



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

"EVALUACION DEL EFECTO DE LAS ATMOSFERAS  
MODIFICADAS EN LA SUPERVIVENCIA DE E. coli O157:H7 Y  
DETERMINACION DE LA INCIDENCIA DE E. coli O157:H7 EN  
CHAMPIÑONES FRESCOS".

## PROYECTO DE INVESTIGACION

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

P R E S E N T A :

**ERIKA DEL CARMEN REYES RODRIGUEZ**

ASESOR: M.V.Z. GERARDO CRUZ JIMENEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2005

m. 340528



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN**  
**UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR**  
**DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.

FACULTAD DE ESTUDIOS  
 SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de  
 Exámenes Profesionales

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO**  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
 PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos:

El proyecto de investigación: "Evaluación del efecto de las atmósferas modificadas en la supervivencia de E. coli 0157:H7 y determinación de la incidencia de E. coli 0157:H7 en champiñones frescos".

que presenta la pasante: Erika del Carmen Reyes Rodríguez  
 con número de cuenta: 9256322-3 para obtener el título de:  
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Marzo de 1 2004.

PRESIDENTE	<u>MVZ. Gerardo Cruz Jiménez</u>	
VOCAL	<u>QFI. Andrea A. Becerril Osnaya</u>	
SECRETARIO	<u>QFB. Martha Patricia Zañiga Cruz</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>QFB. Virginia Benítez Solís</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QFB. René Damián Santos</u>	

## **D E D I C A T O R I A S**

### **A DIOS**

Porque cuando más lo he necesitado no me ha abandonado y gracias a él he podido salir adelante en todo lo que me he propuesto.

### **A MIS PADRES (Amá y Apá )**

Les dedico este trabajo, porque me apoyaron y depositaron toda su confianza en mí para irme a estudiar fuera de casa, y por que han hecho demasiados sacrificios para que pudiera estar donde estoy, así que este logro es con lo menos que les puedo agradecer todo lo que han hecho por mí. Gracias.

**Los quiero mucho, pata.** 🐾

### **A MIS HERMANOS (Popito y Peluquio)**

Ya que siempre han sido los mejores hermanos (**consentidores**) y me apoyaron para haber podido estudiar lejos de ellos, aguantando también uno que otro sacrificio. Y todo este tiempo confiaron en que podía salir adelante en la UNAM.

**L.Q.M**

### **A MI TIA Y FAMILIA**

A mi tía porque me ha dado asilo político y aguantado por **demasiados** años, y aunque siempre ando de patita por fin se hace realidad uno de mis sueños, gracias por todo, la quiero mucho.

A mis primas y primos les agradezco el haber podido vivir juntos tanto tiempo en armonía.

## **A MIS TIAS CHEPA , LUPE Y ABUELITA**

Porque siempre me han apoyado en las decisiones que he tomado, les dedico este logro como un agradecimiento por todo lo que han hecho por mí, y por el cariño que me tienen.

**También las quiero Mucho**

## **A MIS AMIGOS**

**(Que incluyen varias generaciones, así como no estudiantes de este plantel)**

Son varios, así que es mejor no nombrarlos no vaya a ser que alguno se me olvide y tomen represalias, pero ellos ya saben quienes son. A todos ellos quiero dedicarles este trabajo que es un paso más hacia adelante y gracias a su apoyo (por que han estado junto a mí en los buenos y malos momentos) hoy por fin culmina algo que sé también es un logro para todos ustedes.

**L.Q.M**

## **A G R A D E C I M I E N T O S**

### **A LA UNAM**

Por haberme dado la oportunidad de pertenecer a la máxima casa de estudios, confiando en que no iba a desaprovechar las enseñanzas dadas en la FESC.

### **A MIS PROFESORES**

A varios de ellos, porque hicieron que mi formación fuera de la mejor calidad en cuanto a enseñanza y también como persona. Gracias a Paty Campos, René Damián, Gerardo Cruz que han tenido la confianza en mí para considerarme su amiga.

### **AL PROFESOR GERARDO CRUZ JIMÉNEZ**

Quien más que un excelente profesor ha sido un amigo, y siempre ha estado impulsándome y ayudándome para que al fin lograra realizar una de las metas más importantes en mi vida. Gracias por todo, prof.

### **A LA PROFESORA ANDREA BECERRIL**

Que siempre ha tratado que sus alumnos sean exalumnos de calidad, y a pesar de ser exigente, es una gran persona que cuando necesité su ayuda, siempre me la otorgó muy amablemente. Gracias.

## **A LA GENERACIÓN 19 Y AMIGOS DE OTRAS GENERACIONES**

Que de alguna u otra forma, influyeron en mí y pude formarme un criterio de cómo quería vivir mi vida.

Carolina, Carmen, José (chino, pelirrojo), César Arturo, Rogelio, Humberto, Sara, a todos ustedes les doy las gracias porque siempre me han dado su amistad incondicionalmente.

## **A LOS LABORATORISTAS (Doña Lucha, Jaime, La Sra. Irene y el Sr. Martín)**

Porque siempre estuve dándoles lata con el material de laboratorio, y ustedes tan amablemente nunca me negaron nada, y siempre que pudieron me ayudaron para que tuviera mi material listo. Ah y siempre estuvieron ahí para escucharme.

# I N D I C E

CONTENIDO	PAGINAS
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Champiñón .....	2
1.1.1 Morfología del hongo .....	2
1.1.2 Condiciones ambientales e instalaciones para el cultivo .....	3
1.1.3 Medio de cultivo .....	3
1.1.4 Importancia de los champiñones como fuente de nutrientes .....	4
1.2 Atmósferas modificadas .....	6
1.2.1 Empacado en atmósferas modificadas .....	7
1.2.2 Generación de la atmósfera modificada .....	7
1.2.3 Gases usados en atmósferas modificadas .....	8
1.3 <i>Escherichia coli</i> .....	9
1.3.1 Características generales .....	9
1.3.2 Clasificación de los grupos de <i>E. coli</i> .....	9
1.3.3 Serotipos .....	10
1.3.4 Brotes .....	10
1.3.5 Alimentos involucrados .....	13
1.3.6 Reservorios .....	13
1.3.7 Patogenia .....	13
II. JUSTIFICACIÓN .....	15
III. OBJETIVOS .....	16
IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....	17
V. MATERIALES Y METODOS .....	18
VI. BIBLIOGRAFÍA .....	23



## ABREVIATURAS

A.P	Agua peptonada
ATCC	Collection Culture Type American
BHI	Infusión cerebro corazón
céls	células
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
C.H	Colitis hemorrágica
DAEC	<i>Escherichia coli</i> adherente difusa
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
E.C	Caldo <i>Escherichia coli</i>
EAEC	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa
EHEC	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena
ETEC	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica
g	gramos
IMVIC	Indol Motilidad Vogues-Proskauer Citratos
LIA	Agar indol lisina
MAP	Empacado en atmósfera modificada
MIO	Motilidad indol ornitina
ml	mililitro
MR-VP	Rojo de metilo Vogues-Proskauer
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
O <sub>2</sub>	Oxígeno
PE	Polietileno
PET	Polietileno tereftalato
PP	Polipropileno
PTT	Púrpura trombocitopénica trombótica
PVC	Polivinilcloruro
RPM	Revoluciones por minuto
SAF	Solución amortiguadora de fosfatos
SLTI	Toxina shiga like 1
SLTII	Toxina shiga like 2
SUH	Síndrome urémico hemolítico
TSI	Triple azúcar hierro
UFC	Unidades formadoras de colonias
VT1	Verotoxina 1
VT2	Verotoxina 2

## 1. INTRODUCCIÓN

Los primeros registros del cultivo de champiñones proceden de China y Japón, donde se estima que los hongos se cultivaban por lo menos desde hace 800 años, de forma muy rústica. En Europa se cultiva el champiñón desde hace tres siglos. Sin embargo antes de 1900 los métodos de cultivo eran totalmente empíricos, y por lo tanto el cultivo era una empresa de resultados impredecibles. Aunque los cultivadores frecuentemente fracasaban, después se reponían con creces de las pérdidas gracias al alto precio de venta del producto.

En los Estados Unidos se inició el cultivo de champiñones en 1880, en Canadá en 1912, y en México en 1933 utilizando una tecnología simple, empleada posteriormente en Argentina (1941), Colombia (1950), Brasil (1951), Chile (1959), Guatemala (1960), Perú (1960), Ecuador (1967), Venezuela (1968), Costa Rica (1969) y Bolivia (1989). ([www.bioplanet.com](http://www.bioplanet.com)).

En los últimos años esta actividad se ha convertido en una verdadera alternativa de obtener alimentos para el consumo humano, por la posibilidad de producir grandes cantidades en pequeñas áreas mediante técnicas sencillas a bajo costo, en períodos cortos de tiempo y con el empleo de residuos agroindustriales como sustrato. (Rodríguez, 1998).

Se ha reportado que los champiñones pueden ser empleados en dietas balanceadas por su bajo contenido en grasa y calorías, altos contenidos de fibra y compuestos funcionales como la quitina. (Manzi *et al*, 2001). Su clasificación se menciona a continuación:

*Clasificación taxonómica* (Vargas, 1997):

Reino: Fungi (Hongos)

División: Eumycota

Subdivisión: Basidiomycotina

Orden: Agaricales

Género: *Agaricus*

Especie: *bisporus*

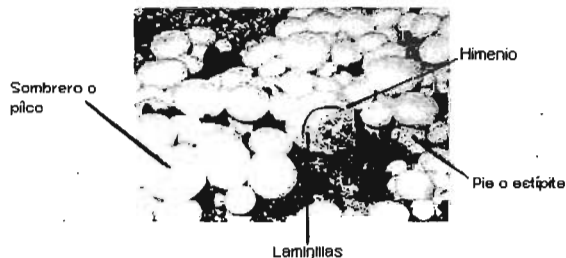
Nombre común: Champiñón

## 1.1. Champiñón

La especie más cultivada de champiñón es *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, perteneciente a la familia *Agaricaceae*. Destacan las variedades Blanchocamp BL-40, para producción en primavera, otoño e invierno; Claron A.5.1 Fungisem, y Gurelan, para cosechas invernales. Los hongos *Agaricus bisporus* se cosechan de acuerdo a la madurez y no por tamaño, los champiñones de buena calidad y frescos deberían de ser de un color blanco a café oscuro, aunque los blancos son los más comunes. Los parámetros más significativos que influyen sobre la calidad de los champiñones son: frescura, el color, el tamaño, uniformidad, madurez, firmeza, aroma, limpieza y ausencia de defectos. La vida de almacenamiento es de 5-7 días a 1.5 °C y de 2 días a 18 °C para su venta al menudeo ( Pardo *et al*, 2001; Suslow y Cantwell, 2001)

### 1.1.1. Morfología del hongo.

Los champiñones están formados por un sombrero o pileo (es la parte más carnosa, tiene forma redondeada, globosa y puede alcanzar unos 15 cm de diámetro), otra parte constituyente es el pie o estípite que sirve de soporte al sombrero, tiene forma cilíndrica, es liso y por su parte inferior está unido al micelio o filamentos del hongo que crecen en el sustrato y por último el himenio, situado en la parte inferior del sombrero el cual está formado por numerosas laminillas dispuestas a manera de radios, que van desde el pie hasta el borde externo del sombrero. Entre las laminillas se encuentran millones de esporas, que cuando germinan dan lugar a unos filamentos, que constituyen el micelio del champiñón.



### **1.1.2. Condiciones ambientales e instalaciones para el cultivo**

Para el desarrollo de los champiñones se emplean temperaturas entre los 8-18 ° C siendo el intervalo óptimo de 12 a 14 ° C, la humedad relativa se estima de 70-90 % con un óptimo entre 75-80 %. El contenido en humedad del sustrato debe oscilar entre el 62-67 %. El contenido en CO<sub>2</sub> del ambiente, juega un importante papel en la fructificación y es necesario no rebase el 0.1%, para que no haya interferencias negativas. La salida del aire, debe estar situada de tal forma con respecto a la entrada que eviten corrientes de aire, y no den directamente sobre el cultivo. Se pueden instalar ventiladores o extractores de aire, para permitir renovar el aire del local tres o cuatro veces al día. Las instalaciones para el cultivo del champiñón son cuevas, bodegas, y en general, sitios oscuros y frescos. ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com))

### **1.1.3 Medio de cultivo**

Como todos los hongos, el champiñón requiere desarrollarse en un sustrato que le proporcione nutrientes, para esto se utiliza una composta formada del 70 % de paja de cereal y un 30 % de estiércol natural o artificial. El estiércol natural idóneo para el cultivo del champiñón es el de caballo, aunque también puede emplearse el de diversos mamíferos así como de aves de corral. Este estiércol debe estar compuesto a base de paja de trigo o de centeno. Cuando no se dispone de estiércol natural se puede recurrir al empleo de estiércol artificial, constituido por compuestos nitrogenados, paja de trigo bien picada, urea, soya o algodón. Una vez mezclada la composta se deja fermentar de 5-8 días para que los microorganismos presentes degraden la materia orgánica, terminada ésta etapa se esteriliza la composta a unos 58-60 ° C para eliminar cualquier microorganismo que pueda competir con el hongo a cultivar ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com); [www.cultivosespeciales.com](http://www.cultivosespeciales.com); <http://tomvolkfunqi.net/>).

México tiene la tradición de ser micófago o comedor de hongos. El consumo de los hongos silvestres está muy arraigado en el pueblo mexicano desde épocas prehispánicas; es una tradición que data de siglos y ha sido plasmada en los códices indígenas y en las crónicas y escritos de la época de la colonia.

La mayor parte del conocimiento y tradición acerca del uso de los hongos comestibles silvestres en nuestra cultura se perdió al ser conquistados por una cultura diferente a la nuestra. Como en aquellas épocas, los hongos siguen siendo objeto de comercio en muchos mercados del país (Pardavé, 1996)

Debido a la demanda nacional e internacional de champiñones como alimento nutritivo, se calcula que para los próximos cinco años el número de empresas establecidas en México productoras de este alimento se incrementará en un 80 por ciento.

En nuestro país la producción de hongos es aproximadamente de 30,000 toneladas anuales y se espera un aumento considerable, ya que este tipo de cultivo se difunde y promueve a través de Universidades, entre campesinos, organizaciones gubernamentales y privadas que ven en esta forma de trabajo poca inversión con ganancias considerables (Boletines informativos, 2004 ).

Los hongos han sido parte de una dieta humana normal por miles de años y recientemente, involucran un gran número de especies. En 1997 la producción mundial anual de hongos cultivados fue de 6.34 millones de toneladas métricas, comparadas con solo 4.92 toneladas métricas en 1994. (Mattila *et al*, 2001)

#### **1.1.4. Importancia de los champiñones como fuente de nutrientes**

Composición de los champiñones:

<b>Componentes</b>	<b>Porcentaje</b>
Agua	78.3- 90.5 %
Proteína	23.9 –34.8 % (base seca)
Grasas	1.7 – 8.0 % (base seca)
Carbohidratos	51.3 –62.5 % (base seca)
Fibra	7.7 –12.0 % (base seca)
Valor energético	320.0 –368.0 kcal / 100 g de peso seco

Si se advierte que, la dieta de aproximadamente un tercio de la población mundial es deficiente en proteínas, se debe tener en cuenta que los champiñones poseen los aminoácidos esenciales y el doble del contenido de proteínas que los vegetales. Además, son ricos en leucina ausente en la mayoría de los cereales. Poseen minerales (superando en este aspecto al pescado) y vitaminas, teniendo pocas calorías y carbohidratos. Pudiéndose ubicar entonces el valor nutritivo de estos hongos entre los vegetales y las carnes ([www.bioplanet.com](http://www.bioplanet.com)).

Los champiñones son muy importantes nutricionalmente, por su gran contenido de proteínas (23.9 –34.8 %), en comparación con las hortalizas y frutas que solamente tienen de (7.3-13.2 %) y la leche (25.2 %). Son alimentos bajos en calorías y su fracción grasa está compuesta principalmente por ácidos grasos insaturados, correspondiendo aproximadamente al 4% de peso en base seca. Proveen vitaminas C y B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>, y niacina), folatos, así como lisina y triptófano en cantidades de 9.1 y 2 g respectivamente. Son también una buena fuente de vitamina D<sub>2</sub>, ergocalciferol, además contienen gran cantidad de ergosterol, provitamina D<sub>2</sub>, la cual puede ser convertida a vitamina D<sub>2</sub> por irradiación ultravioleta. El champiñón contiene buenas cantidades de fósforo, sodio y potasio, y en menor proporción calcio e hierro, estos minerales constituyen aproximadamente de 56 a 70 % del contenido total de cenizas, siendo el potasio el más abundante con cerca del 45 % del total. ((León-Guzmán *et al*, 1997; Villaseñor *et al*, 1997; Vargas, 1997; Mau *et al*, 1998, )

El contenido de fibra puede variar considerablemente en el hongo, y su presencia es afectada por diferencias en las cepas, sustrato, condiciones de cultivo, el estado de desarrollo del hongo, y la edad de las muestras frescas. El contenido de agua de los hongos puede variar dependiendo de las condiciones de riego (Mattila *et al*, 2001).

Día a día aumenta la preferencia de los consumidores por adquirir productos frescos o cuando menos con el menor tratamiento posible, sin aditivos ni conservadores. Los vegetales son productos perecederos, pierden calidad y se alteran en un periodo corto, lo que ha impulsado el desarrollo de tecnologías que cumplan el requisito fundamental de someter al producto a un tratamiento mínimo que permita alargar la vida útil, durante

el tiempo necesario para su distribución y comercialización, tal es la conservación en atmósferas controladas y/o modificadas. ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com))

Los hongos *Agaricus bisporus* son altamente perecederos debido a su alta tasa respiratoria, y solo pueden conservarse a 10 °C pocos días, pasado este tiempo empiezan a oscurecerse y pueden ser más susceptibles a contaminación por mohos y bacterias. Para aumentar su vida de anaquel, se han usado diversos procesos como mantenerlos a bajas temperaturas, tratamientos químicos y envasado en atmósferas modificadas (Burton, 1991; Pardo et al, 2001)

### **1.2. Atmósferas modificadas**

Las técnicas usadas para reducir oxígeno en torno de los alimentos son conocidas como empaçado en atmósferas modificadas (MAP) e incluyen empaçado al vacío, empaçado en atmósferas controladas y empaçado en verdaderas atmósferas modificadas e implican el reemplazo del aire en un envase por una mezcla de gases diferentes, la proporción de cada componente se fija cuando se introduce la mezcla, pero sin ejercer ningún control posterior durante su almacenamiento. En la práctica comercial se recurre usualmente a la reducción del oxígeno y elevación del CO<sub>2</sub> y/o N<sub>2</sub>. La reducción de O<sub>2</sub> disminuye de forma general la velocidad de respiración de los alimentos vivos. Las concentraciones óptimas de oxígeno y dióxido de carbono se crean pasivamente dentro del empaque, como resultado del intercambio de gases entre las atmósferas dentro y fuera del empaque y el producto, el cual consume O<sub>2</sub> y produce CO<sub>2</sub> (Tano *et al*, 1999)

El uso de empaçado en atmósferas modificadas (MAP) se informó por primera vez en 1927, como una extensión de la vida de anaquel de manzanas almacenadas. Las técnicas de empaçado en atmósferas modificadas han sido usadas en diversos alimentos frescos o refrigerados, incluyendo carne y pollo ambos crudos y cocidos, pescado, frutas y vegetales, y recientemente se han empleado en café, té y productos de panadería (Phillips, 1996).

La combinación de temperaturas de refrigeración y el empaçado en atmósferas modificadas generalmente resultan en un almacenado más efectivo y seguro, prolongando la vida de anaquel. El uso del empaçado en atmósferas modificadas no

elimina la necesidad de un manejo cuidadoso en todas las fases de la producción. Las principales funciones del empaçado en atmósferas modificadas son reducir la concentración de oxígeno e incrementar la presión parcial de dióxido de carbono en los alimentos empaçados. En el caso del empaçado en atmósferas modificadas, la atmósfera se cambia en el punto de envasado y ya no se controla la composición de ésta. Los niveles reducidos de oxígeno pueden disminuir el porcentaje o índice de oxidación de lípidos y el crecimiento de bacterias aerobias (Huang *et al*, 1999).

Los factores que condicionan la conservación en atmósferas modificadas son: la composición y características del alimento (naturaleza, actividad de agua, componentes básicos), carga microbiológica inicial, temperatura de almacenamiento, composición de la atmósfera, el material con que está hecho el envase y la tecnología del empaçado (Phillips, 1996; Fonseca *et al*, 2002)

### **1.2.1. Empaçado en atmósferas modificadas**

En el empaçado en atmósferas modificadas no es necesario, en general, mantener la composición del gas a lo largo del almacenamiento, por lo que resulta más práctico y económico para la venta al consumidor. Para el empaçado en atmósferas modificadas es necesaria la utilización de materiales plásticos, cuya permeabilidad permite un adecuado control de la atmósfera de empaçado. Y se emplean diversos tipos de envases flexibles o semirígidos que están hechos de uno o más de cuatro polímeros: polivinilcloruro (PVC), polietileno tereftalato (PET), polietileno (PE) y polipropileno (PP) que presentan diversos grados de permeabilidad y resistencia mecánica ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com)). Los productos dentro de las atmósferas están influenciados por el tipo de material usado en el proceso de empaçado y la mezcla de gas usada (Phillips, 1996)

### **1.2.2. Generación de la Atmósfera Modificada**

Modificación pasiva de la atmósfera. Si las características del producto están en armonía con las características de permeabilidad de la película, una atmósfera apropiada puede ser creada pasivamente dentro del empaque sellado, como resultado



del consumo de O<sub>2</sub> y la producción de CO<sub>2</sub> a través de la respiración (Smith *et al*, 1987).

Atmósfera modificada activa. A la incorporación de ciertos aditivos dentro de la película de empaque o dentro del contenedor para modificar la atmósfera y para extender la vida de anaquel del producto se le conoce como empaque activo (Parry, 1993).

### 1.2.3. Gases usados en atmósferas modificadas

Los principales gases usados en las atmósferas modificadas son oxígeno, nitrógeno y dióxido de carbono. Otros sugeridos son óxido nítrico y nitroso, monóxido de carbono, dióxido de sulfuro, estos no han sido utilizados por seguridad, aceptación del consumidor, aspectos legales y razones de costo. El oxígeno, el nitrógeno y el dióxido de carbono son usados en diferentes combinaciones y proporciones dependiendo del producto y las necesidades del fabricante y el consumidor (Phillips, 1996).

La gran vulnerabilidad de las atmósferas modificadas en alimentos, desde el punto de vista de las medidas de seguridad, son los niveles de dióxido de carbono el cual puede favorecer el desarrollo de agentes patógenos como *Clostridium botulinum* tipo E, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Aeromonas hydrophila* (Quan, 2000).

Datos científicos demuestran un incremento en el número de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos frescos contaminados. La contaminación de estos productos tiene lugar en todas las fases de producción y durante el procesamiento. Las posibles fuentes de contaminación son el suelo, polvo, heces, agua (irrigación, limpieza), manipuladores, fauna nociva (incluyendo insectos y pájaros), envases, manejo de los productos cosechados y del equipo de procesado y el transporte (Johannessen, 2002).

La contaminación cruzada de ensaladas de vegetales crudos con *Escherichia coli* O157:H7 durante el procesamiento, manejo y venta puede ocurrir ya que en las ensaladas, el empaquetado con 3% de oxígeno y 9% de nitrógeno tiene muy poco o ningún efecto en la población de *E.coli* O157:H7 comparado con controles como el aire, el abuso de temperatura y el tipo de vegetal presente en la ensalada (Abdul *et al*, 1999)

### **1.3. *Escherichia coli***

Es habitante normal del intestino. Probablemente su utilidad está en suprimir el crecimiento de ciertos organismos proteolíticos y sintetizar grandes cantidades de vitaminas. Hace tiempo, la importancia de *E. coli* como agente etiológico de enfermedades se subestimaba grandemente. *Escherichia coli* es el organismo facultativo predominante en el tracto gastrointestinal humano. La presencia regular de *E. coli* en el intestino humano y en heces se utiliza como un indicador de contaminación fecal y contaminación de agua ([www.microbionet.com](http://www.microbionet.com); Cabrera y Pérez, 2002,)

#### **1.3.1. Características generales**

*Escherichia coli* son bacilos cortos, que miden de 0.4 a 0.7  $\mu\text{m}$  de ancho y de 1.0 a 4.0  $\mu\text{m}$  de longitud, es gramnegativo, no esporulado, puede crecer en ausencia o presencia de oxígeno (anaerobio facultativo), *E. coli* utiliza azúcares sencillos como la glucosa, produce ácido y gas en presencia de lactosa en las primeras 48 horas de incubación a 44.5° C, por estas características se le interpreta como organismo coliforme fecal, inmóvil o móvil por flagelos peritricos (Hitchins *et al.*, 1998; Nataro y Kaper, 1998; Souza *et al.*, 2000).

#### **1.3.2. Clasificación de los grupos de *Escherichia coli*.**

Como un patógeno *E. coli* es bien conocida por su capacidad para causar enfermedades intestinales, desde una diarrea hasta colitis hemorrágica y el síndrome urémico. Se conocen seis grupos (patotipos): el enterotoxigénico (ETEC), enteroinvasivo (EIEC), enteropatogénico (EPEC) , enteroagregativo (EAEC), de adherencia difusa (DAEC) y enterohemorrágico (EHEC). Las cepas de estas categorías presentan características específicas que las distinguen: pertenecen a distintos serotipos, poseen diferentes factores de virulencia y se asocian con patologías concretas (Souza *et al.*, 2000; Rodríguez, 2002; Kaper *et al.*, 2004).

El grupo enterohemorrágico de *E. coli*, propuesto por Levine (1987) incluye cepas de diferentes serotipos, presentan las mismas características clínicas, epidemiológicas y patogénicas del serotipo O157, considerado como el prototipo del grupo.

*Escherichia coli* O157:H7 es un agente infeccioso aislado e identificado por primera vez en humanos en 1982 a causa de un brote de diarrea con sangre en los Estados Unidos de Norteamérica (Ralph y Gianella, 1999; Kaper *et al*, 2004). Este patógeno causa en algunos casos colitis hemorrágica, síndrome urémico hemorrágico y púrpura trombocitopénica trombótica. Las cepas del serotipo O157:H7 tienen características que las diferencian del resto de las *E. coli* y facilitan su cultivo y detección. (Blanco *et al*, 1996b)

*Escherichia coli* O157:H7 produce citotoxinas denominadas verotoxinas (ya que destruyen la línea celular Vero) o toxinas similares a la shiga de *Shigella dysenteriae*. Existen dos tipos de verotoxinas, VT1 (o SLT-I) y VT2 (o SLT-II). La toxina está codificada por fagos y la producción está aumentada por deficiencia de hierro (Smith and Scotlan, 1988; Rodríguez, 2002).

### **1.3.3. Serotipos**

*Escherichia coli* O157:H7 (clasificada así por los antígenos somáticos O y flagelar H) fue reconocida por primera vez como patógeno humano después de dos brotes de colitis hemorrágica en 1982. Más de 100 diferentes serotipos de *E. coli* enterohemorrágica han estado involucrados en infecciones humanas, y en EE.UU más del 90% de los casos han sido provocados por *E. coli* O157:H7. En Japón, Alemania, la ex Checoslovaquia, Italia, EE.UU. y Australia han reportado brotes por cepas de *E. coli* enterohemorrágica que no pertenecen al serotipo O157:H7. Entre estos se identificaron los serotipos O26:H11, O111:H-, O157:H-, O145:H- (H- indica inmóvil), O45:H2, O128:H-, O4:H- y O103:H2 (Ralph y Giannella, 1996; Prats, 2001)

### **1.3.4. Brotes**

La infección por *E. coli* O157:H7 fue reconocida por primera vez en 1982 en EE.UU en brotes de colitis hemorrágica, afectando a personas que comieron en diversos restaurantes de la misma cadena de comidas rápidas. Entre 1989 y 1992 se produjeron 17 brotes de colitis hemorrágica en Escocia, región europea con mayor número de casos registrados. Otros países europeos con registros de brotes por *E. coli* enterohemorrágica (O157 y no O157) son la ex Checoslovaquia, Hungría, Alemania, Italia y España (Cutter y Siragusa, 1994; Blanco *et al*, 1996b).

**Cuadro 1. Brotes producidos por *E. coli* O157:H7 causados por consumo de carne**

<b>Año</b>	<b>Lugar</b>	<b>Alimento involucrado</b>	<b>Casos</b>	<b>Número de muertes</b>
1982	Oregon	Hamburguesas poco cocidas	26	0
1982	Michigan		21	0
1986	Alberta	Carne molida	Ocurrieron tres brotes	
1987	Ontario	Emparedados	128	38
1988	Utah	Carne molida	51	4
1988	Minnesota	Hamburguesas	32	0
1991	Inglaterra	Hamburguesas	615	0
1992	Washington, Idaho, Nevada y California	Hamburguesas	732	4
1993				
1993	Oregon	Hamburguesas	40-50	0
1993	Area de Seattle-Tacoma, Washington	Hamburguesas	477	0
1994	Washington	Salami curado en seco	17	0
1995	Oregon	Carne de venado	11	0
1997	Parte central de Francia	Carne	330	0
1998				
1999	Ciudades de Estados Unidos (ocurrieron 37 brotes)	Carne molida, hamburguesas, carne asada	1897	4

**Cuadro 2. Brotes producidos por *E. coli* O157:H7 causados por consumo de leche y sus derivados**

<b>Año</b>	<b>Lugar</b>	<b>Alimento involucrado</b>	<b>Casos</b>	<b>Muertes</b>
1989	Canadá	Leche bronca	2432	0
1997	Parte central de Francia	Queso	330	0
1998				

**Cuadro 3. Brotes producidos por *E. coli* O157:H7 causados por consumo de vegetales y productos varios**

<b>Año</b>	<b>Lugar</b>	<b>Alimento</b>	<b>Casos</b>	<b>Muertes</b>
1989	Chile	¿?	20	0
1989	Argentina	¿?	51	0
1990	Saitama, Japón	Agua para beber	366	2
1991	Canadá	Persona-a-persona	15	0
1991	Oregon	Agua de alberca	21	0
	Missouri	Agua para beber	243	4
	Massachussets	Sidra	4	0
1995	E. U.	Lechuga	40	0
1996	Canadá	Jugo de manzana	66	0
1996	Kyoto, Japón	Rábanos	3328	3
1996	Sakai, Japón	frescos	6000	0
1999	Ciudades de Estados Unidos (ocurrieron 37 brotes)	Sidra de manzana, lechuga romana, ensalada de verduras con mayonesa	1897	4
1999	E.U.	lechuga	72	0

### **1.3.5. Alimentos involucrados**

La mayoría de los brotes en los Estados Unidos son debidos a la ingestión de productos de origen bovino como carne contaminada y mal cocinada especialmente hamburguesas, así como leche fresca sin pasteurizar y sus derivados (Blanco *et al*, 1996a; Wang y Doyle, 1998; Ralph y Gianella, 1999, Garay *et al*, 2003).

También se han presentado brotes de *E. coli* O157:H7 por consumo de jugos de frutas sin pasteurizar, germinado de alfalfa, salami, lechuga, requesón, alimentos ácidos, frutas, agua contaminada y yogurt (Wang y Doyle, 1998; Voitoux *et al*, 2002)

### **1.3.6. Reservorios**

El ganado vacuno, especialmente los animales jóvenes constituyen el principal reservorio de este tipo de microorganismos, siendo la carne picada, hamburguesas y la leche sin pasteurizar los principales vehículos de transmisión. Otra fuente de infección reconocida en varios brotes por *E. coli* O157:H7 es el agua para beber y de uso recreativo (Nettles y Siragusa, 1994; Blanco *et al*, 1996c; Wang y Doyle, 1998; Ralph y Gianella, 1999, Varela *et al*, 2003)

### **1.3.7. Patogenia**

*Escherichia coli* O157:H7 es el agente causal de la colitis hemorrágica (CH), el síndrome urémico hemolítico (SUH), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), diarrea no sanguinolenta e incluso infecciones asintomáticas. Estas infecciones se presentan más en el verano, afectando con mayor severidad a niños y ancianos (Nettles y Siragusa, 1994; Blanco *et al*, 1996b). La presentación clínica más común es una diarrea seguida de una CH (cuadro severo de dolor abdominal diarrea sanguinolenta y ausencia de fiebre (Blanco *et al*, 1996b). El síndrome urémico hemolítico fue descrito por primera vez por Gasser en 1955 y ha sido detectado en diversos países de Sudamérica, Europa, América del Norte, Australia y Asia.

Los síntomas clásicos del SUH son: fiebre, anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, afectación neurológica y renal. No todos estos síntomas se presentan de forma simultánea, sino que aparecen de forma sucesiva en el curso de la enfermedad. Los pacientes presentan fatiga (relacionada con la anemia), trastornos hemorrágicos, cuadros de dolor abdominal o neurológicos. El SUH se acompaña de

otros síntomas, entre los que se encuentran: vómitos, dolor abdominal y renal, fiebre, hipertensión arterial, letargia, irritabilidad y alteraciones neurológicas ([www.uninet.com](http://www.uninet.com); Viñas, *et al*, 2000)

De un 5-10% de los niños con diarrea causada por *Escherichia coli* O157:H7 pueden desarrollar el síndrome urémico hemolítico y generalmente se presenta en niños menores de 5 años. Existen datos que indican que el tratar esta infección con antibióticos puede elevar el riesgo de SUH en niños (Viñas *et al*, 2000; Wong *et al*, 2000).

Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT). Esta variante consiste en un trastorno severo con patología y clínica similar al SUH, pero el sistema nervioso central tiene participación. No hay diarrea pero sí dolor abdominal (14%), fiebre y hemorragia gastrointestinal. Puede haber coágulos sanguíneos cerebrales. Se caracteriza por el daño a las células que tapizan el interior de los vasos sanguíneos lo que produce coagulación de la sangre en el interior de ellos (trombosis) con la consiguiente alteración en la función del órgano donde el daño tiene lugar. La trombosis intravascular consume plaquetas (trombocitos), con la disminución del contenido de plaquetas en la sangre (trombocitopenia), lo que da lugar a la aparición de hemorragias espontáneas (que cuando se producen en la piel generan una erupción de pequeñas manchas rojizas que se conoce como púrpura) (Viñas *et al*, 2000)

Frecuentemente los individuos con síndrome urémico hemolítico requieren diálisis y transfusiones sanguíneas y pueden desarrollar enfermedad del sistema nervioso central caracterizada por ataques frecuentes y coma. Puede haber algunos casos que lleven a la muerte. Los pacientes con PTT manifiestan características clínicas y patológicas similares a las del SUH, pero el sistema nervioso central es el principal sistema involucrado. Los pacientes a menudo presentan coágulos en el cerebro y usualmente mueren.(Doyle, 1991)

## II. JUSTIFICACIÓN

Por la gran cantidad de proteínas así como de aminoácidos, vitaminas, minerales, los champiñones cada vez se consumen más en nuestro país. Al ser estos productos perecederos, se deben de buscar alternativas para que se mantengan frescos por más tiempo.

Una de estas formas es utilizar la tecnología de empaçado en atmósferas modificadas en donde el metabolismo se mantiene disminuido. La producción de champiñones se realiza en un medio con **estiércol**, lo cual es una fuente de contaminación de organismos patógenos como *Escherichia coli* O157:H7, causante de gastroenteritis, colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico.

Destaca la importancia de las atmósferas modificadas sobre la posible inhibición del crecimiento de esta bacteria en champiñones (*Agaricus bisporus*), dando como resultado una disminución en el riesgo de casos producidos por el microorganismo antes mencionado.

El Químico Farmacéutico Biólogo (Q.F.B) puede participar en la detección de la calidad bacteriológica, en la producción de champiñones por el riesgo sanitario que representa para el consumidor.



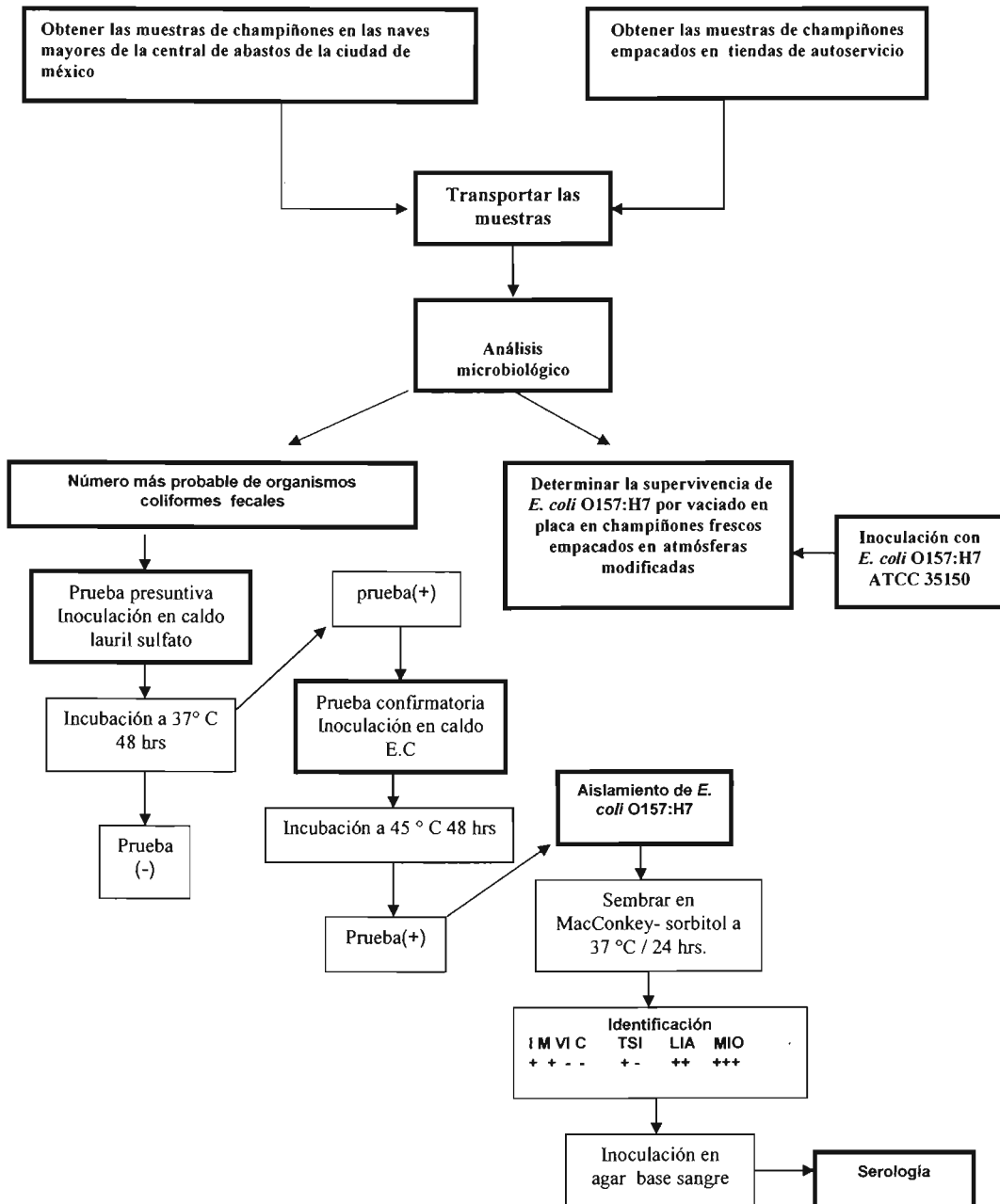
### III. OBJETIVO GENERAL

Determinar la incidencia de *Escherichia coli* O157: H7 en champiñones frescos y evaluar el efecto de las atmósferas modificadas en la supervivencia de *E. coli* O157:H7 ATCC 35150, experimentalmente.

#### **Objetivos particulares.**

1. Evaluar experimentalmente la incidencia de *E. coli* O157: H7 en muestras de champiñones frescos.
2. Determinar la supervivencia de *Escherichia coli* O157: H7 ATCC 35150 en muestras de champiñones sometidos a atmósfera modificada.
3. Estandarizar los parámetros para aplicar la atmósfera modificada en champiñones inoculados con *E. coli* O157: H7 ATCC 35150

#### IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL



## V. MATERIALES Y METODOS

### **Materias primas**

Se obtendrán las muestras de champiñones frescos en las naves mayores de la central de abastos de la ciudad de México, así como las muestras de champiñones frescos empacados serán compradas en tiendas de autoservicio. Se analizarán 50 muestras de la central de abastos y 25 muestras de tiendas de autoservicio.

Materiales de empaque:

- Película plástica de polietileno (kleen pack)
- Charolas de poliestireno de alto impacto

### **Materiales y equipo**

Material de vidrio de uso común en el laboratorio.

Balanza granataria

Autoclave

Baño de agua con sistema de circulación para mantener la temperatura a  $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$

Incubadora

### **Medios y reactivos**

Agua peptonada

Caldo lauril sulfato triptosa

Caldo *Escherichia coli* (EC)

Caldo infusión cerebro corazón (BHI)

Caldo Voges-Proskauer- rojo de metilo (MR-VP)

Agar Citrato de Simmon's

Agar MacConkey-Sorbirtol

Reactivo de Kovac's

Reactivo de Voges-Proskauer

Indicador rojo de metilo

Agar hierro lisina (LIA)

Agar triple azúcar hierro (TSI)

Agar indol movilidad ornitina (MIO)

Sueros para pruebas de aglutinación y movilidad

## DISEÑO EXPERIMENTAL

### Supervivencia de *E. coli* O157:H7

Se empleará un diseño experimental completamente al azar, cuyos factores son: temperaturas (4° C, y temperatura ambiente), períodos de conservación (1, 3, y 5 días) y concentración de inóculo (100, 1,000 y 10,000 UFC/ ml).

La unidad experimental consistirá en una charola con 50 g de champiñones recubiertos con la película plástica, y cada tratamiento tendrá tres repeticiones.

## MÉTODOS

**Tratamiento de la muestra.** A las muestras se les realizará un tratamiento para determinar la presencia de *E. coli*, que consistirá en colocar 50 gramos de champiñones en una bolsa de plástico y se le agregarán 450 ml de agua peptonada (A.P) al 0.1%, se hará un lavado por frotación y posteriormente se realizarán diluciones decimales hasta  $10^{-6}$  tomando en cuenta que la solución de la bolsa será la dilución  $10^{-1}$  (NOM 110-SSA-1994)

**Análisis microbiológico.** La metodología utilizada para el análisis microbiológico en la determinación de la presencia de coliformes fecales y la de *E. coli* O157:H7, es la recomendada por el manual de Bacteriología Analítica de la Administración de Alimentos y Medicamentos (Hitchins *et. al.*, 1998). Ésta metodología está basada en un análisis estadístico del número más probable para la determinación de coliformes fecales.

Procedimiento:

#### *Prueba presuntiva*

1. Inocular 1 ml de cada dilución en serie de 3 tubos con 10 ml de caldo lauril sulfato triptosa y campana de Durham.
2. Incubar los tubos a 35 +/- 2 °C durante 48 +/- 2 horas.
3. Examinar los tubos a las 24 +/- 2 horas y observar si hay producción de gas en la campana de fermentación, si no lo hay seguir incubando hasta las 48 +/- 2 horas. La presencia de gas, en cualquier cantidad, dentro del tiempo de incubación hace positiva la prueba.

*Prueba confirmativa.*

4. Agitar suavemente los tubos de caldo lauril sulfato triptosa que resultaron positivos
5. Transferir de 2 a 3 asadas de cada tubo a tubos con caldo *Escherichia coli* (EC) y campana de Durham.
6. Incubar los tubos de 44.5± 0.2 °C en baño de agua y observar si hay producción de gas a las 24 o 48 horas.
7. La presencia de gas en cualquier cantidad, dentro de las 48 horas de incubación, hace positiva la prueba. (NOM-112-SSA-1994)

**Identificación de *Escherichia coli* O157:H7**

1. De cada tubo con caldo *Escherichia coli* con crecimiento y producción de gas, sembrar una asada por estría cruzada en placas con medio de agar MacConkey-Sorbitol e incubar a 37°C durante 24 horas (March y Ratnam, 1986).
2. Seleccionar de 3 a 10 colonias circulares, de 1 a 2 mm de diámetro, húmedas, brillantes, convexas, con bordes enteros, ambarinas y no fermentadoras del sorbitol, sembrar en tubos que contengan caldo infusión cerebro corazón (BHI), incubar de 8 a 12 horas a 37°C (Rodríguez,2002).
3. De cada tubo de BHI con crecimiento se sembrará una asada en agar indol movilidad ornitina (MIO), agar triple azúcar hierro (TSI), agar indol lisina (LIA), agar citrato de Simmon's, caldo MR-VP para las pruebas de rojo de metilo y Voges-Proskauer. (Cabrera *et al*, 2002)
4. A los aislados confirmados mediante pruebas bioquímicas como *E. coli* se les realizarán las pruebas de aglutinación, para identificar el serotipo. (Doyle,1991, Rodríguez, 2002)
5. Para el antígeno H7, los aislados se sembrarán en agar base sangre que se incubará a 37 °C por 24 horas. Transcurrido el tiempo cada colonia se sembrará en dos tubos con agar movilidad, añadiendo a uno de ellos una gota del suero H7, se incubarán a 35-37 °C durante 24 horas. Los tubos a los que no se les agregó suero y presenten movilidad son indicativos de la presencia de *Escherichia coli*

O157:H7 al igual que los tubos que presenten inmovilidad en donde se agregó el suero, se consideran O157:H7 (Farmer y Davis., 1985).

### **Determinación de supervivencia de *E. coli*.**

#### *a) Preparación del inóculo*

A partir de una cepa de *E. coli* O157:H7 ATCC 35150, el cultivo se cosechará y se lavará tres veces por centrifugación a 3000 RPM durante diez minutos con solución amortiguadora de fosfatos (SAF), el paquete celular se resuspenderá en SAF y se llevará a una concentración de  $2 \times 10^9$  céls/ ml, el inóculo se diluirá hasta tener 100, 1,000 y 10,000 células de *E. coli* por mililitro de agua peptonada. Esto se corroborará mediante cuenta viable. (Vazquez *et al*, 1997).

#### *b) Inoculación de los champiñones frescos y empacado en atmósfera modificada*

1. Se colocarán 50 g de champiñones en las charolas de poliestireno y se inocularán con los diferentes inóculos de *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 35150, posteriormente se envolverán las charolas con la película de polietileno (kleen pack)
2. Las charolas se mantendrán a 4 °C , y a temperatura ambiente por 1, 3 y 5 días.
3. Todos los experimentos se harán por triplicado. (Vargas,1997).

#### *c) Técnica de vaciado en placa*

Cada 1, 3 y 5 días se colocarán los 50 g de champiñones empacados e inoculados (100, 1000, 10,000 UFC/ml) en 450 ml de agua peptonada al 0.1 %, se realizarán diluciones decimales desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-6}$  , colocar 1 ml de cada dilución en cajas de petri y vaciar 15 ml de agar cuenta estándar, mezclar perfectamente e incubar a 37 °C durante 24 horas.

Se hará el conteo de colonias (NOM-092-SSA-1994; Amador *et al*, 2004)

### **Determinación de Oxígeno y Dióxido de carbono**

Se determinará la cantidad de oxígeno y dióxido de carbono en cada empaque utilizando una jeringa para extraer la mezcla de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> la cual se analizará mediante cromatografía de gases, durante el período establecido para las diferentes temperaturas de frigoconservación (Saltveit, 1982)

## VI. BIBLIOGRAFÍA

- Abdul Rabdul-Raouf, U.M., L.R. Beuchat, and M.S. Ammar. 1993. "Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables". Appl. Environm. Microbiol. 59(7), pp:1999.
- Amador L. R., E. Fernández Rendón, Rodríguez M. R. 2004. Manual de Laboratorio de Microbiología Sanitaria. I.P.N. E.N.C.B., pp.18-21.
- Blanco. J.E, M. Blanco, A. Mora, M. Rio, C. Prado, L. Fernández, J. Blanco. 1996a. "Métodos empleados para la detección de ECVT en alimentos". Alimentaria. 34(275-276), pp: 99-108
- Blanco. J, J.E. Blanco., M. Blanco, A. Mora, M. Rio, C. Prado, L. Fernández, M.P. Alonso, A. Rodríguez. 1996b. "*Escherichia coli* verotoxigénicos (ECVT): un importante patógeno emergente responsable de intoxicaciones alimentarias". Alimentaria. 34(275-276), pp: 93-98
- Blanco. J.E, M. Blanco, A. Mora, M. Rio, B. Santísima Trinidad, C. Prado. 1996c. "*Escherichia coli* necrotoxigénicos (ECNT) CNF1 y CNF2 como indicadores de la contaminación microbiana de los alimentos". Alimentaria. 34(275-276), pp: 79-85
- Boletines Informativos. 2004. Oficina del vocero. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Burton, K.S. ". Modified atmosphere packaging of mushrooms-Review and recent developments".1991.. In: Science and Cultivation of Edible Fungi. Proceeding of 13 th: International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi . Rotterdam, Holanda. Vol. 2, pp: 683-688.
- Cabrera D. E., P.M Julia Aurora. 2002. "*Escherichia coli* . Agentes patógenos transmitidos por alimentos". Ma Refudio Torres Vitela, ed. Universidad de Guadalajara. Vol. 1, pp: 175-219.
- Doyle, M. P. 1991. "Escherichia O157:H7 and its significance in foods". Int.J. Food Microbiol.12:4, pp: 289-302.
- Farmer III, J.J; y Davis, B.R. 1985. " H7 Antiserum-Sorbitol Fermentation Medium: a Single Tube Sceening Medium for Detecting *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis". J. Clin. Microbiol. 22(4), pp:620-625.



- Fonseca, S. C., F. Oliveira, I. Lino, J. Brecht, K. Chau. 2002. "Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review". *Journal of Food Engineering*. Vol. 52, pp: 99-119.
- Garay M. L. E., G. Partida Gutiérrez, E. Cabrera Diaz , M.R Torres Vitela. 2003. "Frecuencia de *Listeria spp*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Brucella spp* en leche". *Memorias. 5to Congreso Internacional Inocuidad de los alimentos*.Guadalajara, Jalisco, pp: 43.
- Hitchins, a.d; p. Feng; W.D. Watkins; S.R. Rippey y L. A. Chander. 1998. "Escherichia coli y bacterias coliformes". In U:S Food and Drugs Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition (USDA). *Manual de Bacteriología Analítica*, 8ª edn., USA, pp: 4.01-4.29
- Huang, Wan- Hwa. Cheng-Kuang Hsu, Been-Huang Chiang. 1999. "Formulations of Controlled Atmospheres Agents for Packaged Foods". *J. Agric. Food Chem.* Vol. 47, pp :906-910.
- Johannessen. G.S. S. Loncarevic, H. Kruse. 2002. "Bacteriological Analysis of Fresh Produce in Norway". *Int J. Food Microbiol.* Vol. 77, pp: 199-204.
- Kaper, J.B; Nataro, J.P; Mobley H.L.T. 2004. "Pathogenic *Escherichia coli* ". *Nature Reviews*. Vol. 2, pp: 123-140.
- León-Guzmán. M. F, I. Silva, M. López. 1997. "Proximate Chemical Composition, Free Amino Acid Contents, and Free Fatty Acid Contents of Some Wild Edible Mushrooms from Querétaro, México". *J. Agric. Food Chem.* 45, pp: 4329-4332.
- Manzi. P, A. Aguzzi, L. Pizzoferrato. 2001. "Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy". *Food Chemistry*. Vol.73, pp :321-325.
- March, S.B y Ratnam, S. 1986. " Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis". *J. Clin. Microbiol.* 23(5), pp: 869-872.
- Mattila P, K. Könkö, M. Eurola, JM Pihlava, J. Astola, L. Vahteristo, V. Hietaniemi, J. Kumpulainen, M. Valtonen, V. Piironen. 2001. "Contents of Vitamins, Mineral Elements, and Some Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms". *J. Agric. Food Chem.* Vol. 49, pp: 2343-2348.

- Mau Jeng-Leun, Pei-Ru Chen, Joan-Hwa Yang. 1998. "Ultraviolet Irradiation Increased Vitamina D<sub>2</sub> Content in Edible Mushrooms". J. Agric. Food Chem. Vol. 46, pp: 5269-5272.
- Nataro, J.P y Kaper, J.B. 1998. "Diarrheogenic *Escherichia coli*". Clin. Microbiol. Rev. Vol. 11, pp: 142-201
- Nettles, C, G. R. Siragusa. 1994. "Efficacy of Organic Acids Against *Escherichia coli* O157:H7 Attached to Beef Carcass Tissue Using a Pilot Scale Model Carcass Washer". J. Food Prot. 57 (2), pp: 97 -103
- Norma oficial mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- Norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- Norma oficial mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica del número más probable.
- Pardavé. L.M. D.1996. "Los Hongos como Recurso Alimenticio en Aguascalientes". Cuaderno de Trabajo. Agricultura y Recursos Naturales. Vol. 35 (Enero-Febrero).
- Pardo. A, J.A. de Juan, J.E Pardo. 2001. "Fisiología post-cosecha, calidad y conservación del champiñón cultivado, *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach". Alimentaria. Vol. 38(321-322), pp: 107-117.
- Parry, R.T .1993. "Principles and applications of modified atmospheres packaging of foods". Blackie academic & professional.1
- Phillips, C.A. 1996. "Review: Modified Atmospheres Packaging and its Effects on the Microbiological Quality and Safety of Produce". Int. J. Food Sci and Tech. Vol. 31, pp: 463-479.
- Prats, G; Llobet,T; Margall, Nuria. 2001. "*Escherichia coli* O157:H7, Enterohemorrágica. Servicio de Microbiología, Hospital de Sant Pau. Universidad de Barcelona.
- Quan. E. K. , 2000. "Calidad y larga vida en la atmósfera modificada". Alimentos procesados. Febrero, pp: 52-54.

- Ralph. A, M.D. Giannella.1999. "Enterohemorrhagic *E. coli* and Hemorrhagic colitis : an important food-borne pathogen". Rev and Pat Digest. Vol.22, pp: 58-60
- Rodriguez-Angeles, G. 2002. "Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*". Salud Pública de México. Vol. 44 (5), pp: 464-475
- Rodríguez. P. M. 1998. "Conservación de setas (*Pleurotus Ostreatus*) utilizando atmósferas modificadas pasivas". Tesis Profesional. Univesidad de Guanajuato. Instituto de Ciencias Agrícolas.
- Saltveit. M.E. 1982. "Procedures for Extracting and Analyzing Internal Gas Samples from Plant Tissues by Gas Chromatography". HortScience, Vol. 17(6).
- Smith. H.R, S.M . Scotland. 1988. "Vero cytotoxin-producing strains of *Escherichia coli*." J. Med. Microbiol. Vol. 26, pp: 77-85
- Smith. S., J. Geeson., J. Stow. 1987. "Production of modified atmospheres in deciduous fruits by the use of films and coatings". Hort science Vol. 22, pp:272
- Souza V., M. Rocha, L. Sander, L.E. Eguiarte. 2000. "Historia natural, ecología y evolución de la patogenicidad en *Escherichia coli* ". Libro en línea. Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Suslow T. , M. Cantwell. 2001. "Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha". Department of Vegetable Crops, University of California, Davis.
- Tano, K. Arul,J; Doyon, G; Castaigne,F. 1999. "Atmospheric Composition and Quality of Fresh Mushroom in Modified Atmosphere Packages As Affected by Storage Temperature Abuse". J. Food Sci. 64(6), pp: 1073-1077.
- Varela H, J.J., M. A. Cardona López, N. M. Boulter Castro, C.A. Martínez Castillo, J.R. Rojas González. 2003. "Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productora de toxina siga en canales de bovino del rastro municipal de Guadalajara, Jalisco". Memorias. 5to Congreso Internacional Inocuidad de los alimentos. Guadalajara, Jalisco.
- Vargas D.A. 1997. "Evaluación de diferentes condiciones de frigoconservación de champiñones (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing) bajo atmósferas modificadas". Tesis Profesional. Univesidad de Chapingo.

- Vazquez,C; Quiñónez,E.I; Moreno,R; Salazar,G. 1997. "Sobrevivencia de *Vibrio cholerae* en cebolla". Información Tecnológica. 8(1). Pp: 65-69.
- Villaseñor, L.. A. García, O. Rodríguez. 1997. "Hongos comestibles que podemos cultivar". Presencia universitaria.Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.
- Viñas. M.R, M.E. Sanz, N. L. Padola, A. I. Etcheverría, A. E. Parma. 2000. Revista de divulgación y tecnología de la asociación Ciencia Hoy. 10 (55)
- Voitoux. E, V. Lafarge, C. Collette, B. Lombard. 2002. "Applicability of the draft standard metod for the detection of *Escherichia coli* O157 in diary products". Int J Food Microbiol. Vol. 77, pp : 213-221.
- Wang G. M. P. Doyle. 1998. "Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in water". J Food Prot. 61 (6), pp: 662-667.
- Wong C.S, S. Jelacic. R. Habeeb, S.L Watkins, P. Tarr. 2000. "The risk of the Hemolytic-Uremic Syndrome after antibiotics treatment of *Escherichia coli* O157:H7". N Engl J Med. Vol. 342, pp: 1930-1936.
  
- Sitios de internet:
- [www.infoagro.com](http://www.infoagro.com)
- [www.bioplanet.com](http://www.bioplanet.com)
- [www.cultivosespeciales.com](http://www.cultivosespeciales.com)
- [www.microbionet.com](http://www.microbionet.com)
- <http://tomvolkfungi.net/>