



GRADO NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA

Facultad de Medicina

Universidad de Valladolid

TRABAJO FIN DE GRADO

“Supervivencia y parámetros cinéticos de *Escherichia coli* O157:H7 en zumos de frutas comerciales”

AUTORA: Belén Cacho Salán

TUTOR: Emiliano Quinto Fernández

Curso académico 2017 – 2018

Índice

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE	3
1. INTRODUCCION	4
1.1 <i>Escherichia coli</i>	4
1.2 <i>Escherichia coli</i> O157:H7	5
1.3 Definición de zumos de frutas	5
1.4 Microbiología predictiva	6
2. OBJETIVO	6
3. MATERIAL Y METODOS	6
3.1 Zumos comerciales de frutas	6
3.2 Cepas bacterianas	7
3.3 Condiciones de cultivo	7
3.4 Modelo Baranyi and Roberts (1994)	7
4. RESULTADOS Y DISCUSION	8
5. CONCLUSIONES	19
6. BIBLIOGRAFIA	19
7. ANEXO	21

Resumen y palabras clave

Escherichia coli se encuentra en el aparato digestivo de humanos y animales. Este microorganismo, generalmente es inofensivo, aunque en ciertas circunstancias puede causar múltiples patologías, algunas de ellas graves. Entre las fuentes más comunes de infecciones transmitidas por los alimentos podemos incluir carne picada poco cocida, leche cruda y hortalizas germinadas crudas contaminadas.

El objetivo de este trabajo es estudiar el crecimiento de *Escherichia coli* no patógeno CECT 516, *Escherichia coli* O157:H7 CECT 4076 y *Escherichia coli* O157:H7 CECT 4267 a lo largo del tiempo en distintos zumos comerciales a tres temperaturas distintas (37°C, 30°C y 20°C), tres pH distintos (7, 5 y 3.48), en condiciones de luz/oscuridad y condiciones de aporte o no de oxígeno. Para la realización de este estudio hemos utilizado un modelo predictivo de crecimiento bacteriano llamado modelo de Baranyi and Roberts (1994). Con dicho modelo hemos obtenido las gráficas de supervivencia, las cuales reflejan la densidad de población del microorganismo expresada en log ufc/ml frente al tiempo expresado en horas. Con dichas gráficas se ha analizado el comportamiento de cada serotipo, relacionando la tasa de crecimiento con las distintas variables (temperatura, pH, etc.).

Los resultados nos muestran que existe una mayor tasa de crecimiento en ambos serotipos cuanto mayor es el pH del medio, siendo apenas relevante cuando se trata de pH 3.48. Por otra parte, ambas cepas de *E. coli* muestran una mayor tasa de crecimiento a una temperatura de 37°C (la cual es su temperatura óptima de crecimiento) y 30°C, siendo menor a una temperatura de 20°C.

Palabras clave: *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, tasa de crecimiento, zumos comerciales, pH, temperatura

1. INTRODUCCIÓN

1.1. *Escherichia coli*

Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, un bacteriólogo alemán, quien demostró su existencia como huésped habitual del colon.(Canet, 2016)

E. coli es un bacilo Gram-negativo, oxidasa negativo, no esporulante, de la familia Enterobacteriaceae. Es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa con producción de gas.(Canet, 2016)

La cubierta de *E. coli* consta de 3 elementos: la membrana citoplásmica, la membrana externa y un espacio periplásmico. (Canet, 2016)

Es un microorganismo mesófilo que crece en diversas temperaturas, desde los 7 – 10°C hasta alcanzar los 50°C, siendo su temperatura de crecimiento óptima los 37°C. Su pH óptimo para su crecimiento es casi neutro, pudiendo crecer en condiciones de un pH inferior a 4.4. Su actividad de agua (a_w) mínima de crecimiento es 0.95. (Adams y Moss, 1995)

Para su aislamiento e identificación, se debe tomar una muestra a 37°C en un medio selectivo en condiciones aeróbicas, ya sea en agar MacConkey o eosina azul de metileno, donde las enterobacterias pueden diferenciarse por sus características morfológicas y ser diferenciadas por la prueba del indol.

E. coli se encuentra normalmente en el intestino de los humanos y animales de sangre caliente y la mayoría de sus cepas son inofensivas. Sin embargo, algunas de ellas, pueden causar enfermedades graves a través de los alimentos. Esta bacteria se transmite a través de alimentos contaminados principalmente, como carne picada poco cocida, leche cruda y hortalizas germinadas crudas contaminadas (OMS, 2011)

El esquema de clasificación de Kauffmann usa la identificación serológica de sus antígenos O, H y K. Hay alrededor de 186 tipos diferentes de antígeno O y 53 antígenos H que han sido descubiertos (Rodríguez – Ángeles, 2002)

Las cepas de *E. coli* productoras de diarrea en el hombre se han clasificado según el factor genético que define su virulencia y el cuadro clínico asociado. Entre ellas se encuentran: *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* de adherencia difusa (ECAD) y la *E. coli* adherente invasiva (ECAI) que se asocia con la enfermedad de Crohn. (OMS, 2011)

1.2. *Escherichiacoli*O157:H7

Se reconoció a la *E. coli* como patógeno por primera vez en 1982, cuando apareció un brote gastrointestinal poco común. Se identificó el origen en unas hamburguesas contaminadas y la enfermedad fue parecida a la de otros incidentes en Estados Unidos y Japón. El agente etiológico de la enfermedad fue identificado como un serotipo raro O157:H7 de la *E. coli* en 1983. (ZVED, 2006)

Desde entonces, la mayor parte de las infecciones se han debido a la ingesta de carne de vacuno molida insuficientemente cocinada. (OMS, 2018)

La infección por *E. coli* O157:H7 ocasiona frecuentemente diarrea aguda con sangre y calambres abdominales.(Centers for Disease Control and Prevention)

En niños pequeños y personas mayores, la infección puede producir el síndrome urémico hemolítico (HUS, siglas en inglés), en el que los glóbulos rojos se destruyen y deriva a insuficiencia renal.(Centers for Disease Control and Prevention)

1.3. Definición zumo de frutas:

Según el Real Decreto 781/2013, de 11 de octubre, por el que se establecen normas relativas a la elaboración, composición, etiquetado, presentación y publicidad de los zumos de frutas y otros productos similares destinados a la alimentación humana:

El zumo de frutas es el producto susceptible de fermentación, pero no fermentado, obtenido a partir de las partes comestibles de frutas sanas y maduras, frescas o conservadas por refrigeración o congelación, de una o varias especies mezcladas, que posea el color, el aroma y el sabor característicos del zumo de la fruta de la que procede. Se podrán reincorporar al zumo el aroma, la pulpa y las células obtenidos por los medios físicos apropiados que procedan de la misma especie de fruta.

En el caso de los cítricos, el zumo de frutas procederá del endocarpio. No obstante, el zumo de lima podrá obtenerse a partir del fruto entero.

Cuando los zumos se obtengan a partir de frutas que incluyan pepitas, semillas y pieles, no se incorporarán en el zumo partes o componentes de las pepitas, las semillas o la piel. La presente disposición no se aplicará a los casos en que las partes o los componentes de las pepitas, las semillas o la piel no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación.

1.4. Microbiología predictiva

La microbiología predictiva es el conocimiento detallado de las respuestas microbianas a determinadas condiciones ambientales, el cual permite una evaluación objetiva del efecto de los parámetros de procesamiento y almacenamiento sobre la calidad y seguridad de los alimentos. (Santiesteban López y López – Malo, 2008)

Se basa en la aplicación de modelos matemáticos para describir el comportamiento microbiano y posteriormente predecir el crecimiento de los microorganismos en un alimento, según variables como la acidez, humedad, temperatura... Esto es realmente importante, en vista del aumento de las toxo – infecciones por alimentos en muchos países. (Santiesteban López y López – Malo, 2008)

Existen distintos esquemas para categorizar los modelos predictivos de crecimiento bacteriano. Uno de ellos divide estos modelos en modelos de crecimiento y modelos de inactivación/supervivencia. Dentro de dichas categorías se subdividen:

- Modelos primarios: se ocupan de la descripción de los cambios del número microbiano, en función del tiempo.
- Modelos secundarios: caracterizan los parámetros que aparecen en los modelos primarios, en función de las condiciones del medio, observándose la interacción entre dos o más factores sobre el crecimiento microbiano
- Modelos terciarios: tienen varias formas, empezando por combinar los dos primeros modelos, basados en experimentos de laboratorio. Los modelos terciarios permiten incluso incorporar modelos predictivos en una red de evaluación de riesgos microbiológicos.

2. OBJETIVO

El presente trabajo tiene como objetivo observar el crecimiento/supervivencia de *Escherichia coli* no patógeno y *Escherichia coli* O157:H7 a lo largo del tiempo en Zumos Comerciales a tres temperaturas distintas, 20°C, 30°C y 37°C.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Zumos comerciales de frutas

En el laboratorio se utilizaron 3 zumos comerciales distintos:

- Manzana
- Piña
- Melocotón

3.2. Cepas bacterianas

Escherichia coli no patógeno CECT 516 (EC)

*Escherichiacoli*O157:H7 CECT 4076 y CECT 4267 (ECO): ambas cepas bacterianas se inocularon juntas en los zumos de frutas naturales utilizados para el estudio.

3.3. Condiciones de cultivo

Las poblaciones enumeradas a continuación se expresaron como log ufc/ml. Los datos fueron obtenidos previamente en el Laboratorio de Higiene, Inspección y Control de los Alimentos de la Universidad Autónoma de Barcelona. Dichos datos fueron introducidos de forma manual en el programa de software de hoja de cálculo Excel.

3.4. Modelo Baranyi and Roberts (1994)

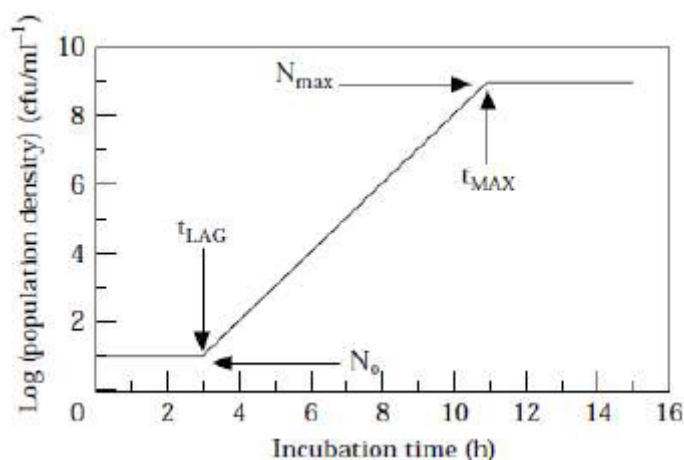
El modelo de Baranyi and Roberts divide las curvas de crecimiento en tres fases (Buchanan y col, 1997): fase de latencia, fase exponencial y fase de crecimiento estacionario. Al igual que los modelos de Gompertz y trilineal, el modelo de Baranyi no considera la fase de muerte.

Durante la fase de latencia, asumimos que las células no se multiplican dado que se adaptan al medio, y su velocidad de crecimiento específica es cero ($\mu=0$). Una vez que las células se adaptan, estas comienzan a crecer a una velocidad que es máxima para el microorganismo en su ambiente específico.

Durante la fase exponencial de crecimiento, la velocidad de crecimiento se asume para ser constante ($\mu=k$), donde el logaritmo de la población bacteriana aumenta con el tiempo.

Por último, cuando se alcanza la fase de crecimiento estacionario, no hay un aumento de la población, y la velocidad de crecimiento vuelve a ser cero.

El modelo de Baranyi posee cuatro parámetros: N_0 (Log10 de la densidad demográfica inicial), N_{max} (Log10 de la densidad demográfica final), t_{LAG} (tiempo en que la fase de retraso termina), y t_{MAX} (tiempo en que la fase exponencial termina)



Representación gráfica del modelo Baranyi and Roberts (1994)

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó mediante el modelo de Baranyi and Roberts (1994) la respuesta de *Escherichia coli* no patógeno CECT 516, *Escherichiacoli*O157:H7 CECT 4076 y *Escherichiacoli*O157:H7 CECT 4267, en función del tiempo a tres temperaturas (37°C, 30°C y 20°C)

Las figuras representan el crecimiento de *E. Coli* no patógeno CECT 516, *E. Coli*O157:H7 CECT 4076 y *E. coli*O157:H7 CECT 4267 como densidad de población, expresado en logaritmo decimal de las unidades formadoras de colonias (log ufc/ml), frente al tiempo, expresado en horas.

Las Figuras 1 – 3 muestran el crecimiento de las 3 cepas *E. Coli* a una temperatura de 37°C, pH 7, con luz y sin oxígeno. Se observa que en los 3 casos el crecimiento hasta las 9 horas es exponencial, no habiendo en *E. coli* no patógeno CECT 516 ni *E. coli* O157:H7 CECT 4267 a partir de esa hora cambios significativos hasta las 24 horas. Sin embargo, en el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4076, a partir de las 9 horas, sigue habiendo un ligero crecimiento, llegando a 8.788 log ufc/ml, mientras que en los dos casos anteriores llegaron a 8.578 log ufc/ml y 8.553 log ufc/ml, respectivamente.

Las curvas de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a 37°C se muestran en las Figuras 4 – 6 (pH 7, con luz y con oxígeno). Se observa que en el caso de *E. coli* no patógeno CECT 516, existe un crecimiento exponencial desde el

comienzo hasta las 7 horas y media (varía de 7.572 log ufc/ml hasta 8.483 log_ufc/ml); a partir de ahí, el crecimiento se mantiene constante. Sin embargo, en *E. coli* O157:H7 CECT 4076, existe un grandísimo crecimiento desde el comienzo hasta las primeras 12 horas, manteniéndose seguidamente constante, llegando hasta 9.388 log_ufc/ml. En el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4267, existe un crecimiento exponencial las 5 primeras horas, para luego mantenerse constante, variando de 7.775 log_ufc/ml a 8.756 log_ufc/ml.

Se puede ver en las Figuras 7 – 9 el crecimiento de las 3 cepas de *E. Coli* a una temperatura de 37°C, pH 7, sin luz y sin oxígeno. Se observa en el caso de *E. coli* no patógeno CECT 516 hay un crecimiento constante pero no exponencial, pasando de ser inicialmente 7.576 log_ufc/ml a 8.435 log ufc/ml. Sin embargo, en *E. coli* O157:H7 CECT 4076, observamos que no hay apenas crecimiento las primeras 4 horas, habiendo seguidamente un crecimiento exponencial. En el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4267, se observa que durante las dos primeras horas no existe crecimiento significativo, habiendo a partir de la cuarta hora un crecimiento exponencial, llegando a un valor máximo de 8.930 log_ufc/ml.

En las Figuras 10 – 12 podemos ver las curvas de las 3 cepas de *E. Coli* a una temperatura de 37°C, pH 7, sin luz y con oxígeno. En *E. coli* no patógeno CECT 516 se observa un crecimiento exponencial durante las 5 primeras horas, habiendo seguidamente un crecimiento más discreto (varía de 7.545 log_ufc/ml hasta 8.925 log_ufc/ml). En el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4076 observamos un crecimiento exponencial durante las 4 primeras horas, seguido de un crecimiento discreto hasta la quinta hora, manteniéndose luego sin crecimiento, llegando a 9.040 log_ufc/ml. En el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4267 se observa que hay un crecimiento continuo desde el comienzo, variando de 7.899 log_ufc/ml hasta 9.227 log_ufc/ml.

Las Figuras 13 – 15 muestran el crecimiento de las 3 cepas de *E. Coli* a una temperatura de 37°C, pH 5, con luz y sin oxígeno. Observamos que en las 3 cepas no existe en ningún momento un crecimiento exponencial, siendo desde el comienzo un crecimiento continuo pero discreto.

Con una temperatura de 37°C las figuras 16 – 18 muestran el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* con pH 5, con luz y con oxígeno. El caso de *E. coli* no patógeno CECT 516 muestra que durante la primera hora y media no existe crecimiento, habiendo seguidamente un crecimiento continuo pero discreto. En las otras dos cepas se observa que durante las dos primeras horas no existe apenas crecimiento, pasando luego a tener un crecimiento creciente constante, variando de 7.636 log_ufc/ml a 8.974 log_ufc/ml (*E. coli* O157:H7 CECT 4076) y 7.794 log ufc/ml a 9.014 log ufc/ml (*E. coli* O157:H7 CECT 4267)

Las curvas de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a 37°C se muestran en las Figuras 19 – 21 (pH 5, sin luz y sin oxígeno), las Figuras 22 – 24 (pH 5, con luz y con oxígeno), las Figuras 25 – 27 (pH 3.48, con luz y sin oxígeno), las Figuras 28 – 30 (pH 3.48, con luz y con oxígeno). Observamos que en las Figuras 19 – 21 se sigue un crecimiento discreto pero continuo, siendo un poco más acentuado a partir de la quinta hora. La cepa *E. coli* O157:H7 CECT 4076 es la que alcanza un mayor crecimiento, llegando a un valor de 8.935 log ufc/ml. Las Figuras 22 – 24 también siguen un crecimiento continuo pero no exponencial, siendo más acentuado a partir de la quinta hora, especialmente en *E. coli* O127:H7 CECT 4076 y *E. coli* O157:H7 CECT 4267, llegando a valores de 8.974 log ufc/ml y 9.014 log ufc/ml, respectivamente. Las Figuras 25 – 27 muestran que no existe apenas crecimiento en ningún momento del experimento; la unidad formadora de colonias apenas cambia del valor inicial al valor final. Las Figuras 28 – 30 muestran que no existe un crecimiento notable, destacando *E. coli* O157:H7 CECT 4267, cuyo valor oscila entre 7.821 log ufc/ml y 7.839 log ufc/ml.

Las Figuras 31 – 33 muestran el crecimiento de *E. coli* a una temperatura de 37°C, pH 3.48, sin luz y sin oxígeno. Se observa que en *E. coli* no patógeno CECT 516 y *E. coli* O157:H7 CECT 4267, durante las primeras dos horas y media no existe ningún crecimiento. Pasado este tiempo, existe un pequeño crecimiento, variando de 7.752 log ufc/ml a 7.883 log ufc/ml y de 7.92 log ufc/ml a 8.056 log ufc/ml, respectivamente. Sin embargo, en el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4076, existe un crecimiento continuo pero discreto desde el principio, variando de 7.649 log ufc/ml hasta 8.105 log ufc/ml.

En las Figuras 34 – 36 se puede ver la curva de crecimiento de *E. coli* a una temperatura de 37°C, pH 3.48, sin luz y sin oxígeno. En *E. coli* no patógeno CECT 516 se observa que durante las dos primeras horas no existe crecimiento, para luego pasar a un crecimiento muy discreto sin apenas variación entre el valor inicial y final (7.723 log ufc/ml a 7.786 log ufc/ml). En el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4076 tiene un ligero crecimiento constante desde el principio, alcanzando un valor final de 7.916 log ufc/ml. Sin embargo, *E. coli* O157:H7 CECT 4267 no tiene apenas crecimiento en el tiempo, siendo su variación inicial y final mínima.

La curva de crecimiento de *E. coli* con una temperatura de 30°C, pH 7, con luz y con oxígeno se muestra en las Figuras 37 – 39. Se observa que en el caso de *E. coli* no patógeno CECT 516 durante las tres primeras horas no existe crecimiento; de la tercera a la quinta hora existe crecimiento pero no significativo y a partir de la quinta hora vuelve a no haber crecimiento. En el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4076 observamos que durante la primera hora no existe crecimiento; sin embargo a partir de la primera existe un crecimiento constante, siendo en la última hora más discreto. En el caso de *E. coli* O157:H7

CECT 4267 tampoco existe crecimiento durante la primera hora, pero a partir de esta hora sí existe un crecimiento mayor que en el segundo caso, llegando a un valor de 8.566 log ufc/ml, mientras que en la segunda cepa el valor es de 8.44 log ufc/ml.

Las curvas de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a 30°C, pH 7, con luz y con oxígeno se muestra en las Figuras 40 – 42. En el caso de *E. coli* no patógeno se observa que durante las 2 primeras horas no existe crecimiento, pasando a ser exponencial a partir de las 2 horas y media, variando sus valores entre 7.606 log ufc/ml y 9.0302 log ufc/ml. En los casos de *E. coli* O157:H7 CECT 4076 y *E. coli* O157:H7 CECT 4267, existe un crecimiento continuo desde el comienzo, siendo este exponencial a partir de la primera hora, alcanzando valores de 9.348 log ufc/ml y 9.837 log ufc/ml.

En las Figuras 43 – 45 podemos ver el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 30°C, pH 7, sin luz y sin oxígeno. Observamos que tanto en *E. coli* no patógeno CECT 516 como en *E. coli* O157:H7 CECT 4267, no existe crecimiento durante la primera hora, habiendo un crecimiento notable a partir de la segunda hora, alcanzando valores de 8.229 log ufc/ml y 8.614 log ufc/ml, respectivamente. En la cepa *E. coli* O157:H7 CECT 4076, se observa que existe un crecimiento continuo pero no exponencial desde el primer momento.

Se puede ver en las Figuras 46 – 48 la curva de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 30°C, pH 7, sin luz y con oxígeno. Observamos que en los 3 casos, durante la primera hora, no existe apenas crecimiento; seguidamente comienza un crecimiento exponencial, siendo *E. coli* O157:H7 CECT 4267 la cepa que alcanza un mayor valor (9.104 log ufc/ml).

Con una temperatura de 30°C, pH 5, con luz y sin oxígeno (Figuras 49 – 51) observamos el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli*. Se observa que en *E. coli* no patógeno CECT 516 existe durante todo el experimento un crecimiento muy discreto, llegando a un valor máximo de 8.198 log ufc/ml. En las otras dos cepas, hasta las 2 horas no se aprecia un crecimiento notable, siendo *E. coli* O157:H7 CECT 4267 la que alcanza un valor mayor (8.420 log ufc/ml).

Las Figuras 52 – 54 muestran el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 30°C, pH 5, con luz y con oxígeno. Tanto en *E. coli* no patógeno CECT 516 como en *E. coli* O157:H7 CECT 4076, existe un crecimiento continuo notable desde el primer momento, siendo *E. coli* O157:H7 CECT 4076 la que alcanza un valor mayor (8.998 log ufc/ml). En el caso de la cepa *E. coli* O157:H7 CECT 4267, se observa que en la primera hora no existe crecimiento; sin embargo, a partir de la segunda y hasta la cuarta hora, se

produce un crecimiento exponencial, disminuyendo seguidamente. En la quinta hora ya no se detecta crecimiento (valor máximo: 8.926 log ufc/ml).

Las Figuras 55 – 57 muestran el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 30°C, pH 5, sin luz y sin oxígeno. Observamos que en *E. coli* no patógeno CECT 516 durante las primeras 2 horas y media no existe apenas crecimiento; a partir de este momento y hasta la quinta hora hay un ligero crecimiento, para luego detenerse de nuevo. Tanto en *E. coli* O157:H7 CECT 4076 como en *E. coli* O157:H7 CECT 4267, durante las dos primeras horas no existe crecimiento; sin embargo, a partir de las dos horas y media se produce un crecimiento exponencial, llegando a valores de 8.313 log ufc/ml y 8.237 log ufc/ml, respectivamente.

En las Figuras 58 – 60 podemos ver el crecimiento de las 3 cepas de *E. Coli* a una temperatura de 30°C, pH 5, sin luz y con oxígeno. Se observa que en *E. coli* no patógeno CECT 516 durante la primera hora no existe crecimiento; a partir de la primera hora y media existe un crecimiento exponencial que continúa hasta la quinta hora, pasando a ser seguidamente un crecimiento muy discreto. En *E. coli* O157:H7 CECT 4076 encontramos un crecimiento exponencial desde el comienzo hasta las 4 horas y media, pasando a ser discreto y, a partir de la quinta hora no existe crecimiento, llegando a un valor máximo de crecimiento de 8.798 log ufc/ml. En *E. coli* O157:H7 CECT 4267 observamos que esta cepa tiene un crecimiento similar a la anterior, pero siendo notablemente más discreto.

Las curvas de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a 30°C y con un pH de 3.48 se muestran las Figuras 61 – 63 (con luz y sin oxígeno), las Figuras 64 – 66 (con luz y con oxígeno), las Figuras 67 – (sin luz y sin oxígeno), las Figuras 70 – 72 (sin luz y con oxígeno). Todas estas Figuras muestran que apenas existe variación entre el valor inicial y el valor final. Sólo podemos destacar la cepa de *E. coli* O157:H7 CECT 4076 (Figura 65) existe un crecimiento notable en la sexta hora.

En las Figuras 73 – 75 podemos observar el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 20°C, pH 7, con luz y sin oxígeno. Observamos que en las 3 cepas existe un comportamiento similar: un crecimiento continuo pero discreto, siendo la cepa *E. coli* O157:H7 CECT 4267 la que alcanza un valor mayor (8.255 log ufc/ml).

A una temperatura de 20°C, pH 7, con luz y con oxígeno se muestra la curva de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* en las Figuras 76 – 78. Se observa que en el caso de *E. coli* no patógeno CECT 516 no existe crecimiento durante las primeras 3 horas y media; a partir de la cuarta hora se observa un crecimiento discreto. En la cepa *E. coli* O157:H7 CECT 4076 no existe crecimiento durante

las 2 primeras horas; pasada la tercera hora existe un crecimiento exponencial. Por último, en *E. coli* O157:H7 CECT 4267 observamos que durante la primera hora no existe crecimiento, para luego pasar a un crecimiento continuo pero discreto.

Se puede ver en las Figuras 79 – 81 la curva de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 20°C, pH 7, sin luz y sin oxígeno. Observamos que en los 3 casos no existe apenas crecimiento hasta pasadas las 3 primeras horas, siendo este crecimiento muy discreto, alcanzando *E. coli* O157:H7 CECT 4267 el valor mayor (7.827 log ufc/ml)

Las Figuras 82 – 84 muestran el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 20°C, pH 7, sin luz y con oxígeno. Se observa que en el caso de *E. coli* no patógeno CECT 516 en la primera hora y media no existe crecimiento; a partir de ahí y hasta las 2 horas y media existe un crecimiento discreto; pasado este tiempo se observa un crecimiento notable llegando a un valor de 8.295 log ufc/ml (mayor valor en las 3 cepas). En el caso de las otras dos cepas (*E. coli* O157:H7 CECT 4076 y *E. coli* O157:H7 CECT 4267) observamos que hasta pasadas las primeras 4 horas no se aprecia apenas crecimiento; sin embargo en el caso de la última, a partir de las 5 horas y media el crecimiento se empieza a detener.

En las Figuras 85 – 87 podemos ver la curva de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 20°C pH 5, con luz y sin oxígeno. En la cepa *E. coli* no patógeno CECT 516 se observa que durante las primeras 3 horas no existe crecimiento, para luego pasar a un crecimiento discreto. El caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4076 tiene un comportamiento similar al primero, variando en que a partir de las 2 horas ya existe crecimiento. Sin embargo, *E. coli* O157:H7 CECT 4267, empieza con un crecimiento muy lento para luego pasar a un crecimiento no notable.

Con una temperatura de 20°C, pH 5, con luz y con oxígeno (Figuras 88 – 90) observamos el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli*. Observamos que en *E. coli* no patógeno CECT 516, durante la primera hora no existe crecimiento; pasada la primera hora y hasta la cuarta se aprecia un crecimiento discreto, para después de la quinta hora, volverse a detener. En la cepa *E. coli* O157:H7 CECT 4076 observamos que solo existe crecimiento entre la segunda y la tercera hora, al igual que en el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4267 en el que solo observamos crecimiento entre la tercera hora y media y la quinta.

Las curvas de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a 37°C, pH 5, sin luz y sin oxígeno se muestran en las Figuras 91 – 93. Se observa que en *E. coli* no patógeno CECT 516 solo se aprecia crecimiento entre la segunda y cuarta hora. Tanto en *E. coli* O157:H7 CECT 4076 como en *E. coli* O157:H7 CECT

4267 observamos que no existe apenas crecimiento, sin cambios significativos en su valores iniciales y finales (7.626 log ufc/ml – 7.964 log ufc/ml, 7.824 log ufc/ml – 8.145 log ufc/ml, respectivamente).

Las Figuras 94 – 96 muestran el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 20°C, pH 5, sin luz y con oxígeno. En el caso de *E. coli* no patógeno CECT 516, se observa desde el principio un crecimiento muy discreto, sin apenas variaciones en sus valores. En la cepa *E. coli* O157:H7 CECT 4076 observamos crecimiento solamente entre la segunda y tercera hora, al igual que ocurre con *E. coli* O157:H7 CECT 4267, en la que solo se observa crecimiento entre la segunda y cuarta hora.

Las curvas de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a 37°C y pH 3.48 se muestran en las Figuras 97 – 99 (con luz y sin oxígeno), las Figuras 100 – 102 (con luz y con oxígeno). En estos casos no existe apenas variación entre los valores iniciales y finales, es decir, apenas existe crecimiento; se destaca la cepa *E. coli* O157:H7 CECT 4267 (Figura 102), en la cual el crecimiento es el mínimo, oscilando su valores entre 7.784 log ufc/ml y 7.803 log ufc/ml.

Las Figuras 103 – 105 muestran el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 20°C, pH 3.48, sin luz y sin oxígeno. En el caso de *E. coli* no patógeno CECT 516 no se observa crecimiento hasta la quinta hora, siendo este crecimiento apenas notable. En las cepas *E. coli* O157:H7 CECT 4076 y *E. coli* O157:H7 CECT 4267 se observa un decrecimiento desde el comienzo, es decir, su valor inicial es menor a su valor final: 7.653 log ufc/ml – 7.625 log ufc/ml y 8.086 log ufc/ml – 7.827 log ufc/ml, respectivamente.

Finalmente, en las Figuras 106 – 108 se muestra la curva de crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* a una temperatura de 20°C, pH 3.48, sin luz y con oxígeno. En la cepa *E. coli* no patógeno CECT 516 se observa solamente entre la primera y segunda hora un crecimiento apenas notable. En el caso de *E. coli* O157:H7 CECT 4076, observamos que existe un crecimiento muy discreto a partir de la segunda hora. Por último, en *E. coli* O157:H7 CECT 4267, observamos un crecimiento apenas perceptible desde el comienzo hasta la cuarta hora, deteniéndose a partir de este momento.

El pH óptimo para el crecimiento de *E. coli* es casi neutro aunque puede crecer con un pH inferior a 4.4 (Adams y Moss, 1995). Según los resultados del estudio, observamos que las unidades formadoras de colonias alcanzan un mayor valor en condiciones, sobre todo, de pH 7 y pH 5, apenas variando en condiciones de pH 3.48.

Varios trabajos han descrito la tolerancia de cepas de *E. coli* patógenas a pH bajo (Glass y col. 1992). Zhao y Doyle (1994) demostraron que *E. coli* O157:H7 sobrevivió en sidra de manzana (pH 3.6 – 4) durante varios días. La resistencia a los medios ácidos puede permitir que este patógeno sobreviva en medios ácidos, así como a los ácidos del estómago de los humanos (Small y col., 1994; Benjamin y Datta, 1995).

Se ha observado en el estudio que, en condiciones de 20°C, el crecimiento de las 3 cepas de *E. coli* apenas es significativo. La menor tasa de crecimiento a temperatura más baja se debe, posiblemente, a un metabolismo reducido del organismo (Strawn y Danyluk, 2009). Nair y col. (2005) explicaron que estos resultados podrían relacionarse con cambios en la fluidez de la membrana de sus células cuando son expuestas a bajas temperaturas.

Analizando los valores obtenidos de la tasa de crecimiento, se observa que la mayor tasa de crecimiento se da en *E. coli* O157:H7 CECT 4076 con un pH 7, con aporte de oxígeno y luz (9.388 log ufc/ml). Sin embargo, la menor tasa de crecimiento se da en *E. coli* no patógeno CECT 516 con un pH 3.48, sin oxígeno y sin luz (7.634 log ufc/ml)

En lo referente a la resistencia al medio ácido que se menciona anteriormente, se describen diversos mecanismos que pueden permitir que *E. coli* sobreviva en medios ácidos. En muchas ocasiones, los microorganismos deben adaptarse a cambios del ambiente para mantenerse vivos. En las bacterias como *E. coli*, los sistemas de transporte de sodio y potasio, son capaces de corregir pequeñas variaciones de pH. Si el pH se vuelve demasiado ácido se ponen en marcha otros mecanismos. Si el pH externo disminuye a valores de 4.5 o inferiores, se sintetizan proteínas de respuesta al shock ácido. Estas sustancias evitan la desnaturalización de las proteínas y facilitan de nuevo el plegamiento de las ya desnaturalizadas (Prescott y col, 1999). Hill (2004) estudió los mecanismos de respuesta bacteriana al estrés provocado por la presión, el pH y la sal. Uno de ellos es el sistema glutamato descarboxilasa, que desempeña un papel fundamental en la supervivencia y crecimiento de las bacterias en medios ácidos.

Tabla 1. Estimaciones de los parámetros de crecimiento de las tres cepas de *E. coli* en zumos comerciales a 37°C. R²: Coeficiente de determinación; SE: Error estándar; λ: Tiempo de latencia

Escherichia coli no patógeno CECT 516

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
37°C	7	O ₂	Luz	7.572	0.138	8.483	0.986	0.041	0.941
			Oscuridad	7.545	0.236	8.925	0.938	0.128	0.188
		No O ₂	Luz	7.542	0.118	8.578	0.969	0.063	
			Oscuridad	7.576	0.140	8.435	0.971	0.051	0.997
	5	O ₂	Luz	7.608	0.148	8.390	0.933	0.777	
			Oscuridad	7.666	0.148	8.766	0.971	0.064	1.002
		No O ₂	Luz	7.650	0.140	8.426	0.919	0.081	1.381
			Oscuridad	7.702	0.143	8.666	0.903	0.098	2.277
	3.48	O ₂	Luz	7.691	0.069	7.807	0.710	0.026	5.267
			Oscuridad	7.723	0.020	7.786	0.518	0.025	2.162
		No O ₂	Luz	7.625	0.015	7.681	0.064	0.045	
			Oscuridad	7.752	0.028	7.883	0.744	0.026	1.688

Escherichia coli O157:H7 CECT 4076

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
37°C	7	O ₂	Luz	7.848	0.142	9.388	0.787	0.246	
			Oscuridad	7.603	0.320	9.040	0.912	0.169	0.088
		No O ₂	Luz	7.559	0.126	8.788	0.945	0.095	
			Oscuridad	7.644	0.299	8.731	0.953	0.084	3.667
	5	O ₂	Luz	7.636	0.194	8.974	0.892	0.148	0.841
			Oscuridad	7.712	0.161	8.943	0.948	0.096	0.698
		No O ₂	Luz	7.678	0.154	8.665	0.923	0.101	0.647
			Oscuridad	7.840	0.180	8.935	0.969	0.071	2.020
	3.48	O ₂	Luz	7.665	0.051	7.911	0.992	0.008	1.294
			Oscuridad	7.688	0.038	7.916	0.962	0.015	0.409
		No O ₂	Luz	7.698	-0.062	7.729	0.733	0.021	5.282
			Oscuridad	7.649	0.045	8.105	0.341	0.118	

Escherichia coli O157:H7 CECT 4267

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
37°C	7	O ₂	Luz	7.775	0.191	8.756	0.973	0.060	
			Oscuridad	7.899	0.165	9.227	0.928	0.112	
		No O ₂	Luz	7.808	0.105	8.553	0.981	0.039	0.497
			Oscuridad	7.777	0.206	8.930	0.895	0.126	2.221
	5	O ₂	Luz	7.794	0.193	9.014	0.987	0.050	0.815
			Oscuridad	7.807	0.136	8.919	0.907	0.112	0.491
		No O ₂	Luz	7.773	0.105	8.565	0.889	0.090	
			Oscuridad	7.834	0.104	8.729	0.922	0.079	0.479
	3.48	O ₂	Luz	7.821	0.006	7.839	0.729	0.006	2.947
			Oscuridad	7.912	0.009	7.967	0.812	0.009	
		No O ₂	Luz	7.802	0.089	7.998	0.878	0.027	
			Oscuridad	7.920	0.011	8.056	0.836	0.080	3.760

Tabla 2. Estimaciones de los parámetros de crecimiento de las tres cepas de *E. coli* en zumos comerciales a 30°C. R²: Coeficiente de determinación; SE: Error estándar; λ: Tiempo de latencia

Escherichia coli no patógeno CECT 516

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
30°C	7	O ₂	Luz	7.606	0.379	9.03	0.976	0.083	2.265
			Oscuridad	7.533	0.280	8.832	0.986	0.061	1.235
		No O ₂	Luz	7.675	0.351	8.201	0.897	0.082	3.054
			Oscuridad	7.642	0.144	8.229	0.963	0.046	1.827
	5	O ₂	Luz	7.567	0.194	8.787	0.943	0.103	
			Oscuridad	7.542	0.307	8.656	0.955	0.099	1.474
		No O ₂	Luz	7.567	0.118	8.198	0.889	0.076	1.040
			Oscuridad	7.623	0.163	8.146	0.996	0.013	2.409
	3.48	O ₂	Luz	7.579	0.034	7.701	0.745	0.026	
			Oscuridad	7.645	0.028	7.701	0.527	0.020	2.779
		No O ₂	Luz	7.577	0.033	7.831	0.744	0.042	0.553
			Oscuridad	7.677	0.042	7.804	0.926	0.013	3.065

Escherichia coli O157:H7 CECT 4076

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
30°C	7	O ₂	Luz	7.591	0.290	9.348	0.998	0.024	0.790
			Oscuridad	7.591	0.260	9.056	0.999	0.016	0.361
		No O ₂	Luz	7.677	0.179	8.444	0.933	0.078	1.360
			Oscuridad	7.671	0.123	8.392	0.812	0.121	
	5	O ₂	Luz	7.56	0.212	8.998	0.645	0.289	0.579
			Oscuridad	7.568	0.269	8.798	0.935	0.123	0.127
		No O ₂	Luz	7.578	0.214	8.362	0.755	0.208	1.268
			Oscuridad	7.588	0.175	8.313	0.976	0.043	1.989
	3.48	O ₂	Luz	7.624	0.268	7.908	0.957	0.021	5.940
			Oscuridad	7.641	0.020	7.740	0.268	0.039	1.762
		No O ₂	Luz	7.607	0.051	7.756	0.333	0.064	
			Oscuridad	7.667	0.032	7.740	0.129	0.047	2.235

Escherichia coli O157:H7 CECT 4267

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
30°C	7	O ₂	Luz	7.734	0.232	9.837	0.989	0.046	0.782
			Oscuridad	7.723	0.265	9.104	0.997	0.028	1.160
		No O ₂	Luz	7.780	0.195	8.566	0.963	0.059	2.092
			Oscuridad	7.746	0.135	8.614	0.978	0.036	1.380
	5	O ₂	Luz	7.768	0.327	8.926	0.987	0.055	1.109
			Oscuridad	7.754	0.179	8.567	0.988	0.035	0.454
		No O ₂	Luz	7.744	0.136	8.420	0.867	0.091	1.451
			Oscuridad	7.737	0.102	8.237	0.993	0.016	1.271
	3.48	O ₂	Luz	7.767	0.014	7.861	0.852	0.013	
			Oscuridad	7.870	0.070	7.913	0.628	0.033	1.963
		No O ₂	Luz	7.809	0.061	7.882	0.242	0.042	2.676
			Oscuridad	7.818	0.093	7.904	0.698	0.042	3.193

Tabla 3. Estimaciones de los parámetros de crecimiento de las tres cepas de *E. coli* en zumos comerciales a 20°C. R²: Coeficiente de determinación; SE: Error estándar; λ: Tiempo de latencia

Escherichia coli no patógeno CECT 516

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
20°C	7	O ₂	Luz	7.587	0.103	7.855	0.739	0.052	3.748
			Oscuridad	7.651	0.171	8.295	0.883	0.087	2.413
		No O ₂	Luz	7.608	0.081	8.104	0.928	0.046	0.348
			Oscuridad	7.603	0.118	8.126	0.947	0.044	1.962
	5	O ₂	Luz	7.61	0.074	7.925	0.840	0.054	0.534
			Oscuridad	7.562	0.051	7.969	0.883	0.039	
		No O ₂	Luz	7.644	0.085	7.977	0.960	0.027	2.070
			Oscuridad	7.612	0.157	7.940	0.995	0.011	1.780
	3.48	O ₂	Luz	7.622	0.014	7.669	0.929	0.007	
			Oscuridad	7.601	0.126	7.728	0.542	0.046	1.295
		No O ₂	Luz	7.623	0.009	7.645	0.277	0.010	
			Oscuridad	7.629	0.075	7.634	0.571	0.022	5.001

Escherichia coli O157:H7 CECT 4076

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
20°C	7	O ₂	Luz	7.642	0.151	8.197	0.947	0.049	2.569
			Oscuridad	7.662	0.194	8.144	0.927	0.051	3.594
		No O ₂	Luz	7.597	0.094	8.182	0.978	0.028	0.652
			Oscuridad	7.622	0.151	8.209	0.982	0.031	2.182
	5	O ₂	Luz	7.625	0.263	8.001	0.979	0.027	1.726
			Oscuridad	7.606	0.110	7.774	0.996	0.005	1.888
		No O ₂	Luz	7.655	0.055	7.968	0.940	0.027	0.695
			Oscuridad	7.626	0.053	7.964	0.930	0.031	
	3.48	O ₂	Luz	7.622	0.073	7.700	0.667	0.025	1.886
			Oscuridad	7.634	0.035	7.768	0.797	0.029	1.598
		No O ₂	Luz	7.598	0.035	7.778	0.838	0.029	0.941
			Oscuridad	7.653	-0.009	7.625	0.519	0.030	

Escherichia coli O157:H7 CECT 4267

Temp.	pH	Aporte O ₂	Luz	Inicial	Velocidad máxima	Final	R ²	SE	λ
20°C	7	O ₂	Luz	7.783	0.0939	8.219	0.904	0.048	1.899
			Oscuridad	7.805	0.263	8.266	0.932	0.049	3.900
		No O ₂	Luz	7.774	0.105	8.255	0.989	0.020	1.358
			Oscuridad	7.827	0.187	8.286	0.969	0.032	3.542
	5	O ₂	Luz	7.801	0.254	8.165	0.953	0.036	3.587
			Oscuridad	7.741	0.133	8.043	0.997	0.008	1.540
		No O ₂	Luz	7.771	0.045	8.049	0.962	0.019	
			Oscuridad	7.824	0.038	8.145	0.899	0.027	
	3.48	O ₂	Luz	7.785	0.013	7.823	0.775	0.008	1.475
			Oscuridad	7.759	0.041	7.870	0.286	0.051	
		No O ₂	Luz	7.797	0.082	7.863	0.145	0.040	2.633
			Oscuridad	8.086	-0.061	7.827	0.181	0.212	

5. CONCLUSIONES

1. Existe mayor tasa de crecimiento de *Escherichia coli*, tanto no patógeno como O157:H7, en condiciones de temperatura de 37°C y pH altos.
2. *E. coli* y *E. coli* O157:H7 pueden crecer en medio ácido (pH 3.48) durante cierto tiempo dado que se adaptan a esta condición.
3. Las condiciones de luz/oscuridad no alteran mucho el crecimiento de las unidades formadoras de colonias de *E. coli*.
4. De igual manera ocurre con el aporte o no de oxígeno; no existen datos concluyentes que expliquen que el aporte o no de oxígeno aumente la tasa de crecimiento de *E. coli*.
5. *E. coli* patógeno CECT 516 posee una menor tasa de crecimiento que *E. coli* O157:H7, generalmente.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Adams M.R. y Moss M.O. 1995. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. p. 227-231.
2. Anónimo. 2018. *Escherichia coli* O157:H7. Geosalud. Disponible en: https://www.geosalud.com/enfermedades_infecciosas/ecoli.html
3. Buchanan, R.L., Whiting, R.C. y Damert, W.C. 1997. When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. Food Microbiol. 14: 313-326.
4. Canet. J.J, 2016. *Escherichia coli*: características, patogenicidad y prevención (I). Betelgeux, S.L. Seguridad e Higiene Alimentaria. Disponible en: <http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
5. Glass, K. A. Loeffelholz, J. M., Ford, J. P. and Doyle, M. P. 1992. Fate of *Escherichiacoli*O157:H7 as Affected by pH or Sodium Chloride and in Fermented, Dry Sausage. Appl Environ Microbiol. 58:2513-2516.
6. Hill, C. 2004. Bacterial responses to stress: pressure, pH and salt. Libro de resúmenes del XIV Congreso de Microbiología de los alimentos. Girona, 19-22 septiembre. p. 33-35
7. Nair, M.K., Abouelezz, M.H., Hoagland, T., Venkitanarayanan, K. 2005. Antibacterial effect of mono caprylin on *E. coli*O157:H7 in Apple juice. J FoodProt. 68: 1895-1899.
8. Organización Mundial de la Salud. 2011. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>

9. Organización Mundial de la Salud. 2018. *E. coli*. Disponible en:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
10. Prescott, L.M., Harley, J.P., and Klein, D. A. 1999. Microbiología 4ª Edición. Ed. McGraw-Hill. Interamericana. p. 114-136.
11. Real Decreto 781/2013, de 11 de octubre, por el que se establecen normas relativas a la elaboración, composición, etiquetado, presentación y publicidad de los zumos de frutas y otros productos similares destinados a la alimentación humana. Disponible en:
https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-2013-10611
12. Rodríguez-Ángeles G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública Mex. 44:464-475
13. Santiesteban López, A., López Malo, A. 2002. Temas selectos de ingeniería de los alimentos. 22: 14-26
14. Small, P., Blankenhorn, D., Welty, D., Zinser, E. and Slonczewski, J. L. 1994. Acid and base resistance in *Escherichia coli* and *Shigella flexneri*: role of *rpoS* and growth in acid. J Bacteriol. 176:1729-1737.
15. Strawn y Danyluk. 2009. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on fresh and frozen cut mangoes and papayas. Int. J Food Microbiol. 138: 78-84.
16. Zhao, T., and Doyle, M.P. 1994. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in commercial mayonnaise. J Food Prot. 57:780-783.
17. ZVED (Centro Nacional de Enfermedades Zoonóticas, Entéricas y Transmitidas por Vectores). 2006. Preguntas y respuestas: Enfermedades causadas por *E. coli*. CDC, Center for Disease and Control. Disponible en:
https://www.cdc.gov/ecoli/es/qa_ecoli_sickness.htm

ANEXO

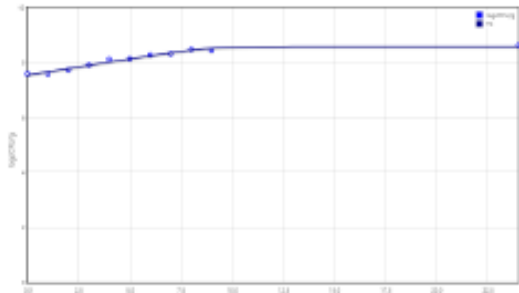


Figura 1. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH7, con luz, sin O₂

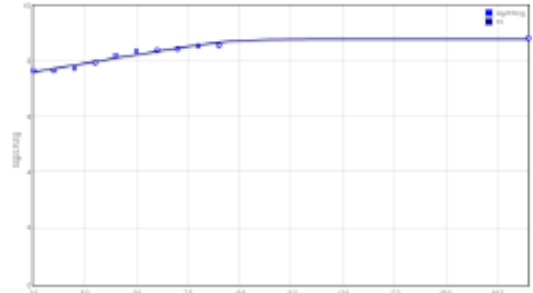


Figura 2. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH7, con luz, sin O₂

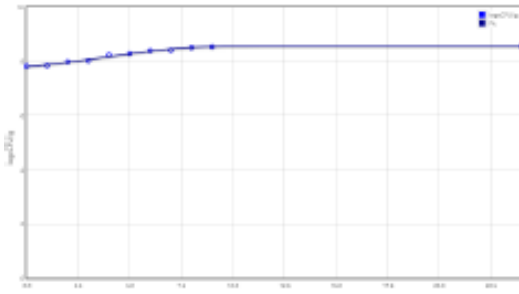


Figura 3. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH7, con luz, sin O₂

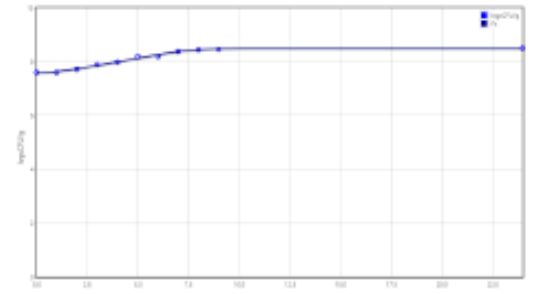


Figura 4. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH7, con luz, con O₂

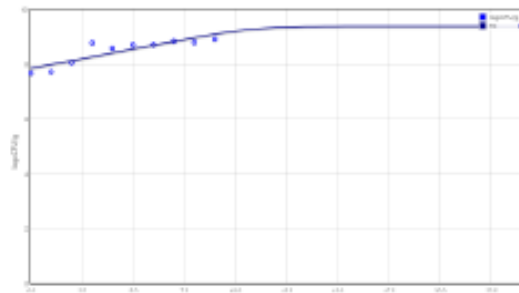


Figura 5. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH7, con luz, con O₂

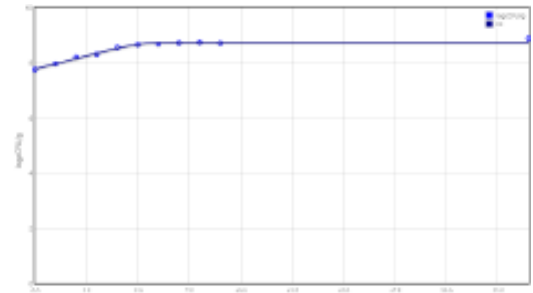


Figura 6. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH7, con luz, con O₂



Figura 7. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH7, sin luz, sin O₂

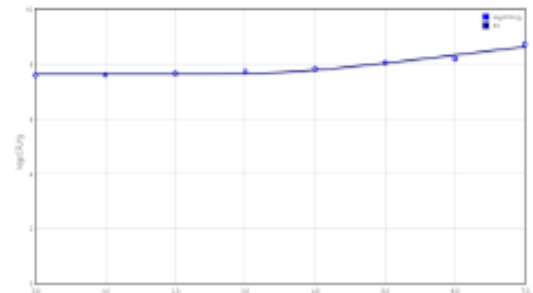


Figura 8. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH7, sin luz, sin O₂

Eje X: Figuras 1 – 6: tiempo 0 – 24 horas

Eje X: Figuras 7 – 8: tiempo 0 – 7 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

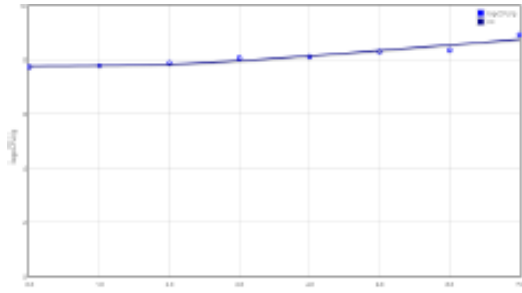


Figura 9. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH7, sin luz, sin O₂

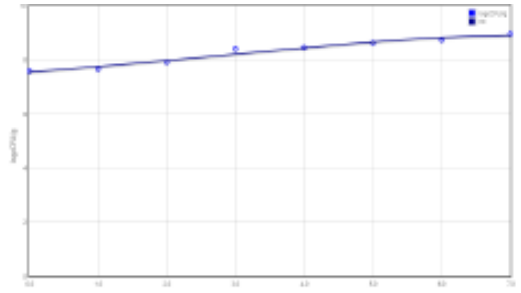


Figura 10. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH7, sin luz, con O₂

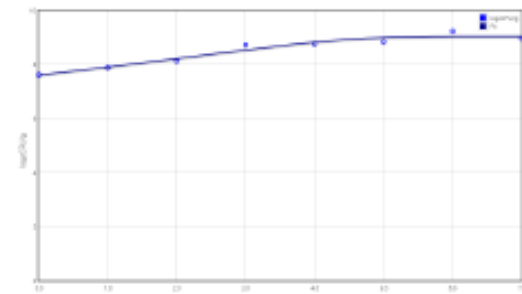


Figura 11. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH7, sin luz, con O₂

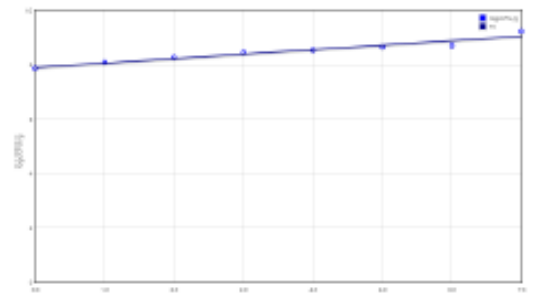


Figura 12. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH7, sin luz, con O₂

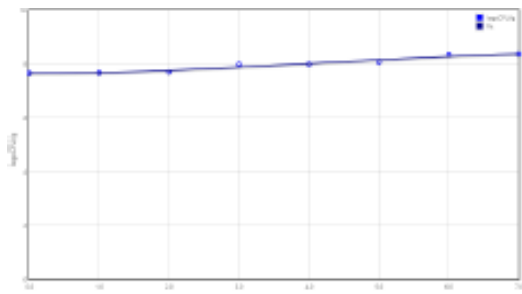


Figura 13. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH5, con luz, sin O₂

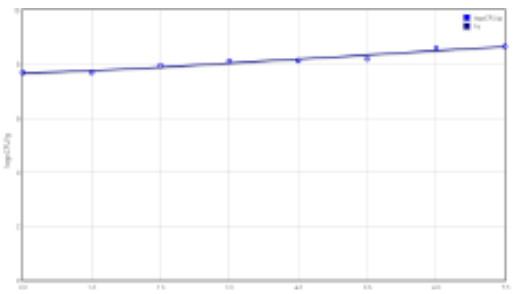


Figura 14. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH5, con luz, sin O₂

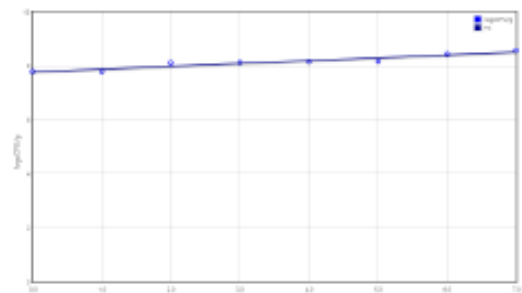


Figura 15. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH5, con luz, sin O₂

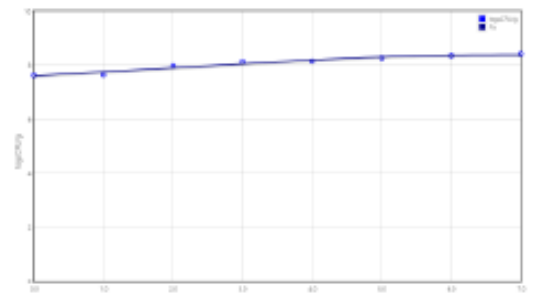


Figura 16. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH5, con luz, con O₂

Eje X: Figuras 9 – 16: tiempo 0 – 7 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

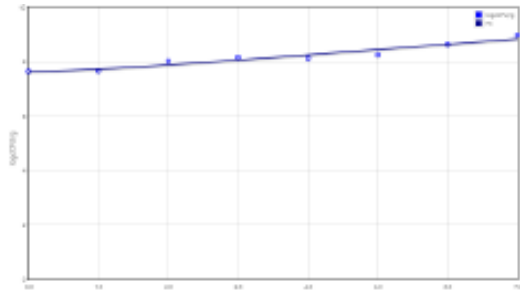


Figura 17. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 37°C, pH5, con luz, con O₂

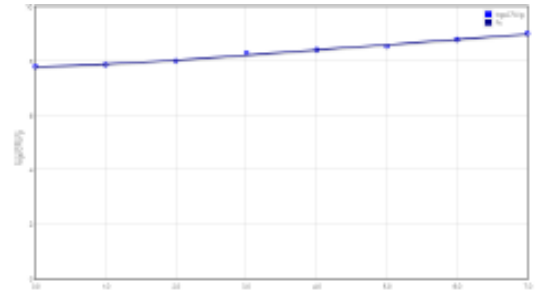


Figura 18. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 37°C, pH5, con luz, con O₂

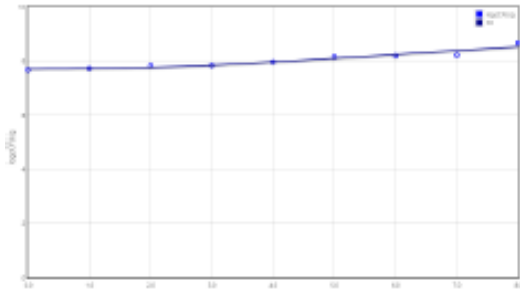


Figura 19. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH5, sin luz, sin O₂

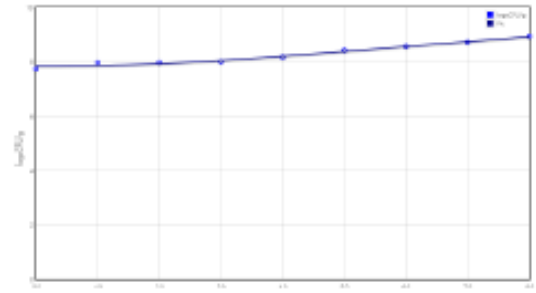


Figura 20. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 37°C, pH5, sin luz, sin O₂

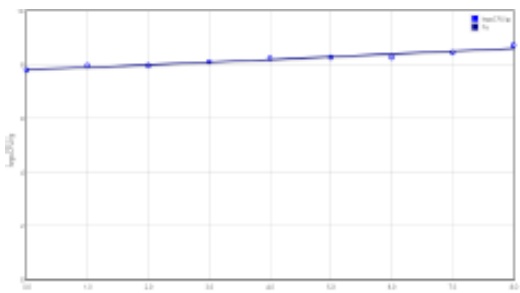


Figura 21. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 37°C, pH5, sin luz, sin O₂

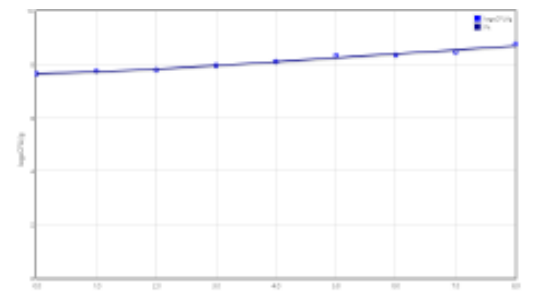


Figura 22. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH 5, con luz, con O₂

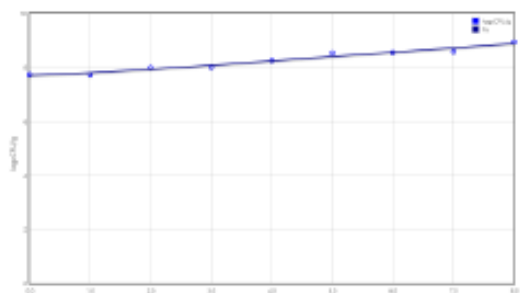


Figura 23. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 37°C, pH5, sin luz, con O₂

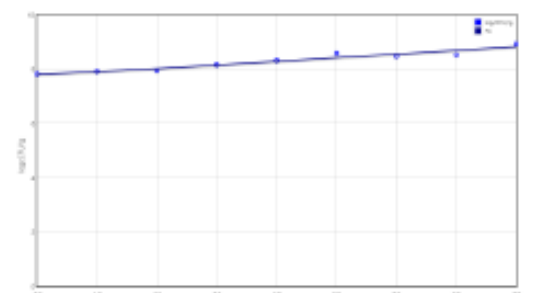


Figura 24. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 37°C, pH5, sin luz, con O₂

Eje X: Figuras 16 – 18: tiempo 0 – 7 horas

Eje X: Figuras 19 – 24: tiempo 0 – 8 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

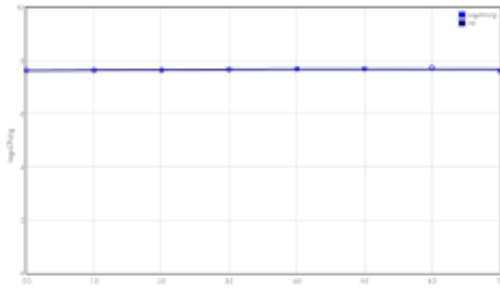


Figura 25. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH3.48, con luz, con O₂

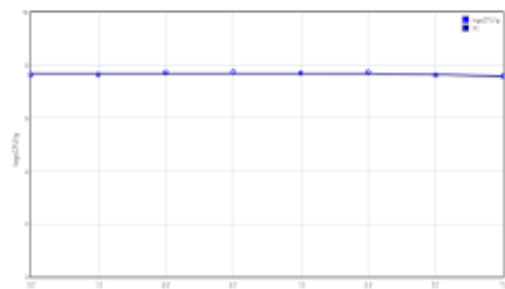


Figura 26. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH3.48, con luz, sin O₂

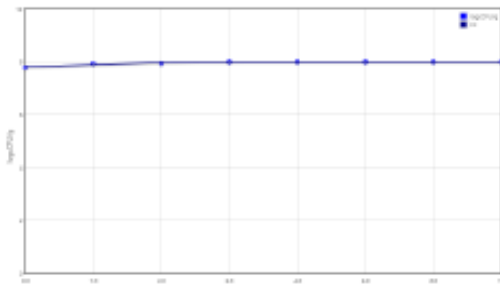


Figura 27. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH3.48, con luz, sin O₂

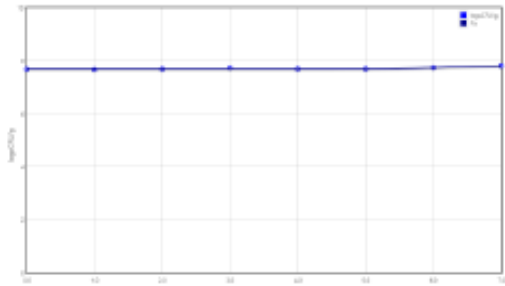


Figura 28. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH3.48, con luz, con O₂



Figura 29. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH3.48, con luz, con O₂

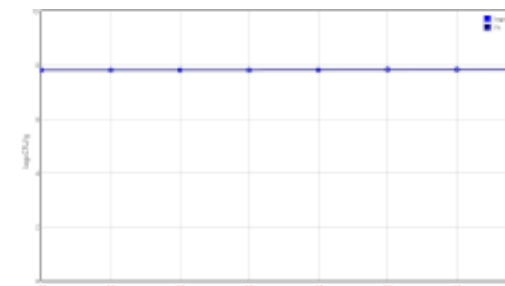


Figura 30. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH3.48, con luz, con O₂

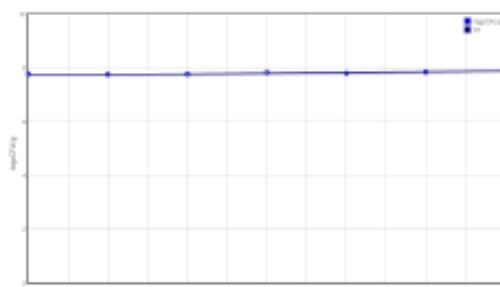


Figura 31. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH3.48, sin luz, sin O₂

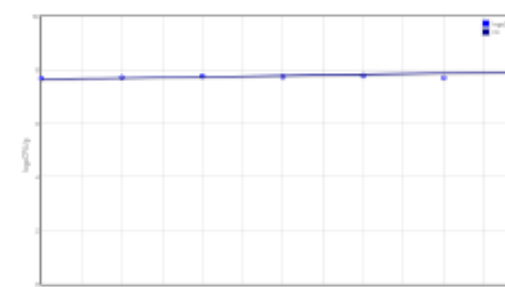


Figura 32. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH3.48, sin luz, sin O₂

Eje X: Figuras 25 – 30: tiempo 0 – 7 horas

Eje X: Figuras 31 – 32: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

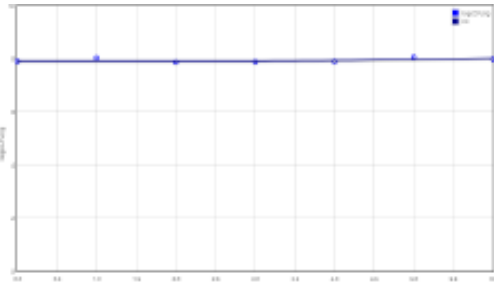


Figura 33. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH3.48, sin luz, sin O₂

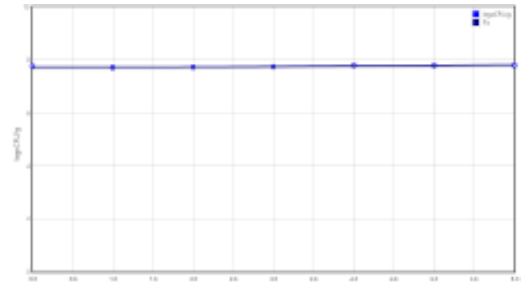


Figura 34. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 37°C, pH3.48, sin luz, con O₂

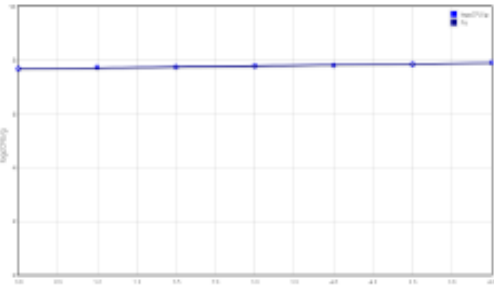


Figura 35. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 37°C, pH3.48, sin luz, con O₂

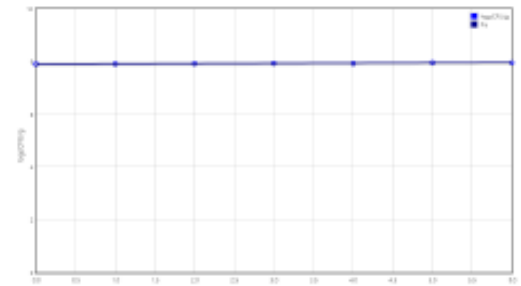


Figura 36. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 37°C, pH3.48, sin luz, con O₂

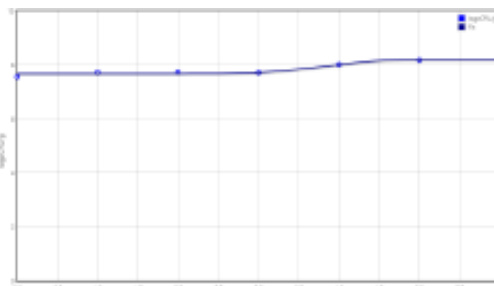


Figura 37. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH7, con luz, sin O₂



Figura 38. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH7, con luz, sin O₂



Figura 39. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH7, con luz, sin O₂

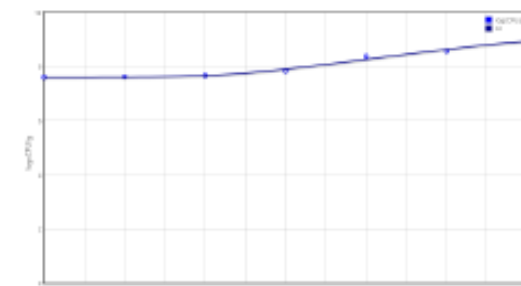


Figura 40. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH7, con luz, con O₂

Eje X: Figuras 33 – 40: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

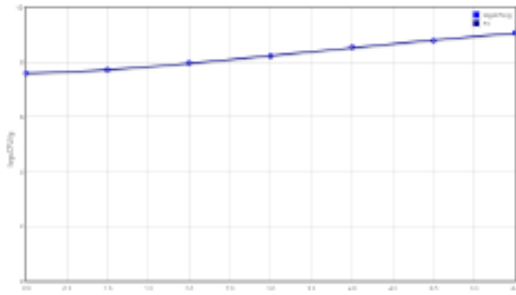


Figura 41. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 30°C, pH7, con luz, con O₂

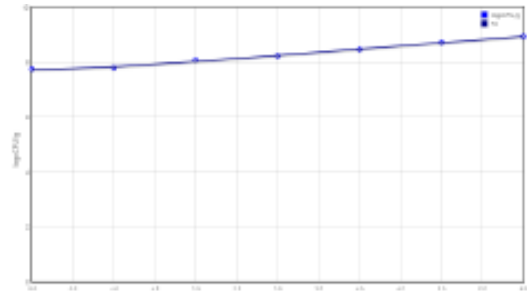


Figura 42. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 30°C, pH7, con luz, con O₂

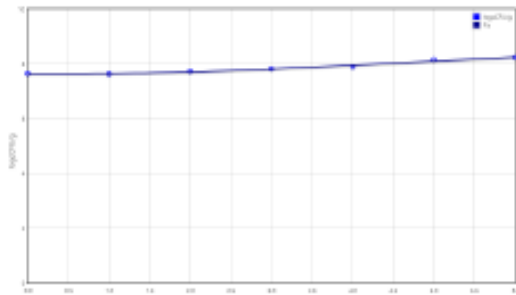


Figura 43. *E. Coli no patógeno CECT 516* a 30°C, pH7, sin luz, sin O₂

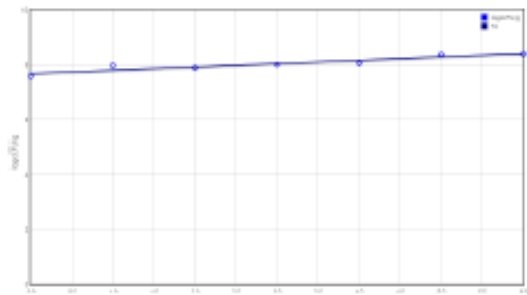


Figura 44. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 30°C, pH7, sin luz, sin O₂

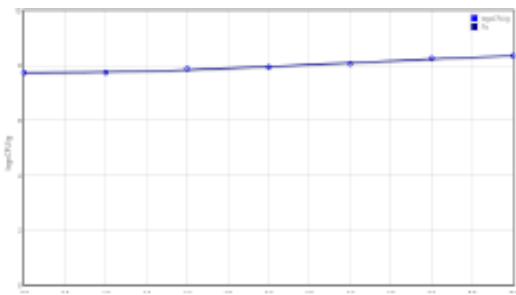


Figura 45. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 30°C, pH7, sin luz, sin O₂

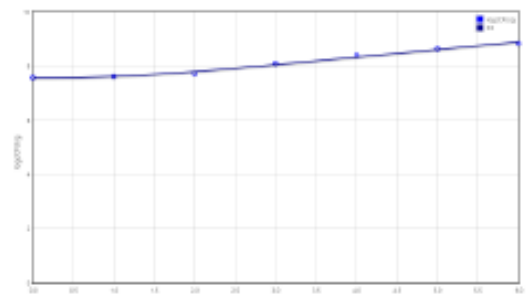


Figura 46. *E. Coli no patógeno CECT 516* a 30°C, pH7, sin luz, con O₂

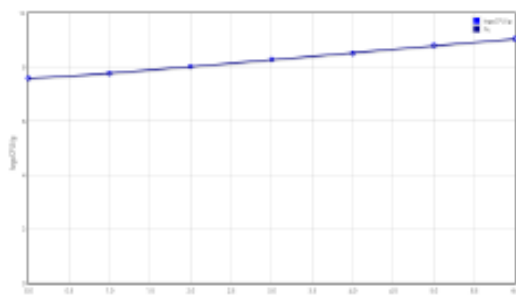


Figura 47. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 30°C, pH7, sin luz, con O₂

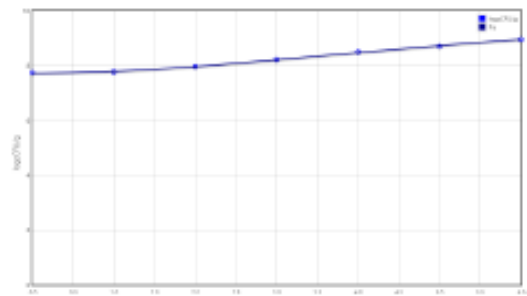


Figura 48. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 30°C, pH7, sin luz, con O₂

Eje X: Figuras 41 – 48: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

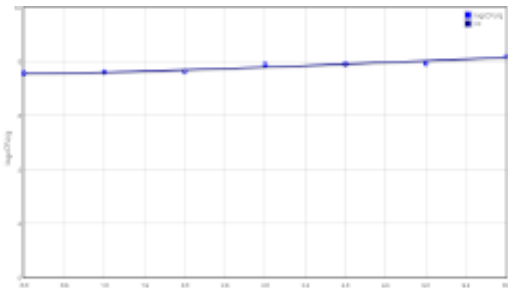


Figura 49. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH5, con luz, sin O₂

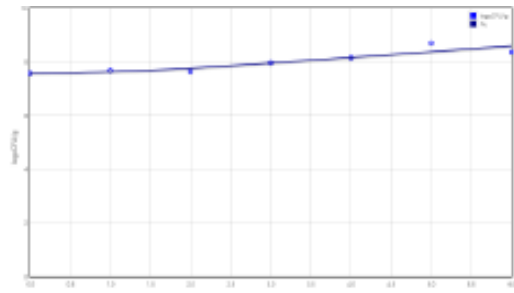


Figura 50. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH5, con luz, sin O₂

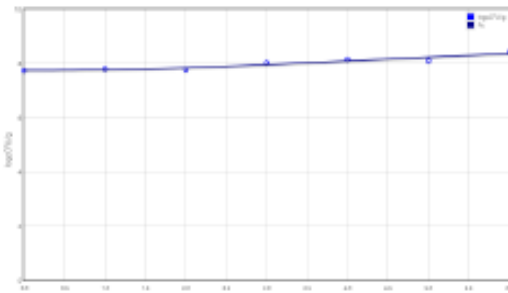


Figura 51. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH5, con luz, sin O₂

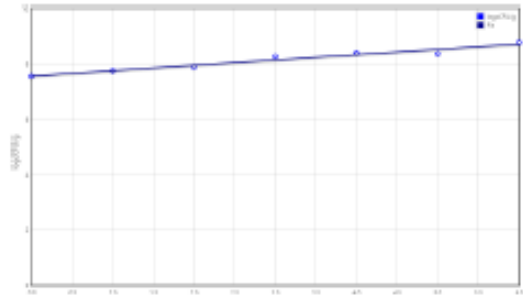


Figura 52. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH5, con luz, con O₂

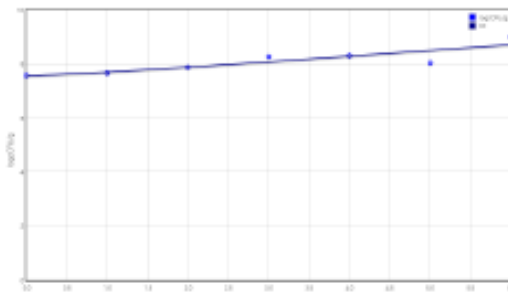


Figura 53. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH5, con luz, con O₂

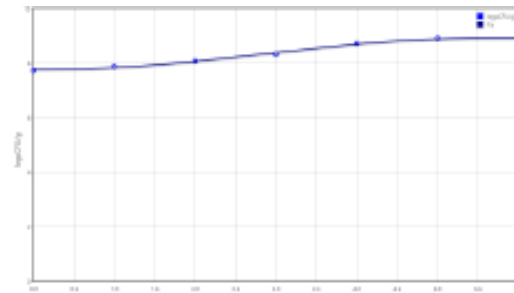


Figura 54. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH5, con luz, con O₂



Figura 55. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH5, sin luz, sin O₂

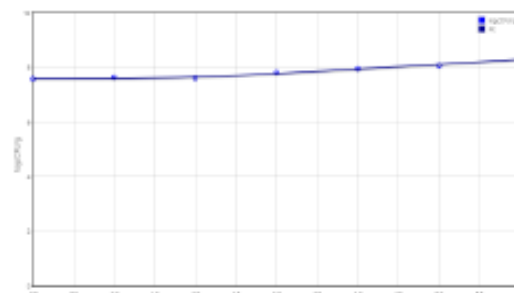


Figura 56. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH5, sin luz, sin O₂

Eje X: Figuras 49 – 56: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

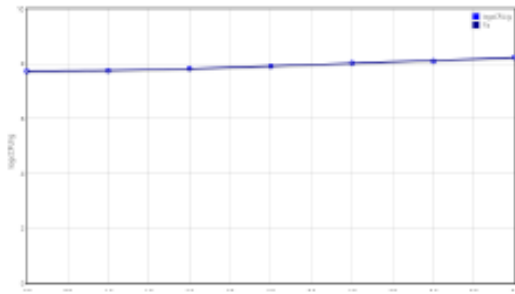


Figura 57. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH5, sin luz, sin O₂

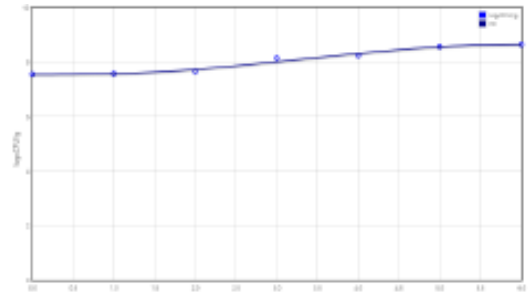


Figura 58. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH5, sin luz, con O₂

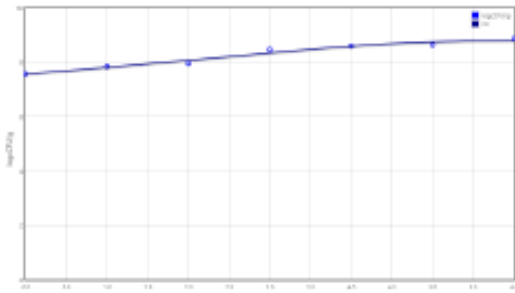


Figura 59. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH5, sin luz, con O₂

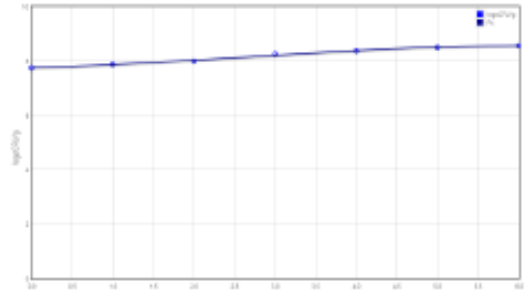


Figura 60. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH5, sin luz, con O₂

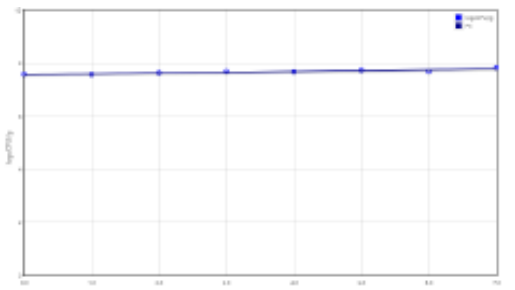


Figura 61. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH3.48, con luz, sin O₂

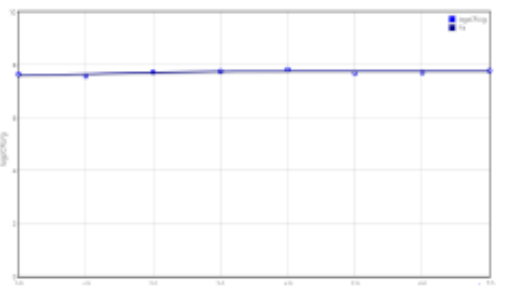


Figura 62. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH3.48, con luz, sin O₂

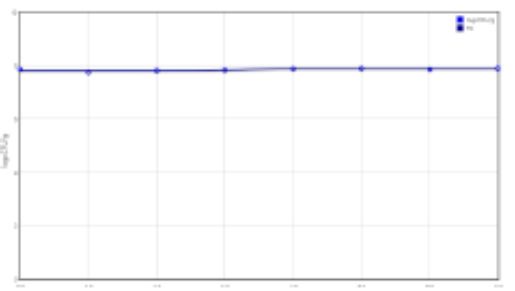


Figura 63. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH3.48, con luz, sin O₂

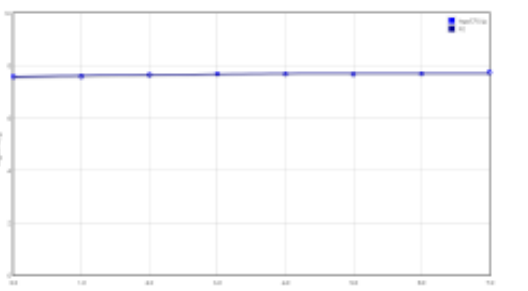


Figura 64. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH3.48, con luz, con O₂

Eje X: Figuras 57 – 60: tiempo 0 – 6 horas

Eje X: Figuras 61 – 64: tiempo 0 – 7 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

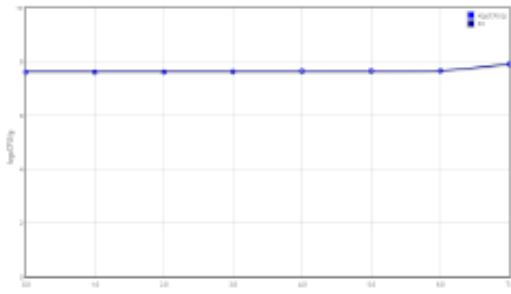


Figura 65. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH3.48, con luz, con O₂

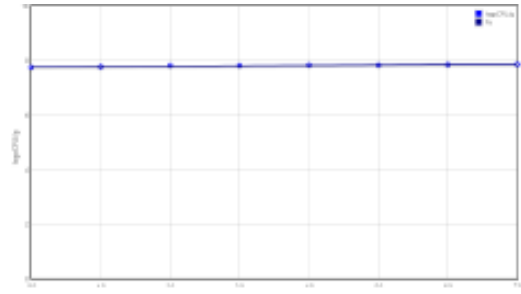


Figura 66. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH3.48, con luz, con O₂

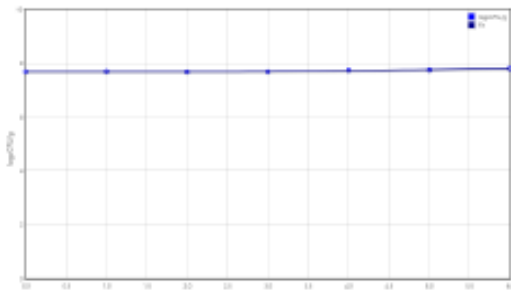


Figura 67. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH3.48, sin luz, sin O₂

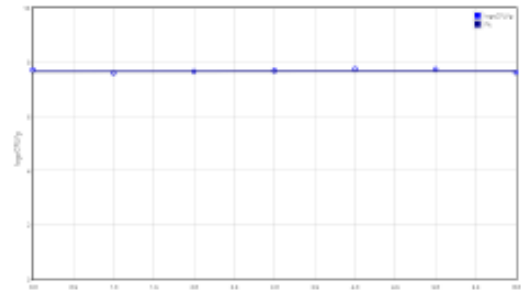


Figura 68. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH3.48, sin luz, sin O₂

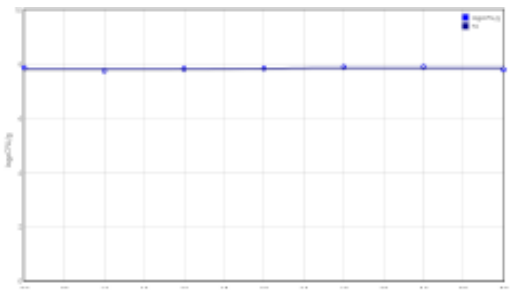


Figura 69. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH3.48, sin luz, sin O₂

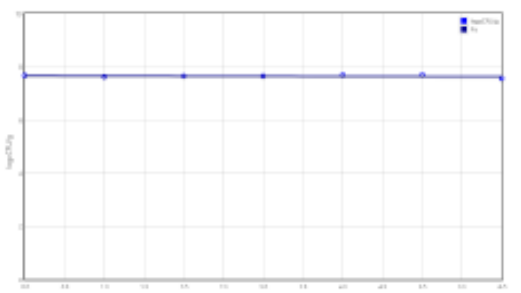


Figura 70. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 30°C, pH3.48, sin luz, con O₂

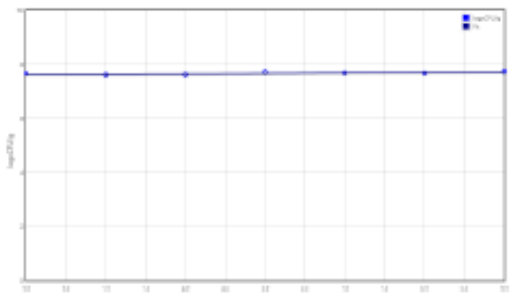


Figura 71. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 30°C, pH3.48, sin luz, con O₂

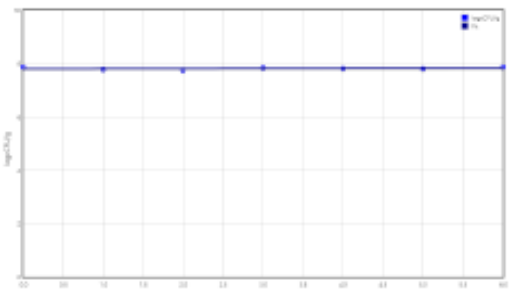


Figura 72. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 30°C, pH3.48, sin luz, con O₂

Eje X: Figuras 65 – 66: tiempo 0 – 7 horas

Eje X: Figuras 67 – 72: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

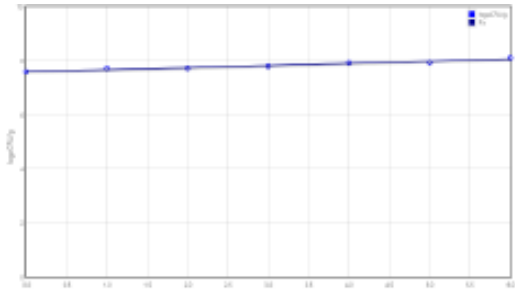


Figura 73. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH7, con luz, sin O₂

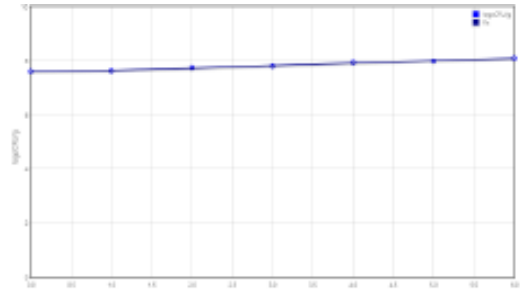


Figura 74. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 20°C, pH7, con luz, sin O₂

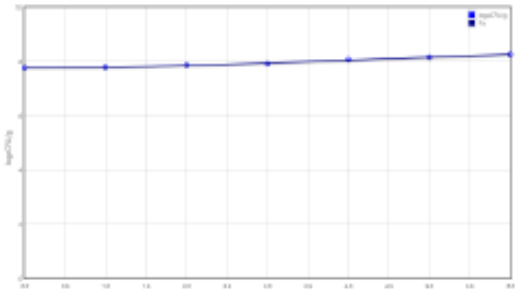


Figura 75. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 20°C, pH7, con luz, sin O₂

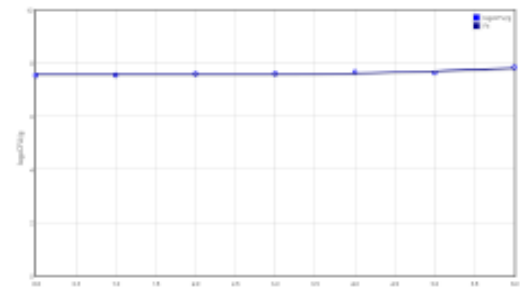


Figura 76. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH7, con luz, con O₂

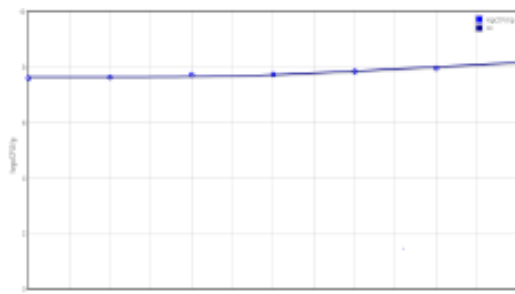


Figura 77. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 20°C, pH7, con luz, con O₂

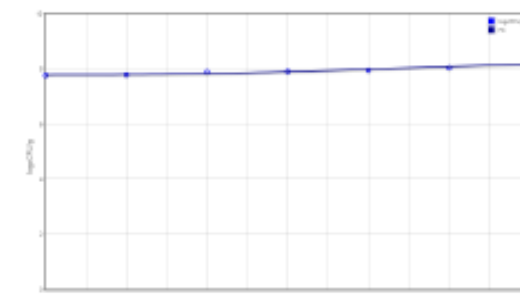


Figura 78. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 20°C, pH7, con luz, con O₂

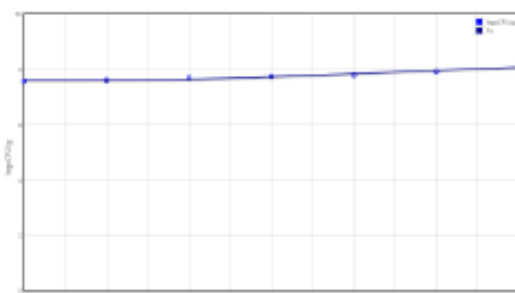


Figura 79. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH7, sin luz, sin O₂



Figura 80. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 20°C, pH7, sin luz, sin O₂

Eje X: Figuras 73 – 80: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

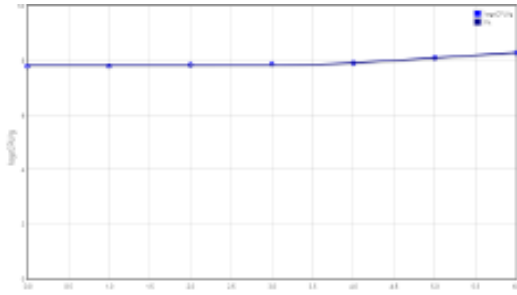


Figura 81. *E. Coli O157:H7* CECT 4267 a 20°C, pH7, sin luz, sin O₂

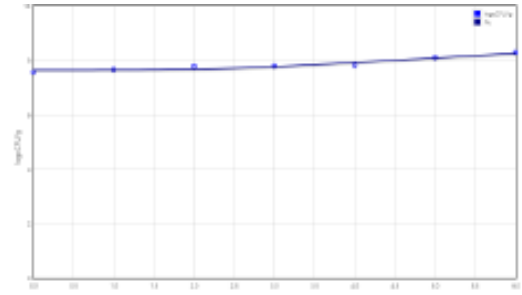


Figura 82. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH7, sin luz, con O₂

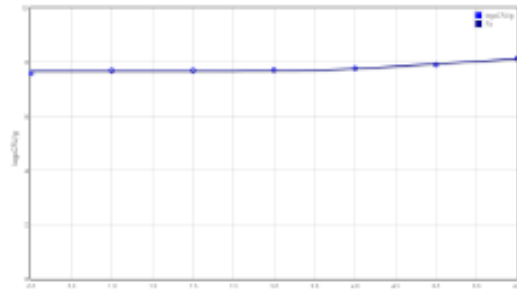


Figura 83. *E. Coli O157:H7* CECT 4076 a 20°C, pH7, sin luz, con O₂

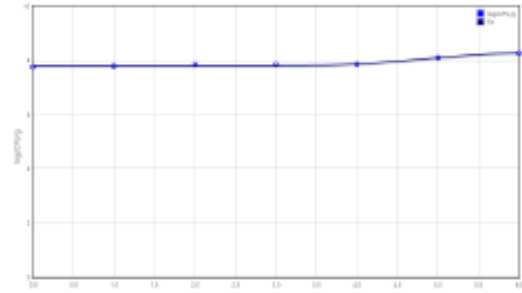


Figura 84. *E. Coli O157:H7* CECT 4267 a 20°C, pH7, sin luz, con O₂



Figura 85. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH5, con luz, sin O₂

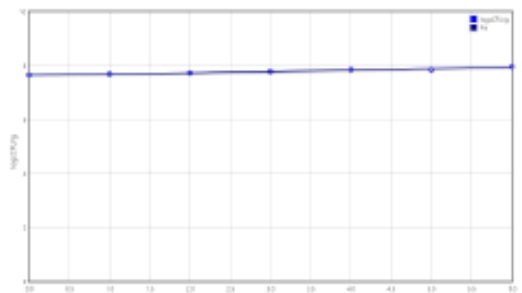


Figura 86. *E. Coli O157:H7* CECT 4076 a 20°C, pH5, con luz, sin O₂



Figura 87. *E. Coli O157:H7* CECT 4267 a 20°C, pH5, con luz, sin O₂



Figura 88. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH5, con luz, con O₂

Eje X: Figuras 81 – 88: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

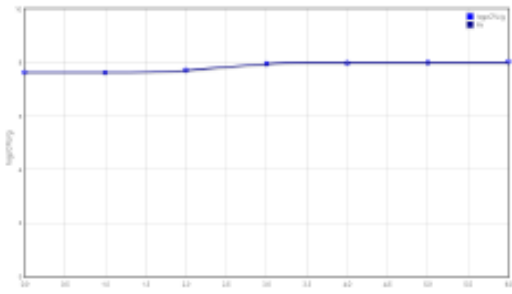


Figura 89. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 20°C, pH5, con luz, con O₂

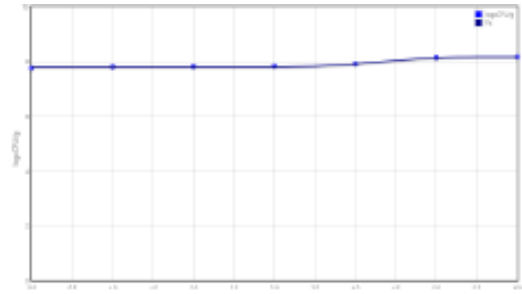


Figura 90. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 20°C, pH5, con luz, con O₂

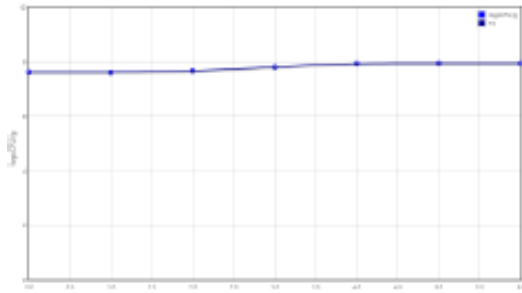


Figura 91. *E. Coli no patógeno CECT 516* a 20°C, pH5, sin luz, sin O₂

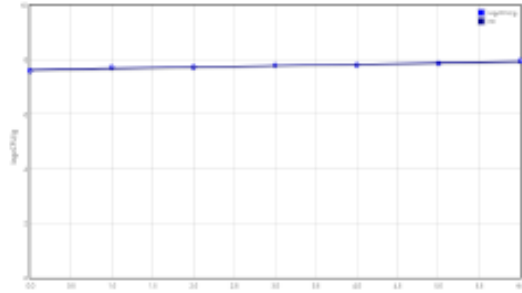


Figura 92. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 20°C, pH5, sin luz, sin O₂



Figura 93. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 20°C, pH5, sin luz, sin O₂



Figura 94. *E. Coli no patógeno CECT 516* a 20°C, pH5, sin luz, con O₂



Figura 95. *E. Coli O157:H7 CECT 4076* a 20°C, pH5, sin luz, con O₂

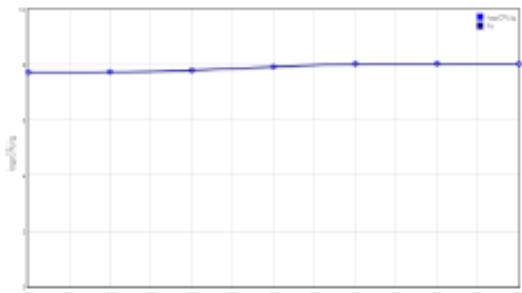


Figura 96. *E. Coli O157:H7 CECT 4267* a 20°C, pH5, sin luz, con O₂

Eje X: Figuras 89 – 96: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

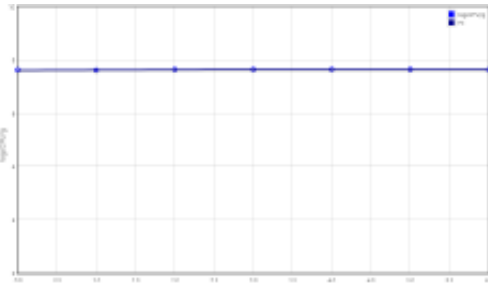


Figura 97. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH3.48, con luz, sin O₂

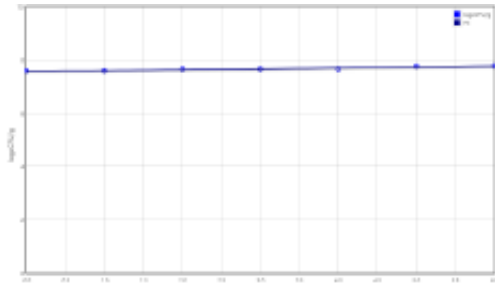


Figura 98. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 20°C, pH3.48, con luz, sin O₂

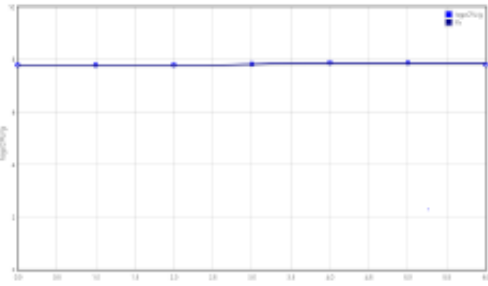


Figura 99. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 20°C, pH3.48, con luz, sin O₂

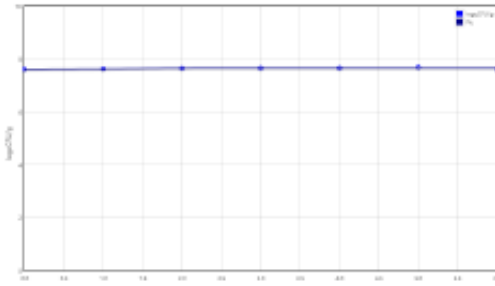


Figura 100. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH3.48, con luz, con O₂

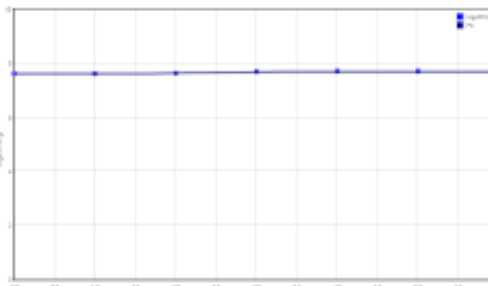


Figura 101. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 20°C, pH3.48, con luz, con O₂



Figura 102. *E. Coli* O157:H7 CECT 4267 a 20°C, pH3.48, con luz, con O₂

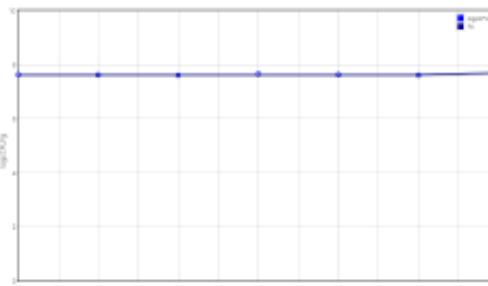


Figura 103. *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH3.48, sin luz, sin O₂



Figura 104. *E. Coli* O157:H7 CECT 4076 a 20°C, pH3.48, sin luz, sin O₂

Eje X: Figuras 97 – 104: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml

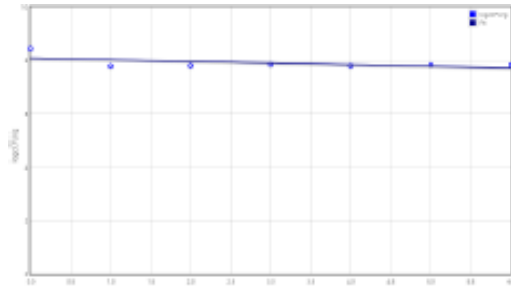


Figura 105. *E. Coli O157:H7* CECT 4267 a 20°C, pH3.48, sin luz, sin O₂

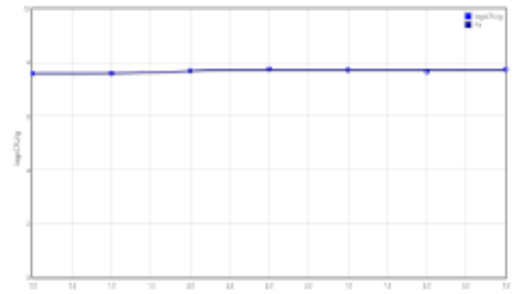


Figura 106 *E. Coli* no patógeno CECT 516 a 20°C, pH3.48, sin luz, con O₂

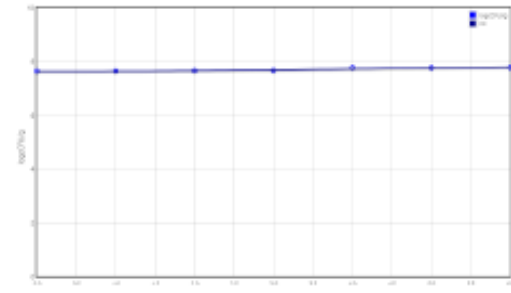


Figura 107. *E. Coli O157:H7* CECT 4076 a 20°C, pH3.48, sin luz, con O₂

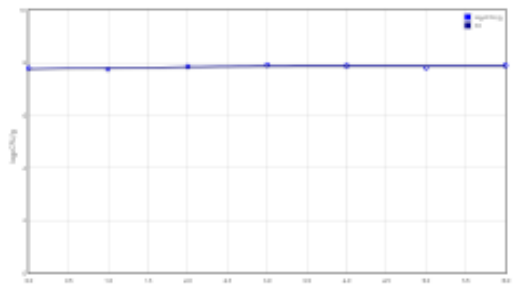


Figura 108. *E. Coli O157:H7* CECT 4267 a 20°C, pH3.48, sin luz, con O₂

Eje X: Figuras 105 – 108: tiempo 0 – 6 horas

Eje Y: 0 – 10 log ufc/ml