



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

**SENSIBILIDAD DE *Escherichia coli* A DIFERENTES BACTERICIDAS DE USO
AGRÍCOLA**

TESIS

**QUE COMO TRÁMITE PARCIAL PARA LA EVALUACIÓN PROFESIONAL DE
LA LICENCIATURA DE INGENIERO AGRÓNOMO INDUSTRIAL**

PRESENTA:

LAGOS MORAN ITZEL

(40ª GENERACIÓN, NÚMERO DE CUENTA 0949054)

ASESORES

DRA. OCAÑA DE JESÚS ROSA LAURA

DR. JESÚS RICARDO SÁNCHEZ PALE

**CAMPUS UNIVERSITARIO “EL CERRILLO”, PIEDRAS BLANCAS
MUNICIPIO DE TOLUCA, MÉX, OCTUBRE 2021**



ÍNDICE

No.		Pág.
	ÍNDICE	iv
	INDICE DE CUADROS	vi
	INDICE DE FIGURAS	viii
	Resumen	ix
	Abstract	xii
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVOS	4
III.	HIPÓTESIS	4
IV.	ANTECEDENTES (REVISIÓN DE LITERATURA)	5
IV.1	Inocuidad Agroalimentaria	5
IV.2	Tipos de peligros en producción de alimentos	7
IV.3	Contaminantes biológicos	8
IV.4	Fuentes de contaminación	9
IV.5	Enfermedades transmitidas por alimentos	10
IV.6	Prevención de fuente de contaminación	11
IV.6.1	Buenas prácticas agrícolas	12
IV.6.1.1	Sección campo	14
IV.6.1.2	Disminución de riesgos durante la producción	16
IV.6.1.3	Disminución de riesgos durante la cosecha	18
IV.6.2	Buenas prácticas de manufactura	19
IV.7	Importancia de <i>Escherichia coli</i>	19
IV.7.1	Descripción taxonómica de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	21
IV.7.2	Síntomas producidos por <i>Escherichia coli</i>	22
IV.8	Bactericidas de uso agrícola	23
IV.8.A	Kasumin ®(Kasugamicina).	24
IV.8.2	Sulfato de cobre (Sulfato de cobre pentahidratado).	25
IV.8.3	Terramicina agrícola	25

IV.8.3	Agry Gent Plus	26
IV.8.5	Hidrobacter	26
IV.9	Impacto del uso de antimicrobianos	27
V	MATERIALES Y MÉTODOS	29
V.1	Ubicación del ensayo	29
V.2	Activación de cepas	29
V.2.1	Preparación del inóculo	31
V.2.1	Preparación de bactericidas	31
V.3	Establecimiento del ensayo	33
V.4	VARIABLES DE ESTUDIO	36
V.5	Diseño experimental	36
V.6	Análisis de datos	36
VI.	RESULTADOS	36
VI.1.1	Método 1: Evaluación de efecto inhibitorio de Bactericidas incorporados a agar.	36
VI.1.2	Metodología 2: Método de difusión. Efecto inhibitorio de Bactericidas por medio de sensidiscos	43
VII.	DISCUSIÓN	54
VIII.	CONCLUSIÓN	61
IX	LITERATURA CONSULTADA	62

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1 Bactericidas de uso agrícola usados en la presente investigación y su preparación para el ensayo <i>In vitro</i> .	32
Cuadro 2 Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y 6 tratamientos bajo un diseño de parcelas divididas, a las 24 horas después del establecimiento del ensayo de bactericidas incorporados en agar.	38
Cuadro 3 Separación de medias para el factor cepas de <i>E.coli</i> considerando seis tratamientos.	39
Cuadro 4 Separación de medias en la variable UFC/ mL para el factor tratamientos en las tres cepas de <i>E. coli</i> a las 24 horas de incubación.	40
Cuadro 5 Resultado de análisis de varianza considerando tres cepas y 6 tratamientos bajo un diseño de parcelas divididas, a las 72 horas después del establecimiento del ensayo de bactericidas incorporados en agar.	41
Cuadro 6 Separación de medias para el factor de <i>E.coli</i> considerando 6 tratamientos.	42
Cuadro 7 Separación de medias en la variable UFC para el factor tratamientos en las tres cepas de <i>E.coli</i> a las 24 horas de sembrados.	43
Cuadro 8 Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y 6 tratamientos bajo un diseño de parcelas divididas, a las 24 horas después del establecimiento del ensayo.	44
Cuadro 9 Separación de medias en la variable halo de inhibición (mm) para el factor tratamientos en las tres cepas de <i>E. coli</i> a las 72 horas de sembrados	45
Cuadro 10 Valores medios del halo inhibición expresado para el factor cepas de <i>E.coli</i> ante seis tratamientos.	45

Cuadro 11	Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas bacterianas y seis tratamientos bajo un diseño de parcelas divididas, a las 72 horas después del establecimiento del ensayo.	46
Cuadro 12	Separación de medias para el factor cepas de <i>E. coli</i> considerando seis tratamientos.	47
Cuadro 13	Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos y su inhibición a las tres cepas de <i>E.coli</i> .	48
Cuadro 14.	Resultados del análisis de varianza del efecto inhibitorio de seis tratamientos a la <i>E. coli</i> O157:H7.	48
Cuadro 15.	Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos evaluados y su inhibición a la cepa de <i>E.coli</i> O157:H7.	49
Cuadro 16.	Resultados del análisis de varianza del efecto inhibitorio a <i>E. coli</i> O157:H16 ante la presencia de seis tratamientos.	51
Cuadro 17.	Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de <i>E.coli</i> O157:H16.	52
Cuadro 18.	Resultados de análisis de varianza para la variable sensibilidad de la cepa <i>E.coli</i> O105ab a los diferentes bactericidas de origen químico.	52
Cuadro 19.	Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de <i>E.coli</i> O105ab.	53

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Reactivación de cepas de <i>Escherichia coli</i> (a) y crecimiento en medios selectivos (b)	30
Figura 2 <i>Escheria coli</i> en Agar Maconkey y tinción de Gram	30
Figura 3 Preparación (a) y cuantificación de inóculo empleado y (b) siembra en gota.	34
Figura 4 Suplementación del Agar con los antibióticos evaluados	34
Figura 5 Evaluación del diámetro de inhibición originado en <i>Escherichia coli</i> O157:H7, O157:H16 Y O105ab por efectos de algunos de los bactericidas de uso agrícola.	35

RESUMEN

El consumo de frutas y hortalizas frescas es parte importante de una dieta saludable, desde el punto de vista microbiológico son alimentos comparativamente de menor riesgo que la carne y los productos lácteos. Sin embargo, en los últimos años se ha detectado un mayor número de enfermedades transmitidas por frutas y hortalizas, la información disponible muestra que es un problema que crece en importancia, ya que pueden servir como vehículos de una amplia diversidad de bacterias, parásitos y virus patógenos para el hombre, las cuales se manejan de forma preventiva en campo y postcosecha a través de las buenas prácticas agrícolas y de manufactura. Pero en la mayoría de los casos se desconoce el efecto de las bactericidas de uso agrícola sobre las bacterias causantes de enfermedades transmitidas en alimentos. Con la finalidad de generar dicha información, se evaluó en condiciones *In vitro*, el efecto de los bactericidas Terramicina Agrícola, Agrigent Plus, Gentamicina, Kasumin y Sulfato de Cobre, en sus dosis comerciales, a *Eschericia coli* cepa O105ab, O157:H16 y O157:H7. El testigo fue agua destilada estéril. Para tal fin se evaluaron dos metodologías, la primera con agar adicionado con el antibiótico a evaluar y su inoculación por cada cepa; y la segunda que consistió en el uso de placas de agar nutritivo para ser inoculadas con los serotipos O157:H16, O105ab y O157:H7, evitando dejar zonas libres para conseguir una siembra uniforme, e incorporó el antimicrobiano a través de discos de papel filtro con un tiempo de contacto de 10 minutos. Las placas fueron incubadas a 35°C. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con tres repeticiones en ambos métodos. Para su análisis estadístico, se utilizó un arreglo de datos en parcelas divididas por cada método por cada tiempo de muestreo. En el primer

método, se evaluó la cantidad de UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonia por mililitro) en cada placa sembrada a las 24 y 72 Horas. En este método, el análisis de varianza indicó la existencia de diferencia altamente significativa para cepa bacteriana, tratamientos y su interacción. Las cepas de *E. coli* O105ab (EcH), O157:H7 y O157:H16 (EcT) inhibieron su crecimiento al 100%, con los bactericidas Sulfato de cobre, Agri Gent Plus, Terramicina agrícola e Hidrobacter, es decir fueron incapaces de crecer sobre la superficie del medio, mientras que Kasumin inhibió solo el 95% de las UFC presentes, aunque los mayores recuentos se tuvieron del serotipo O157:H16.

En el segundo método se evaluó el diámetro de la zona de inhibición (mm) que se forma alrededor de cada disco con el apoyo de un vernier. El análisis de varianza indicó la existencia de diferencia significativa para el factor tratamientos en las diferentes fechas de evaluación con el método de sensidiscos. En la primera fecha de evaluación, la separación de medias para el factor tratamientos indicó que Terramicina Agrícola presentó el mayor halo de inhibición de crecimiento en las tres cepas bacterias, seguido de Gentamicina y Sulfato de Cobre. Por caso contrario, Kasugamicin no expresó efecto inhibitorio en las tres cepas, su comportamiento fue estadísticamente similar al testigo. Para la segunda fecha, se encontró diferencia altamente significativa para el factor cepa bacteriana como tratamientos, así como en su interacción; la separación de medias para el factor cepa indicó que la mayor inhibición fue O157:H16 seguida de O157:H7; para el factor tratamiento se encontró que todos los bactericidas presentaron un efecto similar de inhibición en términos estadísticos, excepto Kasumicina. Sin embargo, el mayor efecto inhibitorio se observó con el bactericida Gentamicina seguido de sulfato de cobre, resultados que

contrastan con lo reportado en la primera fecha de evaluación. Por caso contrario en el bactericida Kasumin no se encontró efecto inhibitorio hacia las tres cepas, similar a lo determinado a la primera fecha, efecto similar se observó en el testigo. Respecto al factor cepa bacteriana, todas las cepas fueron estadísticamente similares en su respuesta a los cinco bactericidas. Aunque la cepa O157:H7 expresó mayor crecimiento a los diferentes bactericidas.

ABSTRACT

Fresh fruits and vegetables are an important part of a healthy diet, and from a microbiological perspective they are relatively low-risk foods compared to meat and dairy products. However, over the past few years, there has been an increase in the number of illnesses transmitted by fruits and vegetables. The available information shows that this is a growing problem, since they can serve as a vehicle for a number of bacteria, parasites, and viruses that are pathogenic to humans, which must be managed in the field and post-harvest through good agricultural and manufacturing practices. However, in most cases, the effects of agricultural bactericides on the disease-causing bacteria found in food are unknown. In order to generate this information, we evaluated *in vitro* the effects of commercial doses of the bactericides Agricultural Terramycin, Agrigent Plus, Gentamicin, Hidrobacter, Kasumin and copper sulfate on *Escherichia coli* strains O105ab, O157:H16 and O157:H7. The control treatment was sterile distilled water. We evaluated two different methods, the first by adding the antibiotic to the agar, and the second using nutrient agar plates inoculated with serotypes O157:H16, O105ab and O157:H7, avoiding leaving open zones to achieve a uniform plating, and incorporating the antimicrobial into discs of filter paper with a contact time of 10 minutes. The plates were incubated at 35°C. We used a completely randomized experimental design with three replicates for each method. For the statistical analysis, we used a split plot design for each method for each sampling time. In the first method, we evaluated the number of CFU/mL (Colony-forming units per milliliter) on each plate seeded after 24 and 72 hours. In this method, the analysis of variance indicated that there was a highly significant

effect of bacterial strain, treatment, and their interaction. The *E. coli* strains O105ab (EcH), O157:H7 and O157:H16 (EcT) were 100% inhibited with the copper sulfate, Agri Gent Plus, agricultural terramycin, and Hidrobacter; that is, they were unable to grow at all on the surface of the medium. Kasumin inhibited only 95% of the CFU present, and the highest counts were obtained from the O157:H16 serotype. For the second method, we used a caliper to measure the diameter of the zone of inhibition (mm) that was formed around each disc. The analysis of variance showed that there was a significant effect of the factors treatment and date of evaluation using the sensidisc method. On the first evaluation date, the separation of means for the treatment factor indicated that agricultural terramycin presented the largest inhibition halo for the growth of all three bacterial strains, followed by Gentamicin and copper sulfate. On the contrary, Kasumin did not have an inhibitory effect on any of the three strains and its behavior was statistically similar to the control. On the second date, there were highly significant effects of strain, treatment, and their interaction; the separation of means for the strain factor showed that O157:H16 was the most strongly inhibited, followed by O157:H7. For the treatment factor, we found that all the bactericides had similar inhibitory effects in statistical terms, except for Kasumin. However, the strongest inhibitory effect was with the bactericide Gentamicin, followed by copper sulfate, results which contrast with the first evaluation date. On the contrary, the bactericide Kasumin did not have an inhibitory effect on any of the three strains, as occurred on the first date and with the control treatment. With respect to the strain factor, all the strains were statistically similar in their responses to the five bactericides, although the strain O157:H7 had more growth with the different bactericides.

I. INTRODUCCIÓN

La inocuidad agroalimentaria es uno de los principales requisitos que deben de reunir los productos de origen agrícola para garantizar que no causan daños a la salud del consumidor final (Estape, 2012). Dentro de la inocuidad agrícola se debe de garantizar que el producto esté libre de contaminantes químico, físico, radiológico y biológico; dentro de este se encuentran los microbiológicos. En este último se busca que los productos tengan la menor carga de microorganismos que pueden afectar la salud del consumidor, como *Escherichia coli* y *Salmonella*, (Estape, 2012). Diversos productos mínimamente procesados han reportado la presencia de bacterias, parásitos y virus patógenos al hombre (Beuchat, 1996).

Esta bacteria fue reconocida por primera vez como un patógeno humano en 1982, y se vinculó con productos cárnicos. Sin embargo, durante los siguientes diez años, se produjeron una serie de brotes asociados a productos alimenticios de origen agrícola (Riley *et al.*, 1983; Ocaña *et al.*, 2019).

Los brotes causados por *E. coli* O157:H7 son más comunes en el hemisferio occidental, pero ciertamente no se limitan a esta parte del mundo, ya que uno de los casos más notables fue en Asia en 1996 (Estape, 2012). Aquí, el brote fue causado por el consumo de rábano blanco en la ciudad de Sakai, Osaka, Japón, donde se vieron afectados más de 6000 escolares. Aproximadamente 1000 de ellos fueron hospitalizados con síntomas gastrointestinales severos, y aproximadamente 100 tuvieron complicaciones de SUH (síndrome urémico hemolítico), lo que resultó en tres muertes.

Se han reportado muchos brotes en los Estados Unidos (EE. UU.), Canadá y Gran Bretaña. Los brotes asociados con productos frescos en los Estados Unidos son

ahora uno de los principales vehículos vinculados a *E. coli* O157:H7, y representan el 34% de todos los brotes transmitidos por alimentos (Estape, 2012).

Un brote de varios estados causado por la espinaca envasada ocurrió en 2006, afectó a personas de 26 estados en los Estados Unidos y resultó en 183 infecciones confirmadas y tres muertes. El mismo año, los estudios epidemiológicos detectaron *Escherichia coli* Enterohemorrágica (EHEC) en espinacas (Estape, 2012).

Recientemente, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en Estados Unidos informó de un brote en cuatro estados provocados por *E. coli* STEC (productora de toxina shiga), donde O157:H7 fue la causa de infecciones relacionadas con ensaladas listas para comer, 33 personas estaban infectadas, no se informaron muertes. Por lo tanto, en los últimos 25 años, muchos brotes se han asociado con la presencia de este patógeno en la superficie o se han internalizado en plantas y frutas alimenticias (Ocaña *et al.*, 2019). El vector de contaminación a productos alimenticios se reporta principalmente presencia de animales en parcelas, insectos y los trabajadores; de igual forma: el agua de riego y los abonos a base de estiércol no tratado adecuadamente (Olaimat y Holley, 2012).

La presencia de bacterias que afectan la producción de diversos cultivos y la intensificación de la producción agrícola ha llevado a un uso creciente de antimicrobianos y se espera que se duplique en el 2030. Estos fármacos son importantes para el tratamiento de enfermedades en plantas y animales, pero deben usarse de manera responsable y solo cuando es necesario (FAO, 2017).

Por otro lado, el aumento de resistencia o multi-resistencia a antibióticos (AMR, por sus siglas en inglés) en bacterias patógenas se ha convertido en un gran problema de salud a nivel mundial, ya que reduce la eficacia terapéutica de los antibióticos

(De la Fuente-Salcido *et al.*, 2015) en pacientes. Diversos reportes han mostrado un incremento en la emergencia de *Salmonella* y *E. coli* con niveles significativos de resistencia a los antimicrobianos (Duffy *et al.*, 2005; Musgrove *et al.*, 2006).

Los AMR describen un fenómeno natural por el cual microorganismos como bacterias, virus, parásitos y hongos ganan resistencia a los efectos de los fármacos antimicrobianos, como los antibióticos, que anteriormente eran eficaces en el tratamiento de infecciones (FAO, 2017).

La diseminación de antibióticos en el medio natural se asocia principalmente a su aplicación en medicina y veterinaria, sin embargo, no se ha considerado adecuadamente el papel que juega el uso de antibióticos en la agricultura, como base de la cadena trófica, puede desempeñar en la transmisión bacterias resistentes a antibióticos y de genes de resistencia a antibióticos a través de los alimentos antes de que llegue al consumidor (FAO, 2017). Posiblemente ésta sea la razón de no recomendar el uso de antibióticos para el control de bacterias enteropatógenas, aunque su uso es habitual en el control de patología de origen bacteriano en vegetales.

Dentro de las acciones que se han implementado para mitigar la presencia de la carga bacteriana en productos hortofrutícolas, y de forma preventiva, es el uso de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), así como de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), y poco se ha hecho referencia a uso de bactericidas de uso agrícola que pudieran reducir la presencia de bacterias en los productos cosechados. Con base a todo lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue:

II. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la sensibilidad de las cepas de *Escherichia coli* (O157:H7, O157:H16 y O105ab) a diferentes bactericidas de uso agrícola (Kasumin, Sulfato de cobre, Terramicina Agrícola, Agry Gent Plus y Hidrobacter).

Objetivos específicos

1. Comparar la sensibilidad de las tres cepas de *Escherichia coli* a bactericidas de uso agrícola mediante dos metodologías.
2. Evaluar el tamaño del halo de inhibición y Unidades Formadoras de Colonia (UFC) que ejercen los cinco bactericidas en cada cepa bacteriana.

III. HIPÓTESIS

Algún ingrediente activo (Kasumin, Sulfato de cobre, Terramicina Agrícola, Agry Gent Plus y Hidrobacter) de los bactericidas de uso agrícola evaluado tiene efecto inhibidor sobre las diferentes cepas (O157:H7, O157:H16 y O105ab) de *Escherichia coli*.

IV. ANTECEDENTES (REVISIÓN DE LITERATURA)

IV. 1 Inocuidad Agroalimentaria

La inocuidad de los alimentos puede definirse como el conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la producción, almacenamiento, distribución y preparación de alimentos para asegurar que una vez ingeridos, no representen un riesgo para la salud (SENASICA, 2017).

El consumo de frutas y hortalizas frescas es parte importante de una dieta saludable, desde el punto de vista microbiológico son alimentos comparativamente de menor riesgo que la carne y los productos lácteos. Sin embargo, al ser consumidos sin ningún tipo de cocción, son potencialmente peligrosas en caso de que exista la contaminación. En los últimos años se ha detectado un mayor número de enfermedades transmitidas por frutas y hortalizas, la información disponible muestra que es un problema que crece en importancia, ya que pueden servir como vehículos de una amplia diversidad de bacterias parásitos y virus patógenos para el hombre (López *et al.*, 2009).

Comprender la complejidad del problema de la contaminación microbiana de los vegetales y tener conciencia de su importancia es el primer paso para lograr una alta calidad en los productos hortícolas. Al nivel actual de la tecnología no es posible eliminar el riesgo en forma total, por lo que hay que establecer medidas para reducirlo. Es preferible, más efectivo y económico prevenir la contaminación

microbiana en las frutas y hortalizas que eliminarla una vez que tiene lugar (Rodríguez, 2011).

Los riesgos biológicos asociados a los productos hortícolas están relacionados con las malas prácticas de producción, como el empleo de agua de riego contaminada, el uso de desechos biológicos sólidos como fertilizante sin tratamiento o con tratamiento inapropiado, la presencia de animales en las áreas de cultivo, la proximidad a zonas de acumulación de aguas albañales o sólidos orgánicos, una inadecuada higiene de las instalaciones, entre otros (Rodríguez, 2011). En los últimos años se ha detectado un mayor número de enfermedades transmitidas por frutas y hortalizas, la información disponible muestra que es un problema que crece en importancia.

IV.2 Tipos de peligros en producción de alimentos

Se entiende por "alimento" a toda sustancia, elaborada, semielaborada o bruta, que se destina al consumo humano, incluyendo las bebidas, el chicle y cualquier otra sustancia que se utilicen en la fabricación, preparación o tratamiento de los alimentos, pero no incluye los cosméticos, ni el tabaco, ni las sustancias utilizadas solamente como medicamentos. La "higiene de los alimentos" comprende las condiciones y medidas necesarias para la producción, elaboración, almacenamiento y distribución de los alimentos destinadas a garantizar un producto inocuo, en buen estado y comestible, apto para el consumo humano (Codex Alimentarius, 2007).

Un peligro alimentario es "un agente biológico, químico o físico presente en el alimento, o bien la condición en que éste se halla, que puede causar un efecto adverso para la salud" (OMS-FAO, 2007).

Los peligros en alimentos se clasifican según su naturaleza (OPS, 2015):

1. Peligros biológicos: bacterias, virus y parásitos patogénicos, determinadas toxinas naturales, toxinas microbianas, y determinados metabólicos tóxicos de origen microbiano.
2. Peligros químicos: pesticidas, herbicidas, contaminantes tóxicos inorgánicos, antibióticos, promotores de crecimiento, aditivos alimentarios tóxicos, lubricantes y tintas, desinfectantes, micotoxinas, ficotoxinas, metil y etil-mercurio, e histamina.
3. Peligros físicos: fragmentos de vidrio, metal, madera u otros objetos que puedan causar daño al consumidor.

IV.3 Contaminantes Biológicos

Los contaminantes biológicos del aire se encuentran en todo hogar, escuela, locales de trabajo y de uso público. Las fuentes incluyen el aire exterior y las propias personas donde se alojan virus y bacterias, en los animales (insectos y otros artrópodos, y mamíferos) que eliminan alérgenos, en las superficies interiores y en cualquier receptáculo de agua donde los hongos y bacterias puedan crecer (Molina, 2015).

Varios factores permiten que los agentes biológicos crezcan y se liberen. En primer lugar, la humedad relativa elevada (propia del clima cálido y lluvioso), especialmente en el interior de viviendas con deficiente ventilación natural e insolación, contribuye al crecimiento de las poblaciones de ácaros del polvo y al crecimiento de hongos en las superficies húmedas. La contaminación por ácaros y hongos puede originarse en inundaciones, y comúnmente por alfombras continuamente húmedas (como ocurre cuando estas se colocan en suelos de concreto con deficiente ventilación), en los baños o humedad generada por filtraciones de instalaciones hidráulicas (Molina, 2015).

Los mohos se reproducen por medio de pequeñas esporas. Estas esporas se transportan continuamente en el aire libre, así como en interiores. Cuando las esporas se depositan en una superficie húmeda, comienzan a crecer y al alimentarse de la superficie a la cual están adheridas. Hay hongos que crecen en madera, papel, alfombras y alimentos cuando se acumula humedad o exceso de agua dentro de casas y edificios (Molina, 2015).

No hay una forma específica para eliminar todo el moho y las esporas. No obstante, la clave para evitar su propagación es eliminar la fuente de humedad en dichas superficies (Molina, 2015).

IV.4 Fuentes de contaminación

Para la producción de la diversidad de alimentos que tenemos a disposición existen varios pasos, a estos pasos los llamamos la cadena de producción de los alimentos. La contaminación puede ocurrir en cualquier momento a lo largo de la cadena durante la producción, el procesamiento, la distribución o preparación (CDC, 2017).

Una de las principales fuentes de contaminación es en el campo agrícola, seguida del agua de riego no tratada. El estiércol utilizado como fertilizante orgánico puede aumentar significativamente la contaminación total de coliformes, así como aumentar la presencia de *E. coli*. Los agentes patógenos como *E. coli* (VETC) O157:H7 y los *E. coli* diarreicos se transmiten principalmente a través de agua y los fertilizantes orgánicos (Molina, 2015).

Varios estudios han señalado a las moscas, artrópodos, aves, mamíferos salvajes y reptiles como otras fuentes importantes de transmisión de patógenos. Se ha demostrado que, si se cultivan productos frescos cerca del ganado, éstos vectores pueden transportar fácilmente contaminantes fecales a las plantas. Además, las moscas pueden recoger *E. coli* O157: H7 del estiércol y depositarla en el filoplano de las plantas, donde las bacterias pueden colonizar y multiplicarse (Torres *et al.*, 2016).

Las frutas y hortalizas frescas son una parte esencial de la dieta humana. Si bien el beneficio para la salud que resulta de su consumo habitual está ampliamente comprobado, existen datos que sugieren que la proporción de brotes de enfermedades relacionados con su ingesta son mayores en comparación con otros alimentos. La frecuencia con que se ha manifestado cuadros epidémicos ha puesto en entredicho la inocuidad de productos no sometidos a procedimientos para reducir o eliminar la carga microbiana (SAGARPA, 2018).

Diferentes factores pudieran contribuir a la presencia de microorganismos patógenos asociados a estos productos, incluyendo la contaminación de las aguas de riego y de los cultivos con residuos fecales de individuos o animales enfermos. Además, la baja eficiencia en los sistemas de desinfección utilizados para el control de microorganismos en la recepción y lavado de frutas y hortalizas, las condiciones sanitarias de área de empaque, la higiene de los trabajadores, los canales de distribución distantes y complejos, y el mal manejo durante el almacenamiento, contribuyen a la presencia de estos microorganismos (SAGARPA, 2018).

IV. 5 Enfermedades Transmitidas por Alimentos

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) se consideran una importante carga de enfermedad en el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que, en países menos desarrollados, las ETA son la principal causa de enfermedad y muerte, asociadas a una carga socioeconómica significativa (Zuñiga y Caro, 2017).

Una Enfermedad Transmitida por los Alimentos (ETA) es una enfermedad causada por el consumo de alimentos contaminados por bacterias patógenas o producto de su metabolismo. Causa un estimado de 48 millones de enfermedades y 3,000 muertes cada año en los Estados (USDA, 2013).

Las ETA pueden presentarse en cualquier eslabón de la cadena productiva, aunque predominan en aquellas áreas donde se practican malos hábitos higiénico-sanitarios y en lugares en condiciones de hacinamiento. La incidencia de las ETA ha aumentado alrededor del mundo, en función de factores como cambios ambientales que conducen a la resistencia antimicrobiana, el aumento de la población, la aparición de grupos poblacionales vulnerables, el rápido incremento del comercio internacional de alimentos, los avances tecnológicos en la producción, el aumento del uso de aditivos, el incremento del consumo de productos manufacturados, el recorrido de largos trayectos para su comercialización, entre otros (OMS, 2009).

IV.6 Prevención de fuente de contaminación

Los lineamientos para reducir riesgos de contaminación pueden ser divididos en Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y Buenas Prácticas de Manejo (BPM), un programa efectivo de inocuidad contiene los dos componentes principales. El primero está relacionado con la higiene personal, y el segundo considera la integridad del producto. El significado de la palabra higiene asocia al producto con buena salud y se refiere a que el producto es limpio y está libre de riesgos que pueden contener un agente infeccioso. Por otro lado, en el componente de

integridad no debemos de olvidar que un alimento higiénicamente preparado debe ser presentado al consumidor bajo ciertas condiciones de apariencia, aroma, sabor y textura agradables, de tal manera que el consumidor este satisfecho y confiado con su compra (SAGARPA, 2018).

IV.6.1 Buenas prácticas Agrícolas

El llevar alimentos a la mesa del consumidor desde el campo involucra muchos procesos (siembra, desarrollo del cultivo, cosecha, transporte a empaque, almacenamiento, transporte a mercados terminales y distribución) en los que los productos se encuentran expuestos al manejo humanos y al contacto con material y equipo que aumentan el riesgo de contener agentes contaminantes (Siller *et al.*, 2002).

Las Buenas Prácticas Agrícolas en campo inician desde la selección del terreno y sus alrededores, la calidad del agua de riego, la aplicación de plaguicidas, la higiene y sanidad del trabajador y las instalaciones sanitarias, entre otras. Las Buenas Prácticas Agrícolas en el empaque incluyen tópicos como las instalaciones, el diseño y la construcción de la planta y el quipo, el control de plagas, las prácticas del proceso y las prácticas personales entre otros (Siller *et al.*, 2018).

Organigrama de la empresa: todas las empresas deberán de contar con un diagrama de flujo que muestre la organización general y describa los diferentes niveles y departamentos que se tienen para realizar sus operaciones.

Descripción de la empresa: describir de una manera general el objetivo, visión y misión de la empresa, así como los productos que maneja, su tecnología disponible, la localización de sus actividades de campo y empaque, la superficie, los volúmenes cosechados y los enviados para distintos mercados.

Descripción de responsabilidades: Toda empresa debe mantener firmemente la filosofía de ofrecer alimentos sanos y debe considerar que cada producto ofertado al mercado, aun cuando es manejado con todos los lineamientos establecidos, puede llegar a convertirse en un riesgo potencial para la salud pública (Siller *et al.*, 2002).

Responsabilidad de la empresa:

Es obligatorio para la empresa demostrar de manera escrita que realiza las operaciones necesarias que conlleven a la inocuidad e integridad del producto, lo cual lo obtiene registrando toda la información en bitácoras adecuadas a sus operaciones. La empresa tiene como responsabilidad incorporar Buenas Prácticas Agrícolas como un sistema de producción integral. Para lograr este objetivo, la empresa debe ser responsable de fomentar el trabajo de equipo, prever y actuar para lograr la mejora continua de la planta, y mantener una comunicación constante entre la gerencia, los empleados de producción y los de ventas. Así como establecer medidas de seguridad que permitan ofrecer un producto con los más altos estándares de calidad que exige el consumidor final (Siller *et al.*, 2002).

Responsabilidades del empleado: Las reglas básicas de higiene personal y el reglamento de la empresa enfatizando los puntos principales deberán ser leídos,

entendidos y firmados por todos los empleados al iniciar cualquier trabajo (Siller *et al.*, 2002).

IV.6.1.1 Sección campo

Disminución de riesgos antes de la plantación: Selección de material vegetativo

Antes de seleccionar una variedad específica, debemos definir los elementos a considerar para hacer la elección. En primer lugar, es importante contar con la información de la semilla antes de la siembra (hoja técnica), entre lo que se incluyen las condiciones bajo las que se obtuvo la semilla, las pruebas realizadas y resultados obtenidos, las condiciones esperadas para su distribución y almacenamiento (temperatura y humedad), los rendimientos esperados, las características del fruto, el porcentaje de germinación, el certificado de origen y la vida de anaquel (Siller *et al.*, 2002).

Siembra en invernadero

Considerar instalaciones, condiciones climáticas, crecimiento de la planta y personal de apoyo, la ubicación del invernadero debe ser una zona de fácil acceso con riesgo mínimo de entrada de plagas y enfermedades. Además, se debe de contar con servicios de luz, agua potable y proveer el interior con ventilación, temperatura e iluminación adecuada (Siller *et al.*, 2002).

Es importante colocar barreras de aire y tapetes sanitarios en las entradas de estas naves. La distribución interna del invernadero debe permitir el acceso fácil y rápido

a todas las charolas, así como uniformidad en el cuidado, fertilización y riesgo de las plantas. Por seguridad, debe contarse con una bodega para almacenar sustratos, charolas y materiales de usos frecuente, manteniendo un lugar aparte y cerrado para los plaguicidas y otro para los fertilizantes (Siller *et al.*, 2002).

Selección y preparación del terreno

Para obtener una mejor producción, es necesario tener un control del terreno de siembra. El primer punto es el historial del lote, es importante conocer que cultivos anteriores fueron plantados, la aplicación de químicos realizada y si hubo enfermedades presentes. Se debe contar con mapas de localización del terreno y áreas circundantes. Revisión de canales de riego y drenaje (Siller *et al.*, 2002).

Siembra, cultivo y crecimiento

La plantación puede ser directa colocando semilla directamente en el lugar seleccionado o utilizando la plántula obtenida en invernadero. En ambos casos es muy importante proteger el material de una posible contaminación, por lo que las superficies de contacto deben de estar mantenerse limpias (Siller *et al.*, 2002).

IV. 6. 1. 2 Disminución de riesgos durante la producción

Agua

Cuando el agua entra en contacto con frutas y hortalizas frescas, la posibilidad de contaminación por microorganismos depende de la calidad y procedencia de la misma para evitar riesgos, las fuentes de abastecimiento de agua generalmente pozos y canales, deben llevar un programa de mantenimiento y análisis químico y microbiológicos manteniendo registros de las condiciones y estableciendo un programa de acciones correctivas cuando es necesario. Se debe de evitar que los empleados utilicen el canal para bañarse, alejar a los animales para que no contaminen con sus excrementos y evitar la acumulación de basura en la corriente de agua y alrededores (SAGARPA, 2018).

Fertilización (inorgánica)

El control de fertilizantes químicos empieza desde la recepción se estos materiales y su manejo apropiado. Deberá de existir un lugar de almacenamiento que cuente con inventario de existencias, hojas de salida y entrada. Todos los fertilizantes químicos deben acompañarse de un certificado de origen que garantice la calidad sanitaria del producto, así mismo se debe vigilar que las especificaciones en la etiqueta sean las reales apoyándose con un análisis de laboratorio (SAGARPA, 2018).

Orgánica

En el caso de utilizar abono orgánico es importante conocer la fuente (estiércol, guano, gallinaza y la procedencia de estos contar con una garantía en su caso, de

que fue tratado para disminuir la carga microbiana, antes de su incorporación (Siller *et al.*, 2002).

Plaguicidas

Únicamente deben utilizarse productos químicos aprobados y autorizados para los usos y cultivos recomendados por las agencias respectivas en el país de producción o en el país a donde se desea exportar (EPA, Agencia de Protección Ambiental en Estados Unidos). Es importante contar un inventario detallado de todos los plaguicidas almacenados, así como con los registros de entradas y salidas (SAGARPA, 2018).

Sanidad del campo y exclusión de animales

Se deben establecer cuadrillas o equipos de limpieza en el campo para eliminar la basura y los frutos dañados, podridos o desechados en los surcos y guardarrayas después del corte y ésta debe acumularse en un centro de acopio con periodos cortos de permanencia para evitar contaminación cruzada. En todo momento se debe evitar la presencia de animales domésticos o silvestres en los campos de cultivo (SAGARPA, 2018).

Personal

El personal debe estar consciente de que puede ser un vehículo de contaminación en el campo. La presencia de enfermedades infecciosas, lesiones abiertas y otros trastornos en el personal, constituye una fuente de microorganismos patógenos los cuales pueden ser transmitidos a las frutas, hortalizas, al agua y a otros

trabajadores. Para controlar los posibles riesgos se debe capacitar a todos los empleados para que adopten buenas prácticas de higiene, estableciendo programas de capacitación, supervisión y corrección. Los trabajadores enfermos o con heridas deben ser protegidos y en casos necesarios, incapacitarlos para el trabajo (SAGARPA, 2018).

Instalaciones sanitarias

Se deben colocar instalaciones de lavado y letrinas en vehículos de transporte con agua potable, jabón, yodo o cloro, papel sanitario, papel secante y colocar botes de basura con tapadera. Deberá existir una letrina por sexo y al menos un sanitario por cada 15 empleados.

IV. 6. 1. 3 DISMINUCIÓN DE RIESGOS DURANTE LA COSECHA

Corte

Se deben usar herramientas de corte y guantes ahulados que permitan la desinfección al inicio, durante y final de las labores. Es importante revisar a diario los recipientes y reparar o descartar los dañados para reducir la presencia de heridas al producto y limpiar y desinfectar los recipientes o cubetas todos los días antes de utilizarlos. Todo el equipo de recolección debe mantenerse perfectamente limpio antes, durante y después de la operación (SAGARPA, 2018).

Transporte de campo a empaque

Para reducir el riesgo de contaminación microbiana, los operarios deben adoptar buenas prácticas de higiene y asegurarse de que se han cumplido todos los

requisitos de higiene en los camiones y otros tipos de transporte (jabas, cajones, góndolas o batangas) antes de cargar las frutas y hortalizas. Inspeccionar las cargas anteriores en los vehículos y evitar alternar el uso del transporte para cargas de animales o mezclas de productos animales o químicos con productos hortícolas es una práctica que se debe cuidar. En todos los casos es necesario lavar y desinfectar las jabas, cajones y batangas después de vaciar el producto (Siller *et al.*, 2002).

Empaque en campo

El producto debe estar libre de clavos, vidrios, objetos extraños, excremento, tierra en exceso y restos de plantas. Una vez recibido el producto, éste no debe permanecer mucho tiempo en espera antes de ingresar al siguiente proceso. Las cajas empacadas son transportadas inmediatamente a cuartos de pre enfriamiento para reducir las temperaturas de campo antes de ser cargadas a los transportes refrigerados (Siller *et al.*, 2002).

IV. 6. 2 Buenas Prácticas de Manufactura

Las Buenas prácticas de manufactura BPM son procedimientos que se aplican en la elaboración de alimentos para garantizar que estos sean inocuos. Se articulan con las BPA y ambas son prerrequisitos del sistema HACCP (OPS-OMS, 2015).

IV. 7 Importancia de *E. coli*

La *E. coli* es una bacteria que se encuentre en el sistema digestivo de los animales y los seres humanos. Esta bacteria se utiliza como indicador principal para detectar

y medir la contaminación fecal en la evaluación de la inocuidad del agua y de los alimentos (Siller *et al.*, 2002).

Considerados comensales inofensivos, las cepas de *E. coli* constituyen alrededor de 1% de la población microbiana normal del intestino. Si bien la mayoría de las cepas dentro del intestino son agentes patógenos gastrointestinales beneficiosos para el ser humano, otros son perjudiciales (FAO, 2019).

En lo relativo a las características morfológicas y bioquímicas, se trata de bacilos Gram-negativos con un tamaño que oscila entre 1.1-1.5 μm de diámetro y 2.0-6.0 μm de longitud, generalmente son móviles mediante flagelos peritricos no esporulados, y son fermentadores de lactosa produciendo ácido y gas. En agar forman colonias lisas, poco elevadas, convexas. El aislamiento de estas colonias se realiza mediante medios de cultivo selectivos como Agar MacConkey, Agar verde brillante, entre otros (Fernández, 2000).

Estas bacterias son anaerobios facultativos que se adaptan bien a situaciones sin oxígeno. En cuanto a sus características, de manera general para las diferentes cepas, el rango de temperaturas óptimas para el crecimiento de la misma se sitúa entre 7 y 50 $^{\circ}\text{C}$ siendo su temperatura óptima de 37 $^{\circ}\text{C}$. Pueden crecer en presencia de hasta un 6% de NaCl, el pH mediante el cual la bacteria se multiplica es neutro siendo el mínimo para crecer de 4.4 y un máximo de 10. En cuanto a la actividad de agua (a_w), estas bacterias crecen con un mínimo de 0.95 siendo 0,995 el valor óptimo (OPS-OMS, 2015; Doyle y Schoeni, 1984).

Las *E. coli* patógenas se distinguen de otras *E. coli* por su capacidad de provocar graves enfermedades como resultado de su información genética para la producción de toxinas, capacidad de adhesión e invasión de células huéspedes, interferencia en el metabolismo celular y destrucción de tejidos (FAO, 2019).

Las cepas patógenas poseen factores de virulencia que relacionados al tipos de enfermedad que producen han permitido agruparlas en patotipos: *E.coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* de adherencia difusa (DAEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* shigatoxigénica (STEC) (Fernández, 2000).

IV. 7. 1 Descripción taxonómica de *Escherichia coli* O157:H7

Superreino: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Eneerobacterales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *E. coli*

Fuente: NCBI (2020).

IV. 7. 2 Síntomas ocasionados por *Escherichia coli*

Las diferentes cepas de *E. coli* que producen enfermedades que se clasifican de acuerdo con el tipo de síntomas que pueden producir en los seres humanos. Esos tipos de cepas se pueden dividir en seis grupos y variedades:

1. *E. coli* shigatoxigénica (STEC) “variedad” provoca síntomas que van desde una diarrea suave hasta una grave.
2. *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) son un subconjunto de STEC asociadas generalmente a diarrea con sangre y SHU, que producen citotoxinas, conocidas como verotoxinas (VT) o shigatoxinas (Stx).
3. *E. coli* (O157:H7) es el serotipo EHEC más importante ligado a las enfermedades transmitidas por los alimentos, lo que se traduce en una alta incidencia de infecciones y muertes por EHEC cada año (Rodríguez, 2002).
4. *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), el grupo EIEC y *Shigella* spp. están relacionados genética y bioquímicamente ya que son descarboxilasas negativas, no móviles y lactosa negativas. Los síntomas característicos en personas infectadas por EIEC son diarrea acuosa, con sangre y moco, pero algunos casos sólo presentan diarrea, ésta en ocasiones es indistinguible de la que produce ETEC. Las cepas EIEC se asocian más con brotes que con casos aislados, en los cuales la transmisión puede ser de persona a persona, por ingestión de alimentos y agua contaminada, convirtiéndose en un patógeno importante en niños mayores de seis meses (Rodríguez, 2002).

IV. 8 Bactericidas de uso Agrícola

Los plaguicidas son sustancias o mezcla de sustancias que se usan de manera intensiva para controlar plagas y enfermedades agrícolas, que afectan la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos y productos agrícolas (FAO, 2003; Gálvez *et al.*, 2018).

Los plaguicidas, al ser compuestos químicos utilizados para combatir las plagas y enfermedades en los cultivos agrícolas, según su naturaleza y composición química pueden clasificarse en inorgánicos y orgánicos; mientras de acuerdo a su uso se clasifican en fungicidas, bactericidas y herbicidas (Gálvez *et al.*, 2018).

Un bactericida se define como una sustancia que tiene la capacidad de lisar bacterias dependiendo del microorganismo y de la concentración del antibiótico (Cué y Morejón, 1998). Para entender el uso de bactericidas, primero hay que entender qué son las bacterias. Las bacterias tienen la capacidad de sobrevivir en casi todas las condiciones en la tierra, ya sea cálido y suelo húmedo o desechos radiactivos que no sería hospitalario a ningún otro organismo. Algunas bacterias pueden causar daño a los seres humanos, animales o plantas, mientras que algunas pueden ser necesarias para la supervivencia de plantas, animales y seres humanos. Debido al hecho de que las bacterias pueden sobrevivir en casi todas las condiciones, a menudo es difícil matarlos. Por lo tanto, las sustancias tales como bactericidas se han creado para matar bacterias dañinas mientras que lo ideal es no dañar las bacterias importantes (Cué y Morejón, 1998).

IV.8.1 Kasumin® (Kasugamicina)

Este es un Fungicida-Bactericida de origen biológico cuyo ingrediente activo es la Kasugamicina. KASUMIN® es un antibiótico aminoglucósido, producido por el metabolismo secundario de la bacteria del grupo actinomicetes clasificada como *Streptomyces kasugaensis*. Esta molécula inhibe la incorporación de aminoácidos a la síntesis de proteínas en bacterias y hongos. KASUMIN® es absorbido por hojas y raíces y traslocado rápidamente a todas las partes de la planta donde previene el crecimiento de las lesiones. Debido a la gran acción sistémica y la translocación en los tejidos de las plantas, KASUMIN® muestra una excelente eficacia aun con presencia de lluvia posterior a la aplicación. Es empleado para el control de la pudrición bacteriana blanda provocada por *Erwinia carotovora* en arroz y papa; en Chile, jitomate, tomate de cáscara controla la mancha bacteriana del tomate (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*); en clavel se emplea para el control de bacteriosis del clavel (*Burkholderia andropogonis*) (Arysta, 2018).

Es considerado dentro de los antibióticos aminoglucósidos que constituyen un grupo de agentes antibacterianos con interesantes propiedades para el tratamiento de infecciones bacterianas, particularmente aquellas producidas por bacilos Gram negativos aeróbicos (Gilbert, 2000; Mella *et al.*, 2004).

IV.8.2 Sulfato de cobre (Sulfato de cobre pentahidratado)

El sulfato de cobre es un compuesto químico derivado del cobre, conocido también con el nombre de *sulfato cúprico*. Su fórmula química es CuSO_4 y es muy utilizado como fungicida, entre otros beneficios que se le otorgan.

Es un compuesto químico que suele estar presentado en dos formas: sulfato de cobre (I) y sulfato de cobre (II), dependiendo de cómo se encuentre el estado de oxidación del átomo de cobre. Siendo el sulfato de cobre (II) el más conocido a nivel comercial en la actualidad.

Las aplicaciones del sulfato de cobre se dan mayormente en la agricultura. Esto, debido a que generalmente este compuesto químico es utilizado para el control de enfermedades bacterianas que afectan a los cultivos de árboles frutales, campos, frutos secos y vegetales. Es empleado para combatir caracoles y babosas, entre otros moluscos que afectan los cultivos. Otra aplicación importante del sulfato de cobre en la agricultura, es su uso como fungicida. Debido a que este compuesto químico posee propiedades desinfectantes, que suelen eliminar microorganismos. Este fungicida suele atacar ciertos hongos que se propagan y causan la muerte de diversas plantas (Gilbert, 2000; Mella *et al.*, 2004).

IV.8.3 Terramicina agrícola (AGRI-MYCIN®)

AGRI-MYCIN® 100 es una formulación de sulfato de estreptomicina y Oxitetraciclina no estéril, adecuadamente diluida para controlar y prevenir enfermedades en los cultivos producidas por bacterias. Es un Antibiótico agrícola

formulado a base de Clorhidrato de Oxitetraciclina, específico para el control de fitoplasmas, con efecto bacteriostático. Polvo humectable de acción sistémica. Empleado para combatir el Tizón de fuego (*Erwinia amylovora*) (Pfizer, 2020).

IV.8.4 Agry Gent Plus 800 PH

Es un antibiótico de amplio espectro para el control preventivo y curativo de una amplia gama de bacterias, que infestan los cultivos agrícolas. Los ingredientes activos son: Sulfato de Gentamicina al 2% + Clorhidrato de Oxitetraciclina al 6%. El sulfato de Gentamicina con su acción multisitio, inhibe la síntesis de proteínas uniéndose irreversiblemente al ribosoma bacteriano. El clorhidrato de Oxitetraciclina tiene un efecto sinérgico bacteriostático. Empleado para combatir *Burkholderia andropogonis* en clavel; *Erwinia* spp. en crisantemo, papa y peral; *Xanthomonas* en chile, pimiento, tomate, tomatillo y papa; *Pseudomonas lachrymans* en calabacita, pepino, melón y chilacayote (Sumit Agro, 2018).

IV. 8.5 Hidrobacter

Asociación de Sulfato de Kanamicina; con Oxitetraciclina: Antibiótico aislado de los productos de elaboración del actinomiceto *Streptomyces rimosus* (MoA FRAC code 41). Antibiótico bacteriostático de amplio espectro que ejerce su acción por inhibición de la síntesis proteica impidiendo la relación codón-anti codón bajo la dirección del ácido ribonucleico mensajero. El antibiótico penetra en el interior de la planta a través de los estomas de las hojas translocándose rápidamente al resto de los tejidos; a la célula bacteriana accede por difusión pasiva y transporte activo. Una vez en el interior de la célula se une a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano

bloqueando la fijación del aminoacil-tRNA al sitio aceptor (A) del complejo formado por el mRNA y la subunidad 50S del ribosoma. Su actividad bacteriostática se basa en que impide la adición de aminoácidos a la cadena peptídica en crecimiento. Se considera ligeramente persistente. Presentado en forma de polvo soluble para utilizar en: berenjena, chile, jitomate y tomate de cáscara para control de mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria*) (Agristar, 2020).

IV.9 Impacto del uso de Antimicrobianos

Pérez y Lacuesta (2019), estiman que la cantidad de antibióticos empleados en la protección de cultivos representa menos del 0,5 % del total empleado en producción animal. Esto excluye a Europa, donde su aplicación en cultivos está prohibida. Sin embargo, cada vez es más frecuente el uso de estiércol animal, residuos orgánicos o lodos de depuradora como material fertilizante. Este material puede contener una alta carga de antibióticos.

Algunos estudios confirman que entre un 30 y un 90 % de los antibióticos usados en animales aparece en los excrementos. El estiércol contaminado expone a los cultivos, incluso a los orgánicos, a la presencia de antibióticos. Esto, unido al uso de aguas residuales en el riego, provoca que estos agro-ecosistemas estén expuestos repetidamente y durante largos periodos de tiempo, a la presencia de una considerable y variada carga de antibióticos (Pérez y Lacuesta 2019).

Estos agentes pueden ser tomados por las plantas y causar efectos fitotóxicos que afecten a la germinación y el crecimiento de los distintos cultivos agrícolas. Además,

pueden acumularse en los tejidos vegetales y suponer un riesgo potencial para la salud humana, al ser las plantas el primer eslabón de la cadena alimentaria. Este riesgo se ha tenido en cuenta solo en las dos últimas décadas y, por tanto, la información sobre su es limitada. Recientes estudios han demostrado que la fitotoxicidad de los antibióticos en los cultivos depende en gran medida de la especie vegetal y del tipo de antibiótico, así como de su concentración en el suelo (Pérez y Lacuesta 2019).

Además del impacto directo de los antibióticos en el crecimiento vegetal, indirectamente pueden provocar alteraciones en la microbiota del suelo. Esto afecta a su diversidad y a la presencia de bacterias beneficiosas para el cultivo como las bacterias fijadoras de N_2 , lo que también puede afectar al rendimiento del cultivo (Pérez y Lacuesta 2019).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

V.1 Ubicación del ensayo

El ensayo se realizó en condiciones *In vitro* en el Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Agrícolas del campus “El Cerrillo”, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México.

V.2. Activación de cepas

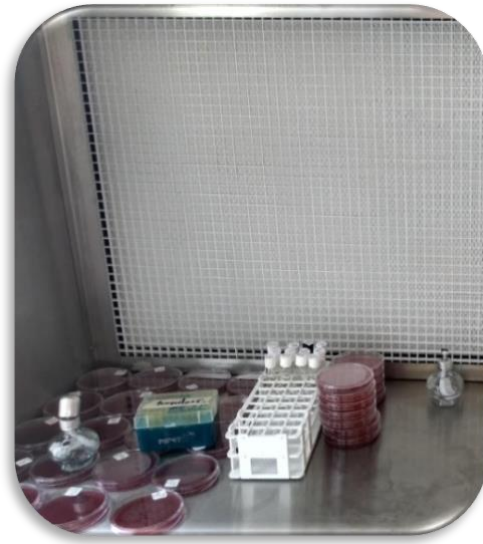
Activación de cepas

Para el presente estudio se utilizarán tres cepas de *Escherichia coli*; O157:H16 (EcT), aislada de cultivos de tomate de la región de Texcaltitlán, O105ab (EcH) de espinaca de la zona de Calimaya; la tercera fue una cepa del serogrupo O157:H7 (STEC) donada por el laboratorio de Patogenicidad Bacteriana del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Las cepas estaban almacenadas en una solución de agua-glicerol (50:50) a -20°C. Las bacterias fueron reactivadas en tubos con solución salina (Agua Peptonada Bufferada- Bioxon), estos fueron incubados a 35°C por 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación de los tubos con crecimiento bacteriano se procedió a una confirmación fenotípica y transfiriendo 100 µl en placas de Agar Mackonkey (Bioxon), Agar Sangre (Bioxon) y pruebas de tinción de Gram.



(a)

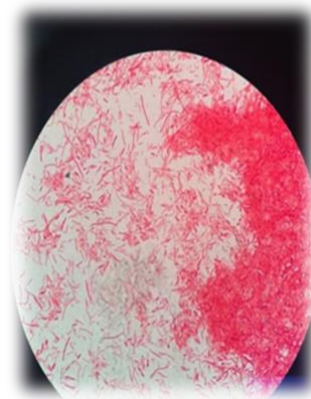


(b)

Figura 1. Reactivación de cepas de *Escherichia coli* (a) y crecimiento en medios selectivos (b).



(a)

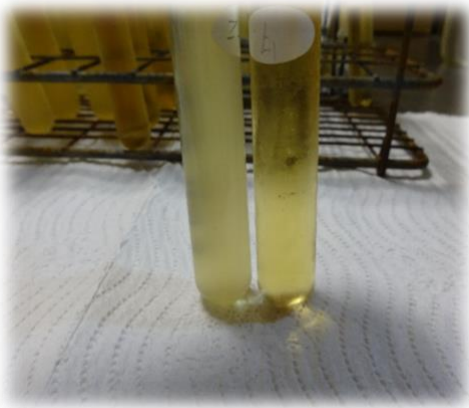


(b)

Figura 2. (a) *Escheria coli* en Agar Maconkey y b) tinción de Gram.

V.2.1 Preparación del inóculo

Después de la activación y siembra para estudios morfológicos y bioquímicos, se seleccionaron las colonias aisladas por cepa y se suspendió una asada a tubos con 10 mL de agua peptonada bufferada e incubaron a 35°C. Se cuantificó la concentración inicial de cada cepa empleada.



(a)



(b)

Figura 3. Preparación (a) y cuantificación de inóculo empleado y (b) siembra en gota.

V.2.2 Preparación de bactericidas

Los bactericidas agrícolas utilizados son: Kasumi (Kasugamicina), Sulfato de cobre (cobre), Terramicina agrícola (Oxitetraciclina), Agry Gent Plus (Gentamicina) e Hidrobacter (Sulfato de kanamicina) (Cuadro 1), los cuales fueron diluidos en 30 mL de agua destilada estéril.

Cuadro 1. Bactericidas de uso agrícola usados en la presente investigación y su preparación para el ensayo *In vitro*.

Nombre comercial	Ingrediente activo	Clasificación FRAC 2019	Dosis comercial	Dosis en 30 mL de agua destilada estéril
Kasumi	Kasugamicina	24 (D3)	10 ml/l	0.300
Sulfato de cobre	Cobre	M01	0.25 g /l	0.075
Terramicina agrícola	Oxitetraciclina	41(D5)	0.2g	0.06 g
Agry Gent Plus	Gentamicina		0.8 g	0.024 g
Hidrobacter	Sulfato de kanamicina y Oxitetraciclina	41 (D5)	3.5 g	0.1 g

Cada uno de los bactericidas fueron diluidos con 30 mL de agua destilada estéril en vasos de precipitado y en un vaso de precipitado con la misma cantidad de se identificó como el testigo; a cada vaso de precipitado se le agregaron discos de papel filtro (de aproximadamente 25 mm) los cuales tuvieron un tiempo de contacto de 10 minutos.

V. 3 Establecimiento del ensayo

Para cada ensayo se realizaron las evaluaciones del efecto inhibitor de cada tratamiento en dos tiempos diferentes (24 y 72 horas después de la siembra), con 3 repeticiones por cada metodología empleada.

Evaluación de la sensibilidad a antibióticos

La sensibilidad se evaluó en condiciones “*In vitro*” mediante dos metodologías distintas para cada cepa bacteriana, considerando cada uno de los antibióticos empleados. Las Metodologías fueron:

1) Agar suplementado con antibióticos: Se utilizó el método establecido por Quezado *et al.* (2003) con algunas modificaciones, donde se utilizó Agar suplementado con el antibiótico a evaluar (Quezado *et al.*, 2003; Farfán *et al.*, 2014). Para lo cual se emplearon 5 L de Agar MacConkey (Bioxon) en frascos con rosca de 1L, que se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos, al término de esta se dejó enfriar a una temperatura de 45°C para agregar cada uno de los antibióticos a evaluar (Figura 4). Posteriormente se vertió en placas Petri hasta su gelificación. A continuación, se inocularon 100 µl de cada uno de los serotipos de *Escherichia coli* a evaluar (a una concentración de 1.2×10^6 para la cepa O105ab, 2.9×10^7 para la cepa O157:H7 y 3.2×10^7 UFC/ mL para la cepa O157:H16), después de que el inóculo fue absorbido por el medio se procedió a incubar a 35°C. Se cuantificaron las UFC/ mL a las 24 y 72 horas. Como control se sembró cada una de las suspensiones bacterianas en placas con agar MacConkey sin antibiótico, incubadas a la misma temperatura. Los recuentos se realizaron en cuenta colonias manual.

Los resultados obtenidos del recuento de los controles positivos fueron utilizados para cuantificar la inhibición del microorganismo en las distintas condiciones de estudio.



Figura 4. Suplementación del Agar con los antibióticos evaluados.

2) Método de difusión- uso de sensidiscos: Para la segunda metodología evaluada se prepararon placas de agar nutritivo para ser inoculadas con las cepas O157:H16, O105ab y O157:H7, evitando dejar zonas libres para conseguir una siembra uniforme, se incorporó el bactericida a discos de papel filtro con un tiempo de contacto de 10 minutos. Los discos fueron colocados con pinzas estériles. Se sembraron 6 discos en cada placa con bactericidas: Kasumin, Sulfato de cobre, Terramicina Agrícola, Agry Gent Plus, Hidrobacter y un testigo (agua destilada esteril). Las placas fueron incubadas a 35°C, en una incubadora marca Thermoscientific. Después de las 24 y 72 h se evaluó el diámetro del halo de

inhibición (Figura 5) con un vernier (PAHO, 2005). que se formó alrededor de cada disco, en cada una de los 6 tratamientos que fueron distribuidas de forma aleatoria.

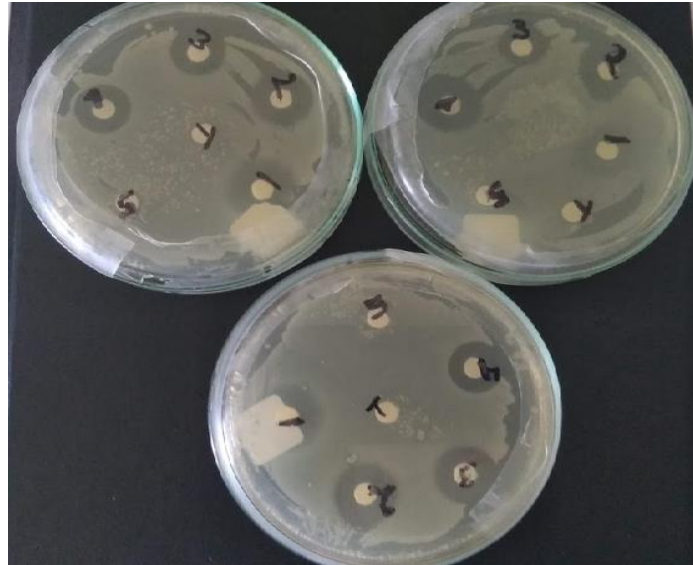


Figura 5. Evaluación del diámetro de inhibición originado en *Escherichia coli* O157:H7, O157:H16 y O105ab por efecto de algunos de los bactericidas de uso agrícola.

V.4 Variables de estudio

En el primer método, se evaluó la cantidad de UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonia por mililitro presentes) en cada una de las placas sembradas a las 24 y 72 horas.

En el segundo método se evaluó el diámetro de la zona o halo de inhibición (mm) que se forma alrededor de cada disco. En cada tratamiento se consideraron tres repeticiones (caja de Petri con seis sensidiscos), se consideró el valor promedio de los seis discos por cada repetición. Las repeticiones se distribuyeron de forma aleatoria.

V.5 Diseño experimental

Cada método se analizó por separado por cada tiempo de evaluación. En cada método, se utilizó un diseño en parcelas divididas, la parcela grande correspondió al factor cepa de la bacteria y las parcelas chicas correspondieron al factor tratamientos que correspondió a los cinco bactericidas empleados más un testigo, que se distribuyeron de forma completamente aleatorizadas. Las repeticiones correspondieron a las placas sembradas con la bacteria y el bactericida en cuestión.

V.6 Análisis de datos

Los resultados obtenidos en cada metodología, se analizaron estadísticamente por medio de un análisis de varianza con el programa SAS versión 9.0. Para la variable (UFC/mL o halo de inhibición) que indicó la existencia de diferencia significativa, se

procedió a realizar la prueba de separación de medias con la prueba de Tukey al 0.05%.

Para conocer el efecto específico de cada uno de los bactericidas sobre cada cepa bacteriana, se realizó un análisis de varianza con un arreglo en bloques al azar con el programa SAS versión 9.0. En caso de existir diferencias significativas, se procedió a realizar la separación de medias con la prueba de Tukey al 0.05%.

VI. Resultados

En ambos métodos de evaluación después de la incubación de las cepas con cada uno de los bactericidas agrícolas, en los tiempos evaluados, se observó una notable inhibición con respecto al testigo de cada cepa bacteriana, excepto para Kasumin.

VI.1.1 Método 1: Evaluación de efecto inhibitorio de Bactericidas incorporados a agar.

En este método, se determinó que las cepas bacterianas (*E. coli* O105ab (EcH), O157:H7 y O157:H16 (EcT)) inhibieron su crecimiento al 100%, con los bactericidas Sulfato de cobre, Agri Gent Plus, Terramicina agrícola e Hidrobacter, es decir fueron incapaces de crecer sobre la superficie del medio con el bactericida evaluado, como a continuación se indica.

La evaluación realizada a las 24 horas después de la inoculación al medio de cultivo, el análisis de varianza indicó la existencia de diferencia altamente significativa para cepa bacteriana como para el factor tratamientos, así como en su interacción (Cuadro 2).

Cuadro. 2 Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y 6 tratamientos bajo un diseño de parcelas divididas, a las 24 horas después del establecimiento del ensayo de bactericidas incorporados en agar.

F.V	G.L	Suma de Cuadro	Cuadro de la medida	F	Pr>F
Modelo	23	47424281.5	2061925.3	19197.2	0.0001 **
Cepa de Bacteria	2	1092025.9	546912.9	5083.5	0.0001 **.
Bloque	2	70.3	35.1	0.3	0.7232 n.s.

Cepa * bloque	4	574.1	143.5	1.34	0.2794 n.s.
Tratamiento	5	41276148.1	8255229.6	76859.0	0.0001 **
Cepa * Tratamiento	10	5055462.9	505546.3	4706.8	0.0001 **
C.V	2.50				

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo

La separación de medias para el factor cepa bacteriana, indicó que la cepa O157:H16 presentó la mayor cuantificación de UFC/mL en los tratamientos evaluados, que fue estadísticamente diferente a las otras dos cepas. La menor cantidad de UFC/mL se presentó en la cepa *E. coli* O105ab (Cuadro 3).

Cuadro 3. Separación de medias para el factor cepas de *E.coli* considerando seis tratamientos.

Cepa Bacteriana	Media (UFC/mL)
O157:H16	525.00 a
O105:H7	503.89 b
O105ab	213.33 c

*Valores acompañados con la misma letra indican igualdad estadística (Tukey $\alpha=0.05$)

La separación de medias para el factor tratamiento, indicó que el testigo y Kasumin fueron los dos únicos que expresaron crecimiento en las diferentes cepas bacterianas (Cuadro 4), contrastando con los tratamientos Hidrobacter, Sulfato de Cobre, Terramicina y Gentamicina que no permitieron el crecimiento de colonias bacterianas en las tres cepas.

Cuadro 4. Separación de medias en la variable UFC/ mL para el factor tratamientos en las tres cepas de *E. coli* a las 24 horas de incubación.

Tratamiento	Media (UFC/mL)*
Testigo	2366.7 a
Kasumin	117.8 b
Hidrobacter	0.00 b
Sulfato de cobre	0.00 b
Terramicina	0.00 b
Gentamicina	0.00 b

*Valores acompañados con la misma letra indican igualdad estadística (Tukey $\alpha=0.05$).

Para la evaluación realizada a las 72 horas después de la inoculación al medio de cultivo, el análisis de varianza indicó la existencia de diferencia altamente significativa para cepa bacteriana como para el factor tratamientos, así como en su interacción (Cuadro 5), comportamiento similar a lo observado a las 24 horas después de la inoculación en medio de cultivo.

Cuadro 5. Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y 6 tratamientos bajo un diseño de parcelas divididas, a las 72 horas después del establecimiento del ensayo de bactericidas incorporados en agar.

F.V	G.L	Suma de Cuadro	Cuadro de la medida	F	Pr>F
Modelo	23	47169098.1	2050830.3	21297.1	0.0001 **
Cepa de Bacteria	2	1037159.9	518579.6	5385.2	0.0001 **.
Bloque	2	192.59	96.3	1.0	0.3798 n.s.
Cepa * bloque	4	385.1	96.3	1.0	0.4249 n.s.
Tratamiento	5	41028231.4	8205646.3	85212.5	0.0001 **
Cepa * Tratamiento	10	5103129.6	510312.9	5299.4	0.0001 **
C.V	2.32				

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo

Para esta segunda evaluación, el factor cepa bacteriana tuvo un comportamiento similar al de la primera evaluación, la separación de medias indicó que la cepa O157:H16 presentó los mayores recuentos de UFC/mL en los tratamientos evaluados, que fue estadísticamente diferente a las otras dos cepas. La menor cantidad de colonias se presentó en la *E. coli* O105ab (Cuadro 6).

Cuadro 6. Separación de medias para el factor cepas de *E. coli* considerando seis tratamientos.

Cepa Bacteriana	Media (UFC/mL)
-----------------	----------------

O157:H16	525.88 a
O105H7	511.67 b
O105ab	226.67 c

*Valores acompañados con la misma letra indican igualdad estadística (Tukey $\alpha=0.05$)

Para el factor tratamientos, la separación de medias, indicó que el testigo y Kasumin fueron los dos únicos que expresaron crecimiento en las diferentes cepas bacterianas (Cuadro 7), manteniendo el mismo efecto a lo observado en la evaluación previa. Los tratamientos Hidrobacter, Sulfato de Cobre, Terramicina y Gentamicina que no permitieron el crecimiento de colonias bacterianas en las tres cepas.

Cuadro 7. Separación de medias en la variable UFC para el factor tratamientos en las tres cepas de *E.coli* a las 24 horas de sembrados.

Tratamiento	Media (UFC/mL)*
Testigo	2366.7 a
Kasumin	117.8 b

Hidrobacter	0.00 b
Sulfato de cobre	0.00 b
Terramicina	0.00 b
Gentamicina	0.00 b

*Valores acompañados con la misma letra indican igualdad estadística (Tukey $\alpha=0.05$).

VI.1.2 Metodología 2: Método de difusión. Efecto inhibitorio de Bactericidas por medio de sensidiscos

En la primera evaluación (24 horas después de la inoculación que correspondió al 17 de marzo del 2020), el análisis de varianza indicó que se careció de diferencia significativa en las parcelas grandes, correspondientes a las cepas bacterianas evaluadas, indicativo que se comportaron de la misma forma con respecto a los tratamientos usados. Sin embargo, existió alta significancia entre los diferentes tratamientos evaluados con las tres cepas *E. coli* (Cuadro 8) en la primera fecha de evaluación. Por lo que al menos un tratamiento se comportó diferente.

Cuadro 8. Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y 6 tratamientos bajo un diseño de parcelas divididas, a las 24 horas después del establecimiento del ensayo.

F.V	G.L	Suma de Cuadro	Cuadro de la medida	F	Pr>F
Modelo	23	208.54	9.06	33.05	0.0001 **
Cepa de Bacteria	2	0.6533	0.3266	1.19	0.3179 n.s.

Bloque	2	0.1477	0.0738	0.27	0.7658 n.s.
Cepa * bloque	4	0.5622	0.1405	0.51	0.7271 n.s.
Tratamiento	5	199.89	39.9782	145.73	0.0001 **
Cepa * Tratamiento	10	7.28	0.7288	2.66	0.0187 *
	20.85				
C.V					

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo

La prueba de separación de medias para el factor tratamiento indicó que la Terramicina Agrícola formó el mayor halo de inhibición del crecimiento en las tres cepas, seguido de Gentamicina y Sulfato de Cobre. Por caso contrario el bactericida Kasumin no expreso efecto inhibitorio en las tres bacterias, su comportamiento fue estadísticamente similar al testigo (Cuadro 9).

Cuadro 9. Separación de medias en la variable halo de inhibición (mm) para el factor tratamientos en las tres cepas de *E. coli* a las 72 horas de sembrados.

Tratamiento	Media (mm)*
Terramicina	5.0889 a
Gentamicina	4.0778 ab
Sulfato de cobre	3.1889 b

Hidrobacter	2.7111 b
Kasumin	0.0000 c
Testigo	0.0000 c

*Valores acompañados con la misma letra indican igualdad estadística (Tukey $\alpha=0.05$).

Respecto al factor de cepas bacterianas, las tres mostraron un comportamiento similar en su sensibilidad ante los diferentes tratamientos (Cuadro 10), todas fueron estadísticamente similares.

Cuadro 10. Valores medios del halo inhibición expresado para el factor cepas de *E.coli* ante seis tratamientos.

Cepa bacteriana	Media (mm)
O157:H7	2.6556
O105ab	2.4889
O157:H16	2.3889

Segunda evaluación (72 horas posteriores a la siembra).

Para la segunda fecha de evaluación realizada a las 72 horas después de la siembra, se encontró diferencia altamente significativa para el factor cepa bacteriana como para el factor tratamiento, así como en su interacción (Cuadro 11).

Cuadro 11. Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas bacterianas y seis tratamientos bajo un diseño de parcelas divididas, a las 72 horas después del establecimiento del ensayo.

F.V	G.L	Suma de Cuadrados	Cuadro de la medida	F	Pr>F
Modelo	23	185.56	8.07	54.66	0.0001 **
Cepa de Bacteria	2	3.924	1.9622	13.29	0.0001**
Bloque	2	0.0744	0.0372	0.25	0.7787 n.s
Cepa * bloque	4	1.3911	0.3477 n.s.	2.36	0.0761 n.s.
		164.39			
Tratamiento	5		32.8790 **	222.77	0.0001**
Cepa * tratamiento	10	15.77	1.5775 **	10.69	0.0001**
C.V	15.75217				

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo

La separación de medias para el factor cepa indicó que la O157:H16 fue la cepa bacteriana con mayor inhibición seguida de O157:H7 (Cuadro 12), mientras que la cepa O105ab fue la que expresó un menor halo de inhibición.

Cuadro 12. Separación de medias para el factor cepas de *E. coli* considerando seis tratamientos.

Cepa Bacteriana	Media (mm)
------------------------	-------------------

O157:H16	2.8167 a
O105H7	2.2944 ab
O105ab	2.2056 b

*Valores acompañados con la misma letra indican igualdad estadística (Tukey $\alpha=0.05$)

La separación de medias para el factor tratamientos se encontró que todos los bactericidas presentaron un efecto similar de inhibición en términos estadísticos, excepto Kasumin. Sin embargo, el mayor efecto inhibitorio, en términos numéricos, se observó con el bactericida Gentamicina seguido de sulfato de cobre, resultados que contrastan con lo reportado en la primera fecha de evaluación.

Por caso contrario, con el bactericida Kasumin no se encontró efecto inhibitorio hacia las tres cepas, similar a lo determinado a la primera fecha. Ese comportamiento fue similar a lo observado en el testigo (Cuadro 13).

Cuadro 13. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos y su inhibición a las tres cepas de *E.coli*.

Tratamiento	Media (mm) *
Gentamicina	4.0889 a
Sulfato	3.8556 a
Hidrobac	3.3556 a

Terramicina	3.3333 a
Kasumin	0.0000 b
Testigo	0.0000 b

*Valores acompañados con la misma letra indican igualdad estadística (Tukey $\alpha=0.05$)

***E.coli* O157:H7**

El análisis realizado para conocer el efecto de cada uno de los bactericidas de forma específica sobre cada cepa, a través de un análisis de bloques completos al azar, se determinó que en la cepa O157:H7 se encontró alta diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 14).

Cuadro 14. Resultados del análisis de varianza del efecto inhibitorio de seis tratamientos a la *E. coli* O157:H7.

Fuente de variación	DF	Suma de Cuadrados	Cuadrados de la media	F-Valor	Pr >F
Modelo	7	50.6972	7.2424	61.78	<.0001 **
Error	10	1.1722	0.1172		
Total	17	51.8694			

C.V (%)	14.92201				
Tratamiento	5	50.6494	10.1298	86.42	<.0001 **
Repetición	2	0.0477	0.0238	0.20	

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo

La separación de medias mostró que el bactericida a base de sulfato de cobre fue el que mayor halo inhibitorio expresó en esta cepa seguido del bactericida Hidrobacter, que fueron estadísticamente similares. Los Bactericidas Terramicina y Gentamicina también mostraron un efecto de inhibición, pero 50 y 25% menor respecto a sulfato de cobre. El Bactericida Kasumin no mostro efecto de inhibición con un comportamiento similar al testigo (Cuadro 15).

Cuadro 15. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos evaluados y su inhibición a la cepa de *E.coli* O157:H7.

Tratamiento	Media
Sulfato de cobre	4.2333* a
Hidrobacter	3.5667 ab
Terramicina	3.1000 b
Gentamicina	2.8667 b

Kasumin	0.0000 c
Testigo	0.0000 c

*Valores de las medias en la columna con las mismas letras indican igualdad en términos estadísticos. Tukey ($\alpha = 0.05$).

***E.coli* O157:H16**

Respecto a la cepa bacteriana O157:H16 el análisis de varianza bajo un diseño de bloques al azar indicó diferencia altamente significativa en el factor tratamientos (Cuadro 16).

Cuadro 16. Resultados del análisis de varianza del efecto inhibitorio a *E. coli* O157:H16 ante la presencia de seis tratamientos.

Fuente de variación	DF	Suma de Cuadrados	Cuadrados de la media	F-Valor	Pr >F
Modelo	7	80.7416	11.5345	62.72	<0.0001 **
Error	10	1.7033	0.1703		
Total	17	82.4450			
C.V (%)	14.6525				

Tratamiento	5	78.8116	15.9623	93.71	<0.0001 **
Repetición	2	0.9300	0.4650	2.73	

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo

La separación de medias con la prueba de Tukey indicó que el bactericida Gentamicina ejerció un efecto inhibitorio de mayor tamaño en su halo respecto a los demás bactericidas, fue un 25 % mayor su efecto respecto al bactericida Hidrobacter aunque estadísticamente fueron similares. La bactericida terramicina también ejerció un efecto inhibitorio menor, pero fue estadísticamente diferente a Gentamicina. Tanto Kasumin como el testigo no ejercieron efecto inhibitorio en esta cepa (cuadro 17).

Cuadro 17. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de *E.coli* O157:H16.

Tratamiento	Media
Gentamicina	5.4000* a
Hidrobacter	4.2667 ab
Sulfato de Cobre	4.2000 bc
Terramicina	3.0333 c
Kasumin	0.0000 d
Testigo	0.0000 d

*Valores de las medias en la columna con las mismas letras indican igualdad en términos estadísticos. Tukey ($\alpha = 0.05$).

***E.coli* O105ab**

Finalmente, en la cepa O105ab se encontró diferencia altamente significativa de acuerdo al análisis de varianza (cuadro 18).

Cuadro 18. Resultados de análisis de varianza para la variable sensibilidad de la cepa *E.coli* O105ab a los diferentes bactericidas de origen químico.

Fuente de variación	DF	Suma de Cuadrados	Cuadrados de la media	F-Valor	Pr >F
Modelo	7	50.1972	7.1710	46.20	<0.0001 **
Error	10	1.5522	0.1552		
Total	17	51.7494			
C.V (%)	17.8631				
Bactericida	5	49.7094	9.9418	64.05	<0.0001 **
Rep	2	0.4877	0.2438	1.57	0.2550

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo

La separación de medias indicó un comportamiento parecido al observado a la cepa O157:H16, en donde el bactericida Gentamicina expreso un mayor efecto inhibitorio en la cepa O105ab seguido de terramicina agrícola y sulfato de cobre. El bactericida Kasumin y el testigo no ejercieron efecto inhibitorio en esta cepa (cuadro 19).

Cuadro 19. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de *E.coli* O105ab.

Tratamiento	Media (mm)
Gentamicina	4.0000* a
Terramicina	3.8667 a
Sulfato de cobre	3.1333 ab
Hidrobacter	2.2333 b
Kasumin	0.0000 c
Testigo	0.0000 c

*Valores de las medias en la columna con las mismas letras indican igualdad en términos estadísticos. Tukey ($\alpha = 0.05$).

VII. DISCUSIÓN

La introducción de antibióticos para el tratamiento de enfermedades bacterianas hace casi seis décadas revolucionó la medicina humana. Su uso para curar a las víctimas de enfermedades debilitantes y fatales se consideró sorprendente (McManus *et al.*, 2002). La Organización de las Naciones Unidas proyecta un aumento de la población en el mundo que alcanzará 9000 millones de habitantes

para el 2050 y se debe garantizar el abastecimiento de alimentos con el aumento de productividad agrícola que ofrezca productos de calidad y seguros para el consumidor.

En el área agrícola, se reconoció rápidamente el potencial de los antibióticos en los agro ecosistemas como la promoción de crecimiento, así como, prevención y tratamiento de enfermedades (Williams-Nguyen *et al.*, 2016).

El número de antibióticos utilizados en la agricultura de plantas es modesto en relación con las aplicaciones en medicina humana y veterinaria, y en la producción animal, donde se usan más de 30 diferentes medicamentos con al menos 14 clases distintas solo en los EE. UU (Robertson *et al.*, 1999).

La vulnerabilidad de los antibióticos a la aparición de resistencia y la posible pérdida de registro han llevado a una importante investigación para desarrollar nuevas herramientas (McManus *et al.*, 2002). El alarmante aumento de los patógenos bacterianos resistentes a los antibióticos en humanos, y los esfuerzos por conservar su eficacia en la medicina humana (McManus *et al.*, 2002) han despertado el interés en el uso o aplicaciones no médicas de los antibióticos, como es en la agricultura y ganadería. En agricultura se ha enfocado hacia el manejo de enfermedades bacteriana con otros ingredientes activos; sin embargo, la constante presencia de bacterias enteropatógenas en los cultivos de campo, que dañan a la salud humana, han desembocado en una propuesta de manejo preventivo en la que se privilegia la inocuidad, y el menor uso de antibióticos.

Ucfoodsafety (2012) indican que la forma en que se deben de manejar los cultivos en términos de inocuidad es a través de la aplicación de buenas prácticas agrícolas, que se considera importante para reducir la posibilidad de que los patógenos se transmiten por los alimentos, y no se contaminen los cultivos. Dichas prácticas deberían empezar con una evaluación específica de los riesgos de contaminación para el cultivo y lugar geográfico del mismo, y una evaluación subsecuente de medidas prácticas de reducción de los riesgos detectados (Ucfoodsafety, 2012).

Se ha enfatizado en que las buenas prácticas de manejo deben de reducir los factores que aumenten la probabilidad de que se presenten patógenos que se transmiten por los alimentos; para ello se debe evaluar el riesgo de aplicar enmiendas derivadas de animales que no han sido abonadas por un tratamiento validado. Se debería examinar la calidad microbiológica del agua utilizada para el riego y para la aplicación de productos agroquímicos, especialmente cuando se utiliza antes de la cosecha o directamente con los frutos maduros. El pastoreo de animales domesticados en el huerto, sobre todo antes de la cosecha, es también un posible factor de riesgo que se debería evaluar. Igualmente, se debería intentar reducir al mínimo la invasión de animales salvajes y pájaros en el huerto (Ucfoodsafety, 2012), otro posible factor de riesgo es la aplicación de estiércol a la tierra, así como el empleo de abonos orgánicos sin embargo no hay alguna recomendación sobre el manejo a seguir cuando se sospeche o tengan presunción de la presencia de alguna bacteria potencial de causar daño al consumidor. Una posible alternativa es el uso de antibióticos de uso agrícola.

La evaluación de la sensibilidad en medio sólido demostró la inhibición del crecimiento de las cepas de *E. coli*, sin importar la concentración inicial presente en la solución. El efecto de la Kasugamicina (Kasumin) sobre las bacterias se debe al efecto que ejerce al afectar la síntesis de proteínas y cuando no existe inhibición (se presenta resistencia) se genera una mutación no afectando la síntesis de proteínas (Lewin, 1996; Gálvez *et al.*, 2018). Mientras que para la Oxitetraciclina (Terramicina Agrícola) el compuesto se adhiere a los ribosomas microbianos en donde altera la síntesis de proteínas y por ende inhibe el desarrollo y crecimiento. La resistencia se puede presentar después de adquirir el gen *tet* (Tetraciclina) y/ o *oxt* (oxitetraciclina), el cual se obtiene mediante la transferencia de ADN entre hongos y bacterias (Gálvez *et al.*, 2018). Mientras que el efecto del cobre se debe formación de radicales libres; las especies reactivas de oxígeno y peroxidación de lípidos, causan estrés oxidativo en la bacteria por desestabilización de la composición de la membrana, interrupción del transporte de electrones, oxidación de proteínas degradación del DNA y destrucción de las mitocondrias, conduciendo a la muerte del microorganismo, estudios médicos y en la industria alimentaria han señalado efecto inhibitorio de organismos Gram negativos (Chatterjee *et al.* 2014; Sánchez-Venegas *et al.*, 2016).

Los resultados encontrados en el presente trabajo indican la posibilidad de manejar las bacterias entero patógeno desde campo, es decir desde las plantas de jitomate y cilantro establecidas en campo o invernadero, que indirectamente reducirán las patologías infecciosas en los consumidores, en caso de tener alguna sospecha.

Estos resultados sugieren la necesidad de realizar el uso de bactericidas de forma específica, dependiendo de la cepa, de tal manera que para las cepas de *E. coli* O105 ab y O157:H16 se requiere el uso de Gentamicina Agrícola. Resultados que coinciden con Barrios *et al.* (2016) quienes reportan una sensibilidad de 93.5% de *E. coli* aislada de animales a Gentamicina. En otro estudio realizado por López *et al.* (2009) indican que al evaluar la efectividad de Gentamicina ante diversas cepas de *E. coli* aislada de agua y suelo de uso agrícola solo el 2.1% presentó poca efectividad. Por otra parte, si se requiriera controlar la presencia del serotipo O157:H7 se requiere el uso específico de Sulfato de cobre, cuyo estudio se ha centrado mayormente en el área industrial (Construcción, textil, producción de alimentos) y médica por su interacción eficiente en especies reactivas a la oxidación que provoca este metal (Mohamad *et al.*, 2012).

Por otro lado, los presente resultados contrastan con los reportado por López *et al.* (2009) que reportan la existencia de resistencia en cepas de bacterias aisladas en muestras de agua, de las cuales, nueve ueron resistentes a tetraciclina, 38 fueron resistentes a estreptomina y solo una cepa fue resistente a gentamicina. Por otro lado, Farfan *et al.* (2014) indicaron que los mayores porcentajes de sensibilidad a antibióticos, excluyendo el cloranfenicol que no es de uso agrícola, fueron obtenidos con sulfato de estreptomina (25 mg L⁻¹) con un 79% de aislamientos sensibles. Toda la población evaluada fue sensible a sulfato de cobre en una concentración de 750 mg L⁻¹ y por el contrario, con oxiclورو de cobre (100% de la población) presentó resistencia.

Los tres serotipos empleados mostraron insensibilidad a Kasumin (Kasugamicina) resultados que contrastan con reportes que señalan muerte bacteriana de *E. coli* entre los 60 y 240 minutos de contacto (Zemelman *et al.*, 1988; Mella *et al.*, 2004), así como la susceptibilidad de microorganismos Gram negativos (grupo al que pertenece *E. coli*) a este bactericida (Tafur *et al.*, 2008). Indicando resistencia bacteriana, la cual es considerada una amenaza a nivel mundial para la seguridad alimentaria y la salud pública (OMS, 2018). Esta resistencia identificada señala un peligro debido a la existente presencia de *E coli* O157:H7 en el cultivo de frutas y hortalizas de consumo en crudo, estos pueden ser fuente de exposición alimentaria a bacterias resistentes (FAO/WHO, 2018).

La FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, por sus siglas en inglés) señaló que antimicrobianos, incluidos la estreptomycin, la kasugamicina, la oxitetraciclina y el ácido oxolínico son de gran importancia a la hora de tratar y controlar las enfermedades de las plantas. Sin embargo, la contaminación de los suelos con los residuos de estos productos, después de su aplicación en cultivos, genera un enriquecimiento de bacterias resistentes en el medio como ocurrió en este estudio (FAO/WHO, 2018). Sin embargo, no se conoce hasta qué punto el tratamiento de cultivos con agentes antimicrobianos promueve la resistencia en bacterias que se encuentran en las partes comestibles de los vegetales (FAO/WHO, 2018). Existen evidencias que indican que la contaminación del suelo con ciertos iones metálicos, como los iones de cobre, promueven resistencias en las bacterias del suelo.

García (2001) indica como preocupante el incremento constante en la resistencia a antibióticos β -lactámicos (ejemplo: penicilina, los carbapenémicos o las cefalosporinas (Latorre-Barragan *et al.*, 2019) en bacterias Gram-positivas, particularmente a la oxacilina en *Staphylococcus*, así como a amikacina, ceftazidima, cefotaxime y ciprofloxacina en bacilos Gram-negativos y, muy especialmente, la resistencia a imipenem en *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. Además, indica que otro aspecto es la necesidad de estudiar con mayor detalle la producción de β -lactamasas de espectro ampliado en bacterias Gram-negativas, particularmente en especies de *Klebsiella*, *Enterobacter* y otras de la familia *Enterobacteriaceae*, y la resistencia a vancomicina en *Enterococcus* y *Staphylococcus*.

Estos compuestos, además de ser utilizados para el tratamiento de las infecciones bacterianas, se emplean como inductores de crecimiento en las prácticas pecuarias (Centre on Global Health Security, 2014). Teniendo en cuenta el uso de antibióticos, en los Estados Unidos, el 84 por ciento de todos los antibióticos se usan en la mayoría se usa en la cría de ganado y control de enfermedades (Harris, 2010).

Liu *et al.* (2011) al estudiar la asociación de resistencia a antibióticos de *E. coli* y su capacidad de unirse a partículas ambientales, observaron resistencia a Ácido Nalaxidico en un 16.75%, Gentamicina 17.17 %, Cloranfenicol 19.21%, Amoxicilina 24.63%, Neomicina 26.6%, Ampicilina 24.63%, Neomicina 26.6%, Ampicilina 30.54%, 39.6%, Estreptomina 53.14%, Clortetraciclina 60.89%, Sulfamethizina 66.29%, Tetraciclina 79.31%), Eritromicina 82.76% y Tilosina 89.6%. Del mismo modo López *et al.* (2009) reportan la existencia de resistencia en bacterias aisladas en muestras de agua de Culiacán, de tal forma que todas las cepas de *Salmonella*

fueron susceptibles a ampicilina, ciprofloxacino y trimetoprim-sulfametoxazol y 12 presentaron resistencia a tetraciclina. De las 46 cepas de *E. coli* analizadas, 9 fueron resistentes a tetraciclina, 38 fueron resistentes a estreptomycin y sólo una cepa fue resistente a gentamicina; mientras que 23 cepas presentaron resistencia intermedia. Todas las cepas de *Salmonella* tuvieron altos niveles de resistencia a $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en dosis entre 1200 y 1600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ del antimicrobiano, esto contrasta con la respuesta que tuvo *E. coli* O157:H7 en el presente estudio, alternativa que además de reportarse su uso como control, aporta pequeñas cantidades de cobre al sistema agrícola sin efectos adversos siempre y cuando no se exceda su uso (Molinari *et al.*, 2015).

El transporte de estas bacterias a los cultivos de hortalizas por alguna vía de contaminación como el agua, abonos, insectos, animales y trabajadores puede provocar la exposición de las poblaciones humanas a una Enfermedad Transmitida por Alimentos que puede desencadenar desde síntomas leves hasta la muerte, los resultados presentados destacan la importancia de seguir estudiando la respuesta de bacterias enteropatógenas a bactericidas empleados comúnmente en la agricultura.

VIII. CONCLUSIÓN

Los bactericidas de uso agrícola evaluados ejercieron un efecto de inhibición en diferentes niveles en las tres cepas (O157:H7, O157:H16 y O105ab) de *E. coli* evaluadas, excepto Kasumin.

Con la técnica de incorporar los bactericidas en el agar se inhibió completamente el desarrollo de *E. coli*.

El bactericida Sulfato de cobre ejerció un efecto inhibitorio con la cepa O157: H7 de *E.coli*.

El bactericida Gentamicina agrícola inhibió el crecimiento de la cepa O157:H16 y O105ab de *E.coli*.

IX. LITERATURA CITADA

Arysta (Arista Life Science México). 2018. Ficha técnica Kasugamicina. Disponible

en:

https://mx.uplonline.com/download_links/riVk5AEcOILR4TJmg7xnVEbEBIfcFmxdA9a2p8dQ.pdf Fecha de consulta: Mayo de 2021.

Agristar (Agristar México). 2020. Ficha técnica Hidrobacter (RSCO-MEZC-1390-0652-002-6.80). Disponible en: <http://www.agristar.com.mx/>. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

Barrios, A. M., Morales C., S., y Villacaqui-Ayllon, E. 2016. Susceptibilidad Antibiótica de Cepas de Escherichia coli en Crías de Alpaca con y sin Diarrea. Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú, 27(2), 381-387. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11651>

Beuchat, L. R. 1996. *Listeria monocytogenes*: Incidence on vegetables. Food Control 7: 223-228.

CDC (Centro para el Control y Prevención de enfermedades, Centro Nacional de Enfermedades infecciosas). 2017. Seguridad Alimentaria, Cómo se contaminan los alimentos. Disponible en: <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/production-chain-es.html>. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

Centre on Global Health Security. 2014. Antimicrobial Resistance One Health Colloquium. Disponible en: https://www.chathamhouse.org/sites/default/files/field/field_document/AMR%20%20One%20Health%20Colloquium%20Meeting%20Summary%20jmer%20-%2028%20April%2015.pdf. Fecha de consulta: 23 de junio de 2020.

- Chatterjee, A.K., Chakraborty, R., and Basu, T. 2014. Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. *Nanotechnology* 25: 135101 (12pp). doi: <http://dx.doi.org/10.1088/0957-4484/25/13/135101>
- Codex Alimentarius. 2007. Principios Prácticos sobre el Análisis de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos Aplicables por los Gobiernos. 1ra edición. Comisión del codex alimentarius Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, FAO, Roma. Italia.
- Cué, B. M. y Morejón, G. M. 1998. Antibacterianos de acción sistémica: Parte I. Antibióticos betalactámicos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 14(4), 347-361. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251998000400008&lng=es&tlng=es. Fecha de consulta: 11 de junio de 2020, de
- De La Fuente-Salcido, N. M., Villarreal-Prieto, J. Ma.; Diaz Leon, M. Á. y Garcia Perez, A. P. 2015. Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Rev. mex. cienc. farm [online]*. 46 (2): 7-16. ISSN 1870-0195.
- Doyle, M. P., and Schoeni, J. L. 1984. Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol* 48(4):855-6. doi: 10.1128/AEM.48.4.855-856.1984.
- Duffy, E A, Lucia, L. M., Kells, J. M., Castillo, A., Pillai, S. D. and Acuff, G. R. 2005. Concentration of *Escherichia coli* and genetic diversity and antibiotic resistance profiling of *Salmonella* isolated from irrigation water, packing shed equipment, and fresh produce in Texas. *J. Food Prot.* 68:70-79.

- Estape, J. Z. 2012. Brotes epidémicos causados por *Escherichia coli* diarreagénicas. *Gastroenterología y hepatología* 35 (2): 89-93.
- Farfán, L. M., Benítez, S. V., y Carvajal, L. M. 2014. Sensibilidad de bacterias procedentes de pasifloras a antibióticos y productos cúpricos. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas* 8(1): 20-33. <https://doi.org/10.17584/rcch.2014v8i1.2797>
- FAO. 2003. Código Internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma. 40 p.
- FAO. 2017. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos: lo que necesitas saber. Datos básicos, desafíos y perspectivas sobre esta amenaza global. Disponible en: <http://www.fao.org/zhc/detail-events/es/c/452719/> . Fecha de consulta: Enero 2020.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2018. Expert Meeting on Foodborne Antimicrobial Resistance: Role of the Environment, Crops and Biocides. Pp: 1-13.
- FAO. 2019. Prevención de la *E. coli* en los alimentos. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf. Fecha de consulta: 11 de Enero de 2020.
- Fernández, E. E. 2000. Microbiology and food safety. Autonomous University of Queretaro. Queretaro, Mexico.11p
- Gálvez, G. G. T., Sánchez, S. M. R., Parra, C. F., García, P. J., Aviña, M., G.N. y Villalobos, S. 2018. Pesticides in Mexican Agriculture and promissory

- alternatives for their replacement. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan* 7 (11): 1977-1991.
- García, F. 2001. Resistencia bacteriana a antibióticos. *Acta Médica Costarricense* 43(3):1 Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022001000300001. Fecha de consulta: 23 de junio de 2020.
- Gilbert, D. N. 2000. Aminoglycosides. En Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell GL, Bennett JE and Dolin R. eds., 4th ed. Churchill Livingstone, New York, N.Y., pp: 307-336.
- Harris, G. 2010. Antibiotics in Animals Need Limits, F.D.A. Says. *New York Times*, 28 June 2010. [Online] Available from: http://www.nytimes.com/2010/06/29/health/policy/29fda.html?_r=1. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.
- Latorre-Barragan, M. F., Zurita-Leal, C., Gudiño, A. y Gomezjurado. M. E. 2019. Resistencia de los antibióticos β -lactámicos en países latinoamericanos. *Medwave* 2019;19(10):e7729 doi: 10.5867/medwave.2019.10.7729
- Lewin, B. 1996. *Genes*. Volumen 1. Editorial Reverté. España. 620 p.
- Liu, P., Soupir, M. L, Zwonitzer, M., Huss, B. y Jarboe, L.R. 2011. Asociación de resistencia a antibióticos en aislamientos agrícolas de *Escherichia coli* con fijación al cuarzo. *Microbiología aplicada y ambiental*, 77 (19), 6945–6953. <https://doi.org/10.1128/AEM.00717-11>. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.
- López, C. O., León, F. J., Jiménez, E. M. y Chaidez, Q. C. 2009. Detección y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Salmonella* en agua y suelo

- agrícola. Revista fitotecnia mexicana, 32(2), 119-126. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802009000200007&lng=es&tlng=es. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.
- Mella, M. S., Sepúlveda, A., M., González, R., G., Bello, T., H., Domínguez, Y., M., Zemelman Z., R., y Ramírez, G., C. 2004. Aminoglucósidos-aminociclitolos: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. Revista chilena de infectología 21(4), 330-338. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182004000400007>
- McManus, P. S., Stockwell, V.O., Sundin, G. W. and Jones, A.L. 2002. Antibiotic use in plant agriculture. Annu Rev Phytopathol. 2002;40:443-65. doi: 10.1146/annurev.phyto.40.120301.093927. Epub 2002 Feb 20. PMID: 12147767.
- Molina, E. E. 2015. Contaminantes biológicos del aire interior de la vivienda: factores contribuyentes, afecciones relacionadas y medidas correctivas. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032015000100008&lng=es&tlng=es. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.
- Molinari, M., Dorronsoro, P., Bentivegna D. J. G. y Tucac, F. D.. 2015. Efecto y concentración del cobre en cultivos regados con sulfato de cobre Pentahidratado. Conference: XXII Congreso Latinoamericano de Malezas (ALAM) y I Congreso Argentino de Malezas (ASACIM). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/282086115_EFECTO_Y_CONCEN

TRACION_DEL_COBRE_EN_CULTIVOS_REGADOS_CON_SULFATO_DE
_COBRE_PENTAHIDRATADO. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

Mohammad, J. H., K. M. Fromm, A. A. Ashkarran, Jimenez, de A. D., Ruíz, de A. I.,
Rojo, T., Serpooshan, B., Parak, J. W. and Mahmoudi, M. 2012. Antibacterial
properties of Nanoparticles. Trends in Biotechnology 30 (10): 499-511. doi:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.06.004>

Musgrove, M., D. Jones, J. Northcutt, N. Cox, M. Harrison, P. Ferdorka and S.
Ladely. 2006. Antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Escherichia*
coli isolated from commercial shell eggs. Poultry Sci. Assoc. 85:1665-1669.

NCBI (National Center of Biotechnology). 2020. *Escherichia coli* O157:H7. Disponible
en:[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&
id=1446609&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1446609&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock). Fecha de consulta 6
de febrero 2020.

Ocaña, de J. R. L., Gutiérrez-Ibáñez, A. T., Sánchez-Pale, J. R., Mariezcurrena-
Berasain, D., Hernández-Chiñas, U., and Laguna Cerda, A. 2019. Motility and
Survival of *Salmonella Enterica* Subspecies Enterica Serovar Enteritidis in
Tomato Plants (*Solanum lycopersicum* L). International Microbiology 22(3):
363-368. ISSN: 1139-6709 (Print) 1618-1905 (Online).
<https://doi.org/10.1007/s10123-019-00059-3>,

Olaimat, A. N. y Holley, R. A. 2012. Factors influencing the microbial safety of fresh
produce: A review. Food Microbiology 32 (2012) 1e19 Disponible en:
[https://www.utrgv.edu/seems/news/seminars/factors-influencing-the-
microbial-safety-of-fresh-produce-a-review.pdf](https://www.utrgv.edu/seems/news/seminars/factors-influencing-the-microbial-safety-of-fresh-produce-a-review.pdf) Fecha de consulta: Mayo de
2021

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2009. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, 2009, pp. 159-190

OPS-OMS. (Organización Panamericana de la Salud- Organización Mundial de la Salud) 2015. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10985:2015-buenas-practicas-agropecuarias-de-manufactura-bpm&Itemid=41496&lang=es . Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2015. Inocuidad de Alimentos - Control Sanitario – HACCP. Clasificación de los peligros. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10837:2015-clasificacion-peligros&Itemid=41432&lang=es. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2018. Resistencia a los antibióticos. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2020. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Inocuidad de Alimentos - Control Sanitario – HACCP. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

OMS-FAO (Organización Mundial de la Salud y Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación). 2007. Análisis de riesgos relativos a la inocuidad de los alimentos Guía para las autoridades nacionales de inocuidad de los alimentos. Pp. 4, Roma, Italia.

PAHO (Organización Panamericana de la Salud). 2005. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Pp25-93, 155. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

Pérez, L. U. y Lacuesta, C. M. 2019. Academic rigor, journalistic flair. ¿Qué papel tiene la agricultura en la transmisión de la resistencia a antibióticos? <https://theconversation.com/que-papel-tiene-la-agricultura-en-la-transmision-de-la-resistencia-a-antibioticos-126369> 1/5.

Pfizer. 2020. Ficha Técnica Terramicina agrícola AGRI-MYCIN®. Disponible en <https://agropacifico.mx/wp-content/uploads/2019/11/TERRAMICINA.pdf>.

Fecha de consulta: 1 de junio de 2020.

Quezado, A., Gazzoto, A., Leite, R. y Camargo, L. 2003. Sensibilidade a cobre, estreptomina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha bacteriana do tomate para processamento industrial. Hort. Brasil. 21(4), 670-675.

Riley, L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D. McGee, H.B., Wells, J. G. and Davis, B. R. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. N. Engl. J. Med. 308: 681-685. DOI:10.1056/NEJM198303243081203

- Robertson, R. E., Lansburgh, E., Ryba, S., Her-zog, N., Seigler, J. and Bondi, S. 1999. Food safety: the agricultural use of antibiotics and its implications for human health. Rep. US GAO to the Hon. Tom Harkin, Ranking Min. Member, Comm. Agric., Nutr., and For., US Senate. GAO/RCED- 99-74. 33 pp.
- Rodríguez, G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud publica Méx. 44(5): 465 -472.
- Rodríguez, S. E. N. 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Ra Ximhai 7(1):154-156
- Sánchez-Venegas, J., Pillaca, M., Laundaro, C., Ramirez, P., Lovera, D., Bernaldo, J., Eca, A. and De la Cruz, F. 2016. Bacterial growth inhibitory activity for nanostructured copper minerals obtained from the Marañon region: comparison with commercial copper. Revista peruana de biología 23(3): 305 - 310 (2016) doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v23i3.12866>
- SAGARPA (Secretaria de Ganaderia, Agricultura, Pesca y Alimentación). 2018. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas para el agricultor. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa, México. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/120191/Manual_de_Buenas_Practicas_Agricolas.pdf Fecha de consulta: Mayo 2021.
- SAS Institute Inc. 2002. SAS/STAT User's guide. Software version 9.0. Cary, N.C., USA.
- SENASICA. 2017. Fideicomiso de Riesgo Compartido. Calidad e Inocuidad presente en los productos del Campo Mexicano <https://www.gob.mx/firco/es/articulos/calidad-e-inocuidad-presente-en-los->

- productos-del-campo-mexicano?idiom=es. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.
- Siller, J. H., Báez, M. A., Sañudo, A. y Báez, R. 2018. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas, Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria. 164 pág.
- Siller, J., Báez, M. A., Sañudo, A., y Báez, R.. 2002. Buenas Prácticas Agrícolas Guía para el agricultor. Buenas Prácticas para Frutas y Hortalizas frescas. No. 7 – 25 pp. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/120191/Manual_de_Buenas_Practicas_Agricolas.pdf?fbclid=IwAR1DI7PKfBID1tbqWWA7Op9--W-8W7E-KI5gMMQ3AYJstQR3coR209cyVeY. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.
- Sumit Agro (Sumit Agro México). 2018. Ficha técnica Agry- Gent Plus. Disponible en: <https://summitagromexico.com/productos/informacion/agry-gent-plus-800/>. Fecha de consulta: septiembre de 2020.
- Tafur, J. D., Torres, J. A. y Villegas, M. V. 2008. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. Infectio, 12(3), 227-232. En: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922008000300007&lng=en&tlng=es. Fecha de consulta: mayo de 2019.
- Torres-Armendáriz, V., Manjarrez-Domínguez, C. B., Acosta-Muñiz, C. H., Guerrero-Prieto, V. M., Parra-Quezada, R. Á., Noriega Orozco, L. O. y Ávila-Quezada, G. D. 2016. Interacciones entre *Escherichia coli* O157:H7 y plantas comestibles. ¿Se han desarrollado mecanismos de internalización bacteriana? Revista Mexicana de Fitopatología, 34(1): 6483. Disponible

en: <https://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507-4>. Fecha de consulta: Septiembre de 2020.

Ucfoodsecurity. 2012. Prevención y control de la *Salmonella* y la *E. coli* enterohemorrágica en los frutos secos. Disponible en: <https://ucfoodsafety.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk7366/files/inlinefiles/163175.pdf>. Fecha de consulta: 23 de Junio 2020.

ONU ((United Nations Organization), Department of Economic and Social Affairs, Population Division). 2017. World Population Prospects: The 2017 Revision, Key Findings and Advance Tables. Working Paper No. ESA/P/WP/248.

USDA (Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos Departamento de Agricultura de los Estados Unidos). 2013. Información sobre Inocuidad de Alimentos pág. 1.

Williams-Nguyen, J., Sallach, J. B., Bartelt-Hunt, S., Boxall, B. A., Durso, L. M., McLain, J. E., Singer, R. S., Snow, D. D. and Ziles, J. L. 2016. Antibiotics and Antibiotic Resistance in Agroecosystems: State of the Science. *J Environ Qual*. 45(2):394-406. doi:10.2134/jeq2015.07.0336 .

Zemelman, R., Bello, H., Vivas, M. E., Mondaca, M. A. 1988. Un método simple para estudiar la cinética de acción bactericida de sustancias antibacterianas. *Acta Microbiol* 1:33-9.

Zúñiga, C. I. R. y Caro, L. J. 2017. Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. *Enf Inf Microbiol* 37 (3): 95-104



Toluca, México; a 28 de octubre de 2021

**Carta de autorización para la incorporación de objetos digitales
en el Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma del
Estado de México.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
P R E S E N T E**

El/la/s que suscribe/n Diego Lagos Morán, con fundamento en los artículos 13 fracción I, 18, 21 22, 27, 30 y demás aplicables de la Ley Federal del Derecho de Autor y su Reglamento vigentes, firmo/mamos la presente Licencia de Uso Gratuita, No Exclusiva y No remunerada para la incorporación al Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma del Estado de México de la obra literaria (artículo, capítulo de libro, libro, tesis de posgrado, entre otros.) que lleva por título Sensibilidad de Eubacteria en los diferentes estratos agrícolas.

Asimismo, declaro/ramos bajo protesta de decir verdad ser el/la/s autor/a/res y/o legítimo/a/s titular/es de la obra literaria y sus derivados visuales; y que responderé/remos de la autoría/titularidad, originalidad y nivel de acceso de la obra de mérito y del ejercicio pacífico de los derechos que se licencian en este acto, manifestando que no existe ninguna otra persona física o moral a la que le pertenezcan; por lo cual libero/ramos en este acto de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma del Estado de México, así como de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que considere vulnerados sus derechos o que se suponga con derecho sobre la obra mencionada, asumiendo todas las consecuencias legales y económicas a que hubiera lugar.





Por lo anterior, autorizo que la Oficina de Conocimiento Abierto perteneciente a esta Máxima Casa de Estudios, realice lo propio para el almacenamiento, preservación y difusión de la obra, con fines académicos y culturales en formato de acceso abierto y sin fines de lucro en los términos siguientes:

1. De los Derechos de Autor.

Reconozco la importancia de protección de mi obra y el movimiento de Acceso Abierto del cual forma parte la Universidad Autónoma del Estado de México, por lo tanto conozco y acepto que mi obra esté protegida bajo una de las Licencia Creative Commons que a continuación se listan, marcando con una "X" del lado izquierdo la que será aplicable a mi obra:

	Licencia	icono
<input type="checkbox"/>	Reconocimiento (BY): El autor permite copiar, reproducir, distribuir, comunicar públicamente la obra, realizar obras derivadas (traducción, adaptación, etc.) y hacer de ella un uso comercial, siempre y cuando se cite y reconozca al autor original.	
<input type="checkbox"/>	Reconocimiento - Sin obra derivada (BY-ND): El autor permite copiar, reproducir, distribuir, comunicar públicamente la obra, y hacer de ella un uso comercial siempre y cuando se cite	



- y reconozca al autor original. No permite generar obra derivada.
- Reconocimiento - No comercial- Sin obra derivada (BY-NC-ND):** El autor permite copiar, reproducir, distribuir, comunicar públicamente la obra, siempre y cuando se cite y reconozca al autor original. No permite generar obra derivada ni utilizarla con finalidades comerciales. 
- Reconocimiento - No comercial (BY-NC):** El autor permite copiar, reproducir, distribuir, comunicar públicamente la obra, y generar obras derivadas siempre y cuando se cite y reconozca al autor original. No se permite utilizar la obra con fines comerciales. 
- Reconocimiento - No comercial - Compartir igual (BY-NC-SA):** El autor permite copiar, reproducir, distribuir, comunicar públicamente la obra, y generar obras derivadas siempre y cuando se cite y reconozca al autor original. La distribución de las obras derivadas deberá hacerse bajo una licencia del mismo tipo. No se permite utilizar la obra con fines comerciales. 
- Reconocimiento - Compartir igual (BY-SA):** El autor permite copiar, reproducir, distribuir, comunicar públicamente la obra, generar obras derivadas y hacer de ellas un uso comercial, siempre y cuando se cite y reconozca al autor original. Se permite la distribución de las obras derivadas, pero única y exclusivamente con una licencia del mismo tipo. 

2. De la Difusión del producto

El nivel de acceso en mi obra definirá la parcialidad o totalidad de acceso a los datos y documento a texto completo para su visibilidad en el Repositorio Institucional, por lo que la aplicable a mi obra, es el señalada del lado izquierdo en esta sección:

Nivel de acceso

- a. **Abierto:** esta característica permite que los metadatos del depósito puedan ser visualizados en su totalidad, así como el acceso al documento a texto completo depositado para visualización y descarga, el documento es incluido en resultados de búsquedas. Las características de un archivo para publicación en abierto son:
- Es posible acceder a su contenido de manera libre y universal, sin costo alguno para el lector, a través de cualquier dispositivo que cuente con acceso a Internet;
 - El autor o titular de los derechos de propiedad intelectual otorga al usuario el derecho de utilizar, copiar o reproducir el contenido, con la única condición de que se dé el debido crédito de autoría.
 - El documento ya cumplió su periodo de exclusividad con alguna editorial o tercera persona y está disponible para su libre publicación.
- b. **Restringido:** esta característica se utiliza cuando se desea que el documento no se muestre al público, únicamente podrán visualizarse los metadatos del depósito a petición del depositante o autor, en caso de que algún visitante o usuario desee el acceso al contenido completo del documento se enviará un mensaje al depositante del documento a texto



completo solicitando su acceso, el depósito será incluido en los resultados de búsqueda

c. **Embargado:** esta característica permite ocultar el documento por un periodo de tiempo definido por el autor, únicamente podrán visualizarse los metadatos del depósito a petición del depositante o autor, llegada la fecha de finalización de embargo el acceso al documento será modificado a "acceso abierto", mientras el documento se encuentre oculto los metadatos serán visibles y quedará incluido en los resultados de búsqueda.

d. **Cerrado:** en este caso el depósito no será incluido en los resultados de búsquedas, el documento y los metadatos de depósito NO serán visibles para los usuarios.

Para el caso de nivel de acceso Restringido, Cerrado o Embargo, se deberá contar con un motivo y fecha de término por el nivel de acceso elegido.

Así mismo, conozco y acepto los términos del aviso de privacidad de la UAEMex, mismo que puede ser consultado en http://web.uaemex.mx/avisos/Aviso_Privacidad.pdf; en este mismo acto otorgo mi consentimiento, para que la Universidad Autónoma del Estado de México, haga públicos mis datos personales referentes a nombres, espacio académico, opiniones y/o conclusiones vertidas en el presente trabajo de investigación (tesis, tesina, ensayo, publicaciones de revistas y/o libros) (tesis de grado y posgrado, artículos, libros, capítulos y cualquier trabajo académico) derivado de las obligaciones comunes y específicas que se tiene como Sujeto Obligado en materia de Transparencia y en cumplimiento a la Ley de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados

En pos a la protección de datos personales de terceros, y en cumplimiento a la Ley de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados, estoy de acuerdo para que la tesis de mi autoría no contenga documentos donde se visualicen datos personales sensibles que puedan afectar a terceros; tales documentos como voto aprobatorio, aceptación de tesis, dedicatorias, agradecimientos, mismos que, de no ocultarlos, serán visibles en el Repositorio Institucional de la Universidad autónoma Del Estado de México, haciéndome responsable de los mismos y sin previo permiso de los terceros

Firma de Conformidad y bajo protesta de decir verdad

Nombre y Firma Irzel Lagos Morán 

No. De Cuenta 0949054

Conozco y acepto los términos de privacidad de la Universidad
Autónoma del Estado de México
http://web.uaemex.mx/avisos/Aviso_Privacidad.pdf



Universidad Autónoma del Estado de México
UAEM

Toluca, México a 28 de Octubre de 2021

Hoja de datos del autor

Nombre: Itzel Lagos Morán

Número de cuenta (en caso de aplicar): 0949094

Grado académico: Ingeniero Agrónomo Industrial

Programa educativo de procedencia (aplica solo en tesis): Ingeniero Agrónomo Industrial

Institución donde labora: Nutriwell

Domicilio: San José Comalco, Temcoya

Teléfono/Fax: 3226044904

Correo electrónico (preferentemente correo institucional): lagositzel@nutriwell.com.mx

Itzel Lagos Morán

Nombre y firma

Nota: para el caso de que sean más de un autor, se deberá imprimir esta última hoja de "datos del autor" en relación al número de autores.

Esta información es recabada con fines administrativos

Conozco y acepto los términos de privacidad de la Universidad
Autónoma del Estado de México
http://web.uaemex.mx/aviso/Aviso_Privacidad.pdf