

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, León
UNAN- LEON
ÁREA DE CONOCIMIENTO CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIA
DIRECCIÓN ESPECÍFICA DE VETERINARIA, ZOOTECNIA Y AGROPECUARIA



Tesis para optar al título de Máster en Medicina Preventiva mención en: Higiene e Inocuidad Alimentaria

Tema:

Evaluación in vitro de solventes Inorgánicos para la inhibición de patógenos en frutas y hortalizas frescas.

Autor:

Ing. Luis Alfonso Rodríguez Navarrete Esp.

Tutor:

MV. José Luis Bonilla Espinoza MSc.

Asesora:

MV. Gladys Castillo Paguaga Msc.

Noviembre León, Nicaragua 2024.

2024: 45/19 ¡La Patria, La Revolución!

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, León
UNAN- LEON
ÁREA DE CONOCIMIENTO CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIA
DIRECCIÓN ESPECÍFICA DE VETERINARIA, ZOOTECNIA Y AGROPECUARIA



Tesis para optar al título de Máster en Medicina Preventiva mención en: Higiene e Inocuidad Alimentaria

Tema:

Evaluación in vitro de solventes Inorgánicos para la inhibición de patógenos en frutas y hortalizas frescas.

Autor: Ing. Luis Alfonso Rodríguez Navarrete Esp.

Tutor: MV. José Luis Bonilla Msc.

Noviembre León, Nicaragua 2024.

2024: 45/19 ¡La Patria, La Revolución!

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios, por darme el don maravilloso de la vida, fuerzas, sabiduría, salud y muchas oportunidades para superarme personal, académica y espiritualmente.

*Agradezco a los coordinadores de la maestría al **Dr. Manuel Tiffer** y la **Dra. Ligia Hernández** quienes me apoyaron incondicionalmente para poder llevar a cabo mi investigación y tomar las decisiones correctas durante mi estadía en la área de Conocimiento Ciencias Agrarias y Veterinaria.*

*Así también, agradezco a mi madre **Sandra Lucia Navarrete Villanueva** por darme la oportunidad de poder realizar y llevar a cabo uno de mis más grandes proyectos de vida, quien nunca me dejó solo y quien me motivó incluso cuando no tenía ánimos de continuar.*

A mis compañeros tesista de las carreras de medicina veterinaria e ingeniería acuícola y Zootecnia quienes nos apoyamos siempre en las responsabilidades del laboratorio.

*A mis tutores Dra. Gladys Castillo Paguaga por darme dirección en el desarrollo de mi tesis y al Dr. **José Luis Bonilla** por su apoyo en mi investigación.*

También agradecer a nuestro buen gobierno que preside el comandante Daniel Ortega Saavedra por brindarnos la oportunidad de estudiar en un proyecto que beneficia y da oportunidades de superación a los profesionales de las diferentes instituciones del estado.

Ing. Luis Alfonso Rodríguez Navarrete. Esp.

DEDICATORIA

Dedico esta Tesis a:

Dios, por darme la vida, sabiduría, fuerza, paciencia y amor para poder culminar con éxito este estudio y seguir profesionalizándome para dar lo mejor de mí en el quehacer diario.

A mi madre por darme la oportunidad, su ayuda incondicional para verme triunfar, paciencia al haber quitado parte de mi tiempo para compartir, el cual entregue en oportunidad de culminar la maestría.

A mis maestros quienes tuvieron la paciencia, el deseo, pero sobre todo las ganas de verme triunfar y poder sacar adelante esta tesis maestra.

Ing. Luis Alfonso Rodríguez Navarrete. Esp.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA, LEÓN
FUNDADA EN 1812
AREA DE CONOCIMIENTO DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIA
(Dirección Específica de Medicina Veterinaria y Zootecnia)

Martes 12 de noviembre León, Nicaragua 2024.

MSc. Osmar Alfredo Soto

Director Específico, Veterinaria y Zootecnia

UNAN – León

Estimado MSc. Soto:

Por medio de la presente aprovecho la ocasión para saludarle y a la vez hacer de su conocimiento que el Ingeniero en Alimentos, **LUIS ALFONSO RODRÍGUEZ NAVARRETE**, N° carné **21-0850263-00006**, egresado de la Maestría en Medicina Preventiva con mención en Higiene e Inocuidad Alimentaria, está listo para defender su tesis que lleva por título, ***“Evaluación in vitro de solventes inorgánicos para la inhibición de patógenos en frutas y hortalizas frescas”***.

Área de estudio: Salud Pública, Enfermedades Crónicas e Infecciosas.

Línea de Investigación: Enfermedades transmitidas por alimentos.

Por lo que le solicito su gestión para que pueda realizarse la revisión pertinente del documento.

Sin más a que referirme me despido de usted, agradeciendo de antemano su colaboración,

Atentamente,

MSc. José Luis Bonilla Espinoza
Tutor

Cc. Archivo.

RESUMEN

El Presente trabajo de investigación tuvo como **objetivo:** Evaluar la eficacia de diferentes solventes inorgánicos (cloro, yodo y peróxido de hidrógeno) para inhibir el crecimiento de patógenos en frutas y hortalizas frescas. **Metodología:** Se analizaron 60 muestras de diversas frutas y hortalizas mediante técnicas microbiológicas como identificación sobre agar en placa, pruebas bioquímicas y tinción de Gram. Se identificaron los patógenos presentes, se realizó una encuesta para determinar los factores de riesgo asociados a la contaminación y finalmente se evaluó la sensibilidad a los solventes inorgánicos utilizando el método de Kirby-Bauer. **Resultados:** El 100% de las muestras presentaron *E. coli* y el 27% *Salmonella spp.* Los factores de riesgo asociados fueron la humedad y el contacto con productos cárnicos. El cloro demostró ser el desinfectante más eficaz, con una clara relación dosis-respuesta. A partir de 50 ppm, el cloro inhibió significativamente el crecimiento de ambos patógenos. El yodo al 10% y el peróxido de hidrógeno al 3% no fueron efectivos en las condiciones experimentales. **Conclusiones:** El 100% de las 60 muestras analizadas (incluyendo nancite, naranja, jocote, papaya, banano, mamón chino, cebolla, chiltoma, tomate, pipián, ajo y lechuga) resultaron contaminadas con *E. coli*. El 23.3% de estas muestras (chiltoma, pipián, lechuga, naranja, jocote, papaya y banano) también presentaron *Salmonella*. La contaminación por *Salmonella* se asoció a factores como la humedad y el contacto con productos cárnicos. Únicamente el cloro, a partir de 50 ppm, demostró eficacia para controlar ambos patógenos

Índice

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo General	4
2.2 Objetivos específicos	4
III. MARCO TEÓRICO	5
3.1 Definición de frutas y Hortalizas	5
3.2 Definición de enterobacterias	5
3.2.1 Descripción de la Bacteria Salmonella (Etiología).....	5
3.2.2 Descripción de la Bacteria E. coli (Etiología)	5
3.2.3. Enfermedades causadas por las enterobacterias.....	6
3.2.4. Impacto de la salmonella en el mundo como patógeno que contamina el alimento.....	6
3.3 Epidemiología y Distribución de las enfermedades transmitidas por alimentos	7
3.3.1 Enfermedades transmitidas por alimentos	7
3.3.2 Vigilancia de las enfermedades transmitidas por alimentos en Nicaragua.	8
3.3.3 Alimentos involucrados con más frecuencia en las epidemias	8
3.4 Solventes Inorgánicos para la eliminación de patógenos.....	9
3.4.1 Hipoclorito de sodio	9
3.4.2 Yodo.....	9
3.4.3 Peróxido de hidrogeno	10
IV. DISEÑO METODOLÓGICO	11
4.1 Tipo de Investigación:	11
4.4 Muestra:	11
4.5 Selección de la muestra:	12
4.6 Criterios de inclusión	12
4.7 Criterios de exclusión	12
4.8 Procedimiento para la recolección de datos:	12
4.9 Procedimiento de laboratorio	12
4.9.1 Aislamiento y Detección de Enterobacterias	12
4.9.2 Pruebas bioquímicas para los aislados de Enterobacterias	13
4.9.3 Tinción de Gram	13
4.9.4 Evaluación de la capacidad inhibitoria (método de difusión en disco).....	13

4.11 Plan de análisis.....	14
4.12 Validez y concordancia de contenido.	14
4.13 Confiabilidad	14
4.14 Operacionalización de Variables.	15
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
5.1 Presencia de Enterobacterias Frutas y vegetales	17
5.2 Factores de riesgos por la presencia de Enterobacterias.....	18
5.3 Capacidad inhibitoria de diferentes solventes inorgánicos para el control de Enterobacterias.	23
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	27
VII. ANEXOS.....	31
“Anexo A” Encuesta para la asociación de factores	31
“Anexo B” Consentimiento Informado	32
“Anexo C” Diagnostico Microbiológico para la identificación de E. coli y Salmonella en Frutas y Hortalizas.....	33
“Anexo D” Imágenes en laboratorio	38

I. INTRODUCCIÓN

Las frutas y Hortalizas desde una perspectiva microbiológica presentan un riesgo alimentario más bajo en comparación con los productos lácteos y las carnes. Sin embargo, si no se lavan adecuadamente o se consumen sin un tratamiento térmico previo, representan un peligroso riesgo de contaminación (Peña et al., 2014) al no ser tratados adecuadamente, estas suelen ser transmisora de patógenos, causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, esto debido a que las condiciones donde se comercializan pueden ser inadecuadas.

(Muñoz J. et al., 2013) evaluaron el grado de contaminación en verduras frescas, en cuatro mercados mayoristas de Lima Perú, las muestras evaluadas fueron 15 por verdura fresca, siendo esta: lechuga, espinaca y espárrago, El estudio determinó que el 18.9% del total de verduras y el 22.2% presentaron niveles de *E. coli* fecales superior a los establecidos en la ICMFS. Además, el 2.2% presentó niveles elevados de *E. coli* Tipo I (Típico) y el 10% de las verduras presentó contaminación por salmonella.

Silvestre & Carolina, (2018) determinaron la presencia de *Salmonella*, *Shigella* y parásitos en frutas y hortalizas comercializados en los mercados y supermercados del distrito de San Borja. Se recolectaron un total de 87 muestras de hortalizas y frutas frescas de mercados de abastos y supermercados. Los resultados fueron Blastocistos hominis en el 100% de las muestras, *Physalis peruviana* con un 14.29% con 2 especies, huevo de *Áscaris* spp y dentro de las bacterias solo hubo prevalencia de *E. coli* y *Staphylococcus aureus*.

Este estudio realizado por Schwan et al., (2022) proporciona información cuantitativa (log UFC/g) y evaluación cualitativa (prevalencia) de enterobacterias, coliformes y *Escherichia coli* en tomate, pepino y lechuga vendidos en Mercados de Camboya. Las muestras fueron 384 en total Se observó una mayor concentración de enterobacterias en lechuga ($4,71 \pm 1,02$ log UFC/g) que en pepino ($3,44 \pm 1,12$ log UFC/g) y tomate ($2,79 \pm 1,02$ log UFC/g) ($P < 0,05$). Los organismos indicadores estuvieron presentes en la mayor prevalencia porcentual ($P < 0,05$) en la lechuga, seguida por pepino y tomate.

(García-Robles et al., 2017) el objetivo principal de esta investigación fue evaluar la concentración y eficiencia durante el tiempo de exposición de nuevos desinfectantes que reducen el deterioro microbiano de estos productos frescos. Se realizaron pruebas de reducción bacteriana (*Escherichia coli*) con los siguientes desinfectantes y en dos concentraciones (10 y 20 ppm), Yodo, Peróxido de Hidrógeno, Ácido Peracético, Cloro Granulado, Hipoclorito de Sodio y Agua Electrolizada. De acuerdo a los resultados del presente estudio, se recomienda el uso del cloro granulado y agua electrolizada en ambas concentraciones (10 y 20 ppm), así como la del ácido peracético a 20 ppm contra la bacteria *E. coli*, dada su alta efectividad en el tiempo máximo de exposición evaluadora (120 min). En el caso del yodo (20 ppm), se puede utilizar los primeros 30 min manteniendo una eficiencia del 100%.

(Avalos et al., 2016) En esta investigación se evalúa la eficiencia desinfectante del Peróxido de Hidrógeno utilizando concentraciones del 3 y 4% para el lavado de lechuga romana, comparándolo con el Hipoclorito de Sodio, a una concentración de 5 ppm. Se obtuvieron excelentes resultados con el Peróxido de Hidrógeno, en la disminución de la carga microbiana de coliformes con un tiempo de contacto por 3 minutos.

La presencia de enterobacterias suele ser uno de los criterios de inocuidad más importantes en la industria de los alimentos específicamente la *Salmonella* y *E. coli*, esto es debido no solo al alto potencial patógeno que poseen, sino a los problemas referidos a la salud pública, como las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) la salmonelosis o la fiebre tifoidea y diarrea; infecciones urinarias, enfermedades respiratorias e infecciones del torrente sanguíneo para el caso de *E. coli*.

Nicaragua es un País que distribuye, comercializa y venden grandes cantidades de productos agrícolas en especial las frutas y Hortalizas que son de consumo básico y frecuente, estos son obtenido generalmente en el mercado por su bajo costo , fácil acceso y disponibilidad , sin embargo las condiciones en las que se encuentran los expendios del mercado muchas veces no son higiénicas, ni inocuas, por lo que en algunos casos se puede observar alimentos con cierto grado senescencia, deterioro y putrefacción, estas malas prácticas ofrecen las condiciones necesarias para el crecimiento de Mohos y bacterias que podrían generar brotes de enfermedades.

La Medicina Preventiva siempre ha tenido como fin crear promoción y prevención para que las persona tenga a tiempo, información para prevenir la enfermedades infecto contagiosas, zoonóticas y también aquellas que son transmitidas por alimentos, con el objetivo de contribuir a la salud pública y en línea con los principios de la medicina preventiva, esta investigación busca identificar soluciones prácticas para reducir la contaminación bacteriana en frutas y hortalizas para ella se evalúa la efectividad de diversos solventes inorgánicos y se analizarán los factores asociados a la presencia de enterobacterias en un mercado de León, Nicaragua.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Evaluar in vitro diferentes solventes inorgánicos para la inhibición de patógenos en frutas y hortalizas frescas

2.2 Objetivos específicos

- Detectar la presencia de enterobacterias en frutas y hortalizas mediante cultivos bacteriológicos.
- Asociar factores de riesgos con la presencia de las bacterias en las frutas y Hortalizas.
- Determinar la capacidad inhibitoria de diferentes solventes inorgánicos (Peróxido de hidrogeno al 3%, Cloro al 3%; Yodo al 10%) para el control de bacterias.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Definición de frutas y Hortalizas

La FAO, (2021) define a las frutas y hortalizas como “*partes comestibles de las plantas (p. ej., las estructuras con semillas, las flores, las yemas, las hojas, los tallos, los brotes y las raíces), ya sean cultivadas o cosechadas en estado silvestre, en bruto o en una forma mínimamente procesada*”. (p.17).

3.2 Definición de enterobacterias

Al referirse a las enterobacterias Ryan, (2022) Define que:

Las enterobacterias son una familia grande y diversa de bacilos gramnegativos, cuyos miembros son tanto de vida libre como parte del microbiota autóctono de humanos y animales; algunas están adaptadas estrictamente a los humanos. Crecen con rapidez en condiciones aeróbicas o anaeróbicas y son metabólicamente activas. Son la causa más común de infecciones de las vías urinarias (UTI, urinary tract infections), y un número limitado de especies también son agentes etiológicos importantes de la diarrea. La diseminación al torrente sanguíneo causa choque por liberación de endotoxinas gramnegativas, una complicación temida y a menudo mortal. (p. 2)

3.2.1 Descripción de la Bacteria Salmonella (Etiología)

La *Salmonella* es una enterobacteria, de morfología bacilar, gramnegativa, no esporulada, móvil, es anaerobio facultativo, de pigmento rojizo y su crecimiento ideal es a temperaturas de 37°C. Por otra parte, la contraindicación que causan estas bacterias es una enfermedad conocida como salmonelosis que genera una alta deshidratación, dolor abdominal, diarrea, somnolencia y náuseas (Rodríguez Andrade et al., 2020, p. 25)

3.2.2 Descripción de la Bacteria E. coli (Etiología)

La *Escherichia coli* es un coliforme fecal que crece a temperaturas elevadas entre 44,5 o 45 °C, en diversos sustratos, y utilizan como fuente de energía carbohidratos y compuestos orgánicos. Como fuente de nitrógeno, algunos compuestos nitrogenados, esta logra crecer dentro de un intervalo de temperaturas amplio (10-46 °C), se caracterizan por su capacidad para producir importantes cantidades de ácido y gas a partir de azúcares, por lo que generan sabores desagradables. La presencia de coliformes fecales en un alimento es un indicador de calidad, porque el que esté presente en el derivado lácteo es por una falla higiénica del manipulador; su existencia puede generar trastornos gastrointestinales, infecciones urinarias, meningitis y casos muy graves de bacteriemias. (Rodríguez Andrade et al., 2020 p. 21)

3.2.3. Enfermedades causadas por las enterobacterias

Riedel et al., (2020) explica que:

E. coli es un miembro del microbiota intestinal normal. Otras bacterias entéricas (especies de los géneros *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter* y *Serratia*) también se encuentran como miembros del microbiota intestinal normal, pero en consideración son menos comunes que la *E. coli*. Las bacterias entéricas a veces se encuentran en pequeñas cantidades como parte del microbiota normal de las vías respiratorias superiores y genitales. Las bacterias entéricas generalmente no causan enfermedades y, en el intestino, pueden incluso contribuir a un funcionamiento y una nutrición normales. Cuando ocurren infecciones clínicamente importantes, en general son causadas por *E. coli*, pero las otras bacterias entéricas son causantes de infecciones hospitalarias, y a veces, producen infecciones extrahospitalarias. Las bacterias se vuelven patógenas solamente cuando alcanzan a los tejidos fuera de sus zonas intestinales normales u otros sitios de microbiota normales menos frecuentes (p. 6).

3.2.4. Impacto de la salmonella en el mundo como patógeno que contamina el alimento.

La OPS, (2022) da a conocer una publicación explicando lo siguiente:

La *Salmonella* spp. es uno de los principales agentes bacterianos causantes de enfermedad diarreica en el mundo; su conocimiento y vigilancia son fundamentales para la contención de la resistencia antimicrobiana (RAM) que se expande rápidamente, tiene potencial de generar brotes de enfermedades alimentarias; al encontrarse naturalmente en el ambiente, puede contaminar algunos alimentos si estos no son adecuadamente preparados o manipulados.

3.3 Epidemiología y Distribución de las enfermedades transmitidas por alimentos

3.3.1 Enfermedades transmitidas por alimentos

La OPS, (2023) Define a las Enfermedades transmitidas por alimentos como:

Un incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo alimento y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad.

Los brotes pueden involucrar números diferenciados de casos (un individuo afectado es lo que se entiende como "caso"). Un único caso de botulismo, envenenamiento químico o de una enfermedad que no se encuentre en el país, puede ser suficiente para desencadenar acciones relativas a un brote epidémico, debido a la gravedad de la enfermedad provocada por esos agentes. Además, es importante observar que pueden ocurrir casos aislados de enfermedades de origen alimentario.

Los brotes y casos de ETA registrados representan apenas la "punta del iceberg". La probabilidad de que un brote o caso se reconozca y notifique por las autoridades de salud depende, entre otros factores, de la comunicación de los consumidores, del relato de los médicos y de las actividades de vigilancia sanitaria de las secretarías municipales, departamentales y provinciales de salud.

3.3.2 Vigilancia de las enfermedades transmitidas por alimentos en Nicaragua.

El Ministerio de salud nicaragüense MINSA, (2015) explica que:

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen un importante problema de Salud Pública por su magnitud, tendencia creciente, emergencia y reemergencia de algunos patógenos, donde aparecen nuevos escenarios epidemiológicos y formas de transmisión, incremento de la resistencia antimicrobiana e impacto social y económico.

En la vigilancia de las enfermedades transmitidas por alimentos es esencial caracterizar la dinámica epidemiológica, orientar la planificación de las políticas, estrategias de promoción, prevención y control, así mismo evaluar el impacto de las intervenciones de los programas de inocuidad de alimentos e identificar áreas prioritarias de investigación, particularmente a nivel local, consolidar la capacidad de análisis, uso de la información y la retroalimentación a los distintos niveles del sistema.

3.3.3 Alimentos involucrados con más frecuencia en las epidemias

3.3.3.1. Productos Pecuarios

Para que se produzcan una ETA, el patógeno o su toxina debe estar presente en el alimento. Sin embargo, la mera presencia de un patógeno no necesariamente causa una enfermedad, los productos afectados comúnmente suelen ser, la carne de vacuno, huevos, cerdo, aves, pescado, crustáceos, moluscos o productos lácteos (OPS, 2023).

3.3.3.2. Frutas y hortalizas

Existe muy poca información de brotes, intoxicaciones o enfermedades transmitidas por el consumo de frutas y hortalizas frescas.

3.4 Solventes Inorgánicos para la eliminación de patógenos

3.4.1 Hipoclorito de sodio

El Hipoclorito de sodio (NaClO) es utilizado a gran escala para la desinfección de superficies, equipos y mesas de trabajo que sean resistentes a la oxidación, eliminación de olores, desinfección de agua y tratamiento de alimentos. Entre sus muchas propiedades se incluye su amplia y rápida actividad antimicrobiana, relativa estabilidad, fácil uso y bajo costo. El hipoclorito de sodio de uso doméstico viene normalmente en una concentración entre 3-6%. Cuando se mantiene en su recipiente original, a temperatura ambiente y sin destapararlo, puede conservarse durante un mes, pero cuando se ha usado para preparar soluciones, se debe cambiar diariamente. El hipoclorito de sodio es letal para varios microorganismos, virus y bacterias vegetativas, pero es menos efectivo contra esporas bacterianas, hongos y protozoarios. (OIRSA, 2020)

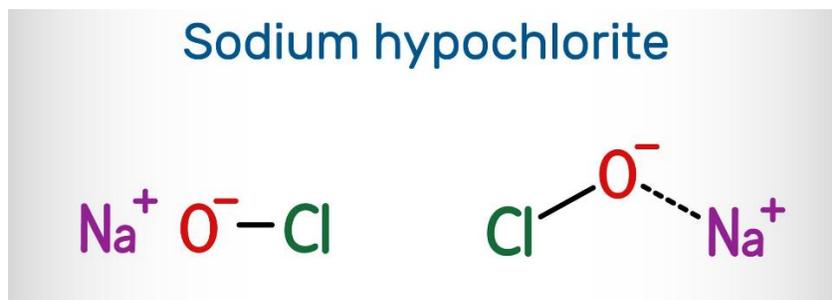


Figura 1: Fórmula y estructura del hipoclorito de sodio (Pacheco Espejel et al., 2018)

3.4.2 Yodo

El yodo se utiliza como antiséptico tópico para el tratamiento y prevención de infecciones (bacterias, hongos, virus, protozoos, quistes y esporas) en heridas y para la preparación preoperatoria de la piel y las membranas mucosas (CDC, 2021)

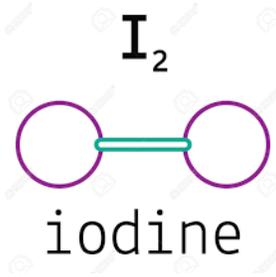


Figura 2: Formula y estructura del yodo (González Muradás & Montagut Bosque, 2015)

3.4.3 Peróxido de hidrogeno

El peróxido de hidrógeno es considerado desinfectante de alto nivel. El reprocesado de material sanitario semicrítico para su desinfección tiene lugar a través de contacto con líquido desinfectante y puede ser manual o automático. El tiempo de contacto oscila entre 8 y 45 min a temperaturas entre 20 y 25 °C (Hernández et al., 2014)

Hydrogen Peroxide

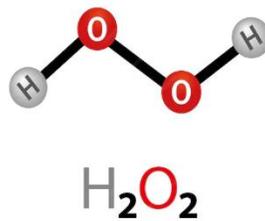


Figura 3: Formula y estructura del peróxido de hidrogeno (Correa, 2015)

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de Investigación:

La presente investigación es de tipo Descriptivo-Asociativo y experimental, de corte transversal; ya que describe la presencia o ausencia de enterobacterias y asocia a la presencia de estas a las condiciones higiénico-sanitarias de los establecimientos, así mismo se evalúa la capacidad inhibitoria por medio de la sensibilidad o resistencia a los solventes inorgánicos por el método de difusión en disco.

4.2 Área de estudio:

El estudio fue realizado en los diferentes establecimientos de un mercado de León-Nicaragua que vende frutas y hortalizas frescas.

4.3 Población:

Se tomaron 71 establecimientos de que venden frutas y hortalizas frescas en el mercado en el periodo de septiembre a octubre del año 2024

4.4 Muestra:

Se calculo el tamaño de la muestra para una población de 71 establecimientos en el software Epi-info en Statcal correspondiente a una muestra de 60 establecimientos, tomando en cuenta un margen de error del 5% y un nivel de confianza del 95%

El muestreo de las frutas y hortalizas se realizó bajo los lineamientos de la Norma **NTON 17-002-02**, para un total de 60 muestras analizadas tomando una muestra de fruta u hortaliza por establecimiento.

Para esta investigación se analizó seis muestras de frutas (**Nancite, Naranja, jocote, papaya, banano, mamon chino**) y seis muestras de hortalizas (**cebolla, chiltoma, tomate, pipián, ajo, lechuga**).

4.5 Selección de la muestra:

La muestra seleccionada en esta investigación es no probabilística o por conveniencia esto porque los establecimientos al no tener las mismas condiciones y unidades de investigación (frutas y hortalizas) no pueden ser escogidos por el azar.

Se tomo una muestra por establecimiento en el orden de **Nancite, Naranja, jocote, papaya, banano, mamon chino, cebolla, chiltoma, tomate, pipián, ajo, lechuga**, en base a lo que se vendía o comerciaba hasta llegar a los 60 establecimientos.

4.6 Criterios de inclusión

Puestos de ventas que ofertaban frutas y hortalizas frescas

Que tuvieran al menos una de la frutas y hortalizas que se tienen en estudio

4.7 Criterios de exclusión

Expendios que no vendieran frutas y hortalizas frescas

4.8 Procedimiento para la recolección de datos:

Para la identificación de patógenos se realizó el método sobre agar Müller Hilton en placa para conocer la presencia y ausencia de estos

En la recolección de datos se utilizó como instrumento la encuesta (**ver Anexo B**) y su aplicación se realizó con el fin de conocer los factores de riesgos asociados a la presencia de entero bacterias en las frutas y vegetales.

Finalmente, para conocer la capacidad inhibitoria de los solventes orgánicos, se llevó a cabo por el método de difusión en disco.

4.9 Procedimiento de laboratorio

4.9.1 Aislamiento y Detección de Enterobacterias

Para el análisis de productos agrícolas el tamaño de la porción es de 25 ± 0.5 gramos según el manual analítico bacteriológico de la Food and Drug Administration FDA (FDA, 2024) para la identificación de enterobacterias según, previamente se homogenizo en

pre-enriquecimiento medio líquido no selectivo (Agua peptonada) y se incubó durante 18 ± 2 horas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, enriquecimiento medio selectivo líquido RV (Caldo Rappaport–Vassiliadis), VB (Verde Brillante Bilis 2%) y S (Selenito), Caldo TT (Tetracionato) y se incubó durante 24 ± 2 horas a $42\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego, se inoculó placas con medios sólido-selectivos y diferenciales para el aislamiento presuntivo de *Salmonella* spp. y *E. coli* [Agar MacConkey (MK) Agar Sangre (AS) Agar *Salmonella*-*Shigella* (SS), Verde Brillante (BG) y Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD)]

4.9.2 Pruebas bioquímicas para los aislados de Enterobacterias

Para la identificación bioquímica de los aislados se utilizó los siguientes medios: citrato de Simmon, LIA (Agar Lisina y hierro) y TSI (Triple Azúcar Hierro) La inoculación de los aislados bacterianos se realizó de acuerdo con las especificaciones de cada medio de cultivo y se incubó a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48 h. Con los resultados de las pruebas bioquímicas se determinará el género y especie de los aislados.

4.9.3 Tinción de Gram

Se realizó la tinción de gram para la diferenciación entre bacterias Gram positivas y Gram negativas a partir de la muestra, con el fin de obtener una primera aproximación a su identificación y orientar el tratamiento con los solventes orgánicos.

4.9.4 Evaluación de la capacidad inhibitoria (método de difusión en disco)

Se utilizó el método de Kirby-Bauer y se probaron diferentes soluciones de Cloro, Yodo y Peróxido de Hidrógeno a 50ppm, 100ppm, 150ppm, 200ppm para evaluar la capacidad óptima y conocer la concentración inhibitoria de los diferentes solventes inorgánicos ante los agentes patógenos.

4.10 Fuentes de información

La fuente de información es primaria, esto porque se realizó un cuestionario y pruebas microbiológicas para la obtención de esta.

4.11 Plan de análisis

Para la identificación de patógenos se representó por medio de graficas de barra para conocer la cantidad porcentual y entera de las muestras con presencia de enterobacterias

Para los factores asociados se realizará la prueba de **X² cuadrado de independencia** para conocer cuáles son las variables de riesgo asociadas a la presencia de las bacterias.

Finalmente se realizará un **gráfico de barra** para conocer la diferencia entre los diferentes solventes orgánicos aplicados a las muestras en estudio con presencia de enterobacterias.

4.12 Validez y concordancia de contenido.

La encuesta aplicada en esta investigación se validó en el área de inocuidad para productos agrícolas, Tecnología de Frutas y Hortalizas, así como también en Higiene de productos vegetales por medio del índice de validez de contenido de Hernández-Nieto (Pedrosa et al., 2014) obteniendo una puntuación de 0.93.

4.13 Confiabilidad

El grado de confiabilidad se determinó por medio de la prueba **KR 20** para instrumentos dicotómicos donde se obtuvo una confiabilidad de $\alpha = 0.811$, es decir, el instrumento es de excelente confiabilidad.

4.14 Operacionalización de Variables.

Tabla 1

Descripción de las variables

Objetivos específicos	Variables	Definición	Indicadores	Técnica	Fuente de información	Instrumento
Determinar presencia de enterobacterias en Vegetales mediante cultivos bacteriológicos	Enterobacterias	Son la causa más común de infecciones de vías urinarias (UTI) y un número limitado de especies también son agentes causales de diarrea.(J et al., 2017)	Presencia o ausencia	Identificación sobre agar en Placa Tinción de Gram Pruebas bioquímicas	Frutas y vegetales Frescos	Prueba Microbiológica
Asociar factores de riesgos por la presencia de la bacteria en las frutas y vegetales.	Factores de riesgo	Cualquier característica o circunstancia detectable de una persona o grupo de personas que está asociada con un aumento en la probabilidad de padecer, desarrollar o estar especialmente expuesto a una enfermedad.(Senado Dumoy, 1999)	Presencia o ausencia de los factores	Recolección de datos cuantificables	Expendios de frutas y vegetales	Encuestas sobre los Factores higiénicos Sanitarios

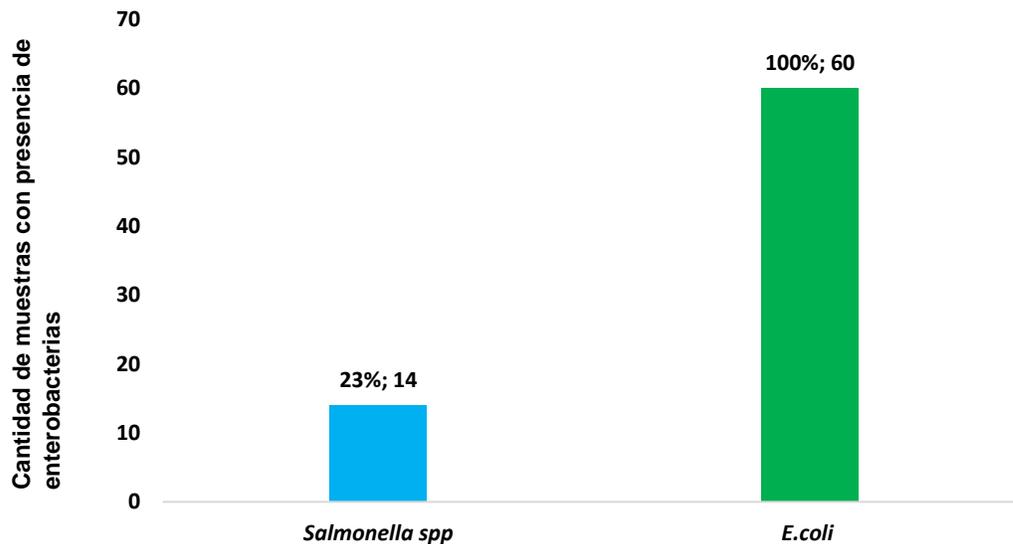
<p>Conocer la capacidad inhibitoria de diferentes solventes inorgánicos para el control de bacterias</p>	<p>Concentración inhibitoria (sensibilidad)</p>	<p>Una bacteria es sensible a una sustancia cuando esta, a una concentración alcanzable que inhibe o mata al microorganismo.(Calvo & Martínez-Martínez, 2009)</p>	<p>Concentración a 50ppm, 100ppm, 150ppm, 200ppm Medida de Halo</p>	<p>Método de Difusión de Disco</p>	<p>Medición con pie de rey</p>	<p>Prueba microbiológica Antibiograma</p>
--	---	--	---	------------------------------------	--------------------------------	---

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Presencia de Enterobacterias Frutas y vegetales

Figura 4

Cantidad de muestras con presencia de *E. coli* y *Salmonella*

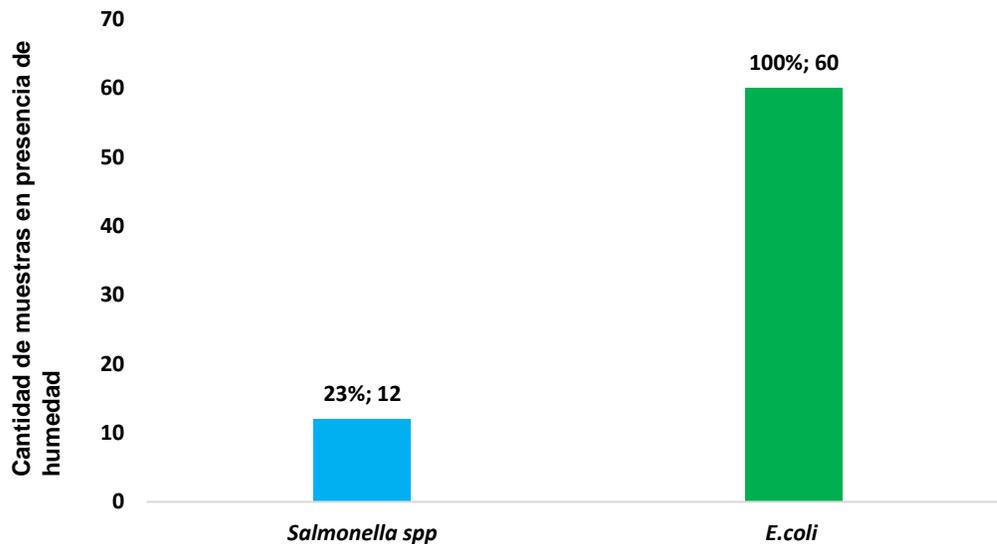


En la **Figura** se observa una prevalencia del 100% (60/60) de *Escherichia coli* en todas las muestras analizadas de frutas y hortalizas. Por otro lado, el 27% (60/14) de estas muestras presentaron contaminación por *Salmonella spp* siendo las muestras: chiltoma, pipián, lechuga, naranja, jocote, papaya y banano. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Muñoz et al. (2013), quienes reportaron una prevalencia de *Escherichia coli* del 18.9% y de *Salmonella* del 10% en verduras.

5.2 Factores de riesgos por la presencia de Enterobacterias

Figura 5

Factor Humedad

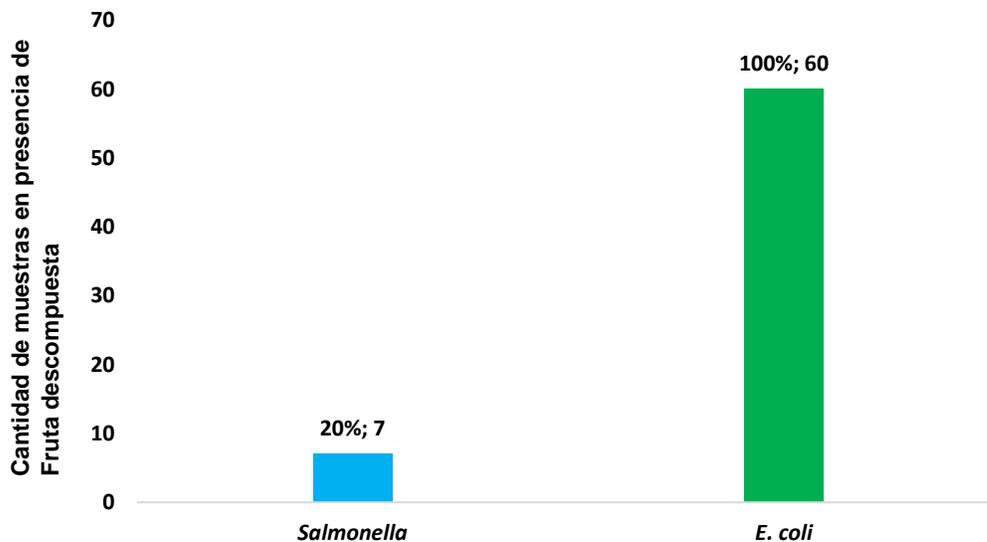


Los resultados presentados en la **Figura se** evidencia una fuerte asociación entre la presencia de humedad y la detección de *Salmonella spp* ($p < 0.001$). De los 14 casos de *Salmonella* identificados, 12 casos se asocian a condiciones de alta humedad. Estos hallazgos sugieren que la humedad podría ser un factor clave en la proliferación de *Salmonella*.

A diferencia de *salmonella*, no se encontró una relación estadísticamente significativa entre la presencia de humedad y la detección de *E. coli*. Esto sugiere que otros factores, además de la humedad, influyen en la distribución de esta bacteria en las muestras analizadas.

Figura 6

Factor presencia de Fruta descompuesta

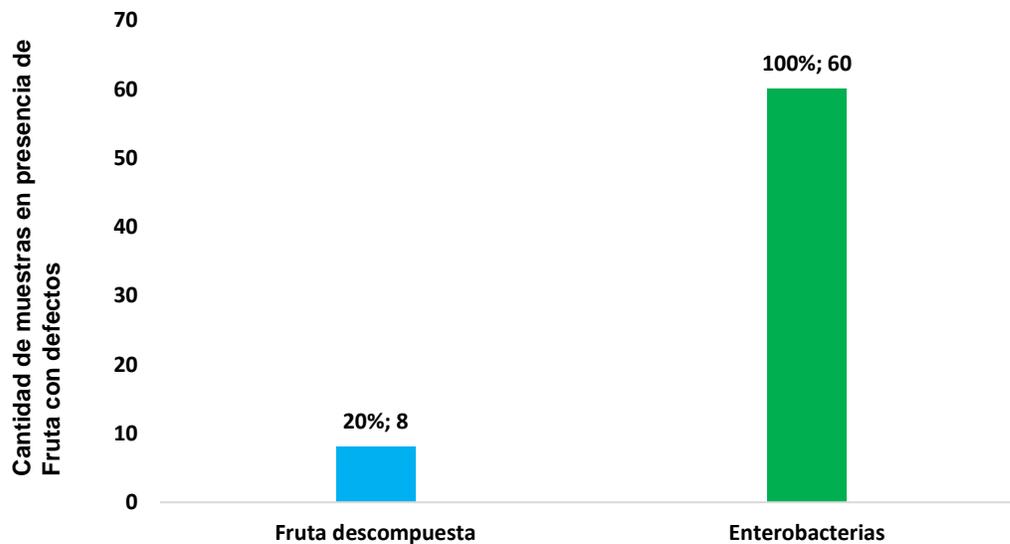


La **Figura** muestra que, de los 14 casos de Salmonella identificados, el 50% (7 casos) se asoció con la presencia de fruta descompuesta. Sin embargo, al aplicar la prueba de Chi Cuadrado no se encontró una relación significativa entre la presencia de fruta descompuesta y la detección de Salmonella ($p = 0.88$). Esto indica que, aunque se observó una asociación en un subconjunto de los casos, no es suficiente para establecer una relación causal general.

Por otro lado, la presencia de *E. coli* se detectó en todas las muestras analizadas, independientemente de la presencia o ausencia de basura. Esta alta prevalencia sugiere que otros factores, además de la fruta descompuesta, podrían estar contribuyendo a la contaminación por *E. coli*.

Figura 7

Factor Fruta con defectos (suciedad, aberturas, cortadas con exposición y senescencia)

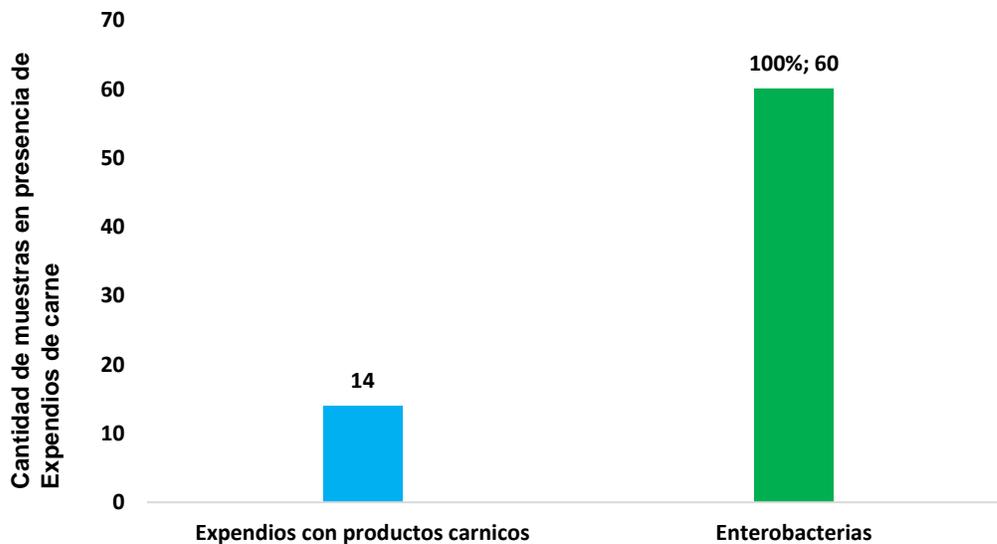


La **Figura** muestra que, de los 14 casos de *Salmonella* identificados, 8 casos se asociaron con la presencia de Fruta descompuesta. Sin embargo, la prueba de chi cuadrado no encontró una relación significativa entre la presencia de basura y la detección de *Salmonella* ($p = 0.23$). Esto sugiere que, aunque se observó una asociación en un subconjunto de los casos, no es suficiente para establecer una relación causal general.

Por otro lado, la presencia de *E. coli* se detectó en todas las muestras analizadas, independientemente de la presencia o ausencia de fruta con defectos. Esta alta prevalencia indica que otros factores, además de la condición de la fruta, podrían estar contribuyendo a la contaminación por *E. coli*.

Figura 8

Factor presencia de expendios con productos cárnicos

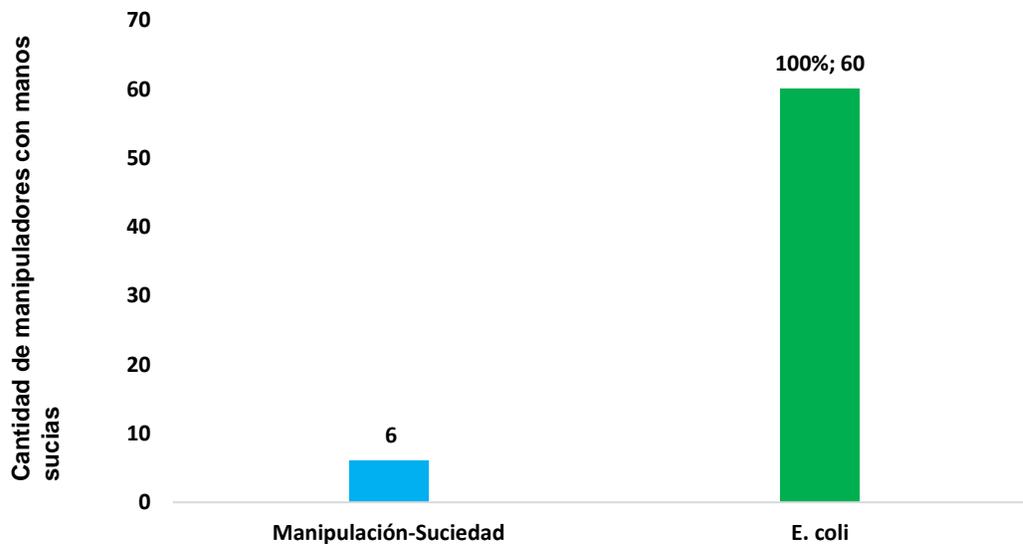


En la **Figura** muestra una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de enterobacterias como *Salmonella* y la existencia de expendios de carne ($p = 0.001$). El 100% de los casos de *Salmonella* se vinculó a estos expendios, sugiriendo una fuerte relación causal. Esta asociación se atribuye principalmente a la contaminación cruzada que ocurre durante el procesamiento de la carne. Al cortar la carne, las salpicaduras pueden dispersar bacterias como la *Salmonella* hacia superficies y otros alimentos, como frutas y hortalizas. Esta práctica poco higiénica facilita la propagación de la bacteria en todo el entorno.

La presencia de *E. coli* se detectó en todas las muestras analizadas, independientemente de la presencia de expendios de carne. Esta alta prevalencia sugiere que múltiples factores, más allá de la proximidad a los expendios, influyen en la distribución de esta bacteria. Factores como las prácticas de higiene de los manipuladores del mercado podrían estar contribuyendo a su presencia generalizada.

Figura 9

Factor Manipulación-Suciedad



La **Figura** muestra que, de los 14 casos de la enterobacteria *salmonella*, 6 están asociados a la manipulación de frutas y hortalizas con las manos sucias. Sin embargo, no se encontró una relación estadísticamente significativa entre esta práctica y la presencia de *Salmonella* ($p = 0.775$). Esto indica que la manipulación de alimentos con manos sucias no parece ser el principal factor determinante en la presencia de *Salmonella* en las muestras analizadas

La presencia de *E. coli* se detectó en todas las muestras analizadas, independientemente de si las frutas y hortalizas fueron manipuladas con las manos sucias. Esta alta prevalencia de *E. coli* sugiere que múltiples factores, más allá de las prácticas de higiene del manipulador, influyen en su distribución. Factores como la contaminación fecal de fuentes externas, las prácticas agrícolas y la calidad del agua de riego podrían estar contribuyendo a su presencia generalizada.

5.3 Capacidad inhibitoria de diferentes solventes inorgánicos para el control de Enterobacterias.

Tabla 2

Concentración inhibitoria para los solventes inorgánicos

Solventes inorgánicos (medidas de halo en el antibiograma)			
Concentración	Cloro	Yodo 10%	Peróxido de hidrogeno al 3%
50ppm	17.5mm	0 mm	0 mm
100ppm	18.5 mm	0 mm	0 mm
150ppm	19.5 mm	0 mm	0 mm
200ppm	20.5 mm	0 mm	0 mm

Los resultados sugieren que, bajo las condiciones experimentales, el cloro es más efectivo que el yodo al 10% y el peróxido de hidrógeno al 3% para inhibir el crecimiento de *E. coli* y *Salmonella*. En el caso del cloro, se observa una relación dosis-respuesta, es decir, a mayor concentración, mayor zona de inhibición, Los resultados de este estudio demuestran que el cloro es eficaz para inactivar *E. coli* y *salmonella* en frutas y hortalizas. Estos hallazgos están en línea con las recomendaciones del (OIRSA, 2020) , que establece el uso de concentraciones de cloro de 100-200 ppm con un tiempo de contacto de 1-2 minutos en la desinfección de productos vegetales.

Los resultados de esta investigación contrastan con los hallazgos de García-Robles et al. (2017) y Avalos et al. (2016), quienes reportaron cierta eficacia del yodo y peróxido de hidrógeno en la desinfección de productos frescos. Sin embargo, esta investigación, utilizando concentraciones similares de yodo (10%) y peróxido de hidrógeno (3%), no evidenciaron una inhibición significativa de *E. coli* y *Salmonella*. Estos resultados subrayan la importancia de evaluar la eficacia de los solventes bajo condiciones específicas, como el tipo de alimento, la carga microbiana inicial y el tiempo de contacto.

Por otro lado, los resultados corroboran la efectividad del cloro como desinfectante, coincidiendo ambas investigaciones previas. La concentración de 50 ppm de cloro demostró ser altamente eficaz para reducir la carga bacteriana, superando a los otros desinfectantes evaluados.

CONCLUSIÓN

El 100% de las 60 muestras analizadas (incluyendo nancite, naranja, jocote, papaya, banano, mamón chino, cebolla, chiltoma, tomate, pipián, ajo y lechuga) resultaron contaminadas con E. coli. El 23.3% de estas muestras (chiltoma, pipián, lechuga, naranja, jocote, papaya y banano) también presentaron Salmonella. La contaminación por Salmonella se asoció a factores como la humedad, y el contacto con productos cárnicos. Únicamente el cloro, a partir de 50 ppm, demostró eficacia para controlar ambos patógenos

Recomendaciones

Se debe establecer un programa de capacitación continua para los manipuladores de alimentos en los puestos de frutas y vegetales a cargo del MINSA, con el objetivo de mejorar sus prácticas y garantizar la calidad sanitaria de los productos.

El IPSA debe fortalecer sus acciones de control y vigilancia en los mercados agrícolas, promoviendo la adopción de buenas prácticas agrícolas y asegurando que los productos cumplan con los estándares de calidad e inocuidad.

Como medida preventiva, se recomienda desinfectar frutas y hortalizas con una solución clorada al 50-200 ppm durante 1-3 minutos antes de su consumo o procesamiento. Esta práctica simple puede reducir significativamente el riesgo de contaminación bacteriana.

Se recomienda realizar investigación en los siguientes temas:

- Evaluación de la eficacia de diferentes métodos de desinfección.
- Análisis de la resistencia a antimicrobianos en patógenos alimentarios.
- Estudio de los factores socioeconómicos que influyen en las prácticas de higiene alimentaria.
- Análisis de trazabilidad en los productos agrícolas
- Identificación de serovares *E. coli* y *Salmonella* predominantes en diferentes Frutas y Hortalizas.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Avalos, R., Acevedo, R., & Vargas, R. (2016). *EFICIENCIA DESINFECTANTE DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 3 Y 4 % EN EL LAVADO DE LECHUGA ROMANA (Lactuca sativa L)*. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/2/24.pdf
- Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(1), 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>
- CDC. (2021, enero 26). *Yodo (Iodine)*. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs158.html
- Correa, H. S. (2015). *Nomenclatura química*. Grupo Editorial Patria. <https://elibro.net/es/lc/unanleon/titulos/39457>
- FAO. (2021). *Frutas y hortalizas*. FAO, CIRAD. <https://doi.org/10.4060/cb4173es>
- FDA. (2024). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
- García-Robles, J. M., Medina-Rodríguez, L. J., Mercado-Ruiz, J. N., & Báez-Sañudo, R. (2017). Evaluación De Desinfectantes Para El Control De Microorganismos En Frutas Y Verduras. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 18(1), 9-22.
- González Muradás, R. M., & Montagut Bosque, P. (2015). *Química*. Grupo Editorial Patria. <https://elibro.net/es/lc/unanleon/titulos/39463>

Hernández, M., Celorrio, J., Moros, C., & Solano, V. (2014). *Fundamentos de antisepsia, desinfección y esterilización*. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X14001839>

J, K., C, R., & Ray, G. (2017). *Enterobacterias*. McGraw Hill Medical. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=162984036&bookid=2169>

MINSA. (2015). *Norma y Manual de Procedimientos Para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos*. <https://www.minsa.gob.pe/sites/default/files/2023-02/NORMA%20Y%20MANUAL%20DE%20PROCEDIMIENTOS%20PARA%20LA%20VIGILANCIA%20DE%20LAS%20ENFERMEDADES%20TRANSMITIDAS%20POR%20ALIMENTOS.pdf>

Muñoz J., S., Vilca L., M., Ramos D., D., & Lucas L., J. (2013). FRECUENCIA DE ENTEROBACTERIAS EN VERDURAS FRESCAS DE CONSUMO CRUDO EXPENDIDAS EN CUATRO MERCADOS DE LIMA, PERÚ. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(3), 300-306. <https://doi.org/10.15381/rivep.v24i3.2578>

OIRSA. (2020, junio 6). *Guía para el uso de cloro como desinfectante en establecimientos*. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.oirsa.org/contenido/2020/Guia%20para%20uso%20de%20cloro%20como%20desinfectante%20en%20establecimientos%2023.06.2020.pdf](https://www.oirsa.org/contenido/2020/Guia%20para%20uso%20de%20cloro%20como%20desinfectante%20en%20establecimientos%2023.06.2020.pdf)

- OPS. (2022). *Salmonella: En la mira de las entidades de vigilancia - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud*. <https://www.paho.org/es/noticias/4-11-2022-salmonella-mira-entidades-vigilancia>
- OPS. (2023). *Enfermedades transmitidas por alimentos—OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud*. <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmitidas-por-alimentos>
- Pacheco Espejel, M. P., Alvarado Arellano, M., & Sánchez Aguilar, J. (2018). *Química experimental*. Grupo Editorial Patria.
<https://elibro.net/es/lc/unanleon/titulos/40187>
- Pedrosa, I., Suárez-Álvarez, J., & García-Cueto, E. (2014). Evidencias sobre la Validez de Contenido: Avances Teóricos y Métodos para su Estimación [Content Validity Evidences: Theoretical Advances and Estimation Methods]. *Acción Psicológica*, 10(2), 3. <https://doi.org/10.5944/ap.10.2.11820>
- Peña, Y. P., Castilloll, V. L., SuárezIII, A. R., VaraIV, J. C., MolejónV, P. L., MuñozVI, Y. P., & MoreiraVII, D. (2014). *Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana*.
- Riedel, S., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Detrick, B., Mitchell, T. G., Sakanari, J. A., Hotez, P., & Mejia, R. (2020). Bacilos gramnegativos entéricos (enterobacterias). En *Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología Médica, 28e* (Vol. 1-Book, Section). McGraw-Hill Education.
accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?aid=1175107408

Rodríguez Andrade, R., Góngora Marín, P. A., & Amado Agudelo, N. (2020). *Análisis funcional y microbiológico de derivados lácteos y cárnicos*. Universidad de La Salle. <https://elibro.net/es/ereader/unanleon/215011?page=25>

Ryan, K. J. (2022). Enterobacteriaceae. En *Microbiología Médica, 8e* (Vol. 1-Book, Section, p. 2). McGraw-Hill Education.
accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?aid=1196255239

Senado Dumoy, J. (1999). Los factores de riesgo. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 15(4), 446-452.



VII. ANEXOS

“Anexo A” Encuesta para la asociación de factores

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, UNAN-LEÓN

DIRECCIÓN ESPECIFICA DE VETERINARIA, ZOOTECNIA y AGROPECUARIA

La siguiente Encuesta se realiza con el fin de conocer los factores de riesgo que afectan las condiciones higiénico-sanitarias de las Frutas y Hortalizas expendios del mercado, la cual fue llenada de manera observacional.

N° de Expendio _____ Muestra Tomada _____ Fecha ____ / ____ / ____

1. Humedad (aguas negras y aguas con excreciones de animales en contacto con las frutas y hortalizas)
Si () No ()
2. Presencia de Fruta descompuesta (Fruta buena en contacto con fruta descompuesta)
Si () No ()
3. Fruta con defectos (suciedad, aberturas, cortadas con exposición y senescencia)
Si () No ()
4. Presencia de expendios que venden un alimento diferente (carne de pollo, cerdo, res y pescado)
Si () No ()
5. Se manipula las frutas y Hortalizas con las manos sucias
Si () No ()



“Anexo B” Consentimiento Informado

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, UNAN-LEÓN DIRECCIÓN ESPECÍFICA DE VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Yo _____ Exp.Nº_ decl

aro que he sido informado e invitado a participar en la investigación con el título:
“Evaluación in vitro de solventes Inorgánicos para la inhibición de patógenos en frutas y hortalizas frescas.”

Entiendo que este estudio busca conocer (**la presencia de enterobacterias**) y sé, que la evaluación microbiológica de las muestras de frutas y hortalizas que comercializo se llevará a cabo en la (**Escuela de Ciencias Agrarias y veterinaria**). Me han explicado que la información registrada será confidencial, y que los nombres y el lugar de donde procede la muestras serán asociados a un número de serie, esto significa que los resultados de los análisis no podrán ser conocidos por otras personas, ni tampoco ser identificadas en la fase de publicación de los resultados de este estudio.

Estoy en conocimiento que los datos no me serán entregados y que no habrá retribución por la participación en este estudio, sé que esta información podrá beneficiar de manera indirecta y por lo tanto tiene un beneficio para la sociedad.

Acepto voluntariamente participar en este estudio y he recibido una copia del presente documento.

Firma participante: _____

Fecha: __/__/__

Si tiene alguna pregunta o duda acerca del estudio puede comunicarse con: Luis Alfonso Rodríguez Navarrete estudiante de la **Maestría en medicina preventiva con Mención en Higiene e Inocuidad Alimentaria** que oferta la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria (ECAV_UNAN-León) Tel: + **505 8555-7823**.

“Anexo C” Diagnostico Microbiológico para la identificación de E. coli y Salmonella en Frutas y Hortalizas.

Tabla 3

Identificación de colonias E. coli y salmonella sobre Agar en placa para la semana N°1, N°2 y N°3

		Morfología colonial sobre agares en placa y microscopia						
N°	ID	Muestra	MCK MacConkey	SS Salmonella- Shiguella	XLD Xilosa-Lisina- Desoxicolato	(BG) Sulfa Agar	Agar Sangre	Microscopia
S E M A N A N°1, N°2 N°3	F R U T A S	Nancite	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo- verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
		Naranja	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo- verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
		Jocote	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo- verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
		Papaya	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo- verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
		Banano	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo- verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
		Mamon Chino	Colonias Rosado-Rojizas	Colonias incoloras, rosado o beige,	Colonias Amarillas,	Colonias Amarillo- verdosas sobre fondo	γ-Hemolisis	Bacilos Gram (-)

			Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	circulares, medianas o grandes	opacas con fondo amarillo	verde, circulares medianas y pequeñas.	Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	
H O R T A	Cebolla	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)	
	Chiltoma	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)	
L I Z A S	Tomate	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)	
	Pipian	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)	
	Ajo	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)	
	Lechuga	Colonias Rosado-Rojizas	Colonias incoloras, rosado o beige,	Colonias Amarillas,	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo	γ-Hemolisis	Bacilos Gram (-)	

			Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	circulares, medianas o grandes	opacas con fondo amarillo	verde, circulares medianas y pequeñas.	Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	
--	--	--	---	--------------------------------	---------------------------	--	--	--

Tabla 3

Morfología de colonias E. coli y salmonella sobre Agar en placa para la semana N°4 y N°5

Morfología colonial sobre agares en placa y microscopia								
N°	ID	Muestra	MCK MacConkey	SS Salmonella-Shiguella	XLD Xilosa-Lisina-Desoxicolato	(BG) Sulfa Agar	Agar Sangre	Microscopia
S E M A N A N°4 N°5	F U T A S	Nancite	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
		Naranja	Colonias incoloras y rosadas Circulares, pequeñas y medianas,	Colonias incoloras concentro negro, circulares, medianas o grandes	Colonias rojas con centro negro y fondo color rojo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde y colonias rosadas sobre fondo rojo	γ-Hemolisis Colonias Blancas, cremosas y pequeñas	Bacilos Gram (-)
		Jocote	Colonias incoloras y rosadas Circulares, pequeñas y medianas,	Colonias incoloras concentro negro, circulares, medianas o grandes	Colonias rojas con centro negro y fondo color rojo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde y colonias rosadas sobre fondo rojo	γ-Hemolisis Colonias Blancas, cremosas y pequeñas	Bacilos Gram (-)
		Papaya	Colonias incoloras y rosadas Circulares, pequeñas y medianas,	Colonias incoloras concentro negro, circulares, medianas o grandes	Colonias rojas con centro negro y fondo color rojo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde y colonias rosadas sobre fondo rojo	γ-Hemolisis Colonias Blancas, cremosas y pequeñas	Bacilos Gram (-)

	Banano	Colonias incoloras y rosadas Circulares, pequeñas y medianas,	Colonias incoloras concentro negro, circulares, medianas o grandes	Colonias rojas con centro negro y fondo color rojo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde y colonias rosadas sobre fondo rojo	γ-Hemolisis Colonias Blancas, cremosas y pequeñas	Bacilos Gram (-)
	Mamon chino	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
H O R	Cebolla	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
	Chiltoma	Colonias incoloras y rosadas Circulares, pequeñas y medianas,	Colonias incoloras concentro negro, circulares, medianas o grandes	Colonias rojas con centro negro y fondo color rojo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde y colonias rosadas sobre fondo rojo	γ-Hemolisis Colonias Blancas, cremosas y pequeñas	Bacilos Gram (-)
T A L I Z A S	Tomate	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación biliar en el medio de color rosa	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares, medianas o grandes	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde, circulares medianas y pequeñas.	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante, densidad opaca y elevación convexa.	Bacilos Gram (-)
	Pipian	Colonias incoloras y rosadas Circulares, pequeñas y medianas,	Colonias incoloras concentro negro, circulares, medianas o grandes	Colonias rojas con centro negro y fondo color rojo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde y colonias rosadas sobre fondo rojo	γ-Hemolisis Colonias Blancas, cremosas y pequeñas	Bacilos Gram (-)
	Ajo	Colonias Rosado-Rojizas Circulares, pequeñas y medianas, precipitación	Colonias incoloras, rosado o beige, circulares,	Colonias Amarillas, opacas con fondo amarillo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde,	γ-Hemolisis Colonias Blancas superficie brillante,	Bacilos Gram (-)

		biliar en el medio de color rosa	medianas o grandes		circulares medianas y pequeñas.	densidad opaca y elevación convexa.	
	Lechuga	Colonias incoloras y rosadas Circulares, pequeñas y medianas,	Colonias incoloras con centro negro, circulares, medianas o grandes	Colonias rojas con centro negro y fondo color rojo	Colonias Amarillo-verdosas sobre fondo verde y colonias rosadas sobre fondo rojo	γ-Hemolisis Colonias Blancas, cremosas y pequeñas	Bacilos Gram (-)

“Anexo D” Imágenes en laboratorio

Figura 9

Preparación de medios solidos de los agares (Agar sangre y Agar XLD)



Figura 10

Agares utilizados para la identificación de enterobacterias

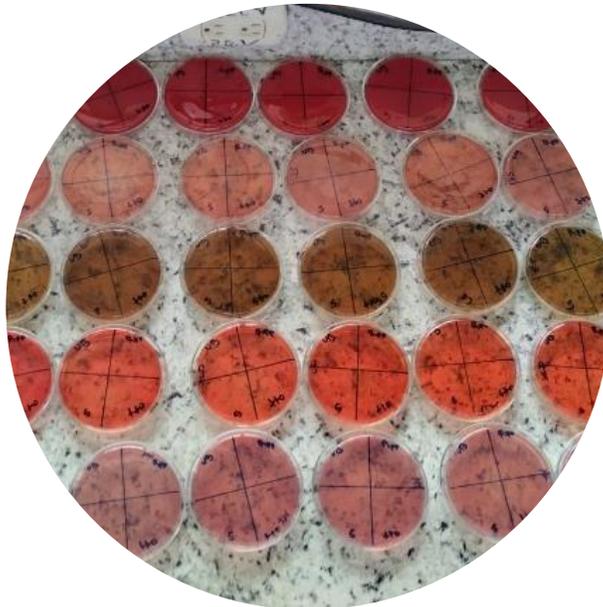


Figura 11

Crecimiento y cambios en el agar por la presencia de enterobacterias



Figura 12

Inoculación de Microorganismos



Figura 12

E coli. En agar verde Brillante



Figura 13

Preparación de medio Líquidos y esterilizados



Figura 14

Salmonella en Agar xilosa Lisina Desoxicólico



Figura 15

Antibiograma para las concentraciones de cloro

