



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES
EN FRESAS EXPENDIDAS EN SUPERMERCADOS Y
MERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA.**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES: JEANCARLO MEDINA ORELLANA

EMILY NAYELI TORRES ARIAS.

DIRECTORA: BQF. LIGIA MERCEDES VERDUGO GARCIA MSc.

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES EN
FRESAS EXPENDIDAS EN SUPERMERCADOS Y MERCADOS DE LA
CIUDAD DE CUENCA.**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR: JEANCARLO MEDINA ORELLANA

EMILY NAYELI TORRES ARIAS.

DIRECTORA: BQF. LIGIA MERCEDES VERDUGO GARCIA MSc.

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Jeancarlo Medina Orellana portador de la cédula de ciudadanía N° **1450038383** y **Emily Nayeli Torres Arias** portadora de la cédula de ciudadanía N° **1450139058**. Declaramos ser los autores de la obra: **“Determinación de coliformes totales y fecales en fresas expandidas en supermercados y mercados de la ciudad de Cuenca”**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaramos que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaramos finalmente que nuestra obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **04 de abril de 2024**

Emily Torres
F:

Emily Nayeli Torres Arias

C.I. 1450139058



F:

Jeancarlo Medina Orellana

C.I. 1450038383

Certificación del Tutor

BQF. Ligia Mercedes Verdugo García, Msc
**DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA BIOFARMACIA/BIOQUÍMICA Y FARMACIA**
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **“DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES EN FRESAS EXPENDIDAS EN SUPERMERCADOS Y MERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA”**, realizado por **TORRES ARIAS EMILY NAYELI**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, 22 de Febrero del 2024



BQF. Ligia Mercedes Verdugo García. Msc

C.I.: 0103597225

www.ucacue.edu.ec

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado a Dios por brindarnos la oportunidad de vivir y compartir con los seres que más queremos.

A nuestros padres, Xavier y Lorena, Herman y Rosa, les dedicamos nuestro más profundo agradecimiento por su inquebrantable amor, apoyo y comprensión en los buenos y malos momentos. Sin su constante guía y aliento, esta meta no habría sido alcanzada.

A nuestra querida familia extendida, les expresamos nuestro sincero agradecimiento por su continua presencia y respaldo en cada etapa de nuestras vidas. A nuestros hermanos, quienes compartieron con nosotros risas, lágrimas y momentos inolvidables, les estamos eternamente agradecidos. A nuestros abuelos, por sus sabias palabras y ejemplo de perseverancia, les rendimos homenaje. A tíos, primos y demás familiares, les agradecemos su amor incondicional y la disposición constante para tender una mano cuando más lo necesitábamos.

A nuestros amigos, auténticos pilares en nuestro camino, les debemos un profundo reconocimiento por su compañía, consejos y risas que hicieron más llevaderos los momentos difíciles y multiplicaron nuestras alegrías. Gracias por ser nuestra red de apoyo, por celebrar con nosotros cada triunfo y por levantarnos en las caídas. Vuestra amistad ha dejado una marca indeleble en nuestros corazones y recuerdos.

DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES EN FRESAS EXPENDIDAS EN SUPERMERCADOS Y MERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA

Jeancarlo Medina Orellana Y Emily Nayeli Torres Arias

Palabras clave: Coliformes, E. coli, Fresas, Mercados, Muestra

Resumen

Introducción: Las enfermedades que han sido transmitidas por medio alimentos, se han convertido en una problemática a nivel mundial, causando morbilidad, mortalidad y afectando el desarrollo socioeconómico de la mayoría de países. En el año 2020, en Ecuador se notificaron 5890 incidencias de intoxicaciones alimentarias bacterianas, evidenciando una disminución en comparación con el año anterior, cuando se registraron 12203 casos. En el año 2019, estos incidentes fueron el resultado de la ingestión de alimentos que habían sido manipulados y conservados de manera inadecuada, lo que provocó la transmisión de bacterias patógenas a los consumidores.

Objetivo: Evaluar la prevalencia de coliformes totales y coliformes fecales en las fresas expendidas en supermercados y mercados de Cuenca. **Metodología:** Se llevó a cabo un análisis de tipo observacional de corte transversal. La recolección de muestras se realizó mediante una ficha de recepción, registrando datos como fecha, temperatura y características organolépticas.

Resultados: Como resultado de este estudio, se determinó que el 0.39% de muestras presentó contaminación con un grado no permitido de coliformes totales (>104 UFC/g), y 37% mostro grado no permitido de E. coli (>102 UFC/g) los mismos que están fuera de los límites establecidos NORMA INEN 1529-8. **Conclusión:** Se determinó la presencia de coliformes totales y E. coli , tanto en supermercados y en mercados de la ciudad de Cuenca, se evidenció que mostraron niveles inaceptables, por lo que es necesario la necesidad de prácticas de higiene correctas para garantizar la inocuidad alimentaria.

DETERMINATION OF TOTAL AND FECAL *COLIFORMS* IN STRAWBERRIES SOLD IN SUPERMARKETS AND MARKETS IN THE CITY OF CUENCA

Jeancarlo Medina Orellana and Emily Nayeli Torres Arias

Keywords: *Coliforms, E. coli, Strawberries, Markets, Sample.*

Abstract

Introduction: Diseases transmitted through food have become a worldwide problem, causing morbidity and mortality and affecting the socioeconomic development of most countries. In 2020, 5890 incidences of bacterial food poisoning were reported in Ecuador, a decrease compared to the previous year, when 12203 cases were recorded. In 2019, these incidents resulted from ingesting food that had been improperly handled and preserved, resulting in the transmission of pathogenic bacteria to consumers.

Objective: To evaluate the prevalence of total coliforms and fecal coliforms in strawberries sold in supermarkets and markets in Cuenca.

Methodology: A cross-sectional observational analysis was conducted. Samples were collected using a reception form, recording data such as date, temperature, and organoleptic characteristics.

Results: As a result, it was determined that 0.39% of samples showed contamination with an unacceptable level of total coliforms (>104 CFU/g), and 37% showed an unacceptable level of *E. coli* (>102 CFU/g), which are outside the limits established in the Ecuadorian Institute of Standardization (INEN, by its Spanish acronym) 1529-8.

Conclusion: The presence of total coliforms and *E. coli* was determined in supermarkets and markets in Cuenca, showing unacceptable levels, so it is necessary to have correct hygiene practices to ensure food safety.

Índice

INTRODUCCIÓN	9
OBJETIVOS	12
Objetivo general	12
Objetivos específicos	12
HIPÓTESIS	12
CAPÍTULO I	13
GENERALIDADES DE LAS FRESAS	13
1.1 Inocuidad microbiológica de frutas y hortalizas frescas	13
1.1.1 Fuentes de contaminación de frutas y hortalizas frescas	13
1.1.2 Origen de la Microbiología Normal de las Frutas	15
1.1.3 Enfermedades Transmitidas por Frutas y Hortalizas Frescas	16
1.1.4 Sistemas de Protección de los vegetales contra Microorganismos	17
1.1 Fresas	18
1.1.1 Importancia nutricional de las fresas	18
1.2.3 Propiedades medicinales de la fresa	19
CAPÍTULO II	21
MICROORGANISMOS QUE INDICAN HIGIENE	21
2.1 Microorganismos que indican higiene	21
2.1.1 Coliformes fecales	21
CAPÍTULO III	28
METODOLOGÍA	28
3.1 Diseño de investigación	28
3.2 Población de estudio	28
3.3 Muestreo y tamaño de la muestra	29
3.4 Toma de muestras	29
3.5 Métodos y técnicas de análisis microbiológico	32
3.6 Materiales	33
3.7 Flujograma del proceso	33
3.8 Cálculos	34
3.9 Análisis estadístico	36
CAPÍTULO IV	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1 Análisis microbiológico de las fresas	37
4.2 Contaminación microbiológica de las fresas	37
4.2.1 Contaminación por coliformes totales	37
4.2.2 Contaminación por E. Coli	38
4.2.3 Correlación entre el mercado donde se expenden las frutas y la cantidad de	

contaminación por E.Coli y coliformes	40
CAPÍTULO V	41
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
5.1 Conclusiones	41
5.2 Recomendaciones	42
Referencias bibliográficas	43

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) representan un importante desafío para la salud pública a nivel mundial. Según la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS), las ETAs son una serie de síntomas causados por la ingestión de agua o alimentos contaminados con agentes biológicos o no biológicos, en cantidades suficientes para afectar la salud de consumidores tanto de forma aguda como crónica, tanto individualmente como en grupos de personas. Estas enfermedades pueden ser ocasionadas por una variedad de microorganismos, como bacterias, virus y parásitos, así como por productos químicos y toxinas presentes en los alimentos debido a la contaminación ambiental o a prácticas inadecuadas durante la producción, manipulación y almacenamiento de los mismos (1).

Dentro de los microorganismos de interés, se destacan los coliformes totales, siendo *Escherichia coli* (*E. Coli*) una de las bacterias más prevalentes en este grupo. La presencia de coliformes, tanto en el agua como en los alimentos, puede indicar la presencia de contaminación fecal y la posible existencia de otros patógenos más peligrosos. Los coliformes fecales, que constituyen un subgrupo de los coliformes totales, están estrechamente relacionados con los desechos fecales de animales y humanos. La detección de coliformes fecales en el agua o los alimentos es un indicativo de contaminación fecal reciente, lo que sugiere la presencia de patógenos intestinales altamente peligrosos, como *Salmonella*, *Shigella* o virus transmitidos por vía fecal-oral. (1).

La presencia de coliformes totales y fecales en el agua potable o los alimentos representa un riesgo para la salud humana, ya que pueden ocasionar enfermedades gastrointestinales como diarrea, náuseas, vómitos, fiebre y dolor abdominal. Las personas con sistemas inmunológicos debilitados, como adultos mayores, niños y aquellos con enfermedades crónicas, son particularmente susceptibles a las infecciones provocadas por estas bacterias.(1).

En América Latina, la producción agrícola enfrenta un desafío de contaminación derivado del uso de aguas residuales procedentes de diversas fuentes, como ciudades, actividades mineras, agrícolas y la acumulación de residuos sólidos. Estas aguas residuales se emplean en el riego de cultivos, y como resultado de la descomposición de los compuestos presentes en ellas, los distintos cultivos pueden contaminarse con sustancias químicas y bacterias perjudiciales. Esta problemática plantea un riesgo tanto para la salud humana como para el medio ambiente, dado que los compuestos químicos y bacterias presentes en las aguas residuales pueden acumularse

en los cultivos y ser consumidos por las personas, lo que podría generar efectos adversos en la salud. (2).

Durante el año 2021, se registraron 5,890 casos de intoxicaciones alimentarias bacterianas, evidenciando una disminución en comparación con los 12,203 casos reportados en 2019. Estas intoxicaciones suelen ser consecuencia del consumo de alimentos manipulados, cocinados o almacenados, permitiendo así la proliferación de bacterias patógenas y su transmisión a los consumidores (1).

Cuando las fresas son comercializadas en los diferentes mercados de Cuenca, se ha observado una falta de medidas higiénicas adecuadas por parte de los comerciantes de frutas, incluyendo fresas. Por lo general, estas se encuentran en baldes, gavetas, tarrinas, etc, en contacto directo con el suelo y cuando se van a vender se manipulan sin utilizar guantes, enfundándolas directamente con la mano muchas veces expuestas al sol y condiciones ambientales no favorables. Por otro lado, en los supermercados, las fresas se presentan en paquetes, sin embargo, se desconoce cuáles son las medidas higiénicas aplicadas durante el transporte desde su origen hasta llegar a los centros de distribución o venta libre, así también varios de los consumidores en ocasiones abren las fundas manipulando las mismas con la mano y no llevan el productos (3).

Es importante también mencionar que según los datos proporcionados por el diario el Telégrafo en los campos de Nabón, que es un cantón situado en la provincia de Azuay, se ha destacado últimamente como referencia en la producción agroecológica de alimentos, específicamente en la producción semanal de aproximadamente 1.500 libras de frutillas. La producción significativa de frutillas en esta zona de producción es de relevancia ya que tiene una venta directa y distribución tanto en supermercados y mercados de la ciudad de Cuenca, así como también de ciudades vecinas, además las frutas (fresas) pueden estar expuestas a contaminación con coliformes debido a su contacto directo con el suelo y otros factores ambientales (4).

Para el presente estudio es esencial evaluar la calidad sanitaria de las fresas disponibles en supermercados y mercados, determinando así el cumplimiento de los estándares de calidad. Los resultados que se han encontrado en esta investigación mostraron que solamente 0.39% de las muestras presentó contaminación con grados no aceptables en cuanto a coliformes totales ($>10^4$ UFC/g), y 37% mostró un grado no admisible de *E. Coli* ($>10^2$ UFC/g). Esto resalta la importancia de implementar medidas preventivas y de control durante la producción,

manipulación y transporte de las fresas, con el objetivo de reducir los riesgos asociados con el consumo de alimentos contaminados. También servirán como guía para futuras investigaciones relacionadas con este tema en la ciudad de Cuenca, Ecuador.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la prevalencia de coliformes totales y coliformes fecales en las fresas expandidas en supermercados y mercados de Cuenca.

Objetivos específicos

- Determinar la presencia de coliformes totales y fecales expandidos en los principales mercados y supermercados de Cuenca.
- Comparar los valores (UFC/g) de coliformes totales y coliformes fecales en las muestras de fresas obtenidas de los mercados y supermercados.
- Verificar el cumplimiento de los requisitos microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 1529-8 para coliformes totales y coliformes fecales en las muestras de fresas recolectadas.

HIPÓTESIS

Las fresas expandidas en supermercados y mercados de Cuenca no satisfacen los estándares microbiológicos establecidos para la presencia de coliformes fecales y coliformes totales definidos en las Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES DE LAS FRESAS

1.1 Inocuidad microbiológica de frutas y hortalizas frescas

Desde hace unos años, ha aumentado el interés respecto a la seguridad microbiológica de frutas, hortalizas frescas y productos mínimamente procesados, así como aquellos listos para el consumo, en razón a la aparición de episodios de enfermedades transmitidas por alimentos asociadas a su ingestión. La existencia de microbios y otros agentes orgánicos en los productos alimenticios, generalmente, no solo causa su descomposición, sino que también puede resultar en enfermedades en los seres humanos. La elaboración, circulación e ingesta de alimentos con condiciones sanitarias adecuadas, ya sea en su estado natural, listos para ser consumidos de inmediato o para ser procesados, son aspectos cruciales para garantizar la seguridad alimentaria consumidos por la población (5).

Múltiples circunstancias han generado la necesidad de implementar un análisis microbiológico en comestibles, entre ellas se incluye el crecimiento internacional comercial de estos productos, los riesgos potenciales asociados con nuevas técnicas de producción a gran escala, la breve y extensa repartición de alimentos, y el uso de productos provenientes de áreas con prevalencia de enfermedades entéricas en ciertas regiones o países. Los perjuicios asociados a la falta de control incluyen la aparición de enfermedades, costos médicos, disminución del estado de salud, bajas económicas por el desgaste de los alimentos, impacto negativo en el turismo y, en casos extremos, la pérdida de vidas humanas. Según la OMS, las ETAs representan una complicación sanitaria más extensa a nivel mundial (5).

1.1.1 Fuentes de contaminación de frutas y hortalizas frescas

Los principales agentes bacterianos que están vinculados con enfermedades que se transmiten en frutas y hortalizas se mencionan a continuación:

Tabla 1 Microorganismos que se relacionan con Enfermedades de hortalizas y frutas

Agente	Síntomas de la enfermedad	Alimentos implicados
<i>Escherichia coli</i>	Dolores de abdomen, náuseas, vómitos	Ensaladas, lácteos frescos, hamburguesas, leche sin pasteurizar, embutidos, yogur, lechuga, agua
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Diarrea líquida seguida por diarrea con sangre, dolor severo en el abdomen, orina sangrienta, síndrome urémico hemolítico	Leche sin pasteurizar

<i>Listeria monocytogenes</i>	Náusea, vómito, diarrea, encefalitis, septicemia, abortos	Berros, alchichas fermentadas, huevos, carnes crudas, pollo crudo, aderezos fabricados con huevos que no han sido pasteurizados
<i>Salmonella typhi</i> , <i>S. paratyphi</i>	Fiebre tifoidea, cefalea, malestar abdominal y corporal, diarrea o constipación	Leche cruda, quesos, mariscos, pescado, aderezos elaborados con huevos crudos, carnes crudas, huevos crudos
<i>Salmonella sp</i>	Fiebre, dolor de cabeza, vómito, dolores abdominales, artritis	Ensaladas (atún, papa, pollo, crudas, rellenos), pollo, emparedados, macarrones y lácteos
<i>Shigella sp</i>	Dolores en el abdomen, sangrado, diarrea, vómito, fiebre	Agua, vegetales crudos, ensaladas, frutas, leche y productos lácteos

Obtenido de Vélez (2013)

Las bacterias son sin duda los principales microorganismos asociados con las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). La extensa gama de bacterias presentes en productos como frutas y verduras frescas aumenta significativamente el riesgo de contraer una ETA relacionada con estos alimentos. Estas enfermedades pueden variar en gravedad, pero su impacto abarca tanto aspectos económicos como sociales (6).

1.1.1.1 Vía fecal o urinaria

La causa principal de la contaminación de frutas y verduras provienen principalmente del agua utilizada durante el riego y el proceso de lavado. Los microorganismos que se encuentran en las aguas superficiales, incluidos ríos, arroyos y lagos, pueden introducirse mediante la liberación de aguas residuales de comunidades ubicadas río arriba a lo largo del río. En relación con el estiércol o residuos cloacales, esta fuente de contaminación está vinculada a la presencia de animales en la parcela de cultivo y al uso de estiércol como fertilizante orgánico, ya que contiene sustancia orgánica, energía y microorganismos que facilitan la descomposición de los nutrientes del suelo. Lo que facilita su absorción por parte de las plantas y contribuye al desarrollo óptimo de los cultivos (6).

Por lo tanto, es esencial llevar a cabo un compostaje aeróbico de los estiércoles, elevando la temperatura a 60-80°C durante al menos 15 días. Este procedimiento asegura una temperatura adecuada para la eliminación tanto de semillas como bacterias patógenas, lo que garantiza la producción segura y beneficiosa de un producto desde el punto de vista de la seguridad microbiológica (6).

1.1.2 Origen de la Microbiología Normal de las Frutas

Los vegetales albergan en su superficie una microflora, que puede variar en su tipicidad y se transporta a diferentes lugares por medio del viento, el agua, aves e insectos, donde tiene la oportunidad de multiplicarse. En la profundidad de sus tejidos, los vegetales generalmente carecen de microorganismos, aunque existen excepciones notables, como los nodulitos en las raíces de las leguminosas, en las cuales bacterias como *Rhizobium* establecen una simbiosis. Además, se conocen numerosos patógenos fitopatógenos, como hongos, bacterias y virus, que al penetrar en los tejidos de plantas saludables pueden causar daños o destrucción (7).

La composición de la microflora superficial de los vegetales está fuertemente influenciada por factores como el espécimen de planta, condiciones climáticas, ubicación (ya sea al aire libre o en invernaderos) y el estado de desarrollo, especialmente en frutas, donde la madurez juega un papel crucial. Los frutos que se desarrollan en proximidad al suelo, como las fresas, tienden a contaminarse principalmente con microorganismos presentes en el suelo. Este último se destaca como un depósito microbiano significativo, con hasta cinco mil millones de microorganismos por gramo. Aunque la mayoría son saprófitos, se encuentran también micelios fúngicos y esporas junto con las formas vegetativas. Aunque son pocos los patógenos presentes, el viento puede transportar microorganismos que se encuentran en el suelo hacia las frutas que no están en contacto directo con él (7).

El polvo atmosférico, especialmente en condiciones de baja humedad, es abundante en microorganismos. En las ciudades que tienen el aire contaminado, se encuentran miles de bacterias en cada centímetro cúbico, mientras que el aire marino contiene muy pocos microbios. Aunque el aire no favorece el desarrollo microbiano, su recuento puede variar considerablemente. Se encuentran en su mayoría los cocos sobre los bacilos en la diversidad de especies microbianas a causa de su mayor resistencia a la radiación solar y a la desecación. Este hecho es de particular interés desde la perspectiva de la cromogénesis microbiana (8).

Además del ambiente, los insectos desempeñan un rol significativo en la propagación de microorganismos a las frutas. Cuando numerosas plagas parásitas pican frutas, no solo alteran sus tejidos, además se infectan con microorganismos fitopatógenos. La microbiota inherente que se encuentra en las frutas y sus productos derivados está mayormente constituida por levaduras y hongos, con una menor proporción de bacterias. Esto se debe a los niveles de pH relativamente bajos presentes en las frutas, los cuales son resultado de los ácidos que contienen.

La configuración de la microbiota superficial se vuelve significativa durante la conservación y tratamiento de las frutas. Además, diversos elementos de esta microbiota inciden en la deterioración de las frutas, mientras que otros son esenciales en la elaboración de productos derivados. A modo de ilustración, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus* está involucrada en la producción de vino y champagne seco (7).

1.1.3 Enfermedades Transmitidas por Frutas y Hortalizas Frescas

Existen diversos elementos que pueden contribuir a la contaminación de frutas y verduras por microorganismos, los cuales representan un riesgo potencial para la salud humana. Estos incluyen el uso de agua de riego contaminada con desechos humanos y animales, prácticas inadecuadas en la agricultura, insuficiente desinfección, condiciones deficientes durante el empaque, falta de higiene por parte de los trabajadores y manejo inapropiado durante el almacenamiento y transporte. Después de la contaminación inicial, numerosos microorganismos patógenos pueden permanecer viables en frutas y verduras frescas durante largos períodos, incluso resistiendo los procedimientos de desinfección y proliferando en el producto durante su almacenamiento (5).

Además, el proceso infeccioso de origen alimentario puede manifestarse de dos maneras diferentes:

Primero, cuando un microorganismo presente en un alimento contaminado es ingerido, se establece en el organismo y se reproduce. Por lo general, las bacterias ingresan a través de la mucosa intestinal, donde se multiplican. Algunas permanecen en la mucosa, mientras que otras invaden el sistema circulatorio y se diseminan por diferentes órganos. Las bacterias emplean factores de adherencia o colonización para propagarse en ubicaciones específicas, sin ser afectadas por el peristaltismo, el flujo de moco o los alimentos en suspensión. Es importante señalar que no todos los alimentos contaminados se vuelven infecciosos; esto solo ocurre si el alimento proporciona un sustrato adecuado para la multiplicación del microorganismo y cuenta con condiciones ambientales propicias para volverse infeccioso, además de una dosis suficiente para causar enfermedad. Los virus y *Toxoplasma gondii*, como parásitos intracelulares, no se replican en los alimentos (5).

La contaminación puede ser categorizada como primaria o secundaria. La primera se manifiesta cuando la sustancia contaminante está presente en el alimento desde su origen, siendo adquirida durante el proceso de cultivo debido a la presencia de animales enfermos o cosechas infectadas.

Por otro lado, la contaminación secundaria ocurre durante la manipulación de los alimentos, ya sea por contacto directo o indirecto con otros ingredientes contaminados, superficies de trabajo, utensilios, aerosoles, hielo, manos de los manipuladores, entre otros elementos (8).

1.1.4 Sistemas de Protección de los vegetales contra Microorganismos

Al igual que los seres humanos y animales tienen mecanismos naturales de defensa contra los microorganismos, las plantas también tienen un sistema propio, aunque menos eficiente que el de los seres vivos. Este sistema, hasta cierto punto, limita el crecimiento y deterioro de los microbios. Las plantas poseen una estructura tisular cerrada en las capas internas de frutas y verduras, que no solo protege contra la invasión microbiana, sino también contra daños físicos y la deshidratación (7).

Además de estas estructuras tisulares especiales, numerosas plantas contienen compuestos químicos defensivos, los cuales son más predominantes en las frutas antes de su maduración completa. Estos compuestos defensivos no específicos incluyen ácidos como el cítrico y el málico, los cuales reducen el pH del jugo celular, limitando así el crecimiento microbiano en la fruta. Algunos, como el ácido benzoico, poseen propiedades antimicrobianas y son utilizados como conservantes. En ciertas frutas como los arándanos rojos, ciruelas y otras, el éster de glucosa del ácido benzoico alcanza una concentración del 0.24%. Incluso en fresas, uvas y frambuesas, se encuentra una pequeña cantidad de ácido salicílico, el cual se utiliza como conservante en mermeladas y otros productos de frutas. Los taninos, presentes en muchas frutas, especialmente en las que aún no han madurado completamente, también exhiben propiedades tóxicas para los microorganismos (5).

Los fitoncidas, que son producidos por las plantas superiores, son reconocidos por su capacidad para inhibir el crecimiento de microorganismos, aunque todavía no se comprende completamente su composición química. Se especula que estos compuestos pueden incluir sustancias volátiles, como los aceites esenciales que se encuentran en la capa externa de frutas cítricas. Estos aceites esenciales contienen una variedad de compuestos, como alcoholes de alto peso molecular, ácidos, cetonas, éteres fenólicos, fenoles y ésteres, incluyendo aldehídos aromáticos. Además, la clorofila también presenta efectos antibacterianos, siendo capaz de detener el crecimiento de *Streptococcus pyogenes* a una concentración de 12 µg/ml (5).

1.1 Fresas

1.1.1 Importancia nutricional de las fresas

La fresa presenta una composición general de 35 kcal por cada 100 gramos. En términos de su contenido químico, la fresa se compone principalmente de agua, representando el 89,6%, seguido por hidratos de carbono con un 7%, proteínas con un 0,7%, lípidos con un 0,5%, y fibra con un 2,2%. En cuanto a los azúcares que se encuentran en la fresa (en partes comestibles), se distribuyen con un 2,6% forma parte de la glucosa, 2,3% de la fructosa y 1,3% de la sacarosa. Entre los minerales, el mayor componente es el potasio, seguido por calcio, fósforo y magnesio. Además, la vitamina predominante en las fresas es la vitamina C (9).

Tabla 2 Composición en minerales de la fresa

Mineral	Cantidad
Calcio (Ca)	25 mg
Hierro (Fe)	0,8 mg
Yodo (I)	8 µg
Magnesio (Mg)	12 mg
Zinc (Zn)	0,1 mg
Sodio (Na)	2 mg
Potasio (K)	190 mg
Fósforo (P)	26 mg
Selenio (Se)	Tr

Obtenido de Chordi (2013)

Tabla 3 Composición en vitamina de la fresa

Vitamina	Cantidad
Tiamina (B1)	0,02 mg
Riboflavina (B2)	0,04 mg
Niacina (B3)	0,6 mg
Vitamina B6	0,06 mg
Ácido fólico	20 µg
Vitamina B12	0 µg
Vitamina C	60 mg
Equivalentes de retinol	1 µg
Retinol	0 µg
Carotenos	0,2 µg
Vitamina D	0 µg
Vitamina E	0,2 mg

Obtenido de Chordi (2013)

Las fresas deben conservarse en condiciones ideales que incluyen una temperatura entre -0,5°C y 5°C. Si se almacenan en un entorno de atmósfera controlada o modificada, los niveles de oxígeno deben estar en el rango de 4-10%, y los grados de dióxido de carbono entre 0-20%. El tiempo de vida de las fresas que se encuentran en temperaturas frías es de hasta 5 días, mientras que en atmósfera supervisada puede extenderse hasta un periodo de 10 días, y en condiciones hipobáricas, alcanza hasta 21 días (9).

1.2.3 Propiedades medicinales de la fresa

Entre las principales propiedades de esta fruta se encuentran (10):

- Fortalece el sistema inmunológico.
- Evita y disminuye los síntomas de gripe.
- Ejerce efectos beneficiosos sobre el hígado y la vesícula biliar.
- Posee beneficios depurativos, contribuyendo a la eliminación de toxinas almacenadas en las vías urinarias y riñones.
- Las infusiones elaboradas con hojas de fresa exhiben cualidades astringentes, recomendándole especialmente para tratar inflamaciones de encías y controlar episodios de diarrea.
- Mejora la condición de la piel.
- Exhibe beneficios antioxidantes al eliminar los radicales libres.

- Presenta propiedades antienvjecimiento, ya que el consumo de fresas puede reducir los efectos del envejecimiento, mejorando las habilidades cognitivas y motoras.
- El ácido presente en las fresas tiene la capacidad de eliminar el sarro en los dientes.

CAPÍTULO II

MICROORGANISMOS QUE INDICAN HIGIENE

2.1 Microorganismos que indican higiene

Estos microorganismos indicadores desempeñan el papel de alertar tempranamente sobre prácticas de manejo inapropiadas o contaminación, aumentando el riesgo de la aparición de microorganismos perniciosos dentro de los alimentos. Además, su detección en el laboratorio es más simple, rápida y económica. Estos indicadores posibilitan una estrategia preventiva al advertir sobre el manejo inadecuado o la contaminación. La elección de indicadores específicos para un alimento se basa principalmente en los riesgos involucrados y en la información necesaria para liberar, mejorar o controlar el producto alimenticio, manteniendo un enfoque preventivo (11).

Los posibles riesgos biológicos, físicos y químicos pueden originarse en las materias primas, el proceso, el entorno, el equipo y el personal. Algunos de los riesgos microbiológicos que pueden afectar a los alimentos, provocando alteraciones y reduciendo su vida útil, incluyen: (11)

En base a Sieger (11) los indicadores de las condiciones de gestión o eficiencia del proceso se mencionan a continuación:

- Cálculo de hongos y levaduras
- Mesófilos aerobios (o cálculo total)
- Recuento de coliformes totales

Marcadores de contaminación de heces:

- Enterococos
- Coliformes fecales
- *E. Coli*
- *Cl. perfringens*

2.1.1 Coliformes fecales

Los coliformes se denominan microorganismos anaerobios facultativos, no están esporulados y tienen Gram-negativos que fermentan lactosa mientras se produce ácido y gas durante un período de 2 días de incubación a 35 grados Centígrados. Estos microorganismos se encuentran de manera natural en el medio ambiente, incluyendo el suelo y el sistema digestivo de animales

y personas. En la industria alimentaria, los coliformes se utilizan como microorganismos indicadores para valorar la validez de las operaciones de saneamiento (12).

Figura 7 Coliformes totales



Es importante destacar que, aunque los coliformes están compuestos por especies que no están necesariamente vinculadas a la contaminación fecal, existen coliformes de tipo fecal que sí indican la presencia de dicha contaminación. En particular, los coliformes fecales constituyen una agrupación más específica de microorganismos indicadores de calidad, derivados de origen fecal. Principalmente compuestos por *E. Coli*, también se pueden encontrar en menor frecuencia *Klebsiella pneumoniae* y *Citrobacter freundii*, caracterizándose como termotolerantes a causa de su capacidad para subsistir a temperaturas límites de 45 °C (12).

Estos coliformes fecales conforman el conjunto de coliformes totales, sin embargo, se distinguen por su capacidad de producir indol, su amplio periodo de temperatura óptima de desarrollo y su importancia como marcadores de higiene en líquidos y comestibles. Su manifestación se asocia de manera directa con la contaminación de origen biológico fecal de raíz animal o humana, puesto que estos microorganismos se encuentran en las heces (13).

Métodos para identificar Coliformes

Existen diversos métodos empleados para la identificación de coliformes, como el recuento por dilución en tubo, los métodos de confirmación mediante membrana filtrante y tubos múltiples, así como la cromatografía y la espectrofotometría. Una técnica relevante en este contexto es el método del Número más Probable (NMP), que proporciona datos cuantitativos sobre la cantidad de concentraciones de elementos discretos desde resultados positivos o negativos en la incidencia. La técnica del Número más Probable (NMP) implica diluir una muestra de agua y luego colocarla en tubos que contienen un medio de cultivo líquido selectivo. El objetivo de esta técnica es detectar la posible presencia de contaminación bacteriana en la muestra analizada (14).

La prueba más relevante utilizada para identificar el grupo de coliformes se centra en la hidrólisis de la lactosa, un proceso que es catalizado por la enzima β -D-Galactosidasa. La galactosa producida se convierte en glucosa mediante reacciones bioquímicas, y ambos monosacáridos son luego metabolizados a través del ciclo glucolítico y del ciclo del citrato. Como resultado de estos procesos metabólicos, se producen ácidos y/o CO₂ (15).

Existe una alta relevancia de la prueba de hidrólisis de la lactosa denominado como el método más significativo para la determinación del grupo de coliformes. Esta prueba se enfoca en la operación de la enzima B-D-Galactosidasa, que cataliza la descomposición de la lactosa. Posteriormente, tanto la galactosa como la glucosa resultantes son metabolizadas a través de los ciclos glucolítico y del citrato, generando productos metabólicos en forma de ácidos y/o CO₂ (15).

En contraste, se encuentra el método Compact Dry, ampliamente reconocido como un procedimiento fiable y seguro para la determinación y cuantificación de microorganismos en productos relacionados con la alimentación, cosméticos y demás materias primas, incluidos los de naturaleza farmacéutica. Dentro de este método, existen diversos formatos:

El formato denominado Dry EC destaca por su capacidad para detectar y diferenciar entre coliformes y la bacteria *Escherichia coli* (*E. Coli*). Este medio de cultivo contiene dos sustratos enzimáticos cromógenos X-Gluc y Magenta-GAL, lo que resulta en que los coliformes presentes en la muestra adquieran una coloración roja, mientras que las colonias de *E. Coli* exhiben un distintivo tono azul (16).

En cuanto al formato Compact Dry CF, su principal utilidad radica en la detección rápida de coliformes. Gracias al sustrato cromógeno X-Gal, las colonias formadas presentan una tonalidad azul o verde azulada característica. Además, este medio ejerce una notoria inhibición sobre el crecimiento de otros tipos de bacterias. En el improbable caso de que aparezcan bacterias adicionales, estas no muestran ninguna coloración evidente (16).

Este procedimiento se aplica a productos con una elevada carga de coliformes y coliformes psicrotrofos no específicos. Los coliformes, también conocidos como Coliaerógenes, son bacterias formadas como bastón, Gram negativas, que pueden ser aerobias o anaerobias facultativas, móviles o inmóviles, y carecen de capacidad para formar esporas. La identificación de estos microorganismos se lleva a cabo mediante la formación de colonias propias en agar Cristal Violeta-Rojo Neutro Bilis (VRB) u otros medios similares. La

incubación se realiza a una temperatura de 30 ± 1 °C en productos en refrigeración y a 35 ± 1 °C en productos almacenados a temperatura del entorno, utilizando el mencionado medio. Estas bacterias se utilizan como indicadores del nivel de higiene (16).

El cálculo de coliformes consiste en definir el número de coliformes viables por medida o centímetro cúbico de espécimen de alimento. En este método, se emplea la técnica de siembra en placas utilizando agar Cristal Violeta-Rojo Neutro Bilis (VRB) u otros medios similares, y las placas se introducen a 30 ± 1 grados centígrados en productos refrigerados y a 35 ± 1 °C en productos almacenados a temperatura ambiente, durante un periodo de 24 ± 2 horas (17).

Las bacterias conocidas como coliformes, específicamente Coli aerogenes, poseen una morfología de bastón, son Gram negativas y pueden vivir tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, lo que las clasifica como aerobias facultativas. Estas bacterias pueden ser móviles o no, y carecen de la capacidad de formar esporas. En cuanto a su cultivo, se emplea un medio específico denominado agar Cristal Violeta-Rojo Neutro Bilis (VRB), y se sigue un método particular de incubación tal como se ha detallado previamente (17).

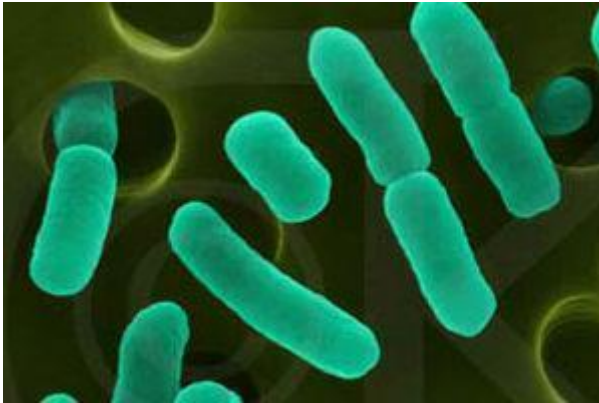
2.1.1.1 *Escherichia coli* (EC)

Es conocido que *Escherichia coli* (*E. coli*) habita naturalmente en el tracto intestinal de seres humanos y animales, lo que la convierte en un indicador clave de contaminación fecal. Este microorganismo se considera un indicador clásico que sugiere la posible presencia de patógenos entéricos en una variedad de entornos, como el agua, los moluscos, los productos lácteos y otros alimentos crudos. En prácticas de control de calidad alimentaria, se suelen realizar pruebas de detección o screening para evaluar la higiene alimentaria, y una parte crucial de estas pruebas consiste en la detección de coliformes, incluyendo *E. coli*, en ensayos preliminares. Si los resultados de estos análisis preliminares indican la posibilidad de contaminación fecal, los coliformes y otras bacterias de la familia Enterobacteriaceae se someten a investigaciones más detalladas para confirmar la presencia específica de *E. coli*. (18).

Dentro del ámbito de alimentos no procesados, *E. coli* se considera el marcador más fiable de contaminación de origen fecal. Aunque es común encontrar *E. coli* en diversos entornos como el suelo, el agua de riego y los bioaerosoles, su detección no siempre indica de manera directa la presencia de contaminación de origen fecal. Sin embargo, *E. coli* destaca como un indicador

efectivo para evaluar la eficacia de los protocolos de higiene y desinfección. Su presencia puede ser controlada en el campo mediante la implementación de Buenas Prácticas Agrícolas. Además, la implementación de programas adecuados de limpieza y desinfección debería ser suficiente para prevenir el crecimiento y la proliferación de *E. coli* en las líneas de procesamiento (18).

Figura 8 *E. Coli*



2.1.1.2 Sintomatología de una infección por *E. Coli*

Los síntomas asociados con la infección por *Escherichia coli* (*E. Coli*) pueden manifestarse a través de una intensa diarrea con presencia de sangre, acompañada de fiebre, cólicos estomacales, gases, pérdida de apetito y, ocasionalmente, vómitos. La recuperación generalmente se experimenta en un período que oscila entre 5 y 10 días, sin requerir el uso de antibióticos, ya que su consumo podría ocasionar complicaciones renales (19).

Solo unas pocas cepas específicas de *E. Coli* tienen la capacidad de provocar diarrea. La cepa O157:H7 del *E. Coli* forma parte de una agrupación genera una toxina potente capaz de dañar la cubierta del intestino delgado, resultando en diarrea con presencia de sangre. La infección por *E. Coli* puede ocurrir incluso con la ingestión de cantidades pequeñas de la bacteria, a diferencia de otras bacterias patógenas. Por lo tanto, la exposición a *E. Coli* puede originarse a partir de alimentos y agua contaminados, así como a través del contacto de persona a persona. Las fuentes potenciales de exposición incluyen el consumo de carne insuficientemente cocida o el consumo de agua contaminada, ya sea de una piscina u otras fuentes (19).

2.1.1.3 Cepas de *Escherichia coli* (EC)

Enterohemorrágicas

Incluyen el serotipo O157:H7 entre otros, generan diversas citotoxinas, enterotoxinas y neurotoxinas, como la toxina Shiga conocida como verotoxina, y provocan una forma de diarrea con sangre. En un 2% al 7% de las muestras, puede desarrollarse un síndrome urémico hemolítico. Frecuentemente, este tipo de *E. Coli* se obtiene al consumir carne picada insuficientemente cocida, pero también pueden transmitirse entre personas por medio de la vía fecal-oral en situaciones de higiene inadecuada (20).

La infección por EHEC puede ser muy debilitante para un individuo. Por lo general, los síntomas inician entre 2 a 5 días posteriores al consumo de alimentos o bebidas contaminadas y pueden prolongarse durante 8 días o incluso más tiempo. Los síntomas más comunes asociados con EHEC incluyen calambres abdominales, diarrea grave con presencia de sangre, náuseas, diarrea sin sangre, fatiga, fiebre leve o ausente y síndrome urémico hemolítico (SUH). Este último, que involucra la decadencia de glóbulos rojos y la falla renal, puede desarrollarse en aproximadamente el 5 al 10% de las infecciones, siendo los infantes y los adultos mayores más susceptibles a complicaciones potencialmente mortales (20).

Enterotoxigénicas

Estas cepas tienen la capacidad de inducir diarrea acuosa, especialmente en lactantes y en individuos que viajan (conocida como diarrea del viajero). Este patotipo constituye una causa significativa de diarrea, con impactos importantes en niños de preescolar en localidades de bajos e ingresos intermedios, con una estimación de mil millones de casos anuales y una mortalidad atribuible de 23,600 en 2015. Asimismo, afecta a la población adulta y se posiciona como un agente etiológico principal, junto con EAEC, en el contexto de la diarrea del viajero. Se calcula que entre el 3% y el 17% de los adultos que sufren de diarrea del viajero eventualmente desarrollan enfermedad inflamatoria intestinal (21).

La patogénesis de la *Escherichia coli* Enterotoxigénica (ETEC), al igual que la de cualquier organismo microscópico, involucra la colonización o contagio y la subsiguiente liberación de sus compuestos intermedios, que interactúan con las células del huésped. La ETEC se distingue por la generación de toxinas termolábil (LT) y termoestable (ST), las cuales están registradas en material genético extracromosómico y poseen estructuras y modos de operación bien definidos. La ETEC se adhiere a los enterocitos mediante fimbrias, las cuales también codificadas en plásmidos; estas fimbrias, conocidas como factores de colonización en cepas humanas de

ETEC, exhiben una diversidad de más de 30 factores de colonización en distintas cepas, proporcionándole a la ETEC su especificidad de especie (21).

Enteroagresivas

Las personas pueden contraer infecciones al ingerir alimentos o bebidas contaminadas, o al entrar en contacto cercano con alguien que está infectado. Los principales síntomas son diarrea inflamatoria, hinchazón, náuseas, fiebre y vómito.

La mayor parte de las personas tiene una recuperación de la infección causada por EAEC en un breve período. No obstante, ciertos individuos, especialmente los niños pequeños y aquellos con sistemas inmunitarios comprometidos, podrían experimentar complicaciones más severas, como deshidratación e insuficiencia renal (22).

Enteropatogénicas

Tiende a inducir diarrea líquida, principalmente en bebés que lactan. Se identificaron brotes de diarrea en niños en la década de 1940 en Inglaterra, asociados a *E. Coli*, y se denominaron *E. Coli* enteropatógenas (EPEC) para distinguirlas de las cepas normales de la flora intestinal. La infección por EPEC se caracteriza por diarrea acuosa, fiebre y vómitos siendo más prevalente en lactantes menores de dos años (22).

Después de que la bacteria llega a la mucosa del intestino, se pone en marcha un complejo mecanismo de patogenicidad que resulta en la aparición de diarrea. Los infantes con una edad menor a dos años son particularmente susceptibles a infectarse, y entre ellos, la prevalencia más alta se encuentra en lactantes de hasta seis meses. De manera preocupante, las tasas de letalidad son significativamente altas en países subdesarrollados, oscilando entre el 20% y el 50%, convirtiendo la infección provocada a causa de EPEC en emergencia. Adicionalmente, en ciertos países de Latinoamérica, se ha observado que la incidencia de infecciones por EPEC sobrepasa a las causadas por *Campylobacter* spp. Y en la población infantil el rotavirus (22).

Enteroagregativas

Algunos tipos de EAEC emergen como una significativa causa de diarrea continua, especialmente en pacientes que tienen VIH/SIDA o en niños que residen en regiones tropicales. EAEC es un patógeno exclusivamente identificado en humanos y se caracteriza por su tendencia a formar grupos con forma de agrupaciones de ladrillos. Esta categoría de patógenos

fue aislada por primera vez de un niño peruano que presentaba síntomas de diarrea aguda. La clasificación de EAEC se basa en la presencia del regulador maestro aggR, inicialmente identificado en la cepa arquetipo 042 (serotipo O44:H18). Este regulador coordina la actividad de diversos genes de patogenicidad, dividiendo a las EAEC en categorías típicas y sin tipología (EAECt y EAECa). Estas cepas de EAEC generan diarrea acuosa, a menudo con presencia de moco, eventualmente acompañada de sangre, dolor abdominal, fiebre, vómito y náuseas (23).

El rasgo distintivo de las EAEC es su capacidad de adherencia agregativa, atribuido a las fimbrias de unión agregativa. No obstante, en diversos tipos de EAEC se ha observado asociación con otras proteínas de adhesión y tipología fimbrial y afimbrial. La diversidad en el repertorio de fimbrias parecida a aquellas de los factores que colonizan las ETEC. Las estructuras de unión celular agregativa se encuentran definidas en un plásmido de gran tamaño (23).

CAPÍTULO III

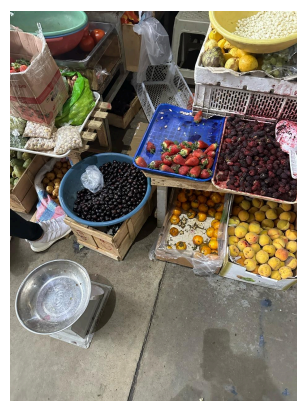
METODOLOGÍA

3.1 Diseño de investigación

En este estudio, se llevará a cabo un análisis de tipo observacional de corte transversal.

3.2 Población de estudio

La muestra fue seleccionada por lugares donde se expenden fresas considerando 3 supermercados de la ciudad de Cuenca: Supermaxi, Coral Hipermercados y Megatienda del Sur) y 3 mercados (3 de Noviembre, 12 de Abril y 9 de Octubre. Estos lugares se seleccionaron considerando las recomendaciones proporcionadas por el Departamento de Higiene y Regulación de Mercado del Ilustre Municipio de Cuenca.



3.3 Muestreo y tamaño de la muestra

3.4 Toma de muestras

Antes de abrir el envase se lo debe lavar con agua jabonosa y después limpiarlo de manera meticulosa con alcohol al 70 por ciento. Impidiendo la contaminación del contenido, mezclar el producto líquido cuidadosamente hasta que esté totalmente mezclado.

Homogeneizado

- Con una pipeta estéril, trasvasar 10 ml al frasco estéril que contiene 90 ml de solución de peptona. Agitando suavemente el frasco 25 veces en un lapso de 10 segundos con el fin de obtener la primera dilución (1/10).
- Emplear una pipeta estéril de 1 ml y transferir 1 ml de la suspensión inicial (1/10) a un tubo que posea 9 ml de solución de peptona estéril, mezclando cuidadosamente. De este modo, se logra la dilución (1/100).
- Emplear otra pipeta estéril de 1 ml y trasvasar 1 ml de la suspensión (1/100) a otro tubo que tenga 9 ml de solución de peptona estéril, mezclando cuidadosamente. Así se obtiene la dilución (1/1000) (24).

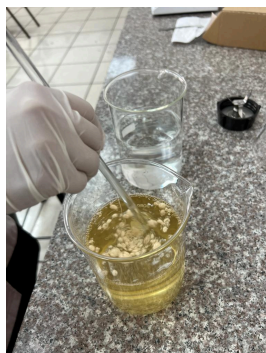
Procedimiento

El siguiente procedimiento se ha realizado de acuerdo a la ficha técnica compact dry propuesta por la empresa fabricante Condalab (25):

Procedimiento para Preparación de Muestra y Análisis Microbiológico

Preparación del Medio de Cultivo:

- Se mantienen 15 gr del compuesto en un litro de agua destilada.
- La combinación se agita bien y se disuelve calentando con agitación constante.



- Se hierve por un tiempo de un minuto hasta que esté completamente disuelto.



- La solución se divide en recipientes apropiados y se desinfecta en autoclave a 121 °C por un tiempo de 15 minutos.



Preparación de la Muestra bajo Condiciones Asépticas:

- Se pesan 10 gr o mililitros de la muestra en una funda estéril.
- Se agregan 90 mililitros de agua de peptona al 0,1 %.
- Se agita o homogeneiza la muestra.

Inoculación en Placas de Prueba:

- Se toma 1 mililitro de la solución de muestra y se inocula en el centro de la placa de prueba.



- La solución se distribuye uniformemente alrededor de la placa.

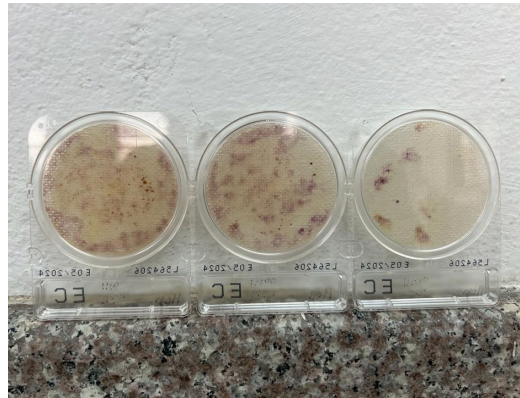
Incubación:

- Se invierte la placa y se incuba según las especificaciones requeridas para el análisis.

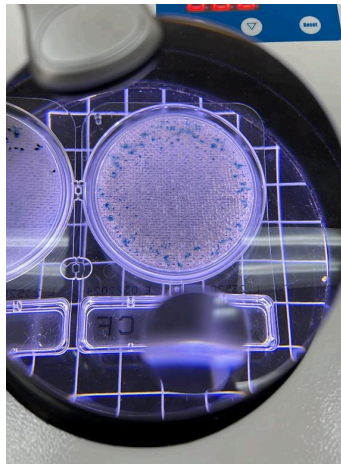


Recuento y Detección de Colonias:

- Se coloca la placa sobre un fondo blanco y se enumeran las colonias utilizando un contador visual o de colonias.



- Se registra el recuento o la detección de las colonias de acuerdo con las especificaciones del análisis.



3.5 Métodos y técnicas de análisis microbiológico

El método y técnica seleccionados para la detección de coliformes fecales y totales en esta investigación es el Compact Dry del formato Compact Dry CF. Se optó por este enfoque debido a su capacidad para realizar una detección rápida de coliformes.

El sustrato cromógeno X-Gal utilizado en este método permite que las colonias de coliformes adquieran una tonalidad azul o verde azulada distintiva. Esto facilita la identificación visual rápida de la presencia de estos microorganismos en la muestra analizada. Además, se ha observado que el medio Compact Dry CF exhibe una destacada capacidad de inhabilitar el desarrollo de otros tipos de bacterias, reduciendo así la interferencia de microorganismos no

deseados. En el improbable caso de que se produzcan bacterias adicionales, estas no mostraron ninguna coloración evidente en el medio de cultivo, lo cual contribuye a la claridad y confianza de los resultados que se obtengan (16).

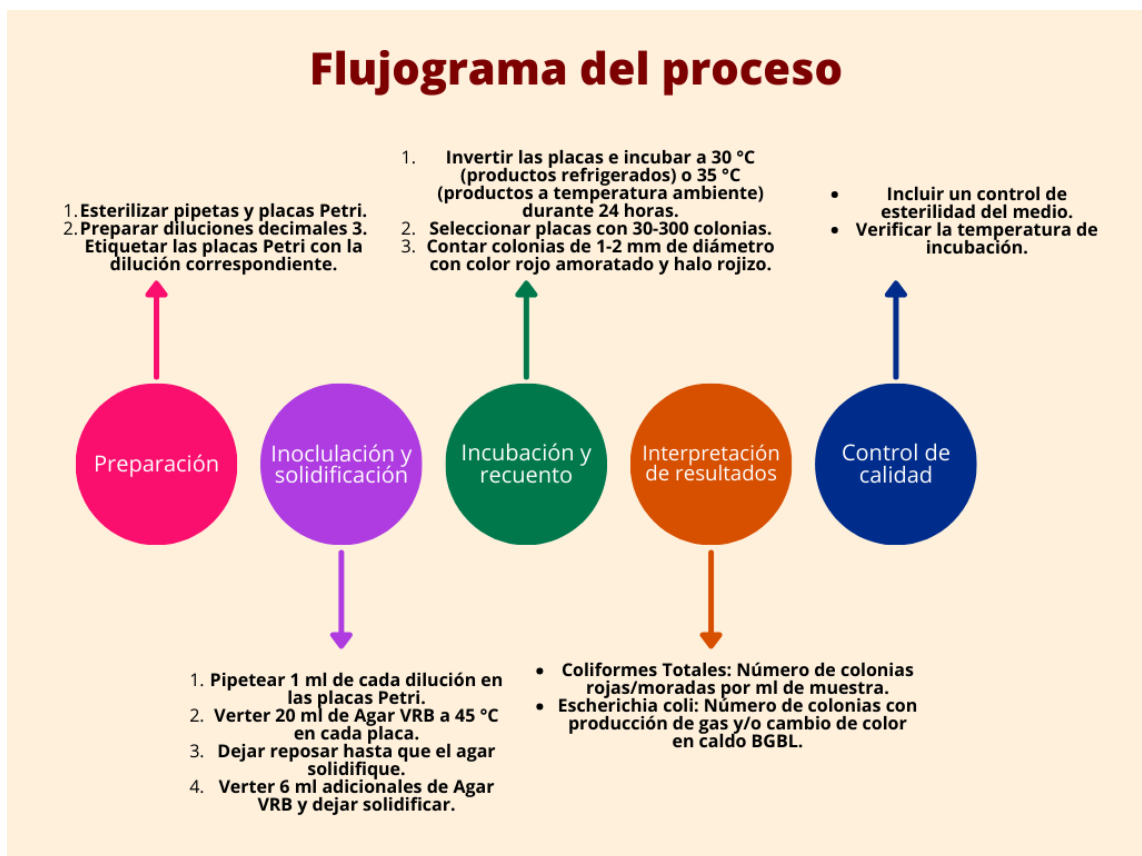
3.6 Materiales

- Pipetas serológicas de entre 1, 5 y 10 ml
- Stomacher con 90 ml agua de peptona
- Herramientas estériles que se emplean para tomar o manipular muestras
- Cajas Petri
- 2 Erlenmeyer de 250 ml
- 3 tubos tapa rosca con 9 ml de agua de peptona cada uno
- Gradillas
- Balanza
- Cocina de electricidad
- Estufa a 37 °C
- Autoclave
- Refrigeradora para mantener las muestras a temperatura adecuada.
- Agar VRB
- Agua de peptona

3.7 Flujoograma del proceso

Figura 9

Flujoograma



Nota. Elaborado por Medina y Torres (2024)

3.8 Cálculos

Con el fin de realizar el cálculo de la cantidad de UFC/g se realizó la siguiente fórmula:

$$N = \sum C \times f = \frac{UFC}{g}$$

En dicha fórmula, los factores son:

N= cantidad total de unidades formadoras de colonias

$\sum colonias$ = cantidad de colonias contabilizadas en las placas

f = factor de dilución empleado

$$f = 10$$

$$N = \sum C \times 10 = \frac{UFC}{g}$$

Preparación medio de cultivo Monopetri

Agua petrona

(15g en 1000mL H₂O destilada)

Agar nutritivo(28g en 1000mL H₂O destilada)

Se emplearon 7 cajas distribuidas de la siguiente manera:

Tabla 4 Cajas

1 en 10	2
1 en 100	2
1 en 1000	2
Control	1

Nota. Elaborado por Medina y Torres (2024)

Caja 1

$$+= 1mL \frac{1}{10}$$

15 – 20mL Agar N

Caja 2

$$+= 1mL \frac{1}{100}$$

15 – 20mL Agar N

Caja 3

$$+= 1mL \frac{1}{1000}$$

15 – 20mL Agar N

Control

$+ = 1 \text{ mL H}_2\text{O Peptona}$

$15 - 20 \text{ mL Agar N}$

Diluciones

$1/10$

$+ 25 \text{ g de alimento}$

$\frac{225 \text{ mL H}_2\text{O peptona}}{\text{Licua } \div \text{Dilución}}$

Madre 1 mL en caja 1/10

$1/100$

$+ 1 \text{ mL dilución madre}$

$\frac{9 \text{ mL H}_2\text{O peptona}}{\text{---}}$

$1 \text{ mL en caja } 1/100$

$1/1000$

$+ 1 \text{ mL dilución } 1/100$

$\frac{9 \text{ mL H}_2\text{O peptona}}{\text{---}}$

$1 \text{ mL en caja } 1/1000$

3.9 Análisis estadístico

Se llevaron a cabo análisis descriptivos con el fin de exponer los datos globales de los resultados adquiridos. Para evaluar la relación existente de la frecuencia de contaminación de microorganismos en fresas y los supermercados y mercados, se empleó la prueba χ^2 considerando un valor de significancia de $P < 0,05$. Se empleó el programa Stata 10 para realizar el análisis de las estadísticas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis microbiológico de las fresas

Se llevaron a cabo análisis en 6 muestras que provenían de supermercados y mercados de Cuenca. En cada uno de los mercados, el puesto de producción de las fresas fue diferente; podían provenir de San Joaquín, Sayausí o incluso Balzay. El mercado del cual se obtuvieron las muestras fue de Supermaxi, Coral Hipermercados, 3 de Noviembre, 9 de Octubre, Megatienda del Sur y 12 de Abril.

El abono principal que emplearon para el cultivo de estas fresas fue orgánico; la clase de siembra principal fue continuo con un riego que se lleva a cabo con agua del Río Tomebamba principalmente para aquellas fresas que provienen de diferentes sectores del Azuay.

Tabla 5 Cantidad de muestras

Cantidad de muestras		
Mercado	Muestras	Porcentaje
Supermaxi	1	17%
Coral Hipermercados	1	17%
Megatienda del Sur	1	17%
Supermercado		
3 de Noviembre	1	17%
12 de Abril	1	17%
9 de Octubre	1	17%
Total	6	100%

Fuente: Elaborado por Medina y Torres (2024)

4.2 Contaminación microbiológica de las fresas

4.2.1 Contaminación por coliformes totales

Tabla 6 Contaminación microbiológica de Coliformes totales en fresas

Primera definición

Código de la muestra	Mercado	Cálculo de coliformes totales	Cálculo de coliformes totales UFC/g
A1	12 de Abril	10	10×10^2
A2	12 de Abril	15	15×10^3
A3	12 de Abril	24	24×10^1
M1	Megatienda del Sur	32	32×10^1
M2	Megatienda del Sur	26	26×10^2
M3	Megatienda del Sur	23	23×10^3
C1	Coral Hipermercados	0	-
C2	Coral Hipermercados	0	-
C3	Coral Hipermercados	0	-
S1	Supermaxi	17	17×10^1
S2	Supermaxi	35	35×10^2
S3	Supermaxi	49	49×10^3
G1	10 de agosto	0	10^1
G2	10 de agosto	16	16×10^2
G3	10 de agosto	MNPC	10^3
N1	3 de Noviembre	0	10^1
N2	3 de Noviembre	0	10^2
N3	3 de Noviembre	0	10^3

Nota. Elaborado por Medina y Torres (2024)

MNPC: Muy numeroso para contar

Los códigos de las muestras han sido definidos en base a los nombres de los mercados donde se obtuvieron las muestras.

4.2.2 Contaminación por *E. Coli*

Tabla 7 Contaminación microbiológica de *E. Coli* en fresas

Primera determinación			
Código de la muestra	Mercado	Recuento de coliformes totales	Recuento de coliformes totales UFC/g
M1	Megatienda del Sur	MNPC	10^1
M2	Megatienda del Sur	MNPC	10^2
M3	Megatienda del Sur	8	8×10^3

M1	Coral Hipermercados	8	8×10^1
M2	Coral Hipermercados	13	13×10^2
M3	Coral Hipermercados	0	10^3
C1	Supermaxi	MNPC	10^1
C2	Supermaxi	MNPC	10^2
C3	Supermaxi	MNPC	10^3

Nota. Elaborado por Medina y Torres (2024)

De acuerdo con las directrices de la Norma NTE INEN 2260, se establecen ciertos niveles de aceptación para la detección de coliformes y *E. Coli* en frutas, siendo 10-no más de 10^2 y no más de 10 UFC/g respectivamente.

Al analizar la cantidad de contaminación microbiológica en fresas en los seis mercados ubicados en Cuenca, se encontró que 100% de los especímenes examinadas tenían algún nivel de presencia de contaminantes ocasionado a causa de coliformes totales en supermercados y mercados como 12 de Abril, Megatienda del Sur y Supermaxi. No obstante en supermercados y mercados como Coral Hipermercados, 10 de Agosto y 3 de Noviembre en ciertas muestras no se encontró ningún microorganismo. Además, 97% de las muestras si presentaron coliformes totales dentro del límite aceptable, aunque 0.39% excedieron aquel límite.

Por otro lado, en análisis de *E. Coli* 3% de las muestras no presentaron este microorganismo pero 60% mostró un crecimiento inferior al límite aunque un elevado porcentaje del 37% si superaron el límite planteado.

4.2.3 Correlación entre el mercado donde se expenden las frutas y la cantidad de contaminación por *E.Coli* y coliformes

Tabla 8 Frecuencia de contaminación microbiológica de Coliformes en fresas

Indicadores	Grado de contaminación	Frecuencia de contaminación	Mercado						Total
			12 de Abril	Megatienda del Sur	Coral Hipermercados	Supermaxi	10 de agosto	3 de Noviembre	
Coliformes totales	Negativo	2%	0	0	2	0	1	3	6
	< 10 ⁴	97%	49	81	5	101	16	0	252
	>10 ⁴	0.39%	0	0	0	0	1	0	1
	Total	100%	49	81	7	101	18	3	259

Nota. Elaborado por Medina y Torres (2024)

Tabla 9 Frecuencia de contaminación microbiológica de *E. Coli* en fresas

Indicadores	Grado de contaminación	Frecuencia de contaminación	Mercado			Total
			Megatienda del Sur	Coral Hipermercados	Supermaxi	
<i>E. Coli</i>	Negativo	3%	0	1	0	1
	<10 ²	60%	0	21	0	21
	>10 ²	37%	10	0	3	13
	Total	100%	10	22	3	35

Nota. Elaborado por Medina y Torres (2024)

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Tras llevar a cabo la investigación, se han planteado hallazgos como:

- A partir de los análisis realizados y cumpliendo con el primer objetivo de investigación, se observó que en su mayoría, el nivel de contaminación en las fresas era considerable. Solamente el 0.39% de las muestras analizadas presentó contaminación con niveles inaceptables de coliformes totales ($>10^4$ UFC/g), y el 37% mostró cantidades inaceptables de *E. Coli* ($>10^2$ UFC/g).
- En base al segundo objetivo de investigación, Supermaxi fue el supermercado que presentó una mayor contaminación de coliformes; mientras el mercado 12 de Abril fue el que mayor contaminación presentó. Por otro lado, en cuanto a la contaminación por *E. Coli*, Coral Hipermercados fue el supermercado en el que mayor contaminación se encontró.
- De acuerdo al tercer objetivo de investigación se menciona que aunque la prevalencia de contaminación no aceptable es baja, es crucial destacar la elevada presencia de contaminación definida considerada aceptable de coliformes totales (97%) y *E. Coli* (60%). Esta contaminación, en caso de no ser controlada mediante buenas prácticas de higiene durante el proceso de la cadena de alimentación, podría propagar rápidamente estos microorganismos hasta niveles que no son tolerables.

5.2 Recomendaciones

- Para enriquecer el presente trabajo, se sugiere llevar a cabo estudios micro y parasitológicos específicos en las fresas, con el fin de realizar de manera exhaustiva el estado microbiológico de la fruta que se consume de forma directa en Cuenca.
- Dado que no existe una normativa del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) que establezca criterios microbiológicos específicos para las fresas, se propone buscar y emplear otras normativas para llevar a cabo los distintos estudios, subrayando la necesidad de implementar controles y análisis microbiológicos para este tipo de frutas.
- A pesar de que la investigación actual reveló que la mayor cantidad de las muestras estaban contaminadas, sin superar los niveles de 10^2 - 10^3 UFC/g, se aconseja precaución al consumir estas fresas, ya que existe un posible riesgo para los consumidores.

Referencias bibliográficas

1. Ministerio de Salud Pública. Manual de Enfermedades Transmitidas por Alimentos [Internet]. Gob.ec. [citado el 29 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/01/Etas-SE-03.pdf>
2. Sánchez J de DA, Irigoín NC. Contaminación Agrícola por uso de Aguas Residuales [Internet]. Centro de Estudios Transdisciplinarios Bolivia, (CET-BOLIVIA); [cited 2023 Jul 7]. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2664-09022021000100065
3. Chiqui Chiqui FA, Lema Cumbe ML. Evaluación del rendimiento en el cultivo de fresa (fragaria sp) variedad oso grande, bajo invernadero mediante dos tipos de fertilización (orgánica y química) en la parroquia Octavio Cordero Palacios, Cantón Cuenca [Internet] [bachelorThesis]. 2010 [citado 6 de julio de 2023]. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/4745>
4. El Telégrafo - Nabón produce las frutillas más dulces y saludables de la región [Internet]. [citado 7 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/nabon-produce-las-frutillas-mas-dulces-y-saludables-de-la-region>
5. Umaña E. Diagnostico general sobre la situación de inocuidad de frutas y hortalizas frescas en Costa Rica [Grado en Internet]. Costa Rica: Universidad para la Cooperación Internacional; 2013. Disponible en: <https://www.ucipfg.com/biblioteca/files/original/a74eba9d8405c65417e903f570a6b0ca.pdf>
6. Vélez A. Determinación de coliformes totales y *E. Coli* en muestras de lechuga expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca [Grado en Internet]. Cuenca: Universidad de Cuenca; 2013. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4301/1/TESIS.pdf>
7. Palomino A. MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS: Microbiología de Frutas y Hortalizas [Grado en Internet]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín; 2014. Disponible

- en: <https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/210509b2-2cc0-417f-b2e7-a98f7dfb7b39/content>
8. Abadias M. Control de patógenos de transmisión alimentaria en fresas congeladas y listas para el consumo [Internet]. Córdoba: Biblioteca Horticultura; 2020. Disponible en: <https://repositori.udl.cat/server/api/core/bitstreams/1e6fabce-082d-4f71-af16-4203d052209c/content>
 9. Chordi S. Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad. [Grado en Internet]. Lleida: Universidad de Lleida; 2013. Disponible en: <https://repositori.udl.cat/server/api/core/bitstreams/f20b600a-b520-41ee-927d-4efe1e096267/content#:~:text=La%20composici%20qu%20m%20a,1,3%20de%20osacarosa>.
 10. Acacio R. Cultivo de fresa en México. Infoagro [Internet]. 2021;(34):2. Disponible en: <https://mexico.infoagro.com/wp-content/uploads/2022/04/fresa.pdf>
 11. Sieger M. Miuras [Internet]. INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE INOCUIDAD EN ALIMENTOS - Miuras; [consultado el 26 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.miuras.com.co/indicadores-microbiologicos/>.
 12. Ruiz B. Evaluación de microorganismos indicadores en superficies de contacto con alimentos en plantas de empaque de manzanas del estado de Washington [Grado en Internet]. Lima: Universidad Nacional Agraria; 2022. Disponible en: <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/5305/ruiz-llacsahuaanga-blanca-elia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 13. Bernal S. Validación del método de ensayo de Coliformes totales y fecales por la técnica de Número más probable (NMP) en la calidad del queso fresco producido a pequeña escala [Grado en Internet]. Pereira: Universidad Libre; 2015. Disponible en: <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/16168/VALIDACIÓN%20DEL%20MÉTODO%20DE%20ENSAYO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 14. Moreno C, Melisa S, Elizabeth. Validación del método de ensayo de Coliformes totales y fecales por la técnica de Número más probable (NMP) en la calidad del queso fresco producido a pequeña escala. Unilibreeduco [Internet]. 2023 [citado el 28 de junio de 2023]; Disponible en: <https://repository.unilibre.edu.co/handle/10901/16168>

15. Katz M, Seid G, Abiuso F. La técnica de encuesta: Características y aplicaciones. [Internet]. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires; 2019 [citado 27 de diciembre de 2022]. Disponible en: <http://metodologiadelainvestigacion.sociales.uba.ar/wpcontent/uploads/sites/117/2019/03/Cuaderno-N-7-La-t%C3%A9cnica-deencuesta.pdf>
16. BIOHIDRICA. Biotecnologías del Agua Ltda. [Internet]. www.biohidrica.cl. [cited 2023 Jul 1]. Available from: https://www.biohidrica.cl/ensayo_compactdry.htm#:~:text=Compact%20Dry%20es%20un%20procedimiento
17. Hernández M. Microbiología de Los Alimentos Fundamentos y Aplicaciones En Ciencias de La Salud. [Internet] [Tesis de grado]. [Editorial Médica Panamericana]; 2016. p. 1–60. Available from: https://jabega.uma.es/discovery/fulldisplay/alma991004652799704986/34CBUA_UMA:VU1
18. Universidad de Murcia. Página Principal [Internet]. Microorganismos marcadores: índices e indicadores; 2020 [consultado el 26 de febrero de 2024]. Disponible en: https://www.um.es/nutbro/docs/hica/Microorganismos_marcadores.pdf
19. Mayo Clinic. <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/e-coli/symptoms-causes/syc-20372058> [Internet]. E.coli - síntomas y causas - mayo clinic; 1 de octubre de 2022 [consultado el 26 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/e-coli/symptoms-causes/syc-20372058>
20. Stanford Medicine Children's Health. Stanford Medicine Children's Health - Lucile Packard Children's Hospital Stanford [Internet]. Escherichia coli enterohemorrágica; 2020 [consultado el 26 de febrero de 2024]. Disponible en: [https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=enterohemorrhagicescherichiacoli-85-p09394#:~:text=coli%20enterohemorrágica%20\(su%20sigla%20en,y%20causa%20diarrea%20con%20sangre](https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=enterohemorrhagicescherichiacoli-85-p09394#:~:text=coli%20enterohemorrágica%20(su%20sigla%20en,y%20causa%20diarrea%20con%20sangre).
21. Steffen R, Hill D, DuPont H. Traveler's diarrhea: a clinical review. JAMA. 2015;2015(313):71-80.

22. Vidal JE, Canizález-Román A, Gutiérrez-Jiménez J, Navarro-García F. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud Publica Mex* [Internet]. Octubre de 2007 [consultado el 26 de febrero de 2024];49(5). Disponible en: <https://doi.org/10.1590/s0036-36342007000500008>
23. Ríos-Muñiz D, Cerna-Cortés JF, Morán-García N, Meza-Segura M, Estrada-García T. *Escherichia coli* enterotoxigénica y enteroagregativa: prevalencia, patogénesis y modelos muridos. *Gaceta de México* [Internet]. 2019 May 28 [consultado el 25 de febrero de 2024];155(4). Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2019/gm194m.pdf>
24. Gallegos R. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 1 529-10:98 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVADURAS VIABLES. RECUENTOS EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD. [Internet]. [cited 2024 Feb 28]. Available from: <https://ia801900.us.archive.org/5/items/ec.nte.1529.10.1998/ec.nte.1529.10.1998.pdf>
25. Coliformes totales y fecales. Compact dry EC y CF. Condalab [Internet]. [cited 2024 Feb 28]. Available from: https://www.condalab.com/int/en/index.php?controller=attachment&id_attachment=183



Autorización de publicación en el repositorio institucional

Jeancarlo Medina Orellana portador de la cédula de ciudadanía N° **1450038383** y **Emily Nayeli Torres Arias** portadora de la cédula de ciudadanía N° **1450139058**. En calidad de autores y titulares de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación "**Determinación de coliformes totales y fecales en fresas expandidas en supermercados y mercados de la ciudad de Cuenca**" de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **04 de abril de 2024**

F: Emily Torres.....

Emily Nayeli Torres Arias

C.I. **1450139058**

F: [Firma].....

Jeancarlo Medina Orellana

C.I. **1450038383**