

Artículo original

Calidad microbiológica en frutas de conchas comestibles expandidas en mercados populares de los municipios Valencia y San Diego, estado Carabobo, Venezuela

Alexander Gil^{a,*}, Alba Morón de Salim^{a,c}, Yosainix Gaesrte^b

^aDepartamento de Bioquímica, ^bDepartamento de Microbiología. Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Facultad de Ciencias de la Salud. ^cInstituto de Investigaciones en Nutrición (INVESNUT). Universidad de Carabobo. Sede Valencia. Venezuela.

Recibido 9 de febrero de 2010; aceptado 7 de junio de 2010

Resumen: Las frutas constituyen un grupo de nutrientes indispensables para la salud y bienestar del individuo. Se evaluó la calidad microbiológica en frutas de concha comestible (fresas, guayabas y duraznos) expandidas en mercados populares de Valencia y San Diego, estado Carabobo, Venezuela. Se determinó el número de UFC/g de mesófilos aerobios (MA), coliformes totales y fecales (CT, CF) y *Salmonella* spp. según Normas COVENIN. La mayoría de los recuentos obtenidos de MA fueron elevados en la mayoría de las frutas. Los niveles de contaminación por estos microorganismos se encontraron entre $1,4 \times 10^5$ y $6,6 \times 10^{10}$ UFC/g. Los recuentos encontrados para CT generalmente resultaron inferiores a los obtenidos para los MA, y se encontraron en un rango de $2,6 \times 10^3$ a $7,2 \times 10^{10}$ UFC/g. No se detectó la presencia de CF y de *Salmonella* spp., en las muestras evaluadas. De las frutas analizadas las fresas fueron las que presentaron el mayor grado de contaminación microbiológica tanto por MA como CT. La ausencia de CF y *Salmonella* spp. sugiere que las condiciones a las cuales fueron sometidas las frutas durante el período de pre y postcosecha, estuvieron aparentemente dentro los límites permisibles de calidad sanitaria.

Palabras clave: bacterias enteropatógenas, frutas, aceptabilidad microbiológica, calidad sanitaria, contaminación

Microbiological quality of fruits that have edible peels sold at popular markets of the Valencia and San Diego Municipalities, Carabobo State, Venezuela

Abstract: Fruits constitute a group of indispensable nutrients for the health and wellbeing of individuals. We evaluated the microbiological quality of fruits with edible peels (strawberries, guavas and peaches) sold at popular markets in Valencia and San Diego, Carabobo State, Venezuela. We determined the number of CFU/g of mesophilic aerobics (MA), total and fecal coliforms (TC, FC) and *Salmonella* spp. according to COVENIN guidelines. Most of the MA counts obtained were high in most fruits. The contamination levels by these microorganisms were found to be between 1.4×10^5 and 6.6×10^{10} CFU/g. The counts found for TC were generally lower than those for MA, and occurred in amounts of between 2.6×10^3 and 7.2×10^{10} CFU/g. The presence of FC and *Salmonella* spp. was not detected in the samples evaluated. Of the fruits studied, strawberries were the ones which showed the highest microbiological contamination degree both by MA and TC. The absence of TC and *Salmonella* spp. suggests that the conditions to which the fruits were submitted during the pre and post harvest period apparently were within the permissible limits of sanitary quality.

Keywords: enteropathogenic bacteria, fruits, microbiologic quality, sanitary quality, contamination

* Correspondencia:

E-mail: alexander_giltorres@hotmail.com

Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), el 60% de todas las muertes en el mundo se deben a las enfermedades crónicas no transmisibles (ENT) tales como

las cardiovasculares, cáncer, diabetes y obesidad [1]. Los factores de riesgo comunes a todas estas patologías son: una alimentación inadecuada, el tabaquismo y escasa actividad física. Se estima que el bajo consumo de frutas y verduras se encuentra dentro de los diez principales factores de riesgo asociados a estas patologías y que 2,7 millones de vidas podrían salvarse anualmente con un consumo adecuado de

este tipo de alimentos [2, 3].

La creciente preocupación de algunos consumidores por mantener una dieta sana y equilibrada, ha hecho que el consumo de frutas frescas se haya incrementado en los últimos años, constituyendo un grupo de nutrientes indispensable para la salud y bienestar del individuo especialmente por su aporte de fibra, vitaminas, minerales y sustancias de acción antioxidante tales como las vitaminas C y E, beta-caroteno, licopeno, luteína, flavonoides y antocianinas [4]. La gran diversidad existente, con sus distintas propiedades y forma de ingerirlas, hacen de ellas un producto de gran aceptación por parte de la población en general.

La producción y comercialización de frutas frescas son procesos dinámicos y sometidos a innovación constante ya que es una de las principales actividades generadoras de ingresos para el sector agropecuario. No obstante, se han incrementado los problemas de salud de los consumidores por la contaminación de bacterias enteropatógenas en este tipo de alimentos [5], siendo las frutas de concha comestible las que presentan mayores posibilidades de convertirse en vehículos de microorganismos patógenos. El consumidor establece, en muchos casos, la calidad de la fruta sólo en función de sus características organolépticas: color, textura, tamaño, aroma, sabor y consistencia, obviando, en oportunidades, la posible presencia de gérmenes patógenos que podrían representar un riesgo para la salud humana si no se tiene la precaución de lavar, desinfectar o eliminar la epidermis de los frutos.

En las últimas décadas, el aumento de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) asociadas al consumo de alimentos frescos, entre ellos las frutas, ha conducido a las autoridades sanitarias a considerar estas patologías como un problema de salud pública. Los reportes de brotes de ETA asociados a productos agrícolas en países industrializados constituyen por lo general un porcentaje bajo, aunque en los últimos años, el número de casos ha aumentado. No obstante, en países subdesarrollados las ETA causadas por contaminación de frutas y vegetales son frecuentes y en algunas áreas pueden causar brotes epidémicos, pero debido a la falta de registros sanitarios, la mayoría de estas epidemias no se denuncian y la literatura científica reporta muy pocos brotes [7].

Dentro de los principales microorganismos patógenos humanos involucrados en estos brotes están bacterias como *Escherichia coli* 0157:H7 [8,9], *Salmonella* spp. [10] y *Listeria monocytogenes* [11]; siendo *Salmonella* spp. el agente causal de la mayoría de los brotes.

Las frutas se encuentran expuestas a contaminación por microorganismos patógenos antes, durante y después de su cosecha [12]. En la precosecha la tierra, el agua de riego, la presencia de materia fecal humana o animal, el tipo de abono utilizado, el aire, y las personas que cuidan las tierras de cultivo son elementos importantes a tomar en consideración [13]. En la poscosecha destacan la maquinaria y equipo, los recipientes, animales domésticos y silvestres, los trabajadores, el polvo de la atmósfera y los vehículos [12].

La naturaleza y la abundancia de la flora contaminante (bacterias, virus, hongos, parásitos) es muy variable entre los diferentes tipos de frutas [14]. En vista de que la microflora de las frutas de concha comestible varía ampliamente y refleja, tanto las condiciones de cultivo como las condiciones sanitarias durante el procesamiento y comercialización; es necesaria la evaluación de la calidad microbiológica de estos productos, a fin de asegurar la inocuidad de los mismos. Para esto se utilizan microorganismos indicadores, cuya presencia en los alimentos indica exposición a condiciones que pueden introducir microorganismos patógenos y/o permitir su crecimiento y proliferación [15].

Debido a la importancia de las frutas de concha comestible como fuente de ETA y la utilidad de las bacterias entéricas indicadoras para evaluar la seguridad sanitaria de los alimentos, la presente investigación tuvo como finalidad analizar la calidad microbiológica de frutas de concha comestible que se expenden en mercados populares de los municipios Valencia y San Diego del estado Carabobo en Venezuela, a través de la determinación de indicadores de calidad microbiológica (mesófilos aerobios) e indicadores entéricos (coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella* spp.)

Materiales y métodos

El trabajo es una investigación de tipo descriptiva, longitudinal, no experimental basada en el análisis de muestras de frutas de concha comestible, donde se determinó la presencia de bacterias enteropatógenas. La muestra estudiada estuvo conformada por fresas, guayabas y duraznos frescos expendidos en tres mercados populares ubicados en los municipios Valencia y San Diego, estado Carabobo.

Se adquirieron 100 g de cada una de las frutas seleccionadas al azar, verificándose al momento de su obtención que dichas frutas estuvieran maduras, y libres de putrefacción y magulladuras. El muestreo de cada fruta fue de tipo no probabilístico intencional [16].

Del municipio Valencia se escogieron, aleatoriamente, dos mercados populares que fueron designados con las letras A y B respectivamente; de igual forma se seleccionó un mercado popular ubicado en el municipio San Diego, el cual se designó con la letra C. Las frutas se compraron realizando tres muestreos consecutivos en cada uno de los mercados y fueron recolectadas por separado en bolsas plásticas estériles, evitando la manipulación directa por parte del expendedor a través de la inversión de las bolsas recolectoras.

Las frutas fueron procesadas según lo establecido en la Norma COVENIN N° 1126-89 para muestras sólidas [17]. Se pesaron 25 g de cada tipo de fruta y se colocaron en una bolsa plástica estéril. Posteriormente se adicionaron 225 mL de agua peptonada al 0,1% y se procedió a triturar su contenido ejerciendo presión manual hasta obtener una mezcla homogénea, tomándose la solución resultante como una dilución 1:10, a partir de la cual se prepararon diluciones

1:10³, 1:10⁵ y 1:10⁶, empleando el mismo diluyente.

Una vez preparadas las diluciones se procedió a la determinación de mesófilos aerobios (MA) mediante la técnica de Vertido en Placa, empleándose el agar Métodos Estandar (Standard Methods Agar, SMA) como medio de cultivo y siguiendo las especificaciones descritas en la Norma COVENIN N° 902-87 para la detección de bacterias aerobias en alimentos [18]; la temperatura de incubación de las placas fue de 32 °C y los resultados fueron reportados en UFC/g de fruta.

La detección de los coliformes totales (CT) y fecales (CF) en las muestras utilizadas, fue realizada siguiendo los parámetros establecidos en la Norma COVENIN N°1086-84 1ra revisión [19]. Las placas de incubación destinadas a la determinación de CT fueron incubadas a 37°C y las reservadas para la detección de CF se incubaron a 42°C, por un periodo de 24 horas. Posteriormente a la incubación, se efectuó la lectura y el conteo de colonias en dichas placas.

Para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp, se procedió según la Norma COVENIN N° 1291-88 [20]. Las muestras fueron procesadas en varias etapas: a) Pre-enriquecimiento: se pesaron 25 g de cada una de las frutas a los cuales se añadieron 225 mL de agua peptonada estéril al 0,1%, los 225 mL de la mezcla obtenida fueron transferidos a tubos estériles e incubados a 35-37°C por 24 horas con la tapa floja; b) Enriquecimiento: después del periodo de incubación en caldo de pre-enriquecimiento, se transfirió 1 ml del cultivo a tubos con 10 mL de caldo tetrionato estéril e incubados a 35-36°C por 24 horas; c) Aislamiento: se transfirió una asada del medio de enriquecimiento

fueron incubados a 35-37°C por un período de 24 horas. Al final de la incubación se observaron los resultados de las pruebas, y los cultivos sospechosos de *Salmonella* spp., fueron aquellos que presentaron un Kliger con bisel alcalino y taco ácido con o sin producción de sulfuro de hidrógeno, que se manifestó por el ennegrecimiento total o parcial del agar. Posteriormente, a partir de estos cultivos se realizaron pruebas bioquímicas confirmatorias mediante la inoculación de caldo malonato, caldo urea, agar citrato, gelatina y agar fenilalanina.

Análisis de los datos: Debido a que las pruebas fueron realizadas por triplicado, los datos fueron organizados y expresados en valores absolutos, utilizándose la media aritmética para obtener los valores promedios de cada prueba.

Resultados

En las tablas 1 y 2 se muestran los resultados de los recuentos de MA y CT en las diferentes frutas analizadas, obtenidas en cada uno de los mercados de origen. No se detectó la presencia de CF ni de *Salmonella* spp., en las muestras evaluadas. Se pudo observar que los recuentos para MA fueron elevados en la mayoría de las frutas, a excepción de los resultados obtenidos en los duraznos provenientes del mercado "C" (no detectables). Los niveles de contaminación por estos microorganismos se encontraron entre 1,4x10⁵ y 6,6x10¹⁰ UFC/g. Las muestras que presentaron mayores niveles de MA fueron las fresas

Tabla 1. Mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella* spp., en fresas, guayabas y duraznos, expendidos en los mercados populares "A" y "B" ubicados en el municipio Valencia, estado Carabobo.

Frutas	MERCADO "A"				MERCADO "B"			
	Mesófilos aerobios (UFC/g)	Coliformes totales (UFC/g)	Coliformes fecales (UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp. (UFC/g)	Mesófilos aerobios (UFC/g)	Coliformes totales (UFC/g)	Coliformes fecales (UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp.
Fresas	3,8x10 ⁶	2,2x10 ⁶	N/A	N/A	4,5x10 ⁶	3,2x10 ⁶	N/A	N/A
Guayabas	1,4x10 ⁵	8,0x10 ⁵	N/A	N/A	9,8x10 ³	2,6x10 ³	N/A	N/A
Duraznos	4,2x10 ⁵	2,0 x10 ⁵	N/A	N/A	3,9 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴	N/A	N/A

UFC: valor promedio de tres muestreos.

N/A: valor no apreciado.

selectivo, previamente homogeneizado, a la superficie de placas de agar *Salmonella*-*Shigella* (SS) y agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD); las placas se incubaron invertidas a una temperatura de 35-37°C durante 24 horas. Al final de la incubación se observaron las placas para determinar la presencia de colonias presuntivas de *Salmonella* spp., que se caracterizan por ser claras o incoloras con o sin centro negro, procediéndose luego a la realización de las pruebas bioquímicas preliminares, mediante la siembra de dos o más colonias típicas en los medios Kliger y LIA (Agar Lisina Hierro) haciendo la inoculación en profundidad y en la superficie siguiendo un trazo longitudinal. Estos tubos

y las guayabas del mercado "C", con valores de 6,6x10¹⁰ y 1,1x10⁷ UFC/g, respectivamente.

Los recuentos encontrados para CT (Tablas 1 y 2) resultaron inferiores en muchos de los casos a los obtenidos para los MA, y se encontraron entre 2,6x10³ a 7,2 x 10¹⁰ UFC/g. La mayor contaminación por CT se obtuvo en las fresas provenientes del mercado "C" con un valor de 7,2 x 10¹⁰ UFC/g.

Discusión

En este estudio las frutas que presentaron el mayor grado

Tabla 2. Mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella* spp, en fresas, guayabas y duraznos expendidos en el mercado popular ubicado en el municipio San Diego, estado Carabobo.

Frutas	Mesófilos aerobios (UFC/g)	Coliformes totales (UFC/g)	Coliformes fecales (UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp.
Fresas	6,6x10 ¹⁰	7,2x10 ¹⁰	N/A	N/A
Guayabas	1,1x10 ⁷	1,2x10 ⁶	N/A	N/A
Duraznos	N/A	N/A	N/A	N/A

UFC: valor promedio de tres muestreos.

N/A: valor no apreciado.

de contaminación por MA fueron las fresas y guayabas provenientes del mercado "C", resultados similares a los reportados por López y col., quienes encontraron niveles de contaminación por MA comprendidos entre 10⁶ y 10⁹ UFC/g en muestras de apio y de repollo empleados para la venta de vegetales [21].

Por otra parte, las fresas presentaron los niveles más elevados de CT en todos los mercados evaluados, presentando las del mercado "C" los más altos niveles de UFC/g, mientras que en los duraznos provenientes de ese mercado no se observó crecimiento bacteriano en ninguno de los muestreos efectuados. Este resultado llama la atención, ya que pudo ser debido al lavado de los duraznos por parte del vendedor o a la desinfección del fruto en algún punto de la cadena de transporte y comercialización.

Actualmente existen varias interrogantes sobre la transmisión de microorganismos contaminantes de las frutas y de los vectores que pueden estar involucrados. Cada tipo de fruta presenta una composición y característica única. Por ejemplo, las fresas son frutillas muy delicadas y perecederas y no se lavan después de la cosecha; el durazno presenta una epidermis vellosa, mientras que la guayaba tiene una corteza lisa y delicada. Todas estas características se deben tomar en cuenta en el estudio y control de posibles riesgos de contaminación con patógenos de humanos [5]. Las frutas que crecen cerca del suelo, como la fresa, se contaminan fundamentalmente a partir de los microorganismos de la tierra, mientras que aquellas frutas que no están en contacto directo con el suelo, pueden contaminarse con microorganismos por la acción de arrastre que realiza el viento; así, bacterias coliformes como *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*, y otras bacterias como *Serratia* y *Lactobacillus*, entre otras, se encuentran frecuentemente en la superficie de estas frutas [14].

No se observó crecimiento de CF en las frutas evaluadas, lo que indicó la ausencia de contaminación fecal. Estos resultados difieren de lo reportado por Jiménez y col., quienes reportaron un alto grado de contaminación por coliformes fecales en muestras de frutas [22].

Tampoco se detectó la presencia de *Salmonella* spp. en las muestras estudiadas, resultados que coinciden con lo reportado por Mukherjee y col., quienes mencionaron que en ninguno de los productos evaluados en su estudio se

encontró *Salmonella* spp. [23].

A pesar de este resultado, el hecho de no haber aislado *Salmonella* spp., no es indicador definitivo de la ausencia de este germen en las frutas analizadas. Muchos factores, tales como la competencia bacteriana por nutrientes, condiciones ambientales adversas y mecanismos de resistencia entre otros, pudieron incidir en no lograr su recuperación [24].

Se puede concluir, que es de vital importancia el lavado de las frutas frescas de concha comestible, antes de ingerirlas, puesto que, a pesar de no encontrarse gérmenes patógenos ni contaminación fecal, estas pueden llegar a presentar altos niveles de contaminación por MA y CT, como los encontrados en este estudio, los cuales pueden llegar a comprometer el sistema digestivo de quienes los consumen, al producir diarrea por alteración de la flora intestinal.

Referencias

- Olaizola C, Esté ME, Tapia MS, Carmona A, Emaldi U. Hacia un programa de promoción del consumo de frutas y verduras en Venezuela. Rev Chil Nutr. 2006; 33 (Supl 1):306-15.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe sobre la salud en el mundo: Reducir los riesgos y promover una vida sana. Génova: OMS; 2002. En: <http://www.who.int/whr> Acceso: 10 de abril de 2010.
- World Health Organization (WHO) /Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Génova: WHO; 2003 Technical Reports Series; N° 916). En: <http://www.who.int/hpr/NPH/does/whofaoexpertreport.pdf>. Acceso: 10 de abril de 2010.
- Murcia MA, Jiménez AM, Martínez-Tomé M. Evaluation of the antioxidant properties of mediterranean and tropical fruits compared with common food additives. J Food Prot. 2001; 64:2037-46.
- Ávila-Quezada G, Sánchez E, Muñoz E, Martínez LR, Villalobos E. Diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México. Phytón (B. Aires). 2008; 77:129-36.
- University of Maryland. Mejorando la seguridad y calidad de frutas y hortalizas frescas: Manual de Formación para Instructores. 2002. En: http://www.jifsan.umd.edu/pdfs/gaps_español/secci-n-v.pdf. Acceso: 14 de abril de 2010.
- PAHO/INPPAZ. Foodborne disease outbreaks and cases reported in 1996 to the Regional Information System for the Epidemiological Surveillance of Foodborne Diseases. 1996.
- Besser R, Lett S, Weber J, Doyle M, Barrett T, Wells J, Griffin P. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* 0157:H7 in fresh pressed apple cider. JAMA. 1993; 269:2217-20.
- Ackers M, Mahon B, Leia E, Goode B, Damrow T, Hayes P, Viv W, Rice D, Barrett T, Hutwagner L, Griffin P, Slutsker L. An outbreak of *Escherichia coli* 0157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. J Infect Dis. 1998; 177:1588-93.
- Isaacs S, Aramini J, Ceibin B, Farrar J, Ahmed R, Middleton D, Howes M, Chan E, Chandran A, Harris L, Pichette S, Campbell K, Gupta A, Lior L, Pearce M, Clark C, Rodgers F, Jameison F, Brophy I, Ellis A. An international outbreak of salmonellosis associated with raw almonds contaminated

- with a rare phage type of *Salmonella enteritidis*. J Food Prot. 2005; 68:191-8.
11. Lin C, Moon S, Doyle M, McWatters K. Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella enterica* serotype Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. J Food Prot. 2002; 65:1215-20.
 12. Mossel, D. Microbiología de los alimentos. Zaragoza: Acribia: 2003.
 13. Beuchat L. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Food Safety Unit, World Health Organization. Series: Report WHO/FSF/FOS/98.21998. En: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/surface.decon.pdf. Acceso: 14 de abril de 2010.
 14. Fernández E. Microbiología e inocuidad de los alimentos. Ciudad de México: Universidad Autónoma de Querétaro. 2000.
 15. Busta F, Suslow M, Parish L, Farber J, Garrett E, Harris L. The use of indicators and surrogate microorganisms for the evaluation of pathogens in fresh and fresh-cut produce. Compr Rev Food Sci F. 2003; 2(Suppl 1): 179-85.
 16. Hernández R, Fernández C y Baptista P. Metodología de la investigación. Ciudad de México: Mc Graw- Hill Interamericana. 2006.
 17. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma 1126-89. Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. 1ra Revisión. 1989.
 18. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma 902-87. Alimentos. Método para recuento de colonias de Bacterias Aerobias en placas de Petri. 2da Revisión. 1987.
 19. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma 1086-84. Alimentos. Métodos para recuento de Bacterias Coliformes en placas de Petri. 1ra. revisión. 1984.
 20. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma 1291-88. Alimentos. Aislamiento e identificación de *Salmonella*. 1ra revisión 1988.
 21. López L, Romero J, Duarte F. Calidad microbiológica y efecto del lavado y desinfección en vegetales pretrozados expendidos en Chile. Arch Latinoamer Nutric; 2003; 53:383-8.
 22. Jiménez F, Garro L, Rodríguez E, Zeledón Z. Evaluación de la presencia de bacterias en alimentos y en el ambiente de una sección de oncología de un hospital nacional, San José, Costa Rica. Arch Latinoamer Nutric; 2004; 54: 303-7.
 23. Mukherjee A, Speh D, Jones A.T, Buesing K.M., Diez-Gonzalez F. Longitudinal microbiological survey of fresh produce grown by farmers in the upper Midwest. J Food Prot. 2006; 69: 1928-36.
 24. Branquinho M, Asturiano Ch, Jakabi M, Scala D. Incidence, internalization and behavior of *Salmonella* in mangoes, var. Tommy Atkins. Food Control. 2007; 18:1002-7.