

UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Tecnología Médica



TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

TITULO : **IDENTIFICACIÓN BACTERIOLÓGICA EN FRUTAS EXPENDIDAS EN MERCADOS DE HUANCAYO**

Para Optar : El título profesional de Licenciado en Tecnología Médica - Especialidad: Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Autor : Bachiller Gian Pier Mendoza Saravia

Asesor : Mg. Patricia Laura Palacios Simeón

Línea De Investigación Institucional: Salud y Gestión en salud

Lugar o Institución de Investigación: Laboratorio privado

HUANCAYO – PERÚ 2021

Dedicatoria:

A mis amados Padres, a mi Familia, que son los que me dan fuerza y valor para poder cumplir mis sueños quienes siempre estuvieron conmigo gracias a su apoyo y comprensión.

Agradecimiento:

A la Universidad Peruana Los Andes y a la Escuela Profesional de Tecnología médica, por nuestra formación profesional durante todos estos años.

A mis padres, porque siempre me alentaron, cada día, por su ejemplo y su cariño durante este tiempo de formación académica y en todo estuvieron en cada paso que di apoyándome, dándome lo mejor de ellos.

A mis docentes por su Guía y por compartir sus conocimientos y experiencias.

Gian Pier Mendoza Saravia

CONTENIDO

	Págs.
I. PRESENTACIÓN	1
Dedicatoria	2
Agradecimiento	3
Contenido	4
Contenido de tablas	6
Contenido de figuras	7
Resumen	8
II.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
2.1. Diagnóstico de la salud general	9
2.2. Objetivos	10
III.-MARCO TEORICO	11
3.1. Antecedentes	11
3.2 Bases teóricas	14
IV.- CONTENIDO	22
Identificación del área de estudio	22
Toma de muestra	22
Descripción de ubicación de cada sector de muestra	22
Procedimientos de Laboratorio clínico	23
Bacterias encontradas	27
V.- DISCUSION	32
VI.- CONCLUSIONES	34
VII.- RECOMENDACIONES	35

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	39
- Anexos auxiliares	40
Anexo 2. Declaración jurada de autoría	41

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla N°1. Descripción de ubicación de cada sector del muestreo

Tabla N°2.- Bacterias aisladas

TablaN°3 Bacterias aisladas, cepas y Temperatura ambiente

Tabla N°4.-Bacterias patógenas aisladas de las frutas recolectadas de los tres mercados de la ciudad de Huancayo.

Tabla N° 5.-Susceptibilidad y resistencia de Enterobacteriaceae

Tabla N° 6.-Susceptibilidad y resistencia de Enterococcaceae

CONTENIDO DE FIGURAS

Figuras 1, 2y 3 de Toma de muestra. A) Mercado Modelo del Tambo B) Mercado Modelo de Huancayo C) Mercado modelo de Chilca

Figura 4: Pre – enriquecimiento, se realizó de cada muestra obtenida

Figura 5 Llenado de 1ml del enriquecimiento primario con 9ml de agua peptonada a tubos estériles de cada muestra.

Figura 7 Siembra de las muestras

Figura 8 Crecimiento bacteriano

Figura 9 Imagen de las baterías químicas

Figura 10 Sembrando las bacterias

Figura 11 muestra con crecimiento en agar sangre

Figura 12. Bacterias diluidas en suero fisiológico

Figura 13. Siembra en el Miuller hinton

Figura14, Antibiograma se puede apreciar familias de Enterococcaceae y Enterobacteriaceae

RESUMEN

Vivimos épocas de pandemia, a nivel mundial y el uso indiscriminado de antibióticos se ha incrementado, provocando el aceleramiento de la resistencia bacteriana, conociendo este problema el propósito de esta investigación, fue identificar bacterias causantes de patologías, encontradas en frutas vendidas en tres mercados de Huancayo-Junín; y precisar la resistencia antimicrobiana; el estudio realizado se considera de campo, la misma que demuestra la presencia de patógenos que producen cuadros de infección gastrointestinales, se recolectaron frutas en mercados de los distritos del Tambo, Huancayo y Chilca, se procedió a identificar previo aislamiento a las bacterias en cultivos específicos el Agar MacConkey y Agar sangre, a su vez pruebas con la finalidad de clasificarlas, medimos la resistencia bacteriana por la metodología de laboratorio de Kirby- Bauer; encontramos la existencia de seis bacterias: *Escherichia coli*, *Enterococcus spp*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomona aeruginosa*, realizadas las pruebas hay susceptibilidad a los antibióticos, consideramos que los productos frutícolas se encuentran contaminados por estas bacterias, al ser consumidas sin una adecuada limpieza producirán enfermedades. “Así mismo, en el Perú desde el 2010 hasta el 2017 se ha contabilizado mayor presencia de enfermedades diarreicas agudas en niños mayores a los 5 años; caso contrario en los niños menores de 5 años. Junín ocupa el cuarto lugar en Departamentos con mayor número de muertes reportadas por EDA”¹.

Palabra clave: identificación bacteriológica, enfermedad diarreica aguda.

II.- Planteamiento del Problema

Lograr la sugerencia de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de un consumo per-cápita mínimo de 5 porciones es decir unos 400 g de frutas y verduras diarios, es un desafío para las políticas en salud, en América Latina y otros países del mundo, existe una amplia evidencia científica acerca de los beneficios para la salud humana del consumo de frutas y verduras, debido a las propiedades derivadas de su composición y combinaciones de nutrientes². El consumir las frutas sin ningún tipo de tratamiento, vendidas en mercados importantes de la ciudad de Huancayo constituyen un peligro para la salud de los pobladores , desde que es recolectada hasta su expendio, así mismo el estar cerca a prácticas de producción inadecuadas, riego contaminado, cercanías a desechos, el cómo están dispuestos los animales en los lugares de producción, ,contaminación cruzada, esto se da en la venta por la pésima manipulación; es posible que distintos tipos de microorganismos estén presentes en las frutas, razón para tener cuidado con su manipulación, las mismas que se deterioran con facilidad y son fácilmente detectadas las bacterias en ellas, las cuales producirán enfermedades gastrointestinales en poblaciones vulnerables como son madres gestantes ,niños, provocando gastroenteritis ,diarreas con sangre, considerando ello es muy importante entender y hacer comprender a la población lo complejo que es la contaminación microbiana que se produce en las frutas, y el daño que pueden producir, por lo que en este trabajo de campo nos propusimos identificar las bacterias patógenas vendidas en tres mercados importantes de los distritos del Tambo, Huancayo y Chilca.

2.1. Diagnóstico de la salud general

Se ha evidenciado científicamente que tanto las frutas y verduras están dentro del grupo saludable de alimentos que son de consumo humano, esto debido a que dentro de su constitución poseen una cantidad muy alta de nutrientes (2). Puig³ et al sostiene que en los últimos años se han incrementado

las enfermedades transmitidas por frutas y hortalizas, por lo que es importante evaluar los factores que afectan la inocuidad de estos productos³. Si tenemos en cuenta las frutas se consumen crudos o en todo caso de manera mínima procesada estos suelen contaminarse no solo en su producción sino en su manipulación y venta constituyéndose en vías de transmisión de bacterias patógenas, por lo que se realizó este trabajo de campo para determinar la presencia de bacterias patógenas, capaces de producir enfermedades en el Hombre, comercializadas en tres mercados de la ciudad de Huancayo-Junín. Por lo expuesto el prevenir la contaminación con bacterias patógenas pasa por la identificación de los mismos, campo profesional del quehacer del laboratorio clínico.

2.1. Objetivos

Identificar bacterias en frutas expandidas, en mercados de Huancayo, empleando técnicas microbiológicas

III.-MARCO TEORICO

3.1. Antecedentes

Gutiérrez M. (2014), presenta su tesis a la que denomino “Evaluación microbiológica en frutas exóticas: mango fresco (*Mangifera indica* L.) y sus variedades; afirma que el aumento reciente de los casos notificados de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) que se asocian a las frutas frescas ha suscitado el interés para evaluar la calidad e inocuidad microbiológica de mangos frescos expendidos en mercados y supermercados de Lima – Metropolitana , se usaron medios apropiados selectivos para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos por otro lado, las frutas evaluadas procedentes de mercados fueron las que presentaron el mayor grado de contaminación tanto por AM, coliformes termotróficos, *E. coli*, mohos y levaduras, estos resultados muestran la necesidad de contar con buenas prácticas de higiene y una apropiada sanitización antes de consumir mangos frescos, para asegurar la calidad e inocuidad”².

Forero Y. et al., (2017), en su estudio, titulado “Patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes escolares de Colombia; el presente trabajo fue descriptivo y transversal, también realizaron encuestas sobre las condiciones higiénico-sanitarias y evaluaron temas de infraestructura y uso de elementos protección personal durante la manipulación de alimentos, la muestra se eligió por medio de un diseño probabilístico bietápico, visitaron 7 departamentos, 72 municipios, 332 restaurantes y se recolectaron 497 muestras, el microorganismo más frecuentemente encontrado fue *Listeria monocytogenes* 1,6%, *Salmonella* spp 0,6% y *Staphylococcus aureus* 0,4%, no hubo presencia de *E. coli* O157H7, concluyen enfáticamente diciendo que se detectó la presencia de microorganismos patógenos en los restaurantes escolares”³.

Valadez F. et al.,(2017) desarrollaron un estudio al que denominaron “Calidad microbiológica de aguas y ensaladas de frutas “listas para comer” vendidas en la ciudad de Reynosa, Tamaulipas, México; realizaron un análisis microbiológico de 48 muestras de agua aromatizada que se venden en algunas heladerías y 20 muestras de macedonia de frutas del supermercado, como resultados dicen que se revela la necesidad de medidas preventivas, con especial énfasis en las prácticas higiénicas de manipulación y procesamiento de alimentos, que podrían ayudar a prevenir un gran número de enfermedades transmitidas por alimentos; este estudio mostró que las aguas aromatizadas están más contaminadas que las ensaladas de frutas, lo que se atribuye al hecho de que la mayoría de las muestras de agua aromatizadas se recolectaron en establecimientos expuestos al aire libre; afirman que, la preparación de agua aromatizada requiere mucha manipulación, detectaron, menos manipulación de las frutas en comparación con las frutas para hacer agua con sabor”⁴.

Flores E.(2019) ,en su tesis titulada “Contaminación microbiológica por *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en *Citrus sinensis* (naranja) y *Solanum lycopersicum* (tomate) en las ciudades de Puno y Juliaca, 2018, las muestras se recolectaron en condiciones de esterilidad, se transportaron al laboratorio de Microbiología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas para el análisis respectivo, los resultados expresan que las frutas de *Citrus sinensis* (naranja) y *Solanum lycopersicum* (tomate) vendidos en los mercados de Puno y Juliaca, presentaron niveles superiores a los límites con respecto a la bacteria *Escherichia coli* según la Norma Sanitaria; concluyen afirmando que la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*; en naranja y tomate en las ciudades de Puno y Juliaca superan los límites permisibles de calidad de alimentos y presentando contaminación de origen fecal, constituyendo un riesgo para la salud del hombre”⁵.

Cabay M.(2020),Trabajo de Investigación titulado “Caracterización bacteriológica de frutas expendidas en supermercados de Riobamba;;se realizó la recolección de frutos expendidos en cinco puntos estratégicos de la ciudad,para el aislamiento e identificación bacteriana se empleó agar Sangre, McConkey y CLED, ,los resultados muestran la presencia de 11 bacterias, como conclusión afirman que en los frutos analizados, expendidos en los distintos supermercados de la ciudad de Riobamba, se identificó un total de 11 tipos de bacterias patógenas para el ser humano de diferente género y especie, las mismas que provocan enfermedades gastrointestinales, procedente de los distintos productos analizados, y es a través de la utilización de pruebas fisiológicas y bioquímicas que fue posible clasificar las bacterias encontradas las cuales ayudaron a identificarlas y determinar bacterias grampositivas como Enterococcus con un 21.62 % y gramnegativas como Enterobacteriaceae con un 78.38 %, tomando en cuenta cada una de las características que presenta cada batería”⁶.

Souza, J. et al., (2020) En su trabajo de investigación “Avaliação microbiológica de polpas congeladas de frutas comercializadas em feiras públicas da cidade de Macapá, Amapá;(Evaluación microbiológica de pulpas de frutas congeladas comercializadas en ferias de la ciudad de Macapá, Amapá); recogieron 500 g1kg de pulpa de frutas (piña, mango y maracuyá) en ferias en dos barrios de la ciudad de Macapá-AP, fueron posteriormente sometidas a análisis microbiológicos de coliformes Termotolerantes y Salmonella ssp en el Laboratorio del IEPA,se observó que en todos las muestras estudiadas fueron negativas para la presencia de Salmonella ssp, sin embargo se identificaron tres muestras positivas para coliformes termotolerantes que se encontraban fuera del parámetro requerido por la legislación, se pudo verificar que los productores de tienen que mejorar los aspectos higiénico-sanitarios y brindar una mayor calidad en seguridad alimentaria de estos productos consumidos por la población”⁷.

3.2. Bases teóricas

3.2. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) no procesadas

A nivel mundial las enfermedades que son producidas a través de los consumos de alimentos están catalogados dentro de la problemática del área de la salud pública; siendo algunas de las causas más frecuentes los patógenos bacterianos, quienes producen problemas de tipo gastrointestinal, con un desarrollo desfavorable que puede incluso conllevar a la muerte; ETA son las siglas a causa de producir enfermedad por el consumo de alimento conllevando a un síndrome por consumir este tipo de alimentos, también se considera el consumo del líquido elemento, conteniendo en ellos microorganismos en concentraciones que puedan dañar la salud del quien consume, los principales síntomas de estas enfermedades son los de tipo gastrointestinales acompañados de dolor abdominal y fiebre, vómitos diarreas pudiendo llegar a evolucionar desfavorablemente complicándose incluso llegando a la muerte⁸.

“Existen numerosos tipos de ETA que presentan diferentes sintomatologías, la ocurrencia de una ETA se produce por la presencia de un patógeno o su toxina en el alimento, sin embargo, la sola presencia del patógeno no es suficiente para que la enfermedad se desarrolle, por eso, generalmente en la mayoría de los casos de ETA:

- el patógeno debe estar presente en cantidad suficiente como para causar una infección o para producir toxinas;
- el alimento debe ser capaz de sustentar el crecimiento de los patógenos, o sea, debe presentar características intrínsecas que favorezcan el desarrollo del agente;
- el alimento debe permanecer en la zona de peligro de temperatura durante el tiempo suficiente como para que el organismo patógeno se multiplique y/o produzca toxina;

- debe ingerirse una cantidad (porción) suficiente del alimento conteniendo el agente, para que la barrera de susceptibilidad del individuo sea sobrepasada (OMS, 2018), las ETA constituyen un problema sanitario y económico de relevancia mundial, los alimentos contaminados plantean amenazas para la salud y ponen en peligro la vida de gran cantidad de individuos, los lactantes, los niños pequeños, las mujeres embarazadas, las personas mayores y las personas con enfermedades subyacentes son particularmente vulnerables”⁹.

Fraille afirma que las intoxicaciones que desencadenan en enfermedades tras la ingesta de estos alimentos son causados por la presencia de microorganismos patógenos o de productos químicos en los alimentos que se consumen, pudiendo afectar a un grupo de personas tras el consumo común; en Europa y Estados Unidos se han reportado que van en aumento las toxico infecciones alimentarias a causa de alimentos de origen vegetal (AOV), asimismo parecen ser menos lesivos debido a que no hay reportes de hospitalizaciones en cantidades producto de ello y existe un menor número de fallecidos por esta causa¹⁰.

Los brotes de Las toxiinfecciones alimentarias (TIA) se da por consumir en grandes cantidades las frutas tales como el melón y frutos rojos, datos de Europa y Estados Unidos de Norte América teniendo como responsables cepas de Salmonella y VHA, Virus de la Hepatitis A;¹⁰.

Consumir las frutas nos proporciona beneficios directos para mantener una buena salud, pero a su vez pueden contener microorganismos patógenos tales como, E. coli, Salmonella, y Listeria; las frutas se pueden contaminar en cualquiera de las etapas, desde su producción hasta llegar a la mesa dándose incluso ella en la propia cocina de las personas siendo esta conocida como contaminación cruzada, es un imperativo el lavarlas adecuadamente para tener seguridad.

3.3. Detección de patógenos en alimentos

Para realizar un control adecuado de calidad en las frutas y en los alimentos en general se deben detectar y enumerar los microorganismos de las frutas inclusive en superficies, que tienen contacto con alimentos, por ello es importante implementar técnicas de detección para efectuar la vigilancia y el control de dichos microorganismos y prevenir las enfermedades que éstos producen, el establecimiento de medidas de control correctas requiere de métodos confiables de diferenciación entre bacterias patógenas y no patógenas, así como de bacterias ubicuas presentes en el suelo, el agua y el tracto gastrointestinal¹¹.

Según los reportes de las enfermedades gastrointestinales, los causantes son el consumo de los alimentos quienes estos son los agentes de transmisión, frente a ello la intoxicación alimentaria se debe al consumo de un solo alimento, esto se da cuando un grupo de personas padecen o desarrollan el mismo síndrome con problemas gastrointestinales debido a que compartieron una comida en alguna reunión social o en algún restaurante¹².

Bacterias productoras de enfermedades gastroentéricas

A) . Escherichia coli diarrea génicas

Se consideran que hay 5 grupos de E. coli quienes son los que desarrollan la gastroenteritis: 1) E. coli enterotoxigénico; 2) E. coli entero patógeno; 3) E. coli entero hemorrágico, llamado también verotoxigénico; 4) E. coli entero invasivo, y 5) E. coli entero agregativo, para llegar al diagnóstico microbiológico de este tipo de procesos enterocolitis quienes son causados por los 5 tipos de E. coli diarrea génicos se torna un poco complicado porque es parte de la microbiota intestinal del ser humano¹².

B). *Enterococcus* spp cocáceas grampositivas, quienes se encuentran en pares o cadenas cortas (Figura 1). Las anaerobias facultativas, catalasa negativa. Presentan crecimiento en caldo con 6,5% NaCl e hidrolizan esculina en presencia de sales biliares al 40%; la mayoría de los *Enterococcus* spp hidrolizan L-pyrrolidonyl- β -naftilamida (PYR) y tienen antígeno del grupo D de Lancefield, todas las cepas producen leucinoaminopeptidasa ¹³.

C). *Shigella* spp.

La infección que produce la *Shigella* (shigelosis) es una enfermedad intestinal siendo el principal signo de la infección la diarrea, la cual a menudo contiene sangre¹².

D). *Salmonella* spp.

Los agentes causantes de enteritis por salmonella difieren según la ubicación del área geográfica; siendo los de mayor frecuencia la enteritis y typhimurium, en nuestro medio encontramos la salmonella tiphy.^{12,13}.

E). *Yersinia* spp.

Yersinia enterocolitica crece en agar MacConkey y agar SS (en los que forma colonias transparentes), en agar entérico de Hektoen (las colonias son de color salmón porque fermenta la sacarosa) y en agar XLD (donde forma colonias amarillas por fermentar la xilosa). Al crecer más lentamente que el resto de las enterobacterias a 37.1°C las colonias son muy pequeñas y pueden pasar desapercibidas^{12, 13}.

F). *Listeria monocytogenes*.

Es una bacteria oportunista que puede multiplicarse fuera del huésped aún con bajas exigencias en cuanto a nutrientes es comparada con otras bacterias patógenas que no producen esporas las cuales son transmitidas por los alimentos. Presenta la particularidad de resistir distintas condiciones como de congelación, secado, acidez y frío^{12, 13}.

G. Pseudomonas

Las especies pertenecientes al género *Pseudomonas* son microorganismos ubicuos que se encuentran en la tierra, en productos en estado de descomposición, en la vegetación y en el agua, son patógenos oportunistas presentes en una gran variedad de ambientes. Actualmente, se hallan también en el ambiente hospitalario, en ambientes húmedos, como la comida, lavabos, baños, fregonas, los respiradores y equipos de diálisis, e incluso en soluciones desinfectantes^{12,13}.

H). *Campylobacter* spp.

En la actualidad es la primera causa bacteriana de gastroenteritis en los países desarrollados, es un patógeno alimentario resistente a antibióticos, considerado como el primer agente etiológico de diarrea en seres humanos en países desarrollados, y el segundo o tercero en países en vías de desarrollo, las especies termo tolerantes de *Campylobacter*, son mundialmente reconocidas por generar la campilobacteriosis, una zoonosis asociada al consumo de alimentos de origen animal, el cuadro clínico generado por estas especies suele ser auto limitado, y la aplicación de un tratamiento antibiótico solo está recomendado en casos clínicamente severos, debido al desarrollo de mecanismos de resistencia antibiótica en *Campylobacter* spp., situación que ha provocado la incorrecta utilización de estos fármacos en lo que refiere a salud animal y humana; no es común que forme parte de la flora microbiana normal del ser humano, excepto en los pacientes hospitalizados y en los pacientes ambulatorios inmunodeprimidos^{12,13,14}.

I). *Staphylococcus aureus*

Este *Staphylococcus aureus* está considerado como uno de los microorganismos más importantes en la práctica médica diaria ya que es capaz de provocar una extensa gama de enfermedades, ya sea por acción directa o mediante la acción de sus toxinas, el tratamiento de estas infecciones se ha convertido en algo extraordinariamente complejo ya que actualmente se ha dado la aparición en la

comunidad de cepas de *S. aureus*, resistentes a la meticilina, que provocan infecciones en pacientes sin factores de riesgo, fundamentalmente en niños y adolescentes^{12,13,14}.

3.4. Resistencia bacteriana

La resistencia a los antimicrobianos (ATM) actualmente es una de las mayores amenazas para la salud pública mundial, si no tomamos medidas urgentes llegaremos a la denominada “era post antibiótica”, donde ningún ATM tendría lugar en el tratamiento y las infecciones serían mortales, sumado a esto la facilidad de desplazamiento de las personas, tanto en el ámbito nacional e internacional, agrava el problema debido a la diseminación de gérmenes resistentes¹⁵.

3.4.1 Mecanismos de resistencia bacteriana

Debido a que las bacterias pueden adaptarse a los cambios como a la antibioticoterapia estas pueden modificarse y lograr una barrera de protección frente a los antibióticos. La resistencia del tipo adquirido esto se da debido a la modificación en su carga genética de cada bacteria, la resistencia transmisible es importante pudiendo estas pasar de una bacteria hacia otra (9-10-11)¹⁶.

Tres mecanismos de resistencia bacteriana¹⁶

1. Inactivación del antibiótico por enzimas: La bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las betalactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas¹⁶.
2. Modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana: Las bacterias producen mutaciones en las porinas de la pared que impiden la entrada de ciertos antibióticos (betalactámicos) o alteran los sistemas de transporte (aminoglucósidos en los anaerobios)¹⁶.
3. Alteración por parte de la bacteria de su punto diana, impidiendo o dificultando la acción del antibiótico: Aquí podemos contemplar las alteraciones a nivel del ADN girasa (resistencia de

quinolonas), del ARNr 23S (macrólidos) de las enzimas PBPs (proteínas fijadoras de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos)¹⁶.

3.5. Contaminación de las frutas.

Las frutas están expuestas a los microorganismos desde el proceso de producción, en el entorno agrícola, y luego en la manipulación, siendo más precisos a través del contacto con el suelo, agua de riegos contaminados y animales o personas que transporten o manipulen estos alimentos¹⁷.

La Salmonella Typhi, Clostridium sp., Escherichia coli son las bacterias más comunes que se encuentran presentes en las frutas y verduras, la Salmonella Typhi es una bacteria que es transmitida por consumir agua contaminado o alimentos de riego o que son lavados con aguas que están infectados, son más comunes en los países subdesarrollados, como es el caso nuestro, causando así la fiebre tifoidea, con síntomas característicos de fiebre, dolor de cabeza, diarreas, dolor abdominal, náuseas y vómitos^{17,18}.

IV.- CONTENIDO

4.1. Identificación del área de estudio

Para poder realizar el presente estudio se emplearon muestras de frutas comercializadas en el Mercado Modelo del Distrito de el Tambo, Mercado Modelo del Distrito de Huancayo y Mercado modelo del Distrito de Chilca.

4.2. Toma de muestra

Antes de iniciar la recolección de las frutas identificamos los lugares de expendio de frutas las cuales están distribuidas en espacios propios para expender estos productos en cada mercado escogimos al azar los puestos para realizar el muestreo, las frutas se recolectaron en bolsas estériles, colocándoles una codificación en relación al lugar de procedencia, se tuvo el cuidado de refrigerar adecuadamente para trasladarlos al laboratorio, se tomó dos ejemplares de los tres productos frutícolas obtenidos en cada uno de los mercados modelo del Tambo, Huancayo y Chilca, los cuales se transportaron al Laboratorio de Microbiología, lugar donde se realizaron los análisis.

Figuras 1, 2y 3 de Toma de muestra. A) Mercado Modelo del Tambo B) Mercado Modelo de Huancayo C) Mercado modelo de Chilca



Autor: Fuente propia.

Tabla N°1. Descripción de ubicación de cada sector del muestreo

	Estación de muestreo	Ubicación
Punto A	Mercado Modelo (1)	Distrito Tambo
Punto B	Mercado Modelo (2)	Distrito de Huancayo
Punto C	Mercado Modelo (3)	Distrito de Chilca

Autor: Fuente propia

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO CLÍNICO

Proceso 1. Aislar bacterias patógenas presentes en cada muestra

Se inicia con el análisis microbiológico, se debe de tener precaución para evitar contaminar, desinfección de área de trabajo, se realizó con alcohol al 70% e hipoclorito de sodio al 5% y se utilizó toda la ropa adecuada de laboratorio como medidas de protección.

Se tomó la muestra del centro de la fruta aprox. 25 gramos se procedió a triturarlo y se preenriqueció en 225 ml en agua peptonada la que luego se incubó por 24 horas a 37°C.

Se tomó luego 1ml de cultivo, se inoculó en 9 ml de agua peptonada e incubó por 24 horas a 37°C. De acuerdo a ello se observará las colonias y se escogerá las sospechosas.

Figura 4: Pre – enriquecimiento, se realizó de cada muestra obtenida



Autor: Fuente propia

Figura 5 Llenado de 1ml del enriquecimiento primario con 9ml de agua peptonada a tubos estériles de cada muestra.



Autor: Fuente propia

Proceso 2. Preparación de medios de cultivo

Se seleccionó los tipos de Agar adecuado para este estudio de campo siendo ellos MacConkey; Sangre; y Müller Hinton; estos se preparan de acuerdo al fabricante.

Proceso 3. Aislamiento de colonias

Se realizó la siembra con la técnica conocida por agotamiento en el agar MacConkey, Sangre, se debe de incubar colocando en posición invertida en un lapso de tiempo de 24 horas a 37°C en aerobiosis. microaerofilia para aislar las colonias se hizo por medio de resiembra, es en este proceso que se obtiene colonias puras.

Figura 7 Siembra de las muestras y Figura 8 Crecimiento bacteriano



Autor: Fuente propia

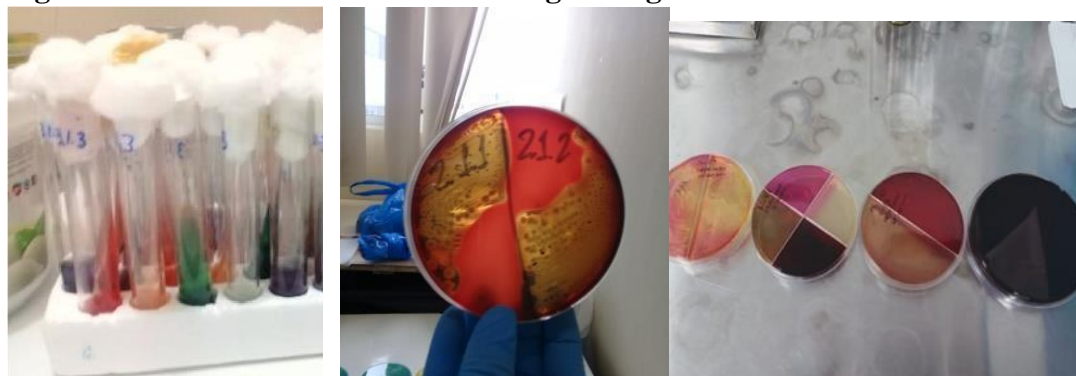
Proceso 3. Identificación de bacterias patógenas

Se realizó pruebas bioquímicas, esto para poder identificar patógenos en las frutas, la cual fue por medio de la detección de enzimas (coagulasa, y catalasa), LIA (Lysine – Iron – Agar Kligler, Ureasa, Citrato, Malonato.

Figura 9 Imagen de las baterías químicas

Figura 10 Sembrando las bacterias

Figura 11 muestra con crecimiento en agar sangre



Autor: Fuente propia

Proceso 4. Resistencia antibiótica en las bacterias aisladas en los cultivos agrícolas

Se identificó bacterias patógenas, para luego emplear el método de difusión Kirby-Bauer que mide la resistencia y sensibilidad a diferentes, para este paso se trabaja con un cultivo puro, y así conocer la sensibilidad antibiótica, se hace un aislamiento en placas que es un medio óptimo para la cepa.

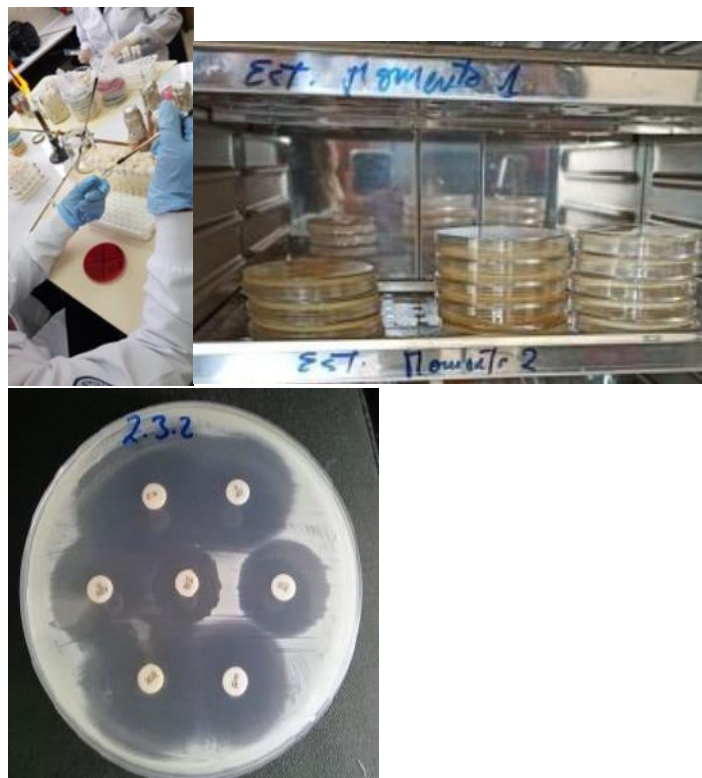
Antibióticos empleados en discos: ciprofloxacino (CIP), azitromicina (AZM), Gentamicina (CN), oxacilina (OX).

Para tal fin preparamos una dilución en NaCl 0,89% de cada colonia trabajada y previamente aislada, se confronta a 0,5 de turbidez con el patrón McFarland. Empleando un hisopo el cual fue esterilizado para sembrar en Mueller Hinton, se cubrió completamente la caja de sembrado colocando en angulación correcta la cual se define entre 60° a 70° para luego colocar los discos de antibióticos, para este fin estos se colocan a 15 mm del borde y 20 mm equidistantes cada uno para luego llevar a la incubadora por 24 horas a 37°C, al día siguiente se realizó las lecturas, para este caso nos basamos en parámetros clínicos establecidos por Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, que es la CLSI es como la ISO, pero específica para el laboratorio clínico, en el sentido de que elabora estándares de consenso²².

Figura 12. Bacterias diluidas en suero fisiológico

Figura 13. Siembra en el Miuller hinton

Figura14, Antibiograma se puede apreciar familias de Enterococcaceae y Enterobacteriaceae



Autor: Fuente propia

Bacterias Encontradas

Tabla N°2.- Bacterias aisladas

Por las pruebas descritas encontramos bacterias Gram negativas 11 (29.72 %) y Gram positivas 26 (70,28 %) respectivamente.

Bacterias	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Gram negativas	26	70,28 %
Gram positivas	11	29,72 %
Total	37	100 %

Autor: Fuente propia

Tabla N°3 Bacterias aisladas, cepas y Temperatura ambiente

Lugar de toma muestra	de Producto de fruticola	Bacteria aislada	Cepas bacterianas	Temperatura ambiente °C
Mercado del modelo Tambo	Manzana	<i>Escherichia coli</i>	1	15°C
		<i>Enterococcus spp</i>	1	
	Durazno	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	
		<i>Citrobacter diversus</i>	1	
Mercado Modelo de Huancayo	Manzana	<i>Escherichia coli</i>	2	15°C
		Durazno	<i>Enterococcus sp</i>	
	Pera		<i>Enterobacter cloacae</i>	
		<i>Citrobacter freundii</i>	1	
Mercado Modelo de chilca	Manzana	<i>Escherichia coli</i>	2	15°C
		Durazno	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	
	Pera		<i>Enterobacter cloacae</i>	

Autor: Fuente propia

Tabla N°4.-Bacterias patógenas aisladas de las frutas recolectadas de los tres mercados de la ciudad de Huancayo.

Familia	Especie	Frecuencia	
(n)			
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	6	26
	<i>Enterobacter cloacae</i>	6	
	<i>Citrobacter freundii</i>	4	
	<i>Enterococcus spp</i>	2	
	<i>Citrobacter diversus</i>	4	
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	4	
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Estafilococo</i>	4	11
	<i>coagulasa negativa</i>	7	
	<i>Enterococcus sp</i>		
TOTAL		37	

Autor: Fuente propia

Tabla N° 5.-Susceptibilidad y resistencia de Enterobacteriaceae

MUESTRA	CIP	AZM	CN	OX
<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	S	S	S	S
<i>Citrobacter freundii</i>	S	S	S	S
<i>Enterococcus spp</i>	S	S	S	S
<i>Citrobacter diversus</i>	S	S	S	S
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	S	S	S	S

Autor: Fuente propia

Tabla N° 6.-Susceptibilidad y resistencia de Enterococcaceae

MUESTRA	CIP	AZM	CN	OX
<i>Enterococcus spp</i> (cepa 1)	S	S	S	S
<i>Enterococcus spp</i> (cepa 2)	S	S	S	S
<i>Enterococcus spp</i> (cepa 1)	S	S	S	S
<i>Enterococcus spp</i> (cepa 2)	R	S	S	S
<i>Enterococcus spp</i> (cepa 1)	S	S	S	S
<i>Estafilococo coagulasa</i> (cepa1)	S	S	S	S

Autor: Fuente propia

V.- DISCUSION

Soto et al es enfático al decir que la “La enfermedad transmitida por alimentos (ETA) es el síndrome originado por la ingestión de alimentos y/o agua que contienen agentes etiológicos en cantidades tales que afectan la salud del consumidor”⁴. Respecto a ello, Fraile et al son concluyentes al decir que “En un programa de seguimiento de patógenos transmitidos por alimentos, se observó que la mayoría de los vegetales y frutas contaminados son aquellos vendidos enteros a granel que no están tratados ni lavados, se demostró que un leve procesamiento que sufren, no es suficiente para la completa eliminación de todos los patógenos, al estar destinado su consumo en crudo y sin ninguna etapa de limpieza previo consumo, por lo que la carga de contaminación final es potencialmente mayor con los riesgos que ello conlleva”⁶. Ocurre lo mismo con las frutas expandidas en Huancayo, las cuales son consumidas sin un adecuado proceso de limpieza, “ Sin embargo, las frutas y hortalizas no se consideran alimentos de alto riesgo ni potencialmente peligrosos, pero sí una posible vía de transmisión de estos patógenos si no hay una buena higiene”¹⁴. Asimismo Cabay⁶ afirma que “Estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud institución caracterizada por tratar temas de mayor relevancia en salud, manifiesta que las frutas son elementos importantes de una dieta saludable, el mínimo consumo de estos alimentos está asociado a un mal estado de salud y a un mayor riesgo de adquirir enfermedades, causando problemas crónicos, se considera que en el año 2017 unos 3,9 millones de muertes se debieron a un consumo inadecuado de frutas”⁶. Es sumamente importante la ingesta de frutas particularmente, debido a que disminuye riesgos para adquirir , enfermedades como algunos tipos de cáncer y las cardiopatías. Entender este tema complejo, de la contaminación microbiana en las frutas para que la población tome conciencia de su importancia, para lograr excelente calidad en los productos frutícolas, las bacterias que se encuentran en ellas son generalmente microorganismos como las levaduras y

hongos y bacterias lácticas, asociadas a ellas al no lavarlas o contaminadas en el proceso de producción se hallan patógenos varios, Flores¹⁹ encontró *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*, en frutas de *Citrus sinensis* (naranja) expandidas en mercados de Puno, Cabay⁶ “Utilizando pruebas fisiológicas y bioquímicas se clasificaron las bacterias encontradas las cuales ayudaron a identificarlas y determinar bacterias grampositivas como *Enterococcus* con un 21.62 % y gramnegativas como *Enterobacteriaceae* con un 78.38 %, tomando en cuenta cada una de las características que presenta cada bacteria”⁶.

VI.- CONCLUSIONES

- A partir de las frutas analizadas que son comercializadas en tres mercados de la ciudad de Huancayo se identificó un total de seis (6) bacterias, que son patógenas, las cuales provocan enfermedades gastrointestinales.
- Se considera que una de las razones por las cuales; Junín ocupa el cuarto lugar en Departamentos con mayor número de muertes reportadas por EDA, es la presencia de estas bacterias en frutas expandidas en Huancayo.
- Mediante las pruebas bioquímicas y fisiológicas se clasificó las bacterias encontradas, siendo estas grampositivas como *Enterococcus* con un 29.72 % y gramnegativas como *Enterobacteriaceae* con un 70.28 %.
- En referencia a la susceptibilidad, de las bacterias encontradas, las cuales fueron analizadas por el método de Kirby-Bauer, encontrando que en su totalidad son susceptibles a los antibióticos del tipo ciprofloxacino (CIP), azitromicina (AZM), Gentamicina (CN), oxacilina (OX).

VII.- RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar medidas de, control y educación en los mercados respecto al manejo de alimentos, y de frutas vendidos en mercados de Huancayo.
- Se debe fomentar el uso adecuado del agua utilizado en toda la cadena productiva y comercialización de las frutas en la ciudad de Huancayo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Urcohuaranga, R. Nivel de conocimiento sobre medidas preventivas de las enfermedades diarreicas agudas en madres de niños menores de 2 años que acuden al centro de salud de Sapallanga 2018. [Tesis]; Universidad Privada Franklin Roosevelt; 2019.
2. Gutiérrez, M. Evaluación microbiológica en frutas exóticas: mango fresco (*Mangifera indica* L.) y sus variedades. 2014.
3. Forero, Y; Galindo, M; Ramirez, G. Patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes escolares de Colombia. *Revista chilena de nutrición*, 2017, vol. 44, no 4, p. 325-332.
4. Valadez F, et al. Microbiological quality of ready-to-eat streetvended flavored waters and fruits salads in Reynosa, Tamaulipas, Mexico. *Acta univ [revista en la Internet]*. 2017 Dic [citado 2021 Ene 11]; 27(6): 3-9. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-62662017000600003&lng=es. <https://doi.org/10.15174/au.2017.1304>.
5. Flores, E. Contaminación microbiológica por *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en *Citrus sinensis* (naranja) y *Solanum lycopersicum* (tomate) en las ciudades de Puno y Juliaca, 2018. 2019.
6. Cabay, M. Caracterización bacteriológica de frutas expandidas en supermercados de Riobamba. 2020. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Chimborazo 2020.
7. Souza, A; et al. Avaliação microbiológica de polpas congeladas de frutas comercializadas em feiras públicas da cidade de Macapá, Amapá. *Research, Society and Development*, 2020, vol. 9, no 2, p. e191922152-e191922152.
8. Soto, Z; Pérez, L; Estrada, D. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Salud Uninorte*, 2016, vol. 32, no 1, p. 105122.

9. Ruiz, M. Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas con actividad inhibitoria de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. 2019.
10. Fraile, I, et al. Infecciones transmitidas por consumo de frutas y verduras frescas mínimamente procesadas. 2019.
11. Rojas, R; Gonzáles, T. Detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Bioquímica*, 2006, vol. 31, no 2, p. 69-76.
12. Porte, L, et al. *Enterococcus sp* Parte I. *Revista chilena de infectología*, 2007, vol. 24, no 3, p. 231-231.
13. Hernández, C., Aguilera,G, Castro E. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 2011, vol. 31, no 4, p. 137.
14. AESAN, Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición.
15. Morales, M., et al. Antimicrobianos: una revisión sobre mecanismos de acción y desarrollo de resistencia. 1985.
16. Angles, E. Uso racional de antimicrobianos y resistencia bacteriana:¿ hacia dónde vamos? *Revista Médica Herediana*, 2018, vol. 29, no 1, p. 3-4.
17. Acosta, R; Vargas, C. Mecanismos de resistencia bacteriana. *Diagnóstico*, 2018, vol. 57, no 2, p. 82-86.
18. Contaminación microbiana en frutas y hortalizas,www.dietistasnutricionistas.es
19. Utzinger, D, et al. Calidad microbiológica y valor nutricional de frutas frescas que se venden en puestos callejeros. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 1992, vol. 13, no 1-2, p. 17-26.

20. Agar de mac conkey – probiotek. [Internet]. 2017[27 Diciembre 2021]. Disponible en: <https://www.probiotek.com/productos/reactivos/medios-de-cultivo-reactivos/agar-de-mac-conkey/>

21. Agar-agar: qué es, propiedades y cómo cocinarlo – Conasi, [Internet]. 2018[27 Diciembre 2021]. Disponible en: <https://www.conasi.eu/blog/consejos-de-salud/agar-agar-propiedades-como-cocinarla/>

ANEXOS

Anexo 1. Preparación de Agar Mac Conkey²⁰

Mac CONKEY AGAR MUG

COMPOSICIÓN

Peptona de caseína 17,000 g

Peptona de carne 3,000 g

Cloruro sódico 5,000 g

Lactosa 10,000 g

Sales biliares 1,500 g

Rojo neutro 0,030 g

Cristal violeta 0,001 g

MUG 0,100 g

Agar agar 13,500 g (Fórmula por litro) pH final: $7,1 \pm 0,2$

PREPARACIÓN²¹

Disolver 50 g de medio en 1 litro de agua destilada.

Calentar agitando hasta ebullición Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.



Anexo 2 Preparación de Agar S²⁴

Sirve para el crecimiento de la gran mayoría de las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas.

Formulación Concentración/L ²⁴

Hidrolizado pancreático de caseína 12.0

Hidrolizado péptido de tejido animal 5.0

Extracto de levaduras 3.5

Extracto de bovino 3.0

Almidón de maíz 1.0

Cloruro de sodio 5.0

Ágar Base 15.0

Sangre ovina, desfibrinada 5% H₂O ultra purificada 1L pH 7,3 ±0,2 a 25°C

Anexo 2. Declaración jurada de autoría

En la fecha, yo Mendoza Saravia; Gian Pier; identificado con DNI N°: 47724101 Domiciliado en Jr. Rancas242, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Tecnología Médica; Especialidad de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, me COMPROMETO a asumir las consecuencias administrativas y/o penales que hubiera lugar si en la elaboración de mi investigación titulada “IDENTIFICACIÓN BACTERIOLÓGICA EN FRUTAS EXPENDIDAS EN MERCADOS DE HUANCAYO”. Se haya considerado datos falsos, falsificación, plagio, auto plagio, etc. y declaro bajo juramento que mi trabajo de investigación es de mi autoría y los datos presentados son reales y he respetado las normas internacionales de citas y referencias de las fuentes consultadas.

Huancayo, del 2021.



GIAN PIER MENDOZA SARA VIA
D.N.I.: 47724101