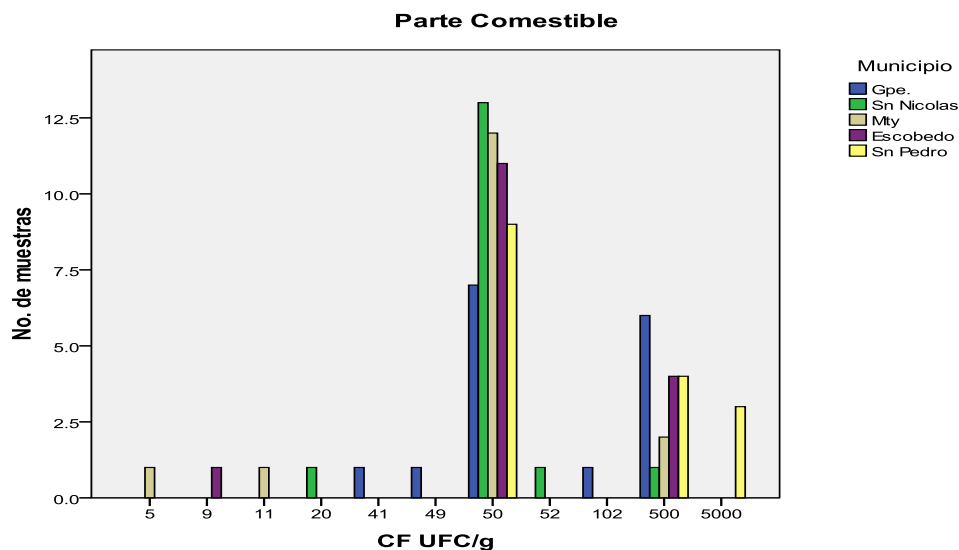
El análisis estadístico mostró que no existía dependencia significativa entre las cuentas de coliformes fecales del chile serrano en los diferentes municipios muestreados ($\chi^2=68.312$ gl= 56 P=0.125).

9.1.3.1. Análisis del tallo y parte comestible del vegetal.

El análisis de la presencia de microorganismos coliformes fecales en las diferentes variedades de chile muestreadas se puede observar en la tabla 13 en donde encontramos que en las muestras del fruto el mayor porcentaje de muestras estuvieron en el rango de 11-100 UFC/g y por el contrario en las muestras de tallo de las diferentes variedades de chile jalapeño se encontraron en los rangos de 10^3 - 10^4 UFC/g observando el mismo patrón que en los resultados anteriores: la parte del tallo mostró mayor número de microorganismos que la parte comestible o fruto.

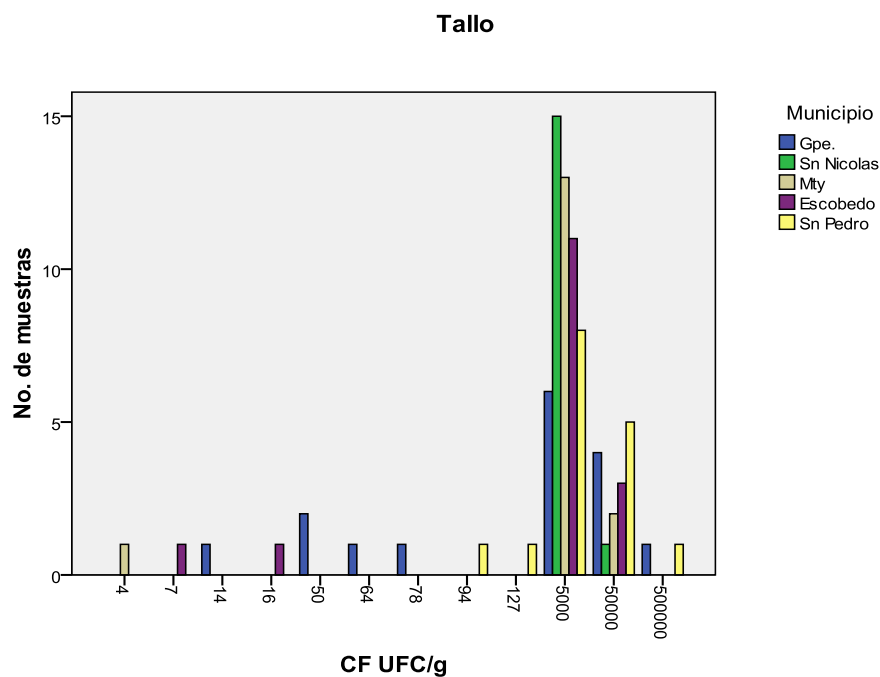
Tabla 13.- Rangos de microorganismos coliformes fecales de acuerdo a la parte del vegetal analizada.

Número de muestras positivas para CF (%)				
RANGO UFC/g	FRUTO		TALLO	
	JALAPEÑO	SERRANO	JALAPEÑO	SERRANO
≤10	0(0)	2(5)	1(2.5)	1(2.5)
11 – 10 ²	32(80)	25(62.5)	4(10)	3(7.5)
101 – 10 ³	7(17.5)	11(27.5)	0(0)	1(2.5)
1001 – 10 ⁴	1(2.5)	2(5)	28(70)	25(62.5)
10001 – 10 ⁵	0(0)	0(0)	6(15)	9(22.5)
>10 ⁵	0(0)	0(0)	1(2.5)	1(2.5)
Total	40(100)	40(100)	40(100)	40(100)



Grafica 19.- Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en la parte comestible de las variedades de chile muestreadas.

El análisis estadístico mostró que no existía dependencia significativa en las cuentas de coliformes fecales del fruto entre los diferentes municipios muestreados ($\chi^2=50.701$ gl= 40 P=0.120).



Grafica 20.- Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en la parte del tallo de las variedades de Chile muestreadas.

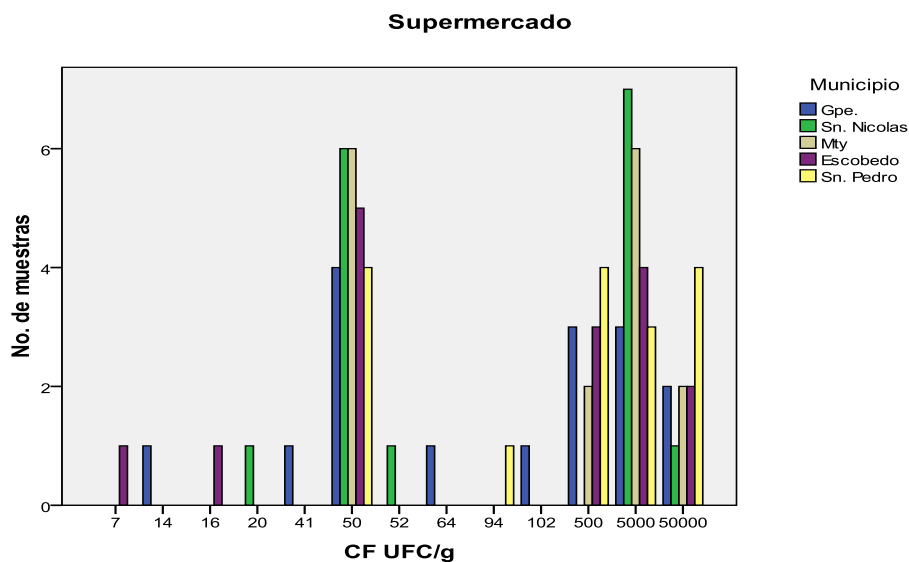
Igualmente el análisis estadístico mostró que no existía dependencia significativa en las cuentas de coliformes fecales del tallo entre los diferentes municipios muestreados ($\chi^2=51.352$ gl= 44 P=0.208).

9.1.3.2. Análisis de muestras por establecimiento de compra.

En cuanto al análisis de microorganismos coliformes fecales en los diferentes vegetales muestreados se puede observar (tabla 14) que el mayor porcentaje de estas muestras se encontraron en el rango de 11-100 UFC/g, la única variación existió en el Chile serrano adquirido en el supermercado el cual tuvo un mayor porcentaje de muestras (42.5%) en el rango de 10^3 - 10^4 UFC/g.

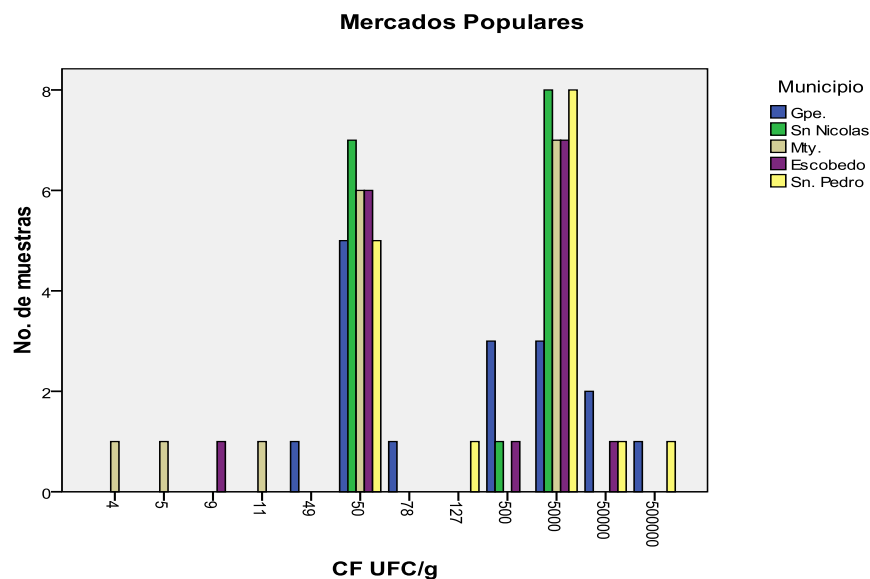
Tabla 14.- Rangos de microorganismos coliformes fecales de acuerdo al establecimiento de compra

Muestras positivas para CF (%)				
RANGO UFC/g	SUPERMERCADO		MERCADO	
	JALAPEÑO	SERRANO	JALAPEÑO	SERRANO
≤ 10	0(0)	1(2.5)	1(2.5)	2(5)
$11 - 10^2$	17(42.5)	19(47.5)	15(37.5)	13(32.5)
$101 - 10^3$	5(12.5)	2(5)	8(20)	4(10)
$1001 - 10^4$	13(32.5)	16(40)	10(25)	17(42.5)
$10001 - 10^5$	5(12.5)	1(2.5)	6(15)	3(7.5)
$>10^5$	0(0)	1(2.5)	0(0)	1(2.5)
Total	40(100)	40(100)	40(100)	40(100)



Grafica 21.- Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras de supermercado de los diferentes municipios.

El análisis estadístico mostró que no existía dependencia significativa entre las cuentas de coliformes fecales de los supermercados en los diferentes municipios muestreados ($\chi^2=45.685$ gl= 48 P=0.568).



Grafica 22.- Distribución de las cuentas de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras de mercados populares de los diferentes municipios.

El análisis estadístico mostró que no existía dependencia significativa entre las cuentas de coliformes fecales de los mercados en los diferentes municipios muestreados (Mercado $\chi^2=43.589$ $gl=48$ $P=0.489$).

9.1.4 Microorganismos Patógenos

De las 160 muestras analizadas se obtuvieron 6 muestras presuntivas y se confirmó solo una muestra de chile jalapeño positiva para *Salmonella* spp. mediante la técnica de PCR, esta muestra correspondía a la parte del tallo del vegetal.



Grafica 23.- Porcentaje de muestras presuntivas de Salmonella y E. coli O157:H7 presentes en Chile jalapeño y serranos.

9.2. Resultados del análisis microbiológico en campo

9.2.1 Muestreo

Un total de 84 muestras fueron recolectadas y analizadas durante el periodo de mayo a junio de 2011. Los productos procesados incluyeron 11 muestras de suelo, 11 muestras de enjuague de producto en pre-cosecha, 11 muestras de enjuague de producto en cosecha, 11 muestras de enjuague de manos en cosecha, 11 muestras de enjuague de producto en distribución, 11 muestras de enjuague de manos en distribución, 5 muestras de agua en el cultivo, 11 muestras del agua de pozo, 1 muestra de enjuague de producto en el empaque, 1 muestra de enjuague de manos en el empaque (Apéndice I),

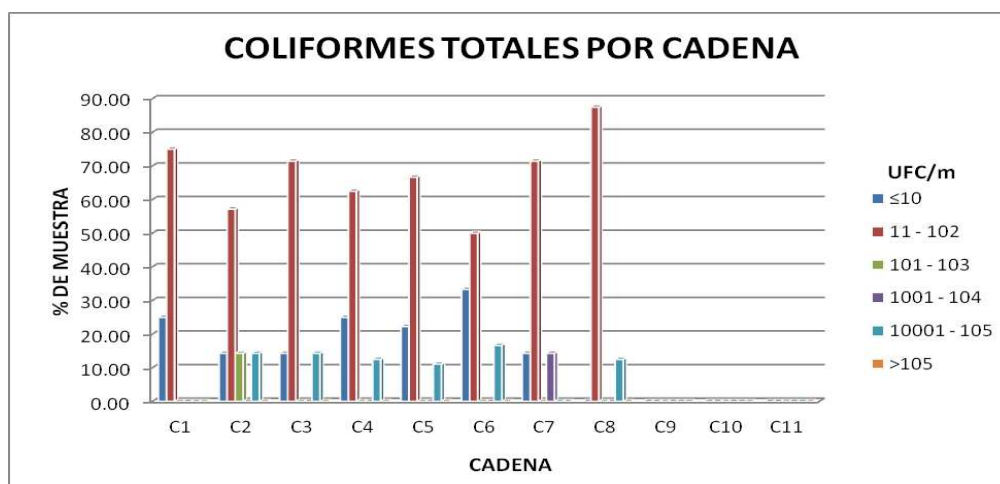
En el estudio en campo se realizó el análisis por cadena muestreada y el análisis por cada una de las muestras tomadas.

9.2.2. Microorganismos coliformes totales (CT).

9.2.2.1. Resultados por cadena.

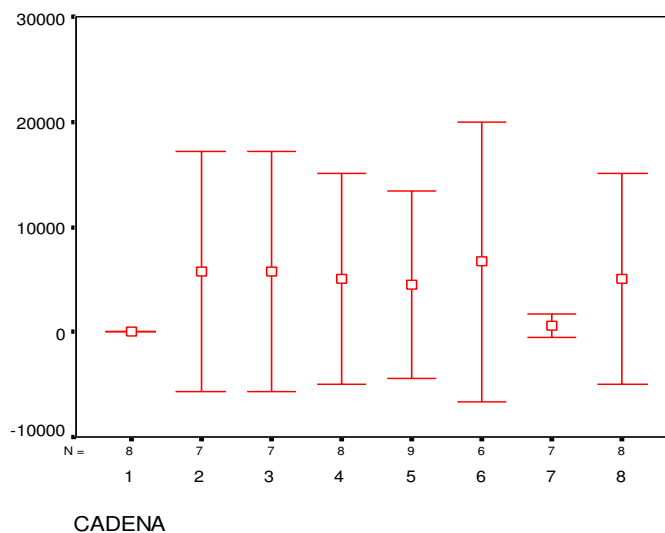
Encontramos que la mayoría de las cadenas analizadas tuvieron cuentas de coliformes totales que iban en el rango <10 a 100. En el caso de las muestras correspondientes a las cadenas 9, 10 y 11 no se analizó este parámetro, ya que solo se buscaron coliformes fecales (incubación de las placas a 45°C).

En la grafica 24 se puede observar que la cadena 8 es en la que se encontró mayor porcentaje (87.5%) de muestras menores a 10 UFC/ml y la cadena 6 con mayor porcentaje (16.67%) de muestras con cuentas mayores a 10^4 UFC/ml.



Grafica 24.- Niveles de coliformes totales obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.

No encontramos diferencia significativa entre las cuentas de microorganismos Coliformes Totales y las diferentes cadenas analizadas (Grafica 25.- $F = 0.279$, $P = 0.959$).



Gráfica 25.- Distribución de coliformes totales en las distintas cadenas analizadas.

9.2.2.2. Resultados por muestra

Así mismo comparamos la presencia de coliformes totales en relación al tipo de muestra analizada, para lo cual consideramos diez tipos de muestras descritas en la tabla 15.

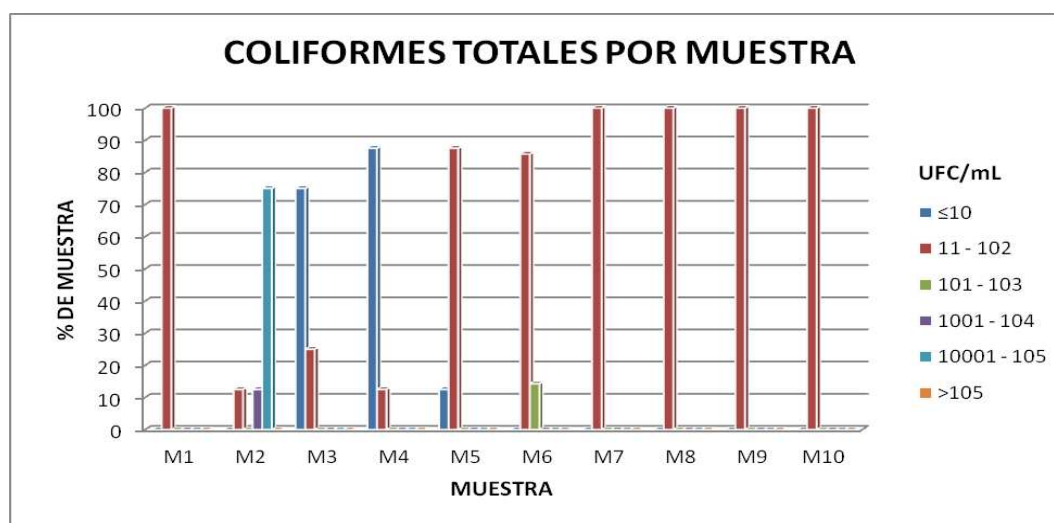
Tabla 15.- Descripción de muestras analizadas.

M1	Producto Precosecha
M2	Suelo
M3	Agua de Sitio
M4	Agua de Fuente
M5	Producto Cosecha
M6	Manos Cosecha
M7	Producto Empaque
M8	Manos Empaque
M9	Manos Distribución
M10	Producto Distribución

En la tabla 16 Se puede observar que la única muestra con cuentas mayores a 10^4 UFC/ml fue la muestra de suelo con un 75% de las muestras dentro de este rango, las demás muestras tuvieron cuentas dentro del rango de 0-100 UFC/ml.

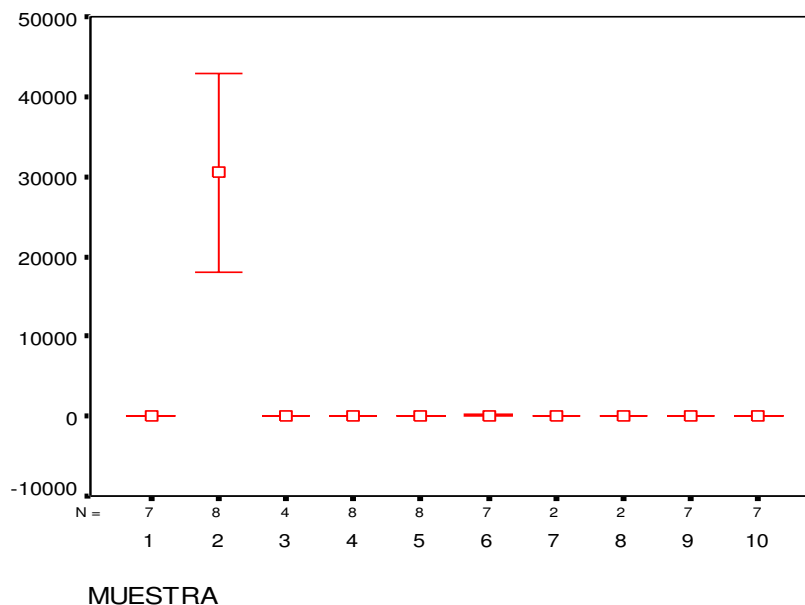
Tabla 16.-Rangos de microorganismos coliformes totales presentes en las muestras analizadas.

Número de muestras positivas (%) en las muestras analizadas										
RANGO (UFC/ml)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
≤10	0(0.0)	0(0.0)	3(75)	7(87.5)	1(12.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
11 – 10 ²	7(100)	1(12.5)	1(25)	1(12.5)	7(87.5)	6(85.71)	2(100)	2(100)	7(100)	7(100)
101 – 10 ³	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(14.29)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
1001 – 10 ⁴	0(0.0)	1(12.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
10001 – 10 ⁵	0(0.0)	6(75)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
>10 ⁵	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
Total	7(100)	8(100)	4(100)	8(100)	8(100)	7(100)	2(100)	2(100)	7(100)	7(100)



Grafica 26.- Niveles de coliformes totales obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.

El análisis estadístico mostró que todas las muestras se comportaron de manera semejante en relación a su carga de coliformes totales, solo las muestras de suelo (M2) mostraron diferencia significativa ya que tuvo cuentas muy altas de estos organismos (grafica 27).

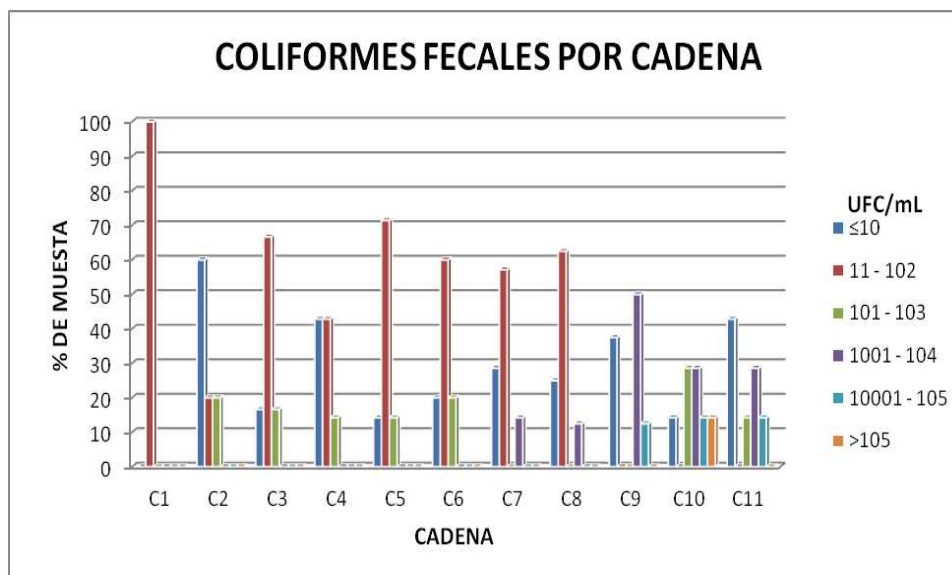


Grafica 27.- Distribución de coliformes totales en las distintas cadenas analizadas por producto.

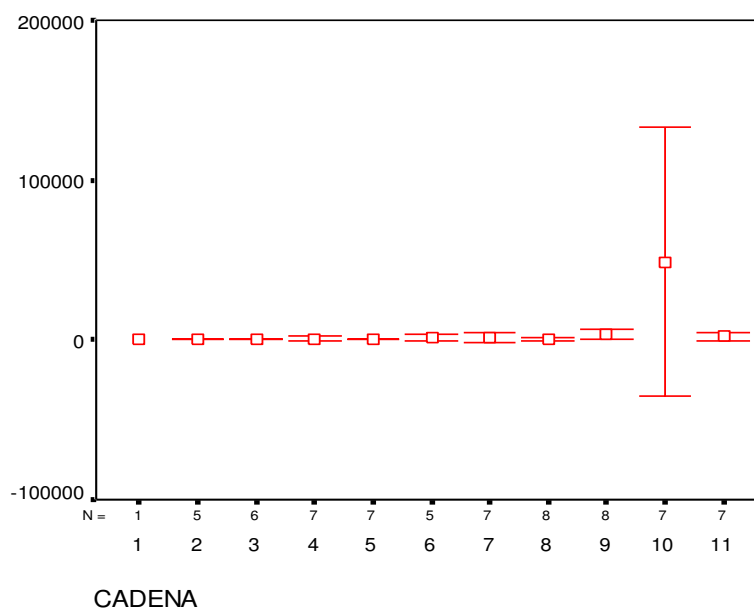
9.2.3. Microorganismos coliformes fecales (CF)

9.2.3.1. Resultados por cadena.

Los resultados obtenidos de las cuentas de microorganismos coliformes fecales mostraron que en la mayoría de las cadenas estuvieron en niveles bajos ($< 10^3$ UFC/ml) y solo el 14.29 % de la Cadena 10 estuvieron por encima de 10^5 UFC/ml. En algunos casos la cantidad de muestra colectada fue insuficiente para realizar estos ensayos, como en el caso de la cadena 1, por lo que solamente de esa cadena se analizó una sola muestra. El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre las cuentas de coliformes fecales de las diferentes cadenas analizadas (grafica 29) $F= 1.086$ Sig. $P= 0.388$.



Grafica 28.- Niveles de coliformes fecales obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.



Grafica 29.- Distribución de coliformes fecales en las distintas cadenas analizadas.

9.2.3.2. Resultados por muestra.

Las cuentas de microorganismos coliformes fecales se observan en la tabla 17, en donde se tienen que las muestras de Producto Empaque y Manos Empaque (M7 y M8)

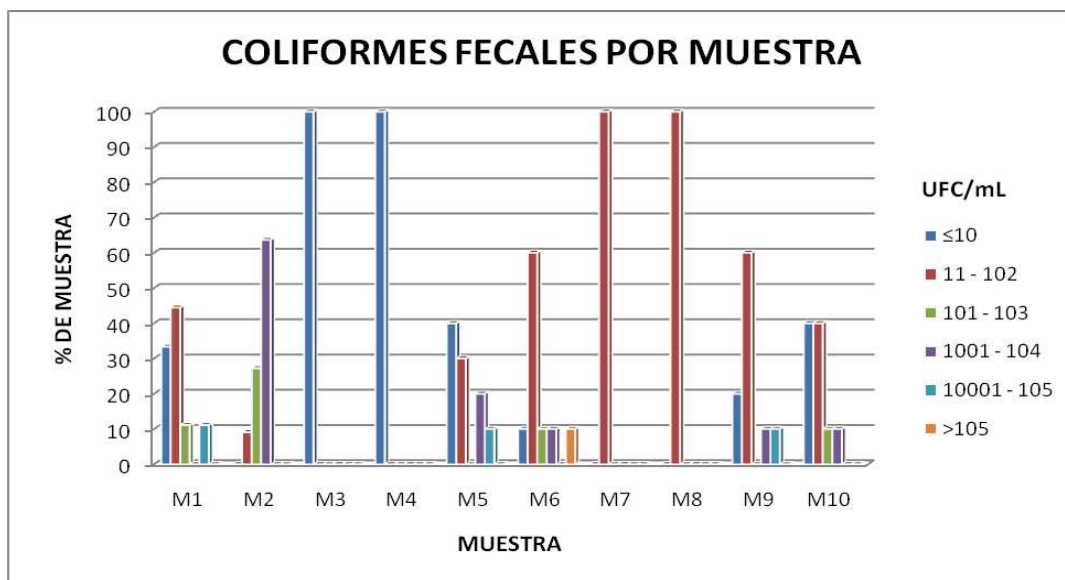
únicamente cuentan con una muestra esto debido a que en ocasiones durante el muestreo no se encontraban empacando el producto, así mismo la muestra de manos en cosecha (M6) fue la única que presentó cantidades mayores a 10^5 UFC/ml.

Tabla 17.-Rangos de microorganismos coliformes fecales presentes en las muestras analizadas.

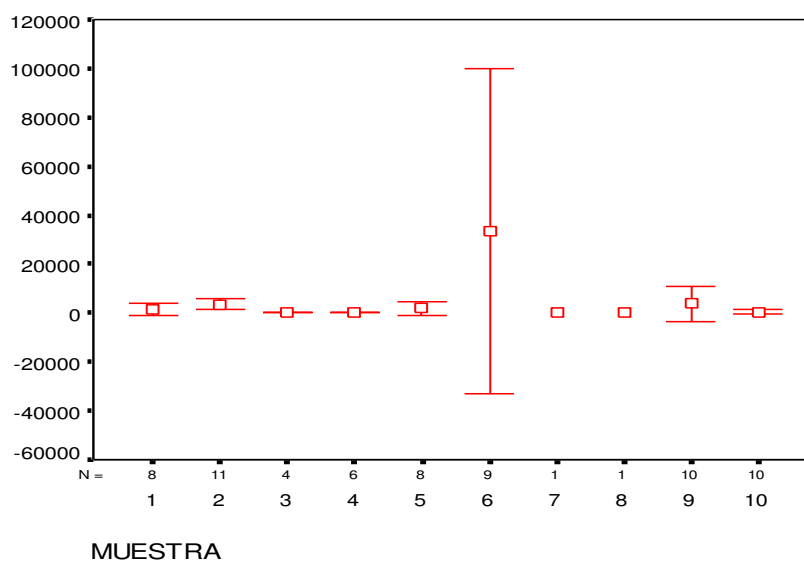
Numero de muestras positivas (%) en las diferentes muestras										
RANGO (UFC/ml)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
≤ 10	2(25)	0(0.0)	4(100)	6(100)	2(25)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(20)	4(40)
$11 - 10^2$	4(50)	1(9.09)	0(0.0)	0(0.0)	3(37.5)	6(66.67)	1(100)	1(100)	6(60)	4(40)
$101 - 10^3$	1(12.5)	3(27.27)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(11.11)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(10)
$1001 - 10^4$	0(0.0)	7(63.63)	0(0.0)	0(0.0)	2(25)	1(11.11)	0(0.0)	0(0.0)	1(10)	1(10)
$10001 - 10^5$	1(12.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(12.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(10)	0(0.0)
$>10^5$	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(11.11)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
Total	8(100)	11(100)	4(100)	6(100)	8(100)	9(100)	1(100)	1(100)	10(100)	10(100)

M1=Producto Precosecha, M2=Suelo, M3=Agua de Sitio, M4=Agua de Fuente, M5=Producto Cosecha, M6=Manos Cosecha, M7=Producto Empaque, M8=Manos Empaque, M9=Manos Distribución, M10=Producto Distribución.

En la grafica 30 se puede observar que las muestras de agua de sitio y agua de fuente (M3 y M4) son las que tienen cuentas menores de 10 y al hacer el análisis el análisis ANOVA (grafica 31) se observó que no existe diferencia significativa entre las cuentas de las 10 muestras analizadas ($F=0.637$; $P= 0.761$).



Grafica 30.-Niveles de coliformes fecales obtenidos en el análisis de las muestras.



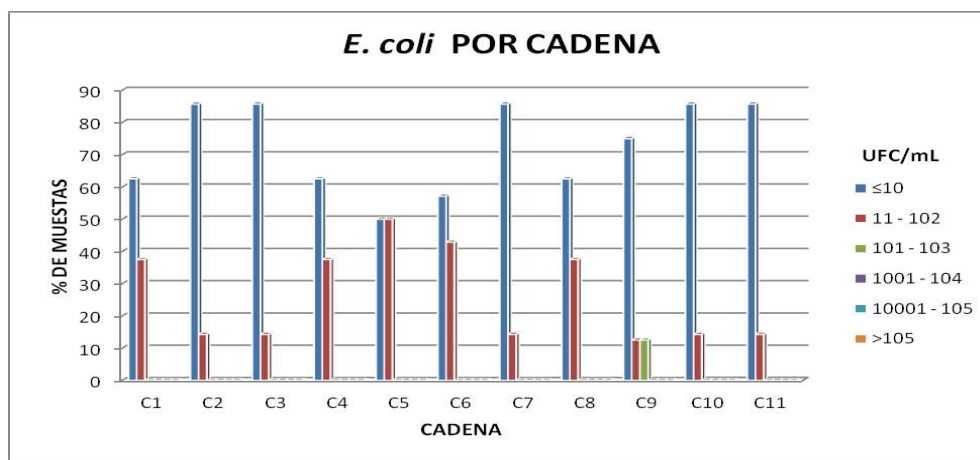
Grafica 31.- Distribución de coliformes fecales en las distintas muestras analizadas.

9.2.4. E. coli (EC)

9.2.4.1. Resultados por cadena

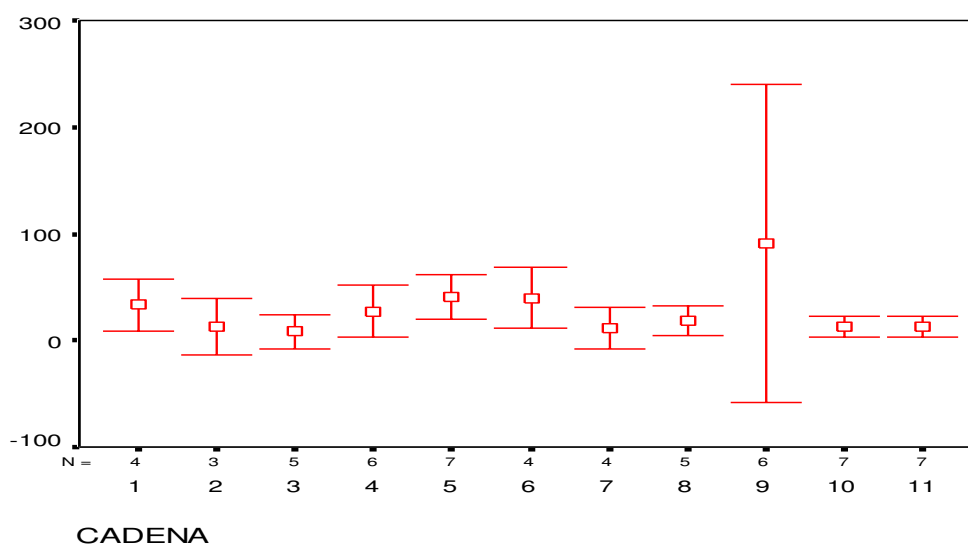
Quando se realizó la determinación de E. coli en las diferentes muestras de las cadenas colectadas la mayoría de las muestras contenían cuentas menores 100 UFC /ml,

únicamente en la cadena 9 se encontró una sola muestra con cuentas mayores a 100 UFC/ml (grafica 32).



Grafica 32.-Niveles de E. coli obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.

En el análisis ANOVA realizado (grafica 33) arrojó que no existía diferencia significativa en las cuentas de E. coli entre las diferentes cadenas analizadas ($F=0.820$; $S=0.611$).



Grafica 33.- Distribución de E. coli en las distintas cadenas analizadas.

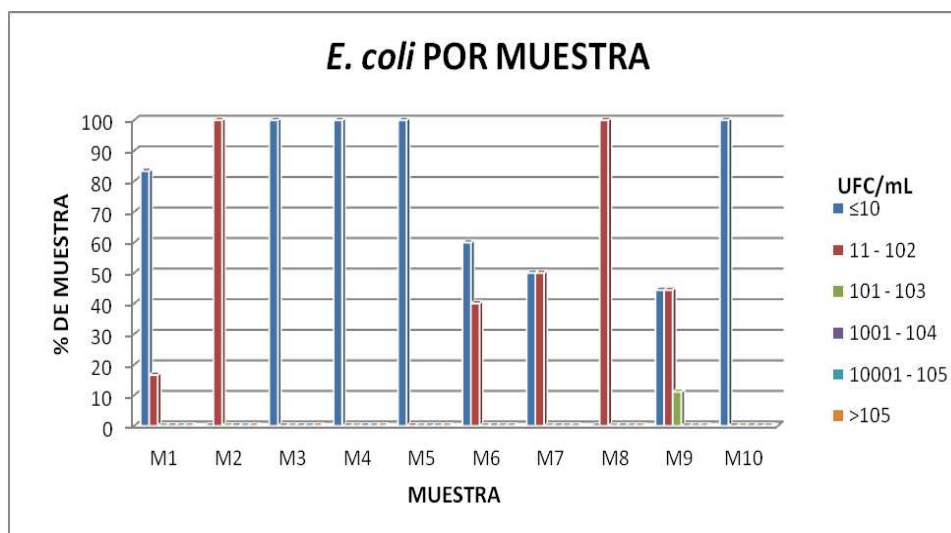
9.2.4.2. Resultados por muestra.

En el comparativo de *E. coli* por muestra se obtuvieron resultados similares al comparativo por cadena con cuentas de entre 0-100 UFC/ml únicamente en la muestra de Manos Distribución (M9), se encontró una muestra con cuentas mayor a 100 UFC/ml.

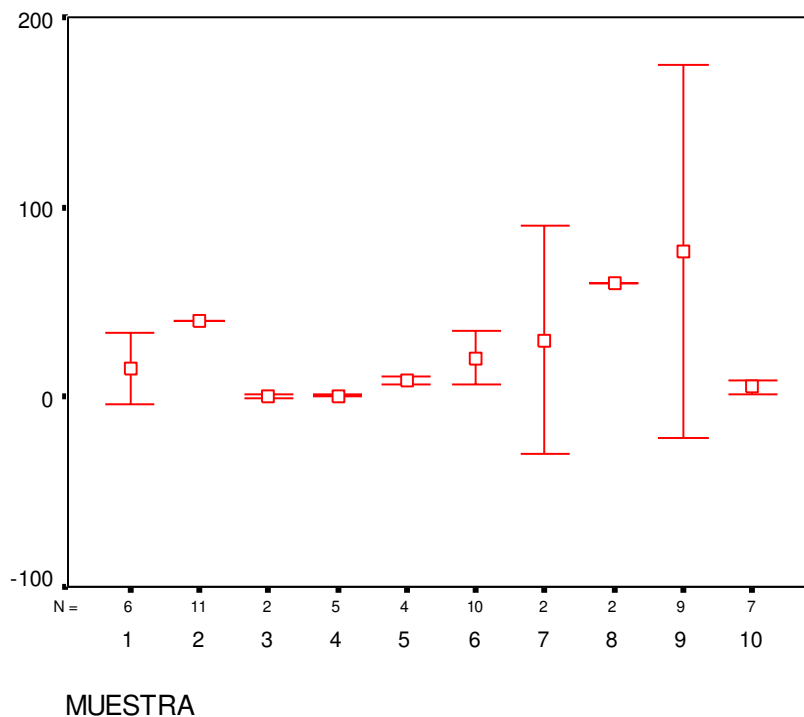
Tabla 18.-Rangos de *E. coli* presentes en las muestras analizadas.

Niveles de <i>E.coli</i> (UFC/ml) (% de muestras) presentes en las muestras.										
RANGO (UFC/ml)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
≤ 10	5(83.33)	0(0.0)	2(100)	5(100)	4(100)	6(60)	1(50)	0(0.0)	4(44.44)	7(100)
11 – 10 ²	1(16.67)	11(100)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	4(40)	1(50)	2(100)	4(44.44)	0(0.0)
101 – 10 ³	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(11.11)	0(0.0)
1001 – 10 ⁴	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
10001 – 10 ⁵	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
>10 ⁵	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
Total	6(100)	11(100)	2(100)	5(100)	4(100)	10(100)	2(100)	2(100)	9(100)	7(100)

M1= Producto Precosecha, M2=Suelo, M3=Agua de Sitio, M4=Agua de Fuente, M5=Producto Cosecha, M6= Manos Cosecha, M7= Producto Empaque, M8= Manos Empaque, M9= Manos Distribución, M10= Producto Distribución.

Gráfica 34.-Niveles de *E. coli* obtenidos en el análisis de las diferentes muestras.

Estadísticamente no existía diferencia significativa en las cuentas de E. coli entre las diferentes muestras analizadas (Grafica 35, F=1.069; P=0.402).

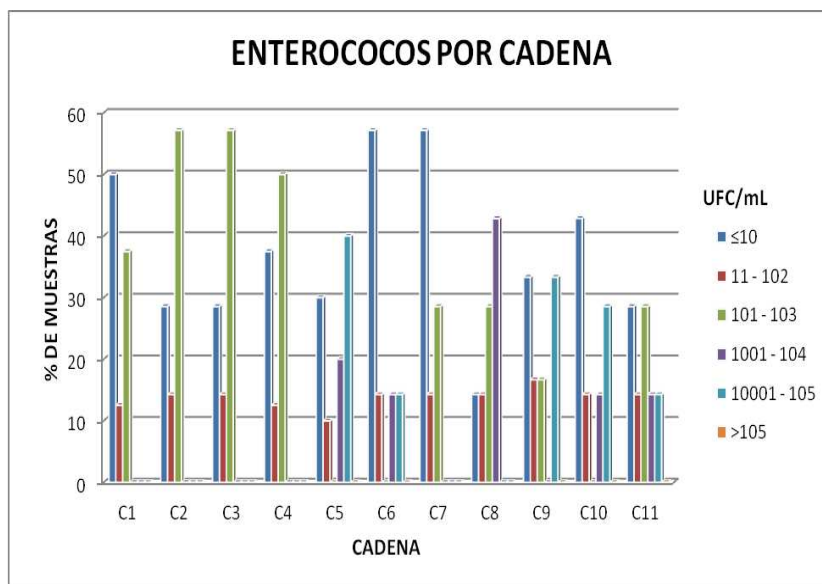


Grafica 35.-Distribución de E. coli en las distintas muestras analizadas.

9.2.5. Enterococos (E)

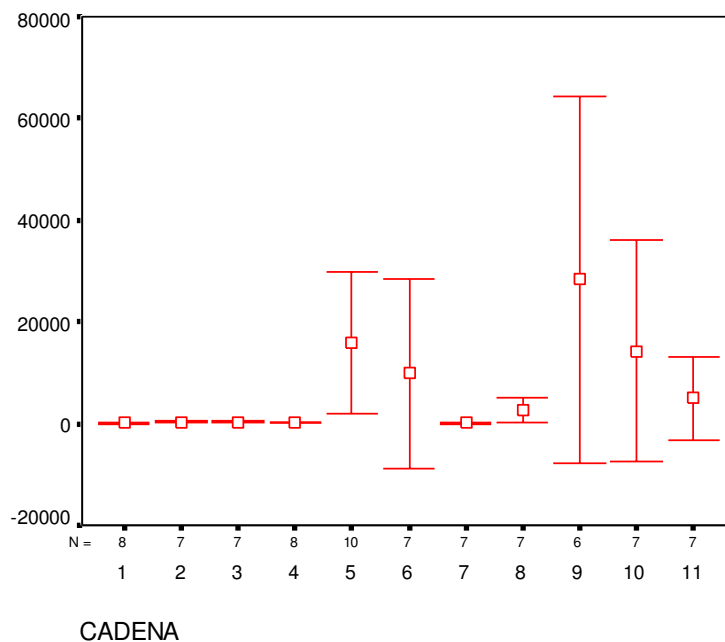
9.2.5.1. Resultados por cadena

Los resultados obtenidos de las cuentas de Enterococos las cadenas 5,6, 9, 10 y 11 se obtuvieron cuentas $< 10 - 10^5$ UFC/ml, mientras que en la cadenas restantes se obtuvieron cuentas de $< 10 - 10^3$ UFC/ml.



Grafica 36.-Niveles de Enterococcus obtenidos en el análisis de las diferentes cadenas.

En el análisis de varianza no encontró diferencia significativa en las cuentas de microorganismos Enterococos entre las cadenas analizadas (Grafica 37) obteniendo resultados de $F= 1.727$ y $P= 0.92$.



Grafica 37.-Distribución de Enterococcus en las distintas cadenas analizadas.

9.2.5.2. Resultados por muestra.

Las cuentas obtenidas de Enterococos se resumen en la tabla 23 En donde se puede observar que las muestras de agua de sitio (M3) y agua de fuente (M4) son las que cuentan con menor carga microbiana con el 100% de las muestras con cuentas menores a 10 UFC/ml. Además en el caso de las muestras que correspondieron a enjuague de manos tanto en la cosecha como en la distribución (M6 y M9) se obtuvieron cuentas de 100 – 10⁵ UFC/ml.

Tabla 19.- Rangos de Enterococcus presentes en las muestras analizadas.

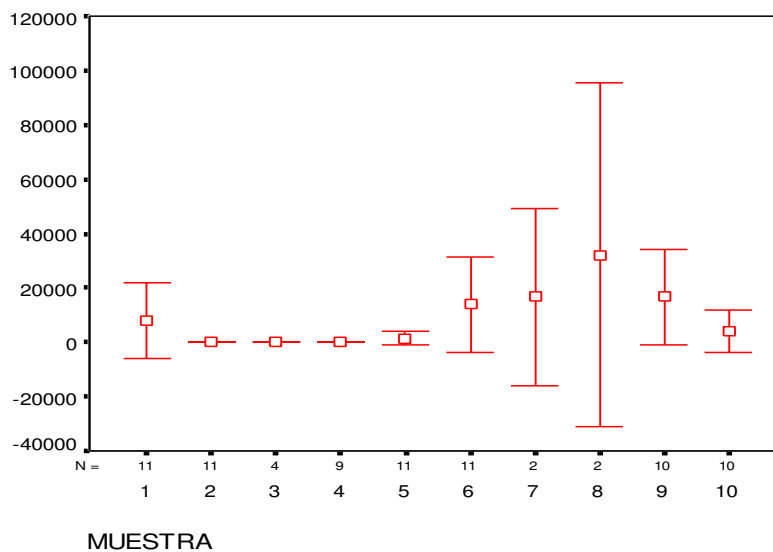
Numero de muestras positivas (%) Enterococcus en las diferentes muestras										
RANGO (UFC/ml)	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
≤10	5(45.45)	0(0.0)	4(100)	9(100)	5(45.45)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	7(70)
11 – 10 ²	0(0.0)	11(100)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
101 – 10 ³	4(36.36)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	5(45.45)	5(45.45)	1(50)	1(50)	4(40)	2(20)
1001 – 10 ⁴	1(9.09)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	4(36.36)	0(0.0)	0(0.0)	3(30)	0(0.0)
10001 – 10 ⁵	1(9.09)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(9.09)	2(18.18)	1(50)	1(50)	3(30)	1(10)
>10 ⁵	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
Total	11(100)	11(100)	4(100)	9(100)	11(100)	11(100)	2(100)	2(100)	10(100)	10(100)

M1= Producto Precosecha, M2=Suelo, M3=Agua de Sitio, M4=Agua de Fuente, M5=Producto Cosecha, M6= Manos Cosecha, M7= Producto Empaque, M8= Manos Empaque, M9= Manos Distribución, M10= Producto Distribución.



Gráfica 38.-Niveles de Enterococcus obtenidos en el análisis de las diferentes muestras.

El resultado estadístico del análisis ANOVA realizado arrojó que no existía diferencia significativa en las cuentas de Enterococos entre las diferentes muestras analizadas (grafica 39 $F = 1.428$; $P = 0.193$).



Grafica 39.-Distribución de Enterococcus en las distintas muestras analizadas.

10. DISCUSIÓN

En las últimas décadas se han realizado diversas investigaciones para conocer la calidad microbiana de diferentes productos vegetales como lechuga picada, espinacas, zanahorias, melones, tomates, cilantro, etc. Sin embargo existe muy poco o nulo conocimiento acerca de la calidad microbiológica de los chiles jalapeños o serranos destinados para su consumo fresco o en conserva (Liao et. al., 2010).

Es por esto que la primer parte de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica del chile jalapeño y serrano en punto de venta y contar con datos que nos permitan conocer un poco más acerca de la calidad microbiológica de estos productos, tan importantes en la dieta nacional.

La segunda parte de este estudio también nos permitió evaluar la calidad microbiológica del chile jalapeño desde su origen: en el campo, en donde pudimos analizar todo lo que entra en contacto con el vegetal y que puede influir directa o indirectamente en su calidad final al momento de ser consumido.

10.1. Análisis del chile jalapeño y serrano en punto de venta

De acuerdo con los resultados obtenidos encontramos que existe diferencia significativa en la cuenta de mesofilos aerobios de las diferentes variedades de chile analizadas (jalapeño y serrano), lo que es similar a lo obtenido por Gómez en el 2009 donde también se encontró que existía diferencia significativa en la cuenta de mesofilos aerobios dependiendo de los productos analizados. Así mismo, los resultados encontrados por Johnston et al., 2006 indicaron que los niveles de mesofilos aerobios en vegetales de hojas verdes obtenidos en punto de venta estaban dentro del rango de 10^4 - 10^5 UFC/g, lo que coincide con los resultados encontrados en este estudio ya que la mayoría de las cuentas de mesofilos aerobios tuvieron valores elevados. Estos resultados encontrados son congruentes ya que estas cuentas representan el número total de bacterias viables en una muestra.

Por el contrario los resultados de coliformes totales mostraron que no existía diferencia significativa entre en las diferentes variedades de chile analizadas lo que no coincide con los estudios anteriormente mencionados ya que las cuentas fueron muy similares entre las dos variedades, así mismo no se encontró dependencia significativa en los análisis de coliformes fecales entre las variedades de chile analizadas.

Dentro de los resultados obtenidos en un trabajo realizado por Liao et. al., 2010 mostraron que en el tallo del chile jalapeño se encontraba un mayor número de microorganismos que en la parte comestible del mismo, estos resultados coinciden con los de nuestro trabajo ya que se encontramos que existía diferencia significativa en las cuentas de microorganismos mesofilos aerobios y de coliformes totales entre las diferentes partes del producto analizadas, con más del 90% de las cuentas del tallo por encima de 10^5 UFC/g. Esto puede ser debido a la textura del tallo, haciendo más fácil la adherencia y proliferación de bacterias en esta región. Además, no solo se obtuvo mayor número de cuentas de microorganismos en la parte del tallo del chile jalapeño, sino que además, se encontró una muestra de tallo contaminada con *Salmonella* spp. mientras que en la parte comestible del jalapeño las cuentas de microorganismos eran muy bajas y no se encontró presencia de microorganismos patógenos, lo cual coincide con las investigaciones realizadas por Thunberg et al. y Ma et al., en el 2002 y 2010 respectivamente donde no se observó crecimiento de *Salmonella* spp. en la superficie de vegetales como chile jalapeño entero, tomates enteros, lechuga, coliflor y brócoli.

A pesar de que las cuentas de mesofilos aerobios y de coliformes totales fueron mayores en las muestras adquiridas en supermercados que en mercados populares y contrario a lo que se esperaba, no se encontró diferencia significativa en las cuentas de mesofilos aerobios y coliformes totales entre los diferentes lugares donde se adquirieron las muestras (mercado o supermercado), lo cual coincide con lo reportado en la investigación de Gomez, et al en el 2009 en donde no se encontró diferencia significativa en los vegetales muestreados según el establecimiento de compra ni tampoco se encontró dependencia significativa en las cuentas de coliformes fecales en los diferentes establecimientos en donde se adquirieron las muestras.

Además se encontró que existía diferencia significativa en las cuentas de mesofilos aerobios y de coliformes totales entre los diferentes municipios muestreados, siendo el municipio de Guadalupe, N.L. con el mayor número de cuentas (10^3 - 10^5 UFC/g), esto puede ser debido a que las muestras del municipio de Guadalupe fueron las que se recolectaron primero en el mes de octubre, mientras que las demás muestras se recolectaron en la temporada de invierno, pudiendo afectar la estación del año a los microorganismos indicadores presentes en los vegetales, coincidiendo con el estudio realizado por Ailes et al., en el 2008 donde encontraron altas concentraciones de microorganismos indicadores en las muestras adquiridas en el otoño (septiembre, octubre y noviembre).

10.2. Análisis microbiológico del chile jalapeño en campo

En el muestreo que se realizó en el campo, se encontró que no existía diferencia significativa en las cuentas de los análisis de coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y Enterococos en las diferentes cadenas muestreadas, esto pudiera ser debido a que no existía una gran variación en el perfil microbiológico del chile jalapeño en las diferentes granjas muestreadas de municipios que se dedican a la agricultura en Nuevo León, así mismo encontramos que la mayoría de las cuentas fueron bajas (10-1000 UFC/ml), estos resultados fueron similares a los encontrados por Johnston et al. en el 2006 en donde también se obtuvieron cuentas bajas de microorganismos indicadores en las muestras de vegetales tomadas durante el proceso de empaclado.

En el análisis de coliformes totales se encontró que existía diferencia significativa de acuerdo a las diferentes muestras analizadas, siendo la muestra de suelo la que se encontró con mayores cuentas (75% de muestras en el rango de 10^4 - 10^5 UFC/g), lo que es contrario al estudio de Orozco et al., 2008 en donde encontraron que las muestras de suelo tomadas en granjas hidropónicas de tomates en México tenían cuentas menores de 4.8 UFC/g esto puede ser debido a que en las granjas hidropónicas se elimina el uso de suelo agrícola.

En el análisis de microorganismos coliformes fecales en las muestras de manos durante la cosecha se encontraron cuentas mayores a 10^5 UFC/ml y un 66% de estas muestras con cuentas por encima de 10 UFC/ml, lo que pudo provocar una influencia en los resultados encontrados en la muestra del producto en la cosecha ya que se encontró un 11% de estas muestras con cuentas mayores a 10^5 UFC/ml y un 37% de muestras con cuentas mayores a 10 UFC/ml. Estos resultados son de gran trascendencia ya que las manos de trabajadores han sido consideradas como una importante fuente de contaminación en alimentos, por ejemplo la investigación realizada por Silvestro et al en el 2004 quienes encontraron que la verotoxina producida por E. coli O157 fue identificada en 4 empleados de una granja, pudiendo ser los responsables de un brote de enfermedad transmitida por alimentos.

Así mismo los resultados obtenidos de E. coli en las manos de los trabajadores fueron bajos 3.14 UFC/mano de trabajador en la cosecha, estos resultados concuerdan con los resultados en el estudio de Orozco et al., en el 2008 donde se reportaron cuentas del genero Enterobacteriaceae de 2 UFC/mano de trabajador.

Además en este estudio se observó un incremento de E. coli de 12.73 UFC/mano de trabajador en la distribución y 10 UFC/mano de trabajador en el empaque, lo cual pudiera ser debido al poco o nulo lavado de manos de los trabajadores durante toda la jornada de trabajo.

En el análisis de microorganismos coliformes fecales, E. coli y Enterococos en las muestras tanto de agua sitio como de agua fuente se encontró muy poca carga microbiana ya que el 100% de las muestras se encontraron con cuentas menores a 10 UFC/ml, únicamente en el análisis de coliformes totales se encontraron cuentas por encima de 10 UFC/ml.

Sin embargo, aún con la poca carga microbiana encontrada, el número de coliformes totales y fecales rebasan el límite permitido por la organización mundial de la salud el cual es de 100 coliformes por 100 ml de muestra.

Así mismo la Norma Oficial Mexicana NOM-CCA-033-ECOL/1993, que establece las condiciones bacteriológicas para el uso de aguas residuales de origen urbano o municipal o de la mezcla de estas con la de los cuerpos de agua, en el riego de hortalizas y productos hortofrutícolas clasifica la calidad microbiológica del agua según el número de coliformes totales por cada 100 ml y de acuerdo a esta clasificación el agua utilizada en los riegos de las granjas muestreadas en este estudio sería de tipo 2, la cual contiene de 1 a 1,000 coliformes fecales por cada 100 ml, encontrándose dentro de los niveles aceptables, aunque estos niveles de microorganismos indicadores puedan presentar un riesgo para la transmisión de patógenos hacia los alimentos que irrigados.

Uno de los objetivos de este estudio fue conocer el perfil microbiológico del chile jalapeño en el campo de cultivo por lo que fue importante analizar a detalle estos resultados. En general se encontraron cargas microbianas bajas por ejemplo en el análisis de coliformes totales las muestras de producto precosecha, cosecha, empaque y distribución las cuentas se encontraban en el rango de <10-100 UFC/ml de enjuague de producto, encontrándose esta misma variación para las cuentas de coliformes fecales en todas las etapas del muestreo.

En promedio las cuentas de coliformes totales fueron de 1.3 UFC/chile jalapeño lo que coincide con los resultados obtenidos en el estudio de Orozco et al., en el 2008 en donde los resultados obtenidos en el muestreo de una granja hidropónica de tomates fueron menores a 3 UFC/por tomate. Lo cual nos indica que las cuentas de coliformes totales en el chile jalapeño son bajas.

Las cuentas de *E. coli* en el chile jalapeño fueron las más bajas ya que los resultados obtenidos fueron <10 UFC/ml de enjuague de producto muestreado en las diferentes etapas del proceso, lo que coincide con el estudio realizado por Ailes et al., en el 2008 donde encontraron que solo el 16% de las muestras de vegetales muestreados tenían concentraciones detectables de *E. coli*.

Sin embargo, las cuentas de enterococos fueron las más altas encontrando que el 45.45% del producto muestreado durante la cosecha se encontraba en el rango de 10^2 - 10^3 UFC/ml de enjuague de producto, lo cual puede ser debido a la contaminación cruzada con las manos de los trabajadores ya que en el 36% de las muestras de manos de los manipuladores se encontró que las cuentas de enterococos estaban dentro del rango de 10^3 - 10^4 UFC/ml lo que indicó que estos microorganismos indicadores pueden ser transmitidos de las manos de los trabajadores hacia el producto. Además estos resultados coincidieron con los encontrados por Ailes et al., en el 2008 en donde obtuvieron altas concentraciones de microorganismos *Enterococcus* en vegetales como repollo, melón, apio, cilantro y perejil.

Al igual que el estudio realizado por Johnston et al., en el 2006 donde demostraron que los niveles microbiológicos de vegetales de hoja verde no presentaron un cambio significativo durante el proceso de empaçado, se encontró en este estudio que no existía diferencia significativa en las cuentas de coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y enterococos en el producto durante el empaque o distribución; sin embargo, estos resultados son contrarios a los publicados por Ailes et al., en el 2008 donde encontraron que los vegetales muestreados en el área de empaçado tenían concentraciones microbiológicas significativamente más altas que las muestras de vegetales tomadas en el campo de cultivo, esta contrariedad de los resultados puede ser debida a que las muestras tomadas en este estudio durante el empaçado fueron muy pocas como para poder evaluar un cambio significativo, ya que en el momento de la colecta de muestras no siempre se estaba empaçando el chile.

11. CONCLUSIONES

1. La mayor parte de las bacterias presentes en chile jalapeño y chile serrano se encontraron localizadas en el tallo.
2. Una muestra de tallo de chile jalapeño adquirida en supermercado de encontró que estaba contaminada con *Salmonella* spp.
3. El municipio de Guadalupe resultó con mayor número de muestras por encima de 10^5 UFC/g organismos mesofilos y coliformes encontrando que existe diferencia significativa cuando se compararon con los otros municipios muestreados.
4. No se encontró diferencia significativa respecto a los establecimientos de donde se obtuvieron las muestras (mercado y supermercado).
5. Se encontró diferencia significativa entre las muestras tomadas en campo, siendo la muestra de suelo las que mayores cuentas presentaron.

12. LITERATURA CITADA

Abdul-Raouf UM, Beuchat LR, Ammar MS. 1993. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables. *Applied and Environmental Microbiology* 59:1999-2006.

Abong'o BO, Momba MNB, Mwambakana JN. 2008. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* O157:H7 in vegetables sold in the Amathole district, Eastern Cape Province of South Africa. *Journal of Food Protection*. 71:816-819.

Adera D, Brown N, Anderson K. 1999. Analysis of foodservice sanitation inspection reports from 1990 through 1994 in a Midwestern city. *Dairy Food Environmental Sanitation*. 19:95-103.

Ailes EC, Leon JS, Jaykus LA, Johnston LM, Clayton HA, Blanding S, Kleinbaum DG, Backer LC, Moe CL. 2008. Microbial concentrations on fresh produce are affected by postharvest processing, importation, and season. *Journal of Food Protection*. 71:2349-2397.

Anon. 2003. *Water for People, Water for Life: Executive Summary*. United Nations World Water Development Report 2003 [internet]. Paris, France: UNESCO Publ. Disponible en el sitio de red: <http://unesdoc.unesco.org/images/0012/001295/129556e.pdf> [Revisado el 2 de abril de 2012].

Anon. 2007. *Consumer Attitudes to Food Standards Report, Wave 7* London, UK: Food Standards Agency [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/cas07uk.pdf> [Revisado el 2 de abril de 2012].

Assadian NW, Di Giovanni GD, Enciso J, Iglesias J, Lindemann W. 2005. The transport of waterborne solutes and bacteriophage in soil subirrigated with a wastewater blend. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 111:279 – 291.

Ávila G, Muñoz E, Chávez C Martínez LR. 2004. Programa Estatal de Inocuidad en Frutas y Hortalizas Primera Parte [internet]. Disponible en el sitio red: <http://www.ciad.mx/boletin/sepoct04/Progestatal.pdf> [Revisado el 19 de julio de 2011].

Bacteriological Analytical Manual Online. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria, Capítulo 4 [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm> [Revisado el 15 de octubre de 2010].

Bernstein N, Sela S, Pinto R, Ioffe M. 2007. Evidence for internalization of *Escherichia coli* into the aerial parts of maize via the root system. *Journal of Food Protection*. 70:471-475.

Betts GD. 2000. Controlling *E. coli* O157. *Nutrition and Food Science*. 30:183-186.

Bihn EA, Gravani RB. 2005. Good agricultural practices in produce safety. In: *Microbiology of Fresh Produce: Emerging Issues in Food Safety*, Matthews KR (Ed.). ASM Press, Washington, DC, pp. 21–53.

Bitton G. 2005. Microbial indicators of fecal contamination: application to microbial source tracking Sciences University of Florida Gainesville [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.floridastormwater.org/Files/FSAEducationalFoundation/Research/Pathogens/FSAMicrobialSourceTrackingReport.pdf> [Revisado el 11 de agosto de 2011].

Buchanan RL, Doyle MP. 1997. Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technolgy*. 51:69–76.

Castillo A, Mercado I, Lucia LM, Martínez-Ruiz Y, Ponce de León J, Murano EA, Acuff GR. 2004. Salmonella contamination during production of cantaloupe: a binational study. *Journal of Food Protection*. 67:713–720.

CDC, 2006. Update on multi-state outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections from fresh spinach [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.cdc.gov/foodborne/ecolispinach/100606.htm> [Revisado el 18 de febrero de 2010].

CDC, 2011 Investigation Update: Multistate Outbreak of Human Salmonella Agona Infections Linked to Whole, Fresh Imported Papayas [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.cdc.gov/salmonella/agona-papayas/072611/index.htm> [Revisado el 16 de agosto de 2011].

CDC. 2003. Hepatitis a outbreak associated con green onions. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 52:1155-1157.

Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Multistate outbreaks of Salmonella Serotype Poona infections associated with eating cantaloupe from Mexico. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5146a2.htm>. [Revisado el 18 de febrero de 2010].

Clayton D, Griffith C. 2004. Observations of food safety practices in catering using national analysis. *British Food Journal*. 106:211-227.

Clayton H. 2006. An epidemiologic study to describe the relationship between farming practices and microbial indicator concentrations on produce from farms in the southern United States. M.P.H. thesis, Emory University.

Cuite CL, Schefske SD, Randolph EM, Hooker NH, Nucci ML, Hallman WK. 2009. Public response to the Salmonella Saintpaul outbreak of 2008. New Brunswick, New Jersey: Rutgers, the State University of New Jersey, Food Policy Institute. Publication number RR-1208-017.

Cutter CN. 2002. Microbial control by packaging: A review critical reviews. Food Science and Nutrition 42:151-161.

D'Aoust JY. 1997. Especies de Salmonella. En: Microbiología de los Alimentos: Fundamentos y Fronteras, Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ (eds). Acribia: España, pp. 133-164.

D'Aoust JY. 2001. Salmonella. In: Guide to Food-borne Pathogen, Labbé RG, García S (Eds.). Wiley, New York, pp. 163–192.

Deisingh AK, Thompson M. 2003. Strategies of the detection of Escherichia coli O157:H7 in foods. Journal of Applied Microbiology. 96:419-429.

Departament for Enviroment Food and Rural Affairs. 2009. Protecting our Water, Soil and Air A Code of Good Agricultural Practice for farmers, growers and land managers [internet]. Disponible en el sito de red: <http://www.defra.gov.uk/publications/files/pb13558-cogap-090202.pdf> [Revisado el 26 de abril de 2012].

Doyle MP, Barrel TJ, Weells JG, Griffin PM. 1993. An outbreak of diarrhea and haemolytic uremic syndrome from E. coli O157:H7 in fresh pressed apple cider. Journal of the American Medical Association. 269:2217-2220.

Doyle MP, Erickson MC. 2007. Summer meeting 2007 – the problems with fresh produce: an overview. *Journal of Applied Microbiology* 105:317–330.

Doyle MP. 1990. Foodborne illness: Pathogenic *E. coli*, *Y. enterocolitica* and *Y. parahaemolyticus*. *Lancet* 336:1111 –1115.

Eshbaugh, W. H. 1975. Genetic and biochemical systematic studies of chili peppers (*Capsicum solanaceae*). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 102:396-403.

Feng P, Weagant S. (2002). Diarrheagenic *Escherichia coli*. In: *Bacteriological Analytical Manual online* [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm> [Revisado el 15 de marzo de 2012].

Feng P. 2001 *Escherichia coli*. In: *Guide to foodborne pathogens*, Labbé RG, García S (eds). Wiley Inter-Science: USA, pp. 143-160.

Foster J, Hall HK. 1990. Adaptive acidification tolerance response of *Salmonella* Tiphimurium. *Journal of Bacteriology*. 172: 771-778.

Gallegos MA, Morales AL, Álvarez GO, Vega AP, Chew YM, Velarde S, Fratamico P. 2008. Identification of *Salmonella* serotypes isolated from cantaloupe and chile pepper production systems in Mexico by per-restriction fragment length polymorphism. *Journal of Food Protection*. 71:2217-2222.

García N, Heredia S. 2009. Foodborne pathogens and toxins: an overview. In: *Microbiologically safe foods*. Heredia N., Wesley I., García, S. (eds). Wiley: Estados Unidos de América. pp. 15-51.

Gómez GM. 2009. Evaluación microbiológica de frutas y hortalizas expandidas en la zona metropolitana de Monterrey, NL mediante tecnologías rápidas. Tesis (Maestría). Universidad Autónoma de Nuevo León

Goutam KA, Meakins M, Yip H, Lopman BA, O'Brien L. 2005. Disease risks from foods, England and Wales. 2000. *Emerging Infectious Diseases*. 11:365-372.

Goyal SM, Gerba CP, Metnick JL. 1977. Occurrence and distribution of bacterial indication and pathogens in canal communities along Texas Coast. *Applied and Environmental Microbiology*. 34:139-149.

Green LR, Selman CA, Radke V, Ripley D, Mack JC, Reimann DW, Stigger T, Motsinger M, Bushnell L. 2006. Food worker practices: An observation study. *Journal of Food Protection*. 69:2417-2423.

Greig J, Todd E, Bartleson C, Michales B. 2007. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease part 1. Description of the problem, methods, and agents involved. *Journal of Food Protection*. 70:1752-1761.

Harwood VJ, Whitlock J, Withington V. 2000. Classification of antibiotic resistance patterns of indicator bacteria by discriminant analysis: Use in predicting the source of fecal contamination in subtropical waters. *Applied and Environmental Microbiology*. 66:3698-3704.

Heaton JC, Jones K. 2008. Microbial contamination of fruit and vegetables and the behaviour of enteropathogens in the phyllosphere: a review Department of Biological Sciences, Lancaster Environment Centre, Lancaster University, Lancaster, UK. *Journal of Applied Microbiology*, 104:613-626.

Hernández E. 2006. Censo Hortícola. Gobierno del estado de Nuevo León [Internet]. Disponible en el sitio de red:

<http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:RpkFy3oghVUJ:www.oeidrus-nl.gob.mx/oeidrus/censohortalizas.pdf> [Revisado el 22 de enero de 2010].

Hu L, Kopecko DJ. 2003. Salmonella. In: International Handbook of Pathogens, Miliotis MD, Bier JW (eds). Marcel Dekker: USA, pp. 151-165.

INAFAP. 2009. Concentrado Estatal del Potencial Productivo del Chile Jalapeño (*Capsicum annum* L.) Bajo Condiciones de Temporal en México [Internet]. Disponible en sitio de red: <http://www.agromapas.inifap.gob.mx/potencialproductivo/requerimientos/concentrado-chile-jalapeno-temporal.html>. [Revisado el 22 de enero de 2010].

INEGI. 2009. Balanza de productos agropecuarios INEGI [Internet]. Disponible en sitio de red: <http://dgcnesyp.inegi.org.mx/cgiwin/bdiecoy.exe/819?s=est&c=16809>. [Revisado el 22 de enero de 2010].

Ingham SC, Fanslau MA, Engel RA, Breuer JR, Breuer JE, Wright TH, Reith-Rozelle JK, Zhu J. 2005. Evaluation of fertilization-to-planting and fertilization harvest intervals for safe use of noncomposted bovine manure in Wisconsin vegetable production. *Journal of Food Protection*. 68:1134–1142.

Islam M, Morgan J, Doyle MP, Phatak SC, Millner P, Jiang X. 2004. Fate of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on carrots and radishes grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Applied and Environmental Microbiology*. 40:2497-2502.

James. 1992. *Microbiología moderna de los alimentos*. Acriba: España, pp. 25-42

Johnston LM, Jaykus LA, Moll D, Martinez MC, Anciso J, Mora B, Moe CL. 2005. A field study of the microbiological quality of produce. *Journal of Food Protection*. 68:1840-1847.

Johnston, L.M., Jaykus, L-A., Moll, D., Anciso, J., Mora, B. and Moe, C.L. (2006) A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. *Int J Food Microbiol* 112, 83–95.

Kudva IT, Blanch K, Hovde CJ. 1998. Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Applied and Environmental Microbiology*. 64:3166–3174.

Laborde C, Pozo C. 1982. Presente y pasado del chile en México. Publicación especial No. 85. INIA. México.

León JS, Jaykus LA, Moe CL. 2009. Food safety issues and the microbiology of fruits and vegetables. In: *Microbiologically safe foods*. Heredia N, Wesley I, García S. (eds). Wiley: Estados Unidos de América. pp. 255- 258.

Liao CH, Cooke PH, Niemira BA. 2010. Localization, Growth, and Inactivation of *Salmonella* Saintpaul on Jalapeño Peppers, *Journal of Food Science*.75:M377-M382.

Lineback D, Walsh C, Rushing J, Silva J. 2002. Mejorando la Seguridad y Calidad de Frutas y Hortalizas Frescas: Manual de Formación para Instructores [Internet]. Disponible en sitio de red: http://ucanr.org/sites/GAP/newsletters/Seguridad_y_Calidad41401.pdf [Revisado el 4 abril de 2012].

Lujan M, Acosta G, Quiñones F, Uribe H, Berzoza M, Aldaba J, Glaván R, Rodríguez R, Chávez N. 2009. Chile jalapeño. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pesqueras [Internet]. Disponible en el sitio de red: <http://sites.securemgr.com/folder11341/index.cfm?id=713696&fuseaction=browse&pageid=1>. [Revisado el 22 de enero de 2010].

Ma L, Zhang G, Gerner-Smidt P, Tauxe RV, Doyle M.P. 2010. Survival and growth of Salmonella in salsa and related ingredients. *Journal of Food Protection*. 73:434-444.

Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2004. *Brock. Biología de los Microorganismos* Pearson-Prentice Hall. USA, pp. 951.

Mara D, Cairncross S. 1989. Guidelines for the Safe Use of Wastewater and Excreta in Agriculture and Aquaculture, Measures for Public Health Protection, World Health Organisation [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://whqlibdoc.who.int/publications/1989/9241542489.pdf> [Revisado el 1 de abril de 2012].

Martínez J, Moreno E. 2009. Manual técnico del manejo de chiles en campo abierto [internet]. Disponible en el sitio red: <http://www.oeidrus.nl.gob.mx/oeidrus/hortalizas/manualchiles.pdf>. [Revisado el 1 de abril de 2012].

Martínez J. 2009. Aspectos generales a considerar en la siembra de hortalizas [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.agronuevoleon.gob.mx/oeidrus/hortalizas/1aspectosgrales.pdf> [Revisado el 1 de abril de 2012].

Montes S, Heredia E, Aguirre A. 2004. Fenología del cultivo del chile (*Capsicum annum* L.). Cultivo y recursos genéticos. Primera convención mundial de chile. León y Celaya, Guanajuato, México, Junio 23-27.

Mukherjee A, Speh D, Dyck E, Diez-Gonzalez F. 2004. Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *Journal of Food Protection* 67, 894–900.

Mukherjee A, Speh D, Jones AT, Buesing KM, Diez-Gonzalez F. 2006. Longitudinal microbiological survey of fresh produce grown by farmers in the Upper Midwest. *Journal of Food Protection* 69:1928–1936.

Muñoz F, Pinto C. 1966. Taxonomía y distribución geográfica de los chiles cultivados de México. No. 15. INIASAG. México.

Nataro JP, Kaper JB. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 11:142-201.

Nicholson FA, Groves SJ, Chambers BJ. 2005. Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. *Bioresource Technology*. 96:135-143.

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. *Diario Oficial de la Federación*. Gobierno constitucional de los Estados Unidos Mexicanos. México D.F.

Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos. *Diario Oficial de la Federación*. Gobierno constitucional de los Estados Unidos Mexicanos. México D.F.

Norma Oficial Mexicana NOM-244-SSA1-2008, Equipos y sustancias germicidas para tratamiento doméstico de agua. Requisitos sanitarios. *Diario Oficial de la Federación*. Gobierno constitucional de Estados Unidos Mexicanos. México D.F.

Norma Oficial Mexicana NOM-CCA-033-ECOL/1993. Condiciones bacteriológicas para el uso de aguas residuales de origen urbano o municipal o de la mezcla de estas con la de los cuerpos de agua, en el riego de hortalizas y productos hortofrutícolas. *Diario Oficial de la Federación*. Gobierno constitucional de los Estados Unidos Mexicanos. México D.F.

Okafo CN, Umoh VJ, Galadima M. 2003. Occurrence of pathogens on vegetables harvested from soils irrigated with contaminated streams. *The Science of the Total Environment*. 311:49–56.

Orozco L, Rico-Romero L, Escartín E. 2008. Microbiological Profile of Greenhouses in a Farm Producing Hydroponic Tomatoes. *Journal of Food Protection*. 71:60-65.

Phillips CA, Harrison MA. 2005. Comparison of the microflora on organically and conventionally grown spring mix from a California processor. *Journal of Food Protection* 68:1143–1146.

Pickersgill B. 1969. The domestication of chili peppers. En: *The domestication and exploration of plants and animals*. P. J. Ucko y G. W. Dimbley (eds.). London. UK. pp. 443-450

Pickersgill B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). *Evolution*. 25:683-691.

Pierson M, Smoot L. 2007. Indicator microorganisms and microbiological criteria. En: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ (Eds). 2nd ed. ASM Press, Washington, DC, pp. 78–81.

Pozo C. 1981. Descripción de tipos y cultivares de chile (*Capsicum* spp.) en México. Folleto Técnico. No. 77. INIA SARH. México.

Puig-Duran J. 2002. Enterococos totales. En: *Ingeniería, autocontrol y auditoría de la higiene en la industria alimentaria*. Madrid Vicente (eds). Madrid pp. 45-46.

Rivas L, Fegan N, Dykes G. 2007. Attachment of Shiga toxigenic *Escherichia coli* to stainless steel. *Journal of Food Microbiology*. 115:89-94.

Rodríguez MC, Peregrina RG. 1999. Salmonella. En: Agentes Patógenos Transmitidos por Alimentos, Vol. I. Torres MV (Eds). Universidad Autónoma de Guadalajara: México, pp. 65-93.

SAGARPA. 2003. Diagnostico del sistema productor de chile. [internet]. Disponible en el sitio de red: www.amsda.com.mx/PREEstatales/Estatales/TAMAULIPAS/PREchile.pdf [Revisado el 13 de enero de 2010].

SAGARPA. 2008. Exportaciones de productos agroindustriales. Informe anual. [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.sagarpa.gob.mx/testFer/Lists/Lista%20Equis/Attachments/299/B181.pdf>. [Revisado el 13 de enero de 2010].

SAGARPA. 2009. Programa sectorial de desarrollo agropecuario y pesquero [internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.sagarpa.gob.mx/tramitesyServicios/sms/Documents/sectorial_231107.pdf [Revisado el 25 de agosto de 2011].

SAGARPA. 2010. Cierre de la producción agrícola por estado [internet]. Disponible en el sitio de red: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351 [Revisado el 25 de agosto de 2011].

SAGARPA. 2011. Evolución de las Exportaciones agroalimentarias [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/EVOLUCI%C3%93N%20DE%20COMERCIO%20EXTERIOR%20AGROALIMENTARIO.pdf?Mobile=1> [Revisado el 2 de abril de 2012].

SAGARPA. 2011. Exportaciones agroalimentarias rebasan los 18 mil millones de dólares, México, DF. [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/boletines2/paginas/2011B058.aspx> [Revisado el 16 de agosto de 2011].

Silvestro L, Caputo M, Blancato S, Decastelli L, Fioravanti A, Tozzoli R, Morabito S, Caprioli A. 2004. Asymptomatic carriage of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in farm workers in Northern Italy. *Epidemiology and Infection*. 132:915–919.

Sivapalasingam S, Friedman CR, Cohen L, Tauxe RV. 2004. Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. *Journal of Food Protection* 67:2342–2353.

Steele M, Mahdi A, Odumeru J. 2005. Microbial Assessment of Irrigation Water Used for Production of Fruit and Vegetables in Ontario, Canada. *Journal of Food Protection*. 68:1388–1392

Steele M, Odumeru J. 2004. Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables. *Journal of Food Protection*. 67:2839-2849.

Takeuchi K, Frank JF. 2000. Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into lettuce tissues as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. *Journal of Food Protection*. 63:434–440.

Thunberg RL, Tran TT, Bennett RW, Matthews RN, Belay N. 2002. Microbial Evaluation of Selected Fresh Produce Obtained at Retail Markets. *Journal of Food Protection*. 65:677-682.

USDA (U.S. Department of Agriculture). 2001. Agricultural chemical usage: fruit and vegetable agricultural practices [internet]. Disponible en el sitio de red:

<http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/viewDocumentInfo.do?documentID=1568>
. [Revisado el 2 de abril de 2012].

USFDA-CFSAN. 1998. Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables [internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlanProducts/UCM169112.pdf> [Revisado el 15 de marzo de 2012].

Wang RF, Cao WW, Cerniglia CE. 1997. A universal protocol for PCR detection of 13 species of foodborne pathogens in foods. *Journal of Applied Microbiology* 83:727-736.

Wei CI, Huang TS, Kim JM, Lin WF, Tamplin ML, Bartz JA. 1995. Growth and survival of *Salmonella montevideo* on tomatoes and disinfection with chlorinated water. *Journal of Food Protection*. 58:829-836.

World Health Organisation (WHO). 1975. Reuse of effluent: Methods of wastewater treatment and health safeguards. WHO Technical Report Series No.517. Geneva, Switzerland. pp 22 – 23.

13. APENDICES

13.1 Apéndice I

Tabla de números aleatorios dentro de la gama de 0 a 500 con duplicaciones

165 320 356 383 302 042 189 117 465 290 313 010 285 329 463 429 264 393 137 138 401 483 103 374
 062 363 094 267 015 269 377 318 495 333 052 395 499 055 017 130 294 436 009 023 114 342 292 074
 092 406 467 151 229 128 433 387 392 376 424 280 345 415 073 331 324 479 381 408 328 068 347 142
 122 449 338 035 443 355 488 087 422 419 296 297 058 140 262 031 221 021 253 425 041 427 403 344
 019 492 210 053 157 213 176 288 452 462 167 181 272 500 317 100 251 064 124 310 388 286 090 044
 049 033 082 438 371 440 231 490 349 003 039 066 486 226 005 301 148 106 497 194 101 012 146 245
 080 076 454 322 084 299 420 057 379 046 411 451 199 085 060 001 178 149 369 078 315 372 334 447
 478 119 326 340 431 025 476 258 409 089 283 468 413 312 116 203 208 192 240 096 028 098 390 014
 007 162 197 224 144 385 030 460 306 132 154 352 126 171 304 404 105 235 112 481 242 457 445 215
 037 205 069 108 358 110 219 160 336 308 026 237 474 397 360 472 135 278 484 365 456 183 133 417
 435 247 441 494 071 470 274 361 367 350 399 121 187 256 047 173 165 320 356 383 302 042 189 117
 465 290 313 010 285 329 463 429 264 393 137 138 401 483 103 374 062 363 094 267 015 269 377 318
 495 333 052 395 499 055 017 130 294 436 009 023 114 342 292 074 092 406 467 151 229 128 433 387
 392 376 424 280 345 415 073 331 324 479 381 408 328 068 347 142 122 449 338 035 443 355 488 087
 422 419 296 297 058 140 262 031 221 021 253 425 041 427 403 344 019 492 210 053 157 213 176 288
 452 462 167 181 272 500 317 100 251 064 124 310 388 286 090 044 049 033 082 438 371 440 231 490
 349 003 039 066 486 226 005 301 148 106 497 194 101 012 146 245 080 076 454 322 084 299 420 057
 379 046 411 451 199 085 060 001 178 149 369 078 315 372 334 447 478 119 326 340 431 025 476 258
 409 089 283 468 413 312 116 203 208 192 240 096 028 098 390 014 007 162 197 224 144 385 030 460
 306 132 154 352 126 171 304 404 105 235 112 481 242 457 445 215 037 205 069 108 358 110 219 160
 336 308 026 237 474 397 360 472 135 278 484 365 456 183 133 417 435 247 441 494 071 470 274 361
 367 350 399 121 187 256 047 173 165 320 356 383 302 042 189 117 465 290 313 010 285 329 463 429
 264 393 137 138 401 483 103 374 062 363 094 267 015 269 377 318 495 333 052 395 499 055 017 130
 294 436 009 023 114 342 292 074 092 406 467 151 229 128 433 387 392 376 424 280 345 415 073 331
 324 479 381 408 328 068 347 142 122 449 338 035 443 355 488 087 422 419 296 297 058 140 262 031
 221 021 253 425 041 427 403 344 019 492 210 053 157 213 176 288 452 462 167 181 272 500 317 100
 251 064 124 310 388 286 090 044 049 033 082 438 371 440 231 490 349 003 039 066 486 226 005 301
 148 106 497 194 101 012 146 245 080 076 454 322 084 299 420 057 379 046 411 451 199 085 060 001
 178 149 369 078 315 372 334 447 478 119 326 340 431 025 476 258 409 089 283 468 413 312 116 203
 208 192 240 096 028 098 390 014 007 162 197 224 144 385 030 460 306 132 154 352 126 171 304 404
 105 235 112 481 242 457 445 215 037 205 069 108 358 110 219 160 336 308 026 237 474 397 360 472

135 278 484 365 456 183 133 417 435 247 441 494 071 470 274 361 367 350 399 121 187 256 047 173
165 320 356 383 302 042 189 117 465 290 313 010 285 329 463 429 264 393 137 138 401 483 103 374
062 363 094 267 015 269 377 318 495 333 052 395 499 055 017 130 294 436 009 023 114 342 292 074
092 406 467 151 229 128 433 387 392 376 424 280 345 415 073 331 324 479 381 408 328 068 347 142
122 449 338 035 443 355 488 087 422 419 296 297 058 140 262 031 221 021 253 425 041 427 403 344
019 492 210 053 157 213 176 288 452 462 167 181 272 500 317 100 251 064 124 310 388 286 090 044
049 033 082 438 371 440 231 490 349 003 039 066 486 226 005 301 148 106 497 194 101 012 146 245
080 076 454 322 084 299 420 057 379 046 411 451 199 085 060 001 178 149 369 078 315 372 334 447
478 119 326 340 431 025 476 258 409 089 283 468 413 312 116 203 208 192 240 096 028 098 390 014
007 162 197 224 144 385 030 460 306 132 154 352 126 171 304 404 105 235 112 481 242 457 445 215
037 205 069 108 358 110 219 160 336 308 026 237 474 397 360 472

13.1. Apéndice II, Descripción de cadenas

Número de Cadena	No. de muestra	Nombre de la muestra
1	1	producto / chile precosecha
	2	suelo
	3	agua de sitio
	4	agua de fuente
	5	producto cosecha
	6	manos cosecha
	7	producto empacado
	8	manos empacado
2	9	Suelo/ chile
	10	Producto precosecha
	11	Producto Cosecha
	12	Manos cosecha
	13	Manos distribución
	14	Producto distribución
	15	Agua de fuente
3	16	Suelo/ chile
	17	Producto precosecha
	18	Producto cosecha
	19	Manos cultivo
	20	Manos distribución
	21	Producto distribución
	22	Agua de fuente
4	23	Suelo/ chile
	24	Producto precosecha
	25	Producto cosecha
	26	Manos cosecha
	27	Manos distribución
	28	Producto distribución
	29	Agua de fuente
	30	Agua de sitio

Número de Cadena	No. de muestra	Nombre de la muestra
5	31	Suelo/ chile
	32	Manos cosecha
	33	Producto cosecha
	34	Producto precosecha
	35	Producto empaque
	36	Agua de sitio
	37	Agua de fuente
	38	Manos distribución
	39	Producto distribución
	40	Manos empaque
6	41	Agua fuente/ chile
	42	Manos distribución
	43	Suelo
	44	Producto precosecha
	45	Manos cosecha
	46	Producto cosecha
	47	Producto distribución
7	48	Suelo/ chile
	49	Manos cosecha
	50	Producto precosecha
	51	Producto cosecha
	52	Producto distribución
	53	Manos distribución
	54	Agua de fuente
8	55	Suelo/ chile
	56	Producto distribución
	57	Manos cosecha
	58	Manos distribución
	59	Producto precosecha
	60	Producto cosecha
	61	Agua de fuente
	62	Agua de sitio

Número de Cadena	No. de muestra	Nombre de la muestra
9	63	Producto precosecha/ chile
	64	Producto cosecha
	65	Manos cosecha
	66	Manos distribución
	67	Producto distribución
	68	Agua sitio
	69	Agua fente
	70	Suelo
10	71	Producto precosecha/ chile
	72	manos cosecha
	73	Producto cosecha
	74	Producto distribución
	75	Manos distribución
	76	Agua fuente
	77	Suelo
11	78	Producto precosecha/ chile
	79	Manos cosecha
	80	Producto cosecha
	81	Suelo
	82	Producto distribución
	83	Manos distribución
	84	Agua fuente

RESUMEN CURRICULAR

Karina Guadalupe Molina Loya

Candidata para el grado de

Maestra en Ciencias con Acentuación en Microbiología

Tesis: DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN PUNTO DE VENTA DE CHILE JALAPEÑO (*Capsicum annuum*) Y CHILE SERRANO (*C. annuum* var *accuminatum*) E IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS MICROBIOLÓGICOS DURANTE SU CULTIVO. ESTUDIO DE LA REGIÓN DE CADEREYTA JIMENEZ, N.L.

Campo de Estudio: Inocuidad Alimentaria

Datos personales: Nacida en Torreón, Coahuila el 7 de diciembre de 1984, hija de Ma. Del Carmen Loya Ruvalcaba y Luis Molina Reyes.

Educación: Egresado del Instituto Tecnológico de Durango, grado obtenido de Ingeniera Bioquímica con Especialidad en Alimentos en 2008.

Experiencia profesional: Subgerente de calidad en Tiendas Soriana S.A. de C.V. desde 2011.