



**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR**  
**Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente**

Carrera de Agroindustrias

**TEMA:**

**“IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN  
PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS DE LOS MERCADOS DEL CANTÓN  
GUARANDA”**

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de INGENIERO/A AGROINDUSTRIAL  
Otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias,  
Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de AGROINDUSTRIAS

Autoras

Caragulla Siza Karen Rashel

Pacheco Muñoz Diana Elizabeth

Tutor

Ing. Darwin Alberto Núñez Torres Mg.

Guaranda – Ecuador

2025

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS DE LOS MERCADOS DEL CANTÓN GUARANDA.

**REVISADO Y APROVADO POR:**



**Ing. Darwin Alberto Núñez Torres Mg.**

**TUTOR(A)**



**Dr. Isidro Favián Bayas Morejón, PhD.**

**PAR LECTOR**



**Dra. Herminia Sanaguano Salguero, PhD.**

**PAR LECTORA**

## CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Yo, Caragulla Siza Karen Rashel, con C.I. 1004727184 y Diana Elizabeth Pacheco Muñoz con C.I. 2200222202, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



Caragulla Siza Karen Rashel

e-mail: [kcaragulla@mailes.ueb.edu.ec](mailto:kcaragulla@mailes.ueb.edu.ec)

C.I: 100472718-4

Teléfono: 0989053725



Pacheco Muñoz Diana Elizabeth

e-mail: [dpacheco@mailes.ueb.edu.ec](mailto:dpacheco@mailes.ueb.edu.ec)

C.I: 220022220-2

Teléfono: 0984443075



Ing. Darwin Alberto Núñez Torres

e-mail: [danunez@ueb.edu.ec](mailto:danunez@ueb.edu.ec)

C.I: 020197757-6

Teléfono: 0994444536



ESCRITURA N°20250201004P00412

**DECLARACIÓN JURAMENTADA**

**OTORGAN:**

KAREN RASHEL CARAGULLA SIZA Y  
DIANA ELIZABETH PACHECO MUÑOZ

**CUANTÍA:** INDETERMINADA  
**DI 2 COPIAS**

**P.A.**

En el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy jueves a los quince días del mes de mayo del año dos mil veinticinco, ante mí **DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRION, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA**, comparecen con plena capacidad, libertad y conocimiento, a la celebración de la presente escritura, las señoritas **KAREN RASHEL CARAGULLA SIZA Y DIANA ELIZABETH PACHECO MUÑOZ**, por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTES. Las comparecientes declaran ser de nacionalidad ecuatorianas, mayores de edad, de estado civil solteras, de ocupación estudiantes ambas partes, domiciliada la primera en la parroquia Andrade Marin Lourdes, cantón Antonio Ante, provincia Imbabura y de paso por este cantón Guaranda, Provincia Bolívar, con celular número cero nueve ocho nueve cero cinco tres siete dos cinco y con correo electrónico [kcaragulla@mailles.ueb.edu.ec](mailto:kcaragulla@mailles.ueb.edu.ec); y la segunda en la parroquia Huachi Loreto, cantón Ambato, Provincia Tungurahua y de paso por este cantón Guaranda, provincia Bolívar, con celular número cero nueve ocho cuatro cuatro tres tres siete cinco; y, con correo electrónico [dpacheco@mailles.ueb.edu.ec](mailto:dpacheco@mailles.ueb.edu.ec), hábiles en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quienes de conocer doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación, en base a los cuales obtengo las certificaciones biométricas del Registro Civil, además por petición expresa de las partes se adjuntan sus documentos personales como son sus cédulas de ciudadanía y certificados de votación, mismos que agrego a esta escritura como documentos habilitantes. Advertidas las comparecientes por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinados que fueron en forma aislada y separada de que comparecen al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción instruidas por mí de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud; y, advertidas sobre la gravedad del juramento y de las penas de perjurio, me solicitan que recepte su declaración juramentada: Nosotras: **KAREN RASHEL CARAGULLA SIZA Y DIANA ELIZABETH PACHECO MUÑOZ**, declaramos bajo juramento que los criterios e ideas emitidos en el presente proyecto de investigación, es de nuestra absoluta autoría, titulado: "**IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS DE LOS MERCADOS DEL CANTÓN GUARANDA**". autorizamos a la Universidad Estatal de Bolívar hacer uso de todos los contenidos que nos pertenecen o parte de lo que contiene la obra, con fines estrictamente académicos o de investigación expuestos en el mismo. En el proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingenieras Agroindustriales, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, recursos Naturales y del Ambiente. Para su celebración y otorgamiento se observaron los preceptos de ley que el caso requiere; y, leída que les fue a las comparecientes íntegramente por mí la Notaria, aquellas se afirman y ratifican en la aceptación de todas sus partes y firman junto conmigo en unidad de acto, incorporándose al protocolo de esta Notaria, la presente declaración juramentada, de todo lo cual doy Fe. -----

  
SRTA. KAREN RASHEL CARAGULLA SIZA.

C.C. 1004727184

  
SRTA. DIANA ELIZABETH PACHECO MUÑOZ.

C.C. 820022220-2

  
DOCTORA MSc. GINA CLAVIJO CARRION  
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA.



# Tesis\_Final\_Karen\_Diana

 Universidad César Vallejo

---

## Document Details

**Submission ID**

trn:oid::27255:458204518

**Submission Date**

May 12, 2025, 10:22 AM GMT-5

**Download Date**

May 12, 2025, 10:32 AM GMT-5

**File Name**

Tesis\_Fin

al\_Karen\_

Diana.doc

**File Size**

4.9 MB

**138 Pages**




**23,108 Words**

**94,472 Characters**

# 9% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

## Top Sources

- 5%  Internet sources
- 3%  Publications
- 1%  Submitted works (Student Papers)

## Integrity Flags

**0 Integrity Flags for Review**

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo investigativo va dedicado primeramente a Dios y a la Virgencita cuya luz y guía han sido fundamentales a lo largo de este arduo proceso en mi carrera profesional, su presencia me ha fortalecido y me ha permitido superar los obstáculos y desafíos para alcanzar este gran logro con gratitud y humildad.

A mis padres Segundo Caragulla y María Siza que son el motivo de mi existir, mi más grande motivación e impulso en la vida; llevo estos dos apellidos con gran honor, del primero estoy orgullosa y siempre lo llevaré en alto porque le pertenece al hombre más fuerte y trabajador, el segundo admiración y respeto porque le pertenece a la mujer más valiente de mi vida; gracias por enseñarme que no existe imposibles, a ustedes que siempre creyeron en mí, en mis capacidades y en mis anhelos más profundos. A mi pequeña Camilita mi mayor inspiración, este logro también es tuyo ñañita por ser esa lucecita en mis días grises, con tu alegría y cada una de tus ocurrencias me has impulsado a seguir adelante espero que esto sea un ejemplo de que con esfuerzo y perseverancia se alcanzan las metas, seguiremos creciendo juntas y celebrando cada victoria. A mi enamorado Javier que llegó a mi vida en el momento indicado que con su amor cariño y paciencia me ha impulsado e inspirado cada día a ser mejor, gracias por celebrar conmigo cada pequeño avance, ha sido mi apoyo y fortaleza durante todo este proceso.

A mis abuelitos maternos Margarita y Elías quienes siempre estuvieron al pendiente de mi con sus palabras de aliento para no desmayar y a mis abuelitos paternos Carmen y Luis que desde el cielo siempre me han mandado su bendición. A mis tíos y primos por su apoyo motivacional que con un abrazo o una palabra fueron el impulso necesario para poder finalizar satisfactoriamente este gran logro.

Familia esto es por y para ustedes, miro hacia atrás y no puedo evitar recordar como inicio este gran sueño, esa niña que solo deseaba superarse y que confiaba en los planes que Dios tenía para ella. Hoy les dedico este gran triunfo con todo mi amor y gratitud siempre.

Les Amo.

**Karen Rashel Caragulla Siza**

## **DEDICATORIA**

Dedico este logro a Dios y la Virgen de Guadalupe, por darme la dicha de ver uno de mis más grande sueños, por guiar mi camino en cada momento, brindarme la fuerza, iluminar mis días y sobre todo decirme cada día: “No temas, porque yo estoy contigo; no desmayes, porque yo soy tu Dios que te esfuerzo; siempre te ayudaré, siempre te sustentaré con la diestra de mi justicia”.

A mi Padres Sra. Gladys Esther Muñoz Erazo y Sr. Iván Sigifredo Pacheco Gaibor, Quienes con son su amor, su dedicación y el calor de hogar nunca me dejaron caer, hablar de ellos es un orgullo, ya que sin ellos no sería la persona guerrera que hoy me muestro ante el mundo, mamá gracias por no rendirte, por creer en mí, en mis sueños desde los más pequeños hasta los más grandes, por demostrarme que con llegar a casa y recibirme con los brazos abierto sanaba todo, papá la vida me regalo a un hombre tan hermoso como usted, un guerrero, mi primer amor, mi ejemplo de superación GRACIAS por tanto, porque hoy lo estoy logrando tomada de la mano de ustedes, son el motivo de mis éxitos, las ganas de seguir superándome cada momento, enseñarme que la palabra imposible no existe.

A mi hermana Jade Carolina Pacheco Muñoz, que, a pesar de su discapacidad, a sido mi mayor inspiración, con su alegría y amor me ha impulsado a mejorar día con día, para que me mira y se sienta orgullosa de la hermana que tiene, tomando mi mano, hace que me sienta en paz y segura, siendo mi ángel, mi salvación es un honor ser tu hermana.

Al Cielo Abuelita Magi, muchas gracias por no dejarme caer por ser mi ángel de la guardia, cuidar de mí y mi familia aquí estoy de pie, y a un ángel muy grande Carlos le digo que hoy culmino lo prometido que desde el cielo me mira y sé que estará orgulloso desde arriba.

Hay una parte de este proceso tan grande y gratificante que le dedico a John Zurita, quien desde el colegio ha sido una de las personas que sigue creyendo en mí, no me ha dejado decaer y ha sido un pilar en este camino.

Y a cada una de las personas directa e indirecta han estado a mi lado apoyándome con una llamado o un como estas, agradecida infinitamente por su cariño y amor incondicional.

**Pacheco Muñoz Diana Elizabeth**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco infinitamente a Dios y a la Virgencita por la protección y la sabiduría que me han brindado, principalmente por ser la guía a lo largo de mi vida, fortaleciéndome en los momentos más duros de este camino. A mis padres, mi eterno agradecimiento por su apoyo incondicional, superando juntos las adversidades y brindándome siempre palabras de aliento para no desfallecer a pesar de la distancia y de tantos kilómetros que nos han separado a lo largo de estos años. A mi hermanita, mis abuelitos y de manera muy especial quiero agradecer a mi tío Rosendo Siza y su distingida familia por siempre brindarme muestras de cariño y afecto en todo momento, infinitas gracias por cada palabra de aliento, por cada abrazo sincero y por siempre estar ahí, dispuestos a celebrar mis logros y a ofrecerme su hombro en los momentos de dificultad.

Mi más sincera gratitud a la gloriosa Universidad Estatal De Bolívar, a la Facultad De Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, a la Carrera de Agroindustrias y al Laboratorio de Investigación por acogerme y brindarme la oportunidad de formarme como una gran profesional.

Y finalmente un agradecimiento muy especial a mi tutor de tesis Ing. Darwin Núñez a mis docentes de carrera y a su vez al Ing. Santiago Santos por su valiosa paciencia dentro de los laboratorios de investigación, cuya sabiduría, experiencia y motivación fueron pilares fundamentales en mi crecimiento profesional y personal, enseñándome principios y valores que atesoraré para siempre.

**Karen Rashel Caragulla Siza**

## **AGRADECIMIENTO**

Gracias, Dios por la vida, la salud y la oportunidad de tener lo mejor, Gracias por guiar mi camino, mi vida y ser mi fuerza mental y física de no rendirme.

A mis padres Gladys Muñoz y Iván Pacheco por apoyarme en cada decisión y proyectos, por ayúdame siempre, nunca me han dejado decaer, sin duda son lo mejor que Dios me pudo dar, a mi hermana Jade que es mi pilar de día a día, a quien con una mirada me siento en calma, gracias Familia porque sin ustedes no lograra llegar tan lejos y lo seguiré haciendo con su bendición y protección, porque a su lado cada paso es lo mejor que tengo y logro tomando su mano, recuerden que su amor y sacrificio han sido la luz que guio mi camino a través de este viaje académico y profesional.

Agradecimiento de la Universidad Estatal de Bolívar por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de avanzar en mi carrera profesional, a mi facultad, mis pares académicos, quienes con paciencia nos han demostrado que con dedicación seremos los mejores.

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a mi director de tesis, el Ing. Darwin Núñez. Su experiencia, comprensión y paciencia ayudaron a mi experiencia con la investigación, contribuyendo a sacar profesionales mejores cada día.

Un agradecimiento muy especial al Laboratorio de Investigación UEB, al abrimos la puesta para este trabajo de titulación, en especial al Ing. Santiago Santos, quien ha sido nuestra luz en el camino de este camino investigativo, con sus conocimientos para un futuro de vida profesional.

Gratitud a Elehan que llegó a mi vida apoyándome y sin dejarme decaer, limpiando mis lágrimas cuando el camino se ha vuelto gris y más

A mis amigo/as que han estado en este proceso: Erika, Naomi, Los Márcelos, Patricia, Familia Vistin Chafra, Abigail, Neyser, Freddy, Abuelita Rulito y muchas personas que han sido un aporte gradual, disfrutando los éxitos, caída, escucharme y darme palabras de aliento cuando digo ya no puedo más, por acompañarme en cada paso con paciencia, fortaleza y ternura. Para todos los que han creído en mí, esta dedicatoria es una pequeña forma de honrar el inmenso papel que han tenido en mi vida.

**Pacheco Muñoz Diana Elizabeth**

## **AGRADECIMIENTO**

Gratitud y lealtad a la Universidad Estatal de Bolívar y a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y recursos Naturales, ya que con dedicación nos han forjado para ir al campo laboral con bases de buena calidad, como no agradecer al Ing. Juan Gaibor, por ser un docente con excelente calidad humana, pero sobre todo por estar presto a cualquier inquietud dentro del área educativa, de la misma manera a nuestros docentes que nos permitieron ser ayudantes de cátedra al Dr. Carlos Moreno y a la Dra. Patricia Iza, quienes con dedicación y apoyo nos dieron la oportunidad de ser ayudantes de cátedra y aprender cada día más.

En primer lugar, queremos expresar nuestro más profundo agradecimiento a nuestro tutor, Ing. Darwin Núñez, por su dedicación, paciencia y orientación durante todo el proceso de investigación. Sus valiosas correcciones y comentarios han sido fundamentales para lograr este trabajo, a nuestros pares Lectores Dra. Herminia Sanaguano y Dr. Favian Bayas por tomarse el tiempo en leer nuestra investigación y darnos su valiosa aportación, ayudarnos a crecer y ver más allá de una perspectiva. Al laboratorio de Investigación, por brindarnos la oportunidad de integrarnos logrando nuestro aprendizaje en conocimientos a futuro de nuestra profesión, un reconocimiento muy grato y llevado al corazón al Ingeniero. Santiago Santos por ser un docente con cualidades humanas que resaltan la paciencia de su enseñanza, su apoyo, ayuda, consejos y más él ha sido una guía fundamental en este proceso en busca de un título profesional.

A la Universidad ESPOL, que nos abrieron las puertas de sus laboratorios, al Dr. Efrén y la Magister Liliana que fue nuestro apoyo fundamental en el desarrollo de nuestras PCR, donde nos brindaron las ganas de no rendirnos y seguir luchando.

Agradecimiento especial a todas las personas que de una u otra manera con una palabra de aliento un “Como están”, “ya acaban”, “las Inges” y ayuda emocional bastante grande que es importante en estos procesos y triunfo de la vida.

Finalmente, agradecemos la colaboración de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH), por su valioso apoyo en el proceso de recolección de muestras, sin el cual esta investigación no habría sido posible.

**Caragulla Karen y Pacheco Diana**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

### CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
1.1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.2. PROBLEMA .....	3
1.3. OBJETIVOS.....	6
1.3.1. Objetivo General .....	6
1.3.2. Objetivos Específicos.....	6
1.4. HIPÓTESIS .....	7
1.4.1. Hipótesis Nula .....	7
1.4.2. Hipótesis Alternativa.....	7
CAPÍTULO II .....	8
2. MARCO TEÓRICO .....	8
2.1. Hortalizas .....	8
2.2. Frutas.....	13
2.3. Importancia en el Consumo.....	18
2.4. Procedencia de los productos hortofrutícolas en el cantón Guaranda.....	20
2.5. Contaminación en las hortofrutícolas.....	21
2.6. Contaminación Biológica.....	21
2.7. Patógenos. ....	22
2.8. Patógenos de interés.....	23
2.9. Muestreo.....	27
2.10. Breve descripción de la ubicación y características de la recolección de las muestras en los Mercados de Guaranda .....	28
2.11. Métodos.....	29

2.12. Agares de Identificación.....	31
2.13. Pruebas Bioquímicas .....	34
2.14.1. PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) Convencional .....	37
2.15. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs).....	37
2.16. BPM en los mercados.....	38
CAPÍTULO III .....	39
3. MARCO METODOLÓGICO .....	39
3.1. Ubicación de la investigación .....	39
3.2. Metodología .....	41
3.3. Métodos .....	43
3.4. Métodos de evaluación y datos a tomarse .....	46
3.5. Manejo del experimento.....	46
3.6. Análisis microbiológico .....	50
CAPITULO IV .....	58
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
4.1. Interpretación de resultados .....	58
CAPITULO V .....	81
5.1. CONCLUSIONES .....	81
5.2. RECOMENDACIONES .....	83
BIBLIOGRAFÍA.....	85
ANEXOS.....	96

## ÍNDICE DE TABLAS

1. Taxonomía del Brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i> ).....	8
2. Tabla nutricional del Brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i> ).....	9
3. Taxonomía de la Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> ).....	11
4. Tabla Nutricional de la Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> ) .....	12
5. Taxonomía de la Uva ( <i>Vitis vinífera</i> ).....	14
6. Tabla nutricional de la Uva ( <i>Vitis vinífera</i> ).....	14
7. Taxonomía de la Mora ( <i>Rubus glaucus</i> ).....	16
8. Tabla nutricional de la Mora ( <i>Rubus glaucus</i> ).....	17
9. Provincias de procedencia de los productos hortofrutícolas .....	20
10. Límites de contaminación de bacteria según la Normativa NTE INEN 1334-1 .....	23
11. Taxonomía de <i>Escherichia coli</i> ( <i>Bacterium coli commune</i> ) .....	24
12. Taxonomía de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	25
13. Taxonomía de la <i>Salmonella</i> ( <i>Salmonella</i> spp).....	26
14. Utilidad de cada uno de las pruebas.....	34
15. Localización de la investigación.....	40
16. Situación geográfica y climática.....	40
17. Factores de estudio y sus respectivos niveles .....	43
18. Tratamientos .....	44
19. Características del diseño factorial AxB .....	44
20. Modelo de Análisis de varianza ANOVA .....	45
21. Codificación, identificación registro de las muestras y origen .....	48
22. Identificación de cada toma de muestras en el Mercado Bellavista.....	48
23. Identificación de cada toma de muestras en el Mercado 10 de noviembre .....	49
24. Identificación de cada toma de muestras en el Mercado Mayorista (Guanajuato) .....	49
25. Identificación de cada toma de muestras en el Mercado Guanajuato.....	49
26. Identificación de cada toma de muestras del Mercado de Salinas .....	50

27. Identificación de cada toma de muestras del Mercado de Simiatug .....	50
28. Cebadores específicos utilizados en esta investigación.....	55
29. Condiciones para el proceso de (PCR) para <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> .....	55
30. Reactivos del TAE para PCR, en <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella spp</i> .....	56
31. Resultados de la toma de muestras de los mercados del Cantón Guaranda ...	58
32. Valores obtenidos mediante resultados de las pruebas bioquímicas en <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> .....	60
33. Valores obtenidos mediante resultados de las pruebas bioquímicas de <i>Escherichia coli</i> .....	62
34. Valores obtenidos mediante resultados de las pruebas bioquímicas de <i>Salmonella spp</i> .....	63
35. Resultados de positivos para PCR de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	65
36 Resultados de positivos para PCR de <i>Escherichia coli</i> . .....	66
37. Resultados de positivos para PCR de <i>Salmonella spp</i> .....	67
38. Concentración de ADN mediante Espectrofotómetro Nanodrop para <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> .....	69
39. Concentración de ADN mediante Espectrofotómetro Nanodrop para <i>Escherichia coli</i> .....	69
40. Concentración de ADN mediante Espectrofotómetro Nanodrop para <i>Salmonella</i> .....	70
41. Concentraciones deseadas .....	71
42. Concentraciones de ADN para el análisis de ANOVA. ....	71
43. Análisis de varianza mediante un ANOVA multifactorial .....	77
44. Análisis de medias mediante un ANOVA multifactorial .....	78

## ÍNDICE DE FIGURAS

1. Brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i> ).....	10
2. Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L).....	13
3. Uva ( <i>Vitis vinífera</i> ).....	15
4. Mora ( <i>Rubus glaucus</i> ).....	17
5. Bacteria <i>E. coli</i> ( <i>Bacterium coli commune</i> ).....	24
6. Bacteria <i>Listeria</i> ( <i>Listeria spp</i> ).....	25
7. Bacteria <i>Salmonella</i> ( <i>Salmonella spp</i> ).....	27
8. Mapa de Guaranda .....	28
9. Cultivo por estriado en superficie .....	29
10. Cultivo por estriado .....	30
11. Siembra en tubos por picadura .....	30
12. Siembra en tubos por estría simple .....	31
13. Rojo de metilo .....	36
14. Ubicación de la investigación .....	39
15. Puntos de muestreo de los mercados del Cantón Guaranda .....	59
16. Resultados de electroforesis después de realizar PCR con los aislados de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	73
17. Resultados de electroforesis después de realizar PCR con los aislados de <i>Escherichia coli</i> .....	74
18. Resultados de electroforesis después de realizar PCR con los aislados de <i>Salmonella spp</i> .....	75
19. Sensibilidad de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	75
20. Sensibilidad en <i>Escherichia coli</i> .....	76
21. Sensibilidad en <i>Salmonella spp</i> .....	76
22. Análisis de medias con 95% de Fisher LSD .....	79

## ÍNDICE DE ANEXOS

1. Mapa y coordenadas del laboratorio general de la UEB.....	96
2. Mapas y coordenadas del laboratorio general de la UEB .....	96
3. Formatos de fichas de recolección de datos .....	97
4. Análisis microbiológicos .....	98
5. Norma NTE INEN 1750 .....	101
6. Norma NTE INEN 1334-1 .....	102
7. Ministerio de salud pública, conjunto con la agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria .....	103
8. Recolección de muestras .....	104
9. Análisis microbiológicos .....	107
10. Purificación de cepas .....	115
11. Extracción de ADN mediante mini kit y electroforesis.....	116
12. Glosario de términos Técnico .....	121

## RESUMEN

El presente proyecto de titulación aborda sobre identificar la presencia de los microorganismos patógenos *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp,p* en productos hortofrutícolas comercializados en los principales mercados del cantón Guaranda, específicamente en uva (*Vitis vinifera*), mora (*Rubus glaucus*), lechuga (*Lactuca sativa*) y brócoli (*Brassica oleracea var. italica*). El estudio se dio a partir del problema creciente de enfermedades transmitidas por alimentos contaminados, las cuales constituyen una preocupación de salud pública en la ciudad y en el país, las cuales afectan con mayor frecuencia a grupos vulnerables. La investigación se desarrolló bajo un enfoque experimental y cuantitativo, con toma de muestras en seis mercados principales de Guaranda, aplicación de análisis microbiológicos, realización de pruebas bioquímicas, PCR convencional y cuantificación de ADN mediante espectrofotometría. El análisis estadístico incluyó pruebas de ANOVA multifactorial y comparación de medias con prueba LSD de Fisher al 95% de confianza, donde los resultados confirmaron la presencia de los tres patógenos en diversas concentraciones, con mayor incidencia en los mercados de Guanujo y 10 de noviembre. Con el análisis de varianza se determinó que no existen diferencias significativas en la sensibilidad de detección por PCR frente a las concentraciones evaluadas de ADN, por lo cual se acepta la hipótesis nula, eso implica que las variaciones en distintos valores de concentración no tienen influencia en la forma significativa sobre la eficacia de detección del método. La discusión resalta la necesidad urgente de mejorar las condiciones de manejo poscosecha y la higiene en la comercialización de frutas y hortalizas. Se concluye que la presencia de estos microorganismos representa un riesgo sanitario real y se recomienda implementar programas de vigilancia microbiológica, capacitar comerciantes y mejores prácticas en toda la cadena de producción y distribución, con el fin de garantizar la inocuidad alimentaria y proteger la salud del consumidor.

## SUMMARY

This degree project deals with identifying the presence of pathogenic microorganisms *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp.*, in fruit and vegetable products sold in the main markets of Guaranda canton, specifically in grapes (*Vitis vinifera*), blackberry (*Rubus glaucus*), lettuce (*Lactuca sativa*) and broccoli (*Brassica oleracea var. italica*). The study arose from the growing problem of diseases transmitted by contaminated food, which constitute a public health concern in the city and in the country, affecting vulnerable groups more frequently. The research was developed under an experimental and quantitative approach, with sampling in six main markets of Guaranda, application of microbiological analysis, biochemical tests, conventional PCR and DNA quantification by spectrophotometry. The statistical analysis included multifactorial ANOVA tests and comparison of means with Fisher's LSD test at 95% confidence, where the results confirmed the presence of the three pathogens in different concentrations, with a higher incidence in the Guanujo and 10 de Noviembre markets. With the analysis of variance, it was determined that there are no significant differences in the sensitivity of detection by PCR against the evaluated concentrations of DNA, so the null hypothesis is accepted, which implies that variations in different concentration values have no significant influence on the detection efficiency of the method. The discussion highlights the urgent need to improve postharvest handling conditions and hygiene in the marketing of fruits and vegetables. It is concluded that the presence of these microorganisms represents a real sanitary risk and it is recommended to implement microbiological surveillance programs, training of traders and best practices throughout the production and distribution chain, in order to guarantee food safety and protect consumer health.

# CAPÍTULO I

## 1.1. INTRODUCCIÓN

En el mundo, las enfermedades relacionadas por una inadecuada poscosecha, generan una contaminación cruzada dentro de las redes de distribución que van directas al consumidor (Llanos García, 2024). La FAO es una organización que promueve una seguridad alimentaria y consumo sostenible, donde hace relevancia que un mal tratamiento de la calidad de frutas y hortalizas conlleva a enfermedades que pueden afectar de forma directa la salud de la población (FAO, s.f.).

Este proyecto de investigación aparece en base a la necesidad de obtener información que sea actualizada con respecto a las condiciones en las cuales se venden ciertas frutas de gran relevancia en los mercados del cantón Guaranda, tomando en cuenta muestras de cada mercado se daría la identificación de ciertos patógenos en los productos hortofrutícolas, en esta ocasión se tomará como principales frutas a examinar aquellas que son más comercializadas en el lugar mencionado donde se encuentra la mora y uva; en hortalizas lechuga y brócoli. De esta manera se pretende identificar *Escherichia coli*, *Listeria* y *Salmonella* mediante análisis microbiológicos, para poder determinar sus niveles de rentabilidad y competitividad en los mercados, es decir, observar si presentan contaminación de estas frutas Uva (*Vitis vinífera*) y Mora (*Rubus glaucus*), y dentro de las hortalizas la Lechuga (*Lactuca sativa*) y el Brócoli (*Brassica oleracea var. Itálica*) (Correa Peña, 2022).

Dentro de Ecuador existen 180 hectáreas que están sembradas con esta fruta tanto bajo invernadero como a cielo abierto, siendo Tungurahua que tiene el 60% de toda la producción en el país (Álvarez Proaño, 2020). A nivel Nacional, la mayoría de los mercados han identificado algunos problemas con respecto a problemas de poscosecha tanto en frutas como hortalizas, causando una limitación en la oferta para un producto de calidad, dado que dichos daños se ven reflejados dentro de una cadena productiva (Roche et al., 2023). En Ecuador, lo correspondiente a la poscosecha de frutales se da

de forma manual y en ciertas ocasiones no se toman medidas respectivas para su conservación, generando una gran cantidad de frutos en mal estado al llegar al mercado. En base a esto, han aparecido diversos estudios en frutales donde se ha obtenido como resultado distintas alternativas como son el almacenamiento, embalaje, índice de la madurez para una buena conservación de productos en la poscosecha, quienes cumplen un papel esencial en la vida de los alimentos mientras están a la venta, debido a que estas medidas reducen la pérdida de agua y con esto permitir un control respiratorio para retrasar el envejecimiento de todos los productos, con esto mantener su calidad y su respectivo valor nutritivo. (Álvarez Proaño, 2020)

El objetivo principal es identificar los patógenos *Escherichia coli* (*Bacterium coli commune*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*) y *Salmonella* (*Salmonella Typhimurium*), en productos hortofrutícolas como las uvas (*Vitis vinífera*), las moras (*Rubus glaucus*), la lechuga (*Lactuca sativa*) y el brócoli (*Brassica oleracea var. Itálica*) en los mercados de Guaranda, comenzando desde su geo-ubicación, de donde se encuentran ubicados hasta su sitio actual, mediante la recopilación y análisis de información estadística básica e información sobre la alta demanda de la comercialización en el mercado. La identificación de estos microorganismos se la realiza debido a que son los más frecuentes de la transmisión de enfermedades mediante alimentos.

## 1.2. PROBLEMA

Las enfermedades de transmisión alimentaria se producen mediante la contaminación por parte de los alimentos, que se puede encontrar en cualquiera de las etapas de producción, suministro y consumo de los productos (Redacción Petra, 2024). Se estima que más de 200 enfermedades son provocadas por el consumo de alimentos que están contaminados por bacterias, virus o sustancias químicas (Redacción Petra, 2024). Las enfermedades causadas por la transmisión alimentaria tienen una diversa variedad, desde diarrea hasta en algunos casos cáncer, donde la mayor parte empiezan con problemas gastrointestinales como también la producción de sistemas neurológicos, inmunológicos y ginecológicos. Estas enfermedades que llegan a causar diarrea se consideran un problema importante en diferentes países del mundo, aunque esta incidencia se da más sobre países con bajos y medianos ingresos y más que todo en los menos de 5 años. (Peñalver y Rodríguez, 2023)

El consumo de frutas en la actualidad debe tener una calidad esencial tanto para la salud como para el bienestar de la comunidad de toda una ciudad, en este caso del cantón Guaranda, la presencia de patógenos en las frutas de consumo masivo representa un riesgo para los consumidores, al analizar los patógenos más comunes que se encuentran son: *Escherichia coli* (*E. coli*), *Listeria* y *Salmonella*, durante varias investigaciones se define que estos microorganismos causan enfermedades como: cólicos abdominales, diarrea, vómitos, infecciones por hongos, hepatitis A, paracitos, estas afectan directamente a una comunidad más vulnerable ya que ellos muchas veces no tienen un manejo de limpieza adecuado.

Por medio de un estudio realizado en Ecuador por el Ministerio de Salud Pública menciona que, todas las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) causan varios dolores y corresponden a un problema dentro de la salud pública en todo el mundo, donde la contaminación de los alimentos puede surgir en cualquier etapa del proceso de producción con respecto al consumo de alimentos y darse una contaminación ambiental, debido a que la manifestación clínica que se da de forma más común a causa de una

enfermedad transmitida por los alimentos son los síntomas gastrointestinales, también la aparición de sistemas neurológicos, inmunológicos y de otro tipo, en 2019 en sectores del Ecuador aparecieron enfermedades transmitidas por agua y alimentos, observándose 19487 casos con un decremento del 54% en relación al 2020 (Prefectura de Manabí, 2022). Además, en este año se registraron 5890 casos por intoxicaciones alimentarias bacterianas. En los últimos años se registra un total de 20 brotes de las enfermedades transmitidas por un mal manejo en las frutas y más, sin embargo, en la provincia de Bolívar, se ha reportado que un 17% de la población padece de enfermedades gastrointestinales; además se ha descubierto que la Salmonelosis es una enfermedad presente a nivel mundial, a nivel del país y a nivel local, esta enfermedad peligrosa puede adquirirse debido a la falta de higiene en la cocina. La salmonella, una bacteria presente en alimentos como huevos, carnes, frutas y verduras crudas, esto puede provocar una infección gastrointestinal grave. (Prefectura de Manabí, 2022)

Dentro de los síntomas provocados por la salmonelosis se incluyen dolores estomacales, diarrea, fiebre y náuseas. Esta enfermedad es especialmente peligrosa en niños, adultos mayores, también puede ser mortal en personas con sistemas inmunes débiles. Estos brotes de enfermedad se dan por una contaminación de microorganismos o bacterias patógenas como: *Escherichia coli* (*E. coli*), *Listeria* y *Salmonella*, al consumo de Frutas las más vendidas como las uvas (*Vitis vinífera*), las moras (*Rubus glaucus*) y en las hortalizas la lechuga (*Lactuca sativa*) y el brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*). (Correa Peña, 2022)

Dentro de la provincia de Bolívar, en el cantón Guaranda, se debe de considerar la calidad de las frutas, el consumo de estas frutas puede verse comprometida a diferentes rangos en su alimentación como: batidos, consumo directo, y otros consumos que tenga en su alrededor o depende del consumidor, la detección oportuna y precisa de la detección de patógenos es crucial para prevenir brotes de enfermedades y proteger la salud del

consumidor, con estos análisis se garantiza un suministro de frutas saludables.

Para resolver este problema, es necesario desarrollar técnicas que puedan identificar varios patógenos para producir fruta apta para el consumo humano, para lo cual se considera el uso de técnicas de cultivo PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) en medios especiales para identificar con más propiedad los patógenos que se encuentren en esta fruta y hortalizas, llegando a proporcionar una herramienta valiosa para el monitoreo de la calidad de la fruta y hortaliza consumida e implementar medidas preventivas. El objetivo es utilizar estos análisis para crear una curva de regresión donde se pueda prevenir el valor de la variable dependiente con respecto a valores de la variable independiente dentro de un rango de datos observados, lo cual ayudará a la predicción de datos a futuros.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. *Objetivo General***

Identificar microorganismos patógenos *Escherichia coli* (*Bacterium coli commune*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*) y *Salmonella* (*Salmonella Typhimurium*), en productos hortofrutícolas uva (*Vitis vinífera*), mora (*Rubus glaucus*), lechuga (*Lactuca sativa*) y brócoli (*Brassica oleracea var. Itálica*) de los mercados del cantón Guaranda.

#### **1.3.2. *Objetivos Específicos***

- Desarrollar la toma de muestras de los diversos mercados del cantón Guaranda y análisis microbiológico de frutas, uvas (*Vitis vinífera*), moras (*Rubus glaucus*), y en hortalizas lechuga (*Lactuca sativa*) y brócoli (*Brassica oleracea var. Itálica*) en relación a la presencia de *Escherichia coli* (*Bacterium coli commune*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*) y *Salmonella* (*Salmonella Typhimurium*).
- Caracterización inocua de microorganismos, mediante cultivos y pruebas bioquímicas.
- Probar la sensibilidad de detección molecular a partir de DNA diluido para los 3 patógenos en estudio.
- Confirmación de la presencia de patógenos mediante el uso de PCR (*Reacción en Cadena de la Polimerasa*) convencional.

## **1.4. HIPÓTESIS**

### **1.4.1. Hipótesis Nula**

El análisis desarrollado por la PCR convencional en las diferentes bacterias *Escherichia coli* (*Bacterium coli commune*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*) y *Salmonella* (*Salmonella Typhimurium*), con las concentraciones de 10, 20 y 30 ng/μL, no presenta diferencia en la sensibilidad del método.

### **1.4.2. Hipótesis Alternativa**

El análisis desarrollado por la PCR convencional en las diferentes bacterias *Escherichia coli* (*Bacterium coli commune*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*) y *Salmonella* (*Salmonella Typhimurium*), con las concentraciones de 10, 20 y 30 ng/μL, presenta diferencia en la sensibilidad del método.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Hortalizas

##### 2.1.1. Brócoli (*Brassica oleracea var. italica*).

###### 2.1.1.1. Origen.

El brócoli se originó en el Mediterráneo, por parte de la unión natural entre plantas de la familia *Brassica*, realizada al norte de Italia (siglo VI a.C.); mientras que, desde la época del Imperio Romano, al brócoli se lo consideraba un alimento único por sus propiedades saludables (CuerpoMente, s.f.). En Estados Unidos se introdujo por primera vez a causa de inmigrantes del sur de Italia, donde se volvió popular en la década de 1920, por sus características gastronómicas y estudios se denota que tiene beneficios para la salud y se ha convertido en un producto esencial para la alimentación sana moderna. (CuerpoMente, s.f.).

###### 2.1.1.2. Taxonomía.

De acuerdo a lo establecido con la investigación realizada en la Tabla 1 se podrá observar la taxonomía del brócoli donde consta su reino, división, clase, orden, familia, especie, subespecie y su género.

#### Tabla 1.

##### *Taxonomía del Brócoli (*Brassica oleracea var. italica*)*

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Angiospermas, magnoliophita
Clase	Dicotyledon Magnoliopsida
Orden	Crucíferas ( <i>Brassicales</i> )
Familia	Cruciferae ( <i>Brassicaceae</i> )
Género	<i>Brassica</i> ( <i>Brassica</i> )
Especie	Repollo ( <i>B. oleracea</i> )
Subespecie	Coliflor

Nota. Tomado de iNaturalistEc (s.f.).

### 2.1.1.3. Morfología.

Es una planta herbácea con un tallo robusto de entre 15 – 30 cm de largo y 2 – 5 cm de diámetro, que sostiene una inflorescencia comestible de 10 a 20 cm de diámetro, con un peso promedio de 300 a 500 gramos. Sus hojas grandes y verdes miden entre 20 y 40 cm de largo, y la planta puede alcanzar una altura total de 50 a 90 cm. El sistema radicular es superficial, extendiéndose lateralmente en el suelo hasta unos 30 a 40 cm de profundidad (Infoagro México, s.f.).

### 2.1.1.4. Tabla Nutricional.

La Tabla 2 indica el valor nutricional del brócoli es decir de los elementos de su composición, tomando en cuenta que estos datos nos muestran la cantidad por cada 100gr de porción.

#### Tabla 2.

*Tabla nutricional del Brócoli (Brassica oleracea var. italica)*

Compuestos	Cantidad por 100 gr de porción
Calorías	34 calorías (142 kJ)
Carbohidratos	6.6 g
Agua	89.3 g
Grasas	3.1 (omega 3 y omega 6)
Fibra	2.6 g
Azúcar	1.7 g
Proteínas	2.8 g
Vitamina A	623 IU
Vitamina C	89.2 mg
Vitamina K	102 mcg
Folatos	63 mcg
Potasio	316 mg
Hierro	0.7 mg
Calcio	47 mg
Magnesio	21 mg

Nota. Tomado de CuerpoMente (s.f.).

Para este proyecto de investigación se establece a la hortaliza brócoli como parte de la materia prima dentro de la investigación, en la Figura 1 se puede apreciar de mejor manera.

**Figura 1.**

*Brócoli (Brassica oleracea var. italica)*



*Nota.* Tomado de Trevijano (s.f.).

**2.1.2. Lechuga (*Lactuca sativa*).**

**2.1.2.1. Origen.**

La lechuga (*Lactuca sativa*) es considerada una planta anual, la cual tiene origen en el sur de Europa, tuvo su expansión hacia todo el resto del continente durante la época romana y se utilizaba para la medicina en lugares como Roma, Egipto y más (Llanos García, 2024). En la actualidad se consume en diversas partes del mundo y se considera como la verdura con hoja más extendida, debido a que tiene un alto valor nutritivo en vitamina C, sales minerales para un rápida absorción y hierro (Vida Orgánica, 2024).

**2.1.2.2. Taxonomía.**

De acuerdo a lo establecido con la investigación realizada en la Tabla 3 se podrá observar la taxonomía de la lechuga donde consta cada una de sus especificaciones.

**Tabla 3.**

*Taxonomía de la Lechuga (Lactuca sativa)*

<b>Taxonomía</b>	
Reino	Plantae
División	Macrophyllophita
Subdivisión	Magnoliophytina
Clase	Paenopsida
Orden	Asterales
Género	<i>Lactuca</i>
Tribu	<i>Lactuceae</i>
Especie	<i>Sativa</i>
Nombre científico	Lactuca sativa

*Nota.* Tomado de iNaturalist Ecuador (s.f.).

**2.1.2.3. Morfología.**

La lechuga es una verdura que presenta una raíz pivotante corta, con pequeñas ramificaciones. El tallo es corto y cilíndrico, sin ramificación hasta que la planta pasa su estado óptimo de cosecha. Las hojas varían en forma y borde, según de la variedad, color puede ser entre verde, rojizo, púrpura o morado. Sus flores se encuentran agrupadas en unos capítulos dispuestos en racimos, los cuales están comprendidos mediante 10 – 25 floretes y contienen un receptáculo plano que tiene brácteas (Chiroque Montalban y Castaño Concepción, 2019).

**2.1.2.4. Tabla Nutricional.**

En la Tabla 4 nos indica el valor nutricional de la lechuga es decir de los elementos de su composición, tomando en cuenta que estos datos nos muestran la cantidad por cada 100gr de porción.

**Tabla 4.**

*Tabla Nutricional de la Lechuga (Lactuca sativa)*

<b>Compuestos</b>	<b>Cantidad por 100gr de porción</b>
Agua	94 g
Calorías	18 kcal
Proteínas	1.3 g
Grasas	0.2 g
Hidratos de carbono	1.4 g
Fibra	1.5 g
Potasio	264 mg
Calcio	35 mg
Fosforo	26 mg
Magnesio	16 mg
Vitamina A	970 mcg
Ácido fólico	21 mg
Vitamina C	8 mg
Vitamina E	0.06 mg
Potasio	197 mg

*Nota.* Tomado de CuerpoMente (s.f.).

De acuerdo a las investigaciones realizadas se pudo encontrar diferentes tipos de lechugas, por lo cual para nuestro proyecto se ha determinado una en específico. En la figura 2 se puede observar la hortaliza lechuga de repollo con la que realizaremos nuestra investigación.

## **Figura 2.**

*Lechuga (Lactuca sativa)*



*Nota.* Tomado de CuerpoMente (2022).

### **2.2.Frutas**

#### **2.2.1. Uva (*Vitis vinífera*).**

##### **2.2.1.1.Origen.**

La vid o uva se originó en Asia y comenzó a cultivarse durante el Neolítico, extendiéndose luego por Europa. Hoy en día, Europa es el principal productor. Los griegos y romanos avanzaron la viticultura y extendieron su cultivo a lo largo de sus territorios. Posteriormente, los españoles introdujeron la vid en América del Norte. Hay varias especies de uva, siendo la más cultivada la *Vitis vinifera*, originaria del Mediterráneo (Frutas & Hortalizas, s.f.).

##### **2.2.1.2.Taxonomía.**

De acuerdo a lo establecido con la investigación realizada en la Tabla 5 se podrá observar la taxonomía de la uva donde consta cada una de sus características respectivamente.

**Tabla 5.***Taxonomía de la Uva (Vitis vinífera)*

<b>Taxonomía</b>	
División	Espermatofitas
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Dicotiledoneas
Subclase	Archiclamideas
Orden	<i>Rhamnales</i>
Familia	Vitáceas
Género	<i>Vitis</i>

*Nota.* Tomado de iNaturalist Ecuador (s.f.)

### **2.2.1.3. Morfología.**

La uva es considerada como una fruta carnosa que crece en largos racimos que están formados por numerosos granos alargados o redondos, estos racimos suelen tener un diámetro promedio de 1,6 cm y con un peso entre 200 – 350 gr. El color de su piel es diferente según la variedad como puede ser verdoso, amarillento, rojizo o púrpura, donde su pulpa es jugosa y dulce (Bedri, s.f.).

### **2.2.1.4. Tabla Nutricional.**

En la Tabla 6 se muestra el valor nutricional de la uva es decir de los elementos de la cual se encuentra compuesta esta fruta, tomando en cuenta que estos datos muestran la cantidad por cada 100gr de porción.

**Tabla 6.***Tabla nutricional de la Uva (Vitis vinífera)*

<b>Compuestos</b>	<b>Cantidad por 100gr de porción</b>
Agua	82.4 g
Energía	69 kcal
Proteínas	0.6 g
Hidratos de Carbono	16.1 g
Lípidos	0.28 g
Fibras Totales	0.9 g

Compuestos	Cantidad por 100gr de porción
Vitamina A	3 ug
Vitamina E	0.63 mg
Vitamina B1	0.05 mg
Vitamina B2	0.03 mg
Vitamina B6	0.07mg
Vitamina C	4 mg
Calcio	17 mg
Hierro	0.4 mg
Fósforo	22 mg
Magnesio	10 mg
Zinc	0.1 mg
Selenio	1 ug
Sodio	2 mg
Potasio	250 mg

*Nota.* Tomado de Fundación Española de la Nutrición (FEN) (s.f.)

Para la investigación de nuestro proyecto se ha tomado como materia prima a la uva *vitis vinífera* tomando en cuenta que es una de las más comercializadas a nivel nacional y sobre todo en el cantón de Guaranda. Por esto, en la Figura 3 se muestra la fruta con que se estará utilizando en la investigación.

### **Figura 3.**

*Uva (Vitis vinífera)*



*Nota.* Tomado de Cayuela (2022).

## 2.2.2. Mora (*Rubus glaucus*).

### 2.2.2.1. Origen

Es conocida como la mora de castilla y es de unos de los frutos que tienen mayor potencial agronómico en sectores del Ecuador, tiene una amplia distribución en las provincias de Bolívar, Tungurahua y Carchi, en las cuales se estima que son de las mayores productoras dentro del país (Haro Villacrés, 2019).

### 2.2.2.2. Taxonomía.

De acuerdo a lo establecido con la investigación realizada en la Tabla 7 se podrá observar la taxonomía de la fruta mora donde consta su reino, división, clase, orden, familia, especie, subespecie y su género.

#### Tabla 7.

##### *Taxonomía de la Mora (Rubus glaucus)*

Taxonomía	
Reino	Vegetal
División	Antofita
Clase	Dicotiledónea
Subclase	Arquiclamídea
Orden	Rosales
Familia	Rosácea
Género	<i>Rubus</i>
Especie	<i>Glaucus</i>
Nombre científico	<i>Rubus glaucus Benth</i>
Nombre Vulgar	Mora

Nota. Tomado de Haro Villacrés (2019).

### 2.2.2.3. Morfología.

La mora es un fruto que pertenece al género *Rubus* y es similar al orden de los rosales, se considerada como una planta perenne y arbustiva, la cual tiene tallos rastreros o semi erguidos que forman macollas. Sus inflorescencias aparecen en racimos terminales con entre 15 y 22 flores, aunque también pueden encontrarse en las axilas de las hojas (Schmidt-Durán et al., 2024).

#### 2.2.2.4. Tabla Nutricional

En la Tabla 8 se muestra el valor nutricional correspondiente de la mora, los elementos de la cual se encuentra compuesta esta fruta, tomando en cuenta que estos datos muestran la cantidad por cada 100gr de porción.

**Tabla 8.**

*Tabla nutricional de la Mora (Rubus glaucus)*

Compuestos	Cantidad por 100gr de porción
Calorías	43
Grasas totales	0.5 gr
Sodio	1 mg
Potasio	162 mg
Carbohidratos	10 g
Azúcares	4.9 g
Proteínas	1.4 g
Vitamina C	21mg
Hierro	0.6 mg
Magnesio	20 mg
Calcio	29 mg

*Nota.* Tomado de Cardona y Bolaños-Benavides (2019).

Dentro de las frutas establecidas para la investigación se encuentra la mora, en la Figura 4 se puede visualizar de mejor manera a esta materia prima que se ha consumido de manera masiva en los mercados del cantón Guaranda.

**Figura 4.**

*Mora (Rubus glaucus)*



*Nota.* Tomado de Invesa (s.f.).

## **2.3. Importancia en el Consumo**

### **2.3.1. Importancia del consumo de la uva (*Vitis vinífera*).**

El consumo de uvas y sus productos derivados se ha relacionado con respecto a la prevención de distintas enfermedades como el cáncer, cardiovasculares y el Alzheimer. Estos beneficios se deben a dos componentes principales: los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), se ubican en las semillas y contribuyen para la prevención de las enfermedades cardiovasculares y compuestos fenólicos, los cuales contienen un gran potencial antioxidante y una capacidad para prevenir la oxidación de sustratos biológicos (Vaca et al., 2022).

La uva se destaca por su alta producción a nivel mundial en relación con la presencia de varios metabolitos secundarios permitiendo su aplicación en campos como la salud y la tecnología alimentaria. Entre sus metabolitos se incluyen compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, azúcares y vitaminas. En las semillas y el hollejo se encuentran derivados fenólicos, como los flavonoides, destacando el resveratrol, que puede extraerse mediante diversos métodos. Estos compuestos pueden verse afectados por factores externos durante el crecimiento de la planta, por lo que es necesario un seguimiento riguroso, ya que cualquier daño en la baya puede modificar su composición y disminuir la presencia de dichos compuestos (Vaca et al., 2022).

### **2.3.2. Importancia del consumo de la mora (*Rubus glaucus*).**

Es una fruta con alta relevancia tanto en la salud como en la agroindustria. Desde un punto de vista nutricional y nutracéutico, la mora es rica en compuestos fenólicos, fibras, vitaminas, y minerales esenciales, lo que le otorga propiedades antioxidantes significativas. Estos antioxidantes ayudan con la neutralización de los radicales libres en el cuerpo, ayudando en la prevención de enfermedades crónicas, cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Fundación Española del Corazón, 2025).

Además, la mora es valorada por su alto contenido de polifenoles, ácido benzoico, flavonoides, y antocianinas, componentes que son reconocidos por su capacidad de ayudar en el mejoramiento de la salud mental y física. La actividad antioxidante de la mora, derivada de compuestos como el ácido málico y las antocianinas, es

especialmente alta en variedades cultivadas en zonas tropicales debido a las condiciones ambientales que estimulan la producción de estos compuestos. Esto hace que la mora sea no solo un alimento beneficioso para la dieta, sino también un recurso fundamental para industrias de alimentos, farmacéutica y cosmética (Schmidt-Durán et al., 2024).

### **2.3.3. Importancia del consumo de la lechuga (*Lactuca sativa*).**

Es un alimento ampliamente valorado por los beneficios que ofrece a la salud debido a su alto contenido de agua (94%) y su bajo aporte calórico, es rica en vitaminas A, B (B1, B2, B3), C, y E, además de minerales esenciales como fósforo, calcio, potasio y hierro. Estos nutrientes le otorgan propiedades diuréticas, ayudan a prevenir anemias y mejoran la circulación sanguínea, lo que beneficia la salud cardiovascular. También se destaca por su capacidad para facilitar el sueño debido a la presencia de lactucarium, un compuesto que se utiliza como un calmante para el sistema nervioso (UAJMS, s.f.).

La lechuga ofrece múltiples beneficios, no solo a nivel físico, sino también terapéutico. Se destaca por sus propiedades anestésicas, útiles para aliviar neuralgias como la ciática, y su alto contenido de vitaminas. Aunque muchas variedades se cultivan para reducir su amargor, estas suelen ser menos nutritivas. Las lechugas más amargas y pigmentadas son las que contienen p más nutrientes y antioxidantes (Harvard Health Publishing, 2024).

### **2.3.4. Importancia del consumo del brócoli (*Brassica oleracea var. Itálica*).**

Es un alimento esencial en la dieta, reconocido por sus beneficios para la salud gracias a su alta concentración de compuestos bioactivos, como los glucosinolatos (GLS) y los isotiocianatos (ITC). Estos compuestos tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, lo que ayuda con la prevención de enfermedades crónicas como el cáncer, neurodegenerativas y afecciones cardiovasculares (Gómez, 2025).

El brócoli destaca por su principal fuente de vitaminas (C, E, K), minerales, flavonoides y carotenoides, donde los estudios han demostrado que su consumo regular ayuda en la reducción de los niveles de colesterol y marcadores inflamatorios, lo que ayuda en el mejoramiento de la salud cardiovascular y a combatir la obesidad, una condición ligada a la inflamación crónica de bajo grado.

El brócoli también tiene un impacto positivo en la salud intestinal y en la regulación de la glucosa, lo que lo convierte en un aliado contra enfermedades metabólicas como la diabetes. Incorporar brócoli en la alimentación diaria no solo fortalece el sistema inmune, sino que también protege el organismo contra el daño oxidativo, ayudando a mantener un buen estado de salud (Gómez, 2025).

#### **2.4.Procedencia de los productos hortofrutícolas en el cantón Guaranda**

**Tabla 9.**

*Provincias de procedencia de los productos hortofrutícolas*

<b>Mercados</b>	<b>Provincias de distribución</b>
Mercado Bellavista	La distribución se da principalmente de la provincia de Tungurahua y de las parroquias aledañas del cantón como: San Lorenzo, San Simón y Santiago, y partes de Caluma, Montalvo, Echandía en frutas de la costa. (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020).
Mercado 10 de noviembre	Estas verduras y frutas son conseguidas del Mercado Bellavista y el mercado mayorista de Guanujo (vía a las cochas)
Mercado Mayorista (Guanujo)	Este mercado es el más grande en el cantón Guaranda, donde aquí se recolecta frutas y hortalizas de todas partes del Ecuador, tanto Costa como Sierra en especial de la provincia de Tungurahua, y de pequeñas parroquia rurales del cantón Guaranda como: San Lorenzo, San Simón, Santiago, Santa Fe, Simiatug, Chillogallo, Tililac, Talalac, San Bartolo, se debe de tomar en cuenta que en Tungurahua las frutas y hortalizas son en grandes cantidades de distribución pero también no se sabe con qué exactitud tiene el control de distribución o puestos que comercialicen de una región exacta (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020).
Mercado de Guanujo	De los Mercados más grande de distribución del cantón como Mercado Mayorista y Mercado Bellavista
Mercado de Salinas.	En los mercados de la parroquia Salinas en hortalizas y frutas, principalmente la mora el 80% son de las familias misma parroquia. (Tour Salinerito, 2024)

<b>Mercados</b>	<b>Provincias de distribución</b>
Mercado de Simiatug.	La mayoría de los productos hortofrutícolas provienen de comunidades aledañas a esta parroquia. (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020)

*Nota.* Esta información es obtenida de Ministerio de Agricultura y Ganadería (2020).

### **2.5. Contaminación en las hortofrutícolas**

La contaminación de un alimento puede ocurrir de manera accidental, de tal forma que pueden causar daños a la salud de la persona que lo consume; existen diversos tipos de contaminantes alimentarios los cuales pueden ser biológicos, físicos o químicos dependiendo del origen del contaminante (Coformación, 2025).

- **Contaminantes Físicos:** Se trata de objetos extraños distintos de los propios alimentos que accidentalmente entran en contacto con los alimentos; suelen verse a simple vista y pueden ser: cristales, huesos, espinas, plástico, conchas, objetos personales, la ingestión de dichos contaminantes supone un riesgo importante para los consumidores, ya que pueden sufrir asfixia, cortes (Coformación, 2025).
- **Contaminantes Químicos:** Los alimentos pueden contaminarse con productos químicos como ambientadores, agentes de limpieza, insecticidas o plaguicidas, metales pesados, desinfectantes; durante el procesamiento de los alimentos o accidentes en cualquier etapa de la cadena alimenticia (Coformación, 2025).
- **Contaminantes Biológicos:** La contaminación biológica en los alimentos están contaminados por organismos vivos: microorganismos (moho, virus, bacterias), en parásitos (gorgojos, gusanos), en roedores (ratas, ratones), en insectos (hormigas, moscas, cucarachas), en pájaros (gaviotas, palomas, gorriones) (Coformación, 2025).

### **2.6. Contaminación Biológica.**

La contaminación biológica se da en seres vivos tanto microscópicos como no microscópicos; comparados con otro tipo de riesgos, tienen ciertas características especiales, cuando los microorganismos contaminan los alimentos, tienen la oportunidad de crecer en ellos y en cuanto a los microorganismos patógenos, los

cuales se consideran una fuente de contaminación perjudicial para la salud de los consumidores porque no modifican significativamente los alimentos (American Academy of Pediatrics, 2025).

Puede deberse a la presencia de:

### **Bacterias.**

Las bacterias suelen ser organismos unicelulares de varios tamaños que tienen una estructura más simple que los organismos superiores, donde las bacterias son invisibles y desempeñan un papel importante en la naturaleza y en los seres humanos, debido a que al tener la presencia de una flora bacteriana normal se considera esencial, aunque también existen bacterias patógenas (bacterias); las bacterias patógenas están como una de las principales causas de enfermedades en los humanos, especialmente la intoxicación alimentaria provocada por la ingesta de alimentos que pueden haber sido contaminados debido a una manipulación inadecuada (Ministerio de Salud y Protección Social, 2019).

### **Virus.**

Los virus son pequeñas entidades infecciosas que sólo pueden reproducirse en las células de otros organismos y son altamente infecciosas, las sustancias que acaban en los alimentos suelen proceder de las heces y contaminan los alimentos con agua contaminada, por lo que los mayores problemas se dan con productos como mariscos, pescados, crustáceos y verduras (Kramer, 2023).

### **Hongos.**

Los hongos son considerados microorganismos que tienen un mayor nivel de complejidad biológica en comparación con las bacterias, las cuales representan un mayor grado de diferenciación (Serpyme, 2021).

### **2.7. Patógenos.**

Los microorganismos patógenos como *E. coli*, *Listeria* y *Salmonella* representan un riesgo significativo para la seguridad alimentaria en frutas y hortalizas. Es fundamental implementar unas buenas prácticas de manejo, desde el cultivo hasta la manipulación y el procesamiento, para reducir la contaminación y proteger la salud pública, conforme a la Normativa NTE INEN 1334-1, nos menciona los límites de contaminación de las frutas y hortalizas.

**Tabla 10.**

*Límites de contaminación de bacteria según la Normativa NTE INEN 1334-1*

<b>Bacteria</b>	<b>Limitas</b>
<i>E.coli</i>	No debe de haber presencia de <i>E.coli</i> en Frutas y Hortalizas frescas, en general NULA, ya que si hay contaminación de esta bacteria es por contaminación fecal.
<i>Listeria</i>	No debe de haber presencia de <i>Listeria</i> en Frutas y Hortalizas frescas, ya que esta bacteria causa enfermedades graves en la salud.
<i>Salmonella</i>	No debe de haber presencia de <i>Salmonella spp</i> en Frutas y Hortalizas frescas, ya que es un indicador de contaminación significativa y riesgosa para la salud.

*Nota.* Descripción tomada de la normativa NTE INEN 1334-1.

## **2.8.Patógenos de interés**

### **2.8.1. *Escherichia Coli (Bacterium coli commune).***

*Escherichia coli (E.coli)* se considera como una bacteria Gram-negativa la cual se encuentra comúnmente en los intestinos tanto de humanos como de animales. En la fruta, la contaminación por *E.coli* generalmente ocurre a través del contacto con agua, suelo o superficies contaminadas durante la producción, manipulación o almacenamiento (Saucedo Carrillo, 2024).

Esto puede ocurrir, por ejemplo, si se vierte agua contaminada sobre la fruta, si entra en contacto con excrementos de animales o si una persona infectada la toca. Aunque *E.coli* es inofensiva y tiene un papel importante con respecto a la digestión, algunas cepas tienden a ser patógenas y provocan enfermedades, provocando enfermedades gastrointestinales graves como diarrea, dolor abdominal y vómitos y, en casos graves, pueden causar hemólisis (Cigna, 2024).

#### **2.8.1.1.Taxonomía de *Escherichia Coli (Bacterium coli commune).***

En este proyecto de investigación se establece tres tipos de microorganismo, en la Tabla 11 se puede apreciar como primera instancia la taxonomía de *E. coli* desde su dominio, especie, familia, clase, filo, hasta su género.

**Tabla 11.**

*Taxonomía de Escherichia coli (Bacterium coli commune)*

<b>Taxonomía</b>	
Dominio	Bacteria
Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Clase	Gammaproteobacteria
Género	Escherichia
Especie	<i>Escherichia coli</i>
Filo	Pseudomonadota

*Nota.* Tomado de Pérez Cedillo (2019)

**Figura 5.**

*Bacteria E. coli (Bacterium coli commune)*



*Nota.* Tomado de AgenciaEFE (2023).

### **2.8.2. Listeria (*Listeria monocytogenes*).**

*Listeria monocytogenes* es considerada una bacteria Gram positiva que está presente en el suelo, el agua y algunos alimentos como las frutas. A diferencia de muchas otras bacterias, *Listeria monocytogenes* puede incluso crecer en temperaturas de refrigeración, convirtiéndola en una preocupación particular en términos de seguridad alimentaria, las frutas contaminadas con *Listeria monocytogenes* se representa como un riesgo para la salud pública al consumirla sin el procesamiento y desinfección adecuados (Corresponsal, 2024). Las personas con sistemas inmunitarios debilitados, las mujeres embarazadas, los recién nacidos

y los ancianos son especialmente susceptibles a la listeriosis, que puede provocar enfermedades graves como la listeriosis (FDA, 2025).

### 2.8.2.1. Taxonomía *Listeria* (*Listeria monocytogenes*).

En este proyecto de investigación se establece tres tipos de microorganismo, en la Tabla 12 se puede apreciar como primera instancia la taxonomía de *Listeria* desde su dominio, especie, familia, clase, filo, hasta su género.

**Tabla 12.**

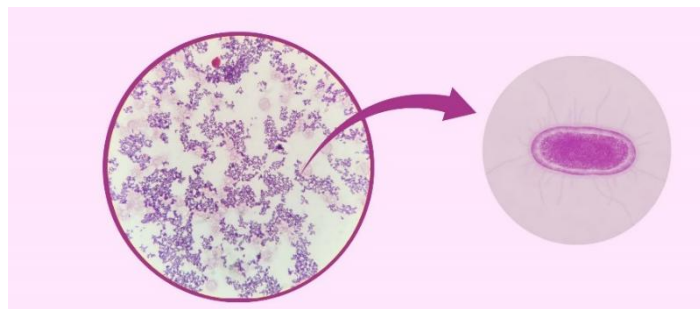
*Taxonomía de Listeria monocytogenes*

Taxonomía	
Dominio	Bacteria
Genero	<i>Listeria</i>
Familia	<i>Listeriaceae</i>
Orden	<i>Bacillales</i>
Clase	Bacilli
Filo	Firmicutes

*Nota.* Tomado de Llanos García (2024).

**Figura 6.**

*Bacteria Listeria (Listeria spp)*



*Nota.* Tomado de Pilar Suárez et al. (2023).

### 2.8.3. Salmonella (*Salmonella Typhimurium*).

Salmonella se considera una bacteria dentro del género Gram-negativas que incluye muchas especies, las cuales pueden provocar enfermedades gastrointestinales tanto en humanos como en animales, la contaminación de frutas con *Salmonella* puede

ocurrir durante la producción, manipulación, transporte y almacenamiento de alimentos, especialmente cuando entran en contacto con agua, suelo o desechos animales contaminados (Farooq et al., 2022).

Comer fruta contaminada con salmonella puede provocar enfermedades como la salmonelosis, que se caracteriza por síntomas como fiebre, diarrea, vómitos y dolor abdominal, donde la mayoría de las personas se pueden recuperar sin un tratamiento especial, pero en algunos casos la infección puede ser grave (Mayo Clinic, 2022).

### **2.8.3.1. Taxonomía.**

En este proyecto de investigación se establece tres tipos de microorganismo, en la Tabla 13 se puede apreciar como primera instancia la taxonomía de la *Salmonella* desde su dominio, especie, familia, clase, filo, hasta su género.

**Tabla 13.**

*Taxonomía de la Salmonella (Salmonella spp)*

<b>Taxonomía</b>	
Dominio	Bacteria
Genero	<i>Salmonella</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Orden	Enterobacterales
Clase	Gammaproteobacteria
Filo	Proteobacteria

*Nota.* Tomado de Llanos García (2024).

## Figura 7.

*Bacteria Salmonella (Salmonella spp)*



*Nota.* Tomado de BrainKart (s.f.).

### **2.9. Muestreo**

**Técnica de muestreo que se utiliza para la recolección de muestra en las frutas y hortalizas.**

El muestreo se realiza para obtener una representación adecuada de la calidad, seguridad y condición de los productos disponibles para la venta.

**El Muestreo Compuesto estratégico o Muestreo aleatoria estratégico.**

En bibliografía se ha demostrado que este tipo de muestreo tiene el 90% de confiabilidad para la recolección de datos con una cobertura de gran impacto.

**Normativa:** NTE INEN 1750

#### **2.9.1. Mapeo.**

La georreferenciación implica relacionar datos espaciales o geográficos con un sistema de coordenadas, como la latitud o la longitud, para determinar ubicaciones en la superficie de la Tierra, esto permite visualizar, analizar y comprender la información en un contexto espacial, la georreferenciación se utiliza en diferentes campos, incluida la cartografía, gestión de recursos naturales, planificación urbana, agricultura de precisión y navegación GPS (Rocha y Abrantes, 2019). Utilizando sistemas de información geográfica (SIG) u otras herramientas cartográficas, este

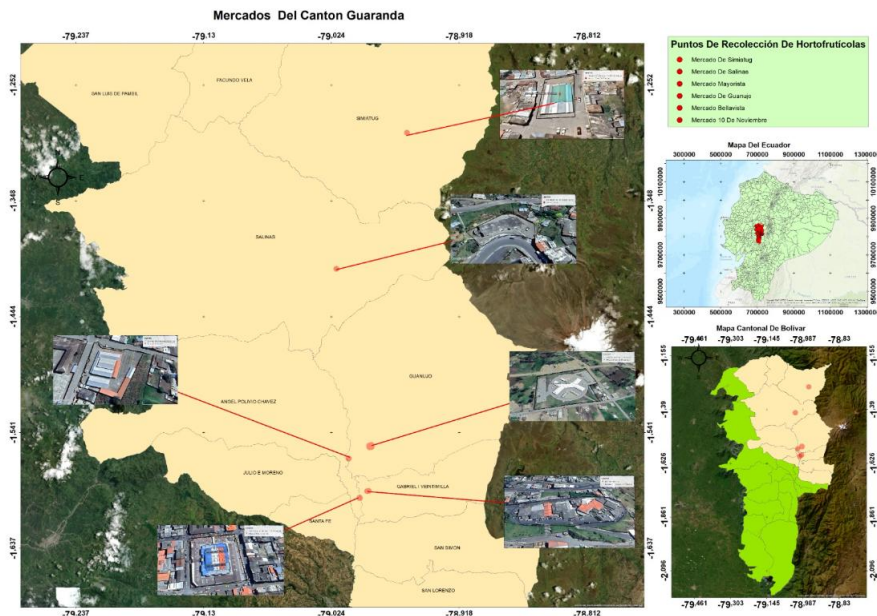
proceso permite visualizar y comprender los datos en relación con su ubicación geográfica, lo cual es importante para una amplia gama de aplicaciones, desde la navegación GPS hasta la gestión de recursos y la planificación natural y urbana (Espinoza, 2022).

### 2.10. Breve descripción de la ubicación y características de la recolección de las muestras en los Mercados de Guaranda

Guaranda es una ciudad ubicada en la provincia de Bolívar, en el centro de Ecuador. La ciudad alberga aproximadamente 70.000 habitantes y se caracteriza por una arquitectura colonial bien conservada, calles adoquinadas y edificios históricos como la Catedral de Guaranda y el Palacio Municipal. El clima de Guaranda es templado durante todo el año, con temperaturas promedio que oscilan entre 12°C y 20°C, siendo agosto el más seco y diciembre el más lluvioso, la economía de la ciudad se basa principalmente en la agricultura, la ganadería y el comercio, y es conocida por sus productos lácteos, textiles y artesanías (Enciclopedia del Ecuador, s.f.).

**Figura 8.**

*Mapa de Guaranda*



*Nota.* Tomado de Guaranda Alcaldía (2025).

## 2.11. Métodos

### 2.11.1. Tipo de Cultivo.

Los procedimientos de cultivo de microorganismos ayudan en la verificación y obtención de manera intencional lo relacionado a los patógenos que se desea obtener, que están presentes en los diferentes alimentos y agua. Cuando un cultivo tiene una sola especie de microorganismo se nombra como cultivo puro o axénico y al tener diversas especies se denomina cultivo mixto (Llanos García, 2024).

#### 2.11.1.1. *Cultivo puro o axénico*

Está relacionado con la obtención de una sola especie microbiana el cual es proveniente de una sola célula obteniéndose en un laboratorio de forma artificial teniendo las debidas precauciones asépticas al momento de manejar el correspondiente procedimiento (Llanos García, 2024).

#### 2.11.1.2. *Cultivo mixto.*

Se desarrollan y existen diferentes especies de microorganismos que parten desde una forma conjunta (Llanos García, 2024).

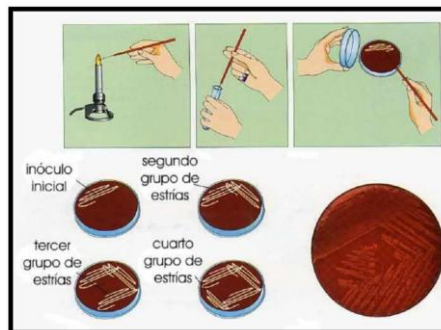
### 2.11.2. Técnica de cultivo por placa

#### 2.11.2.1. *Técnica por estría en superficie.*

Esta técnica es de una manera directa donde se deposita el contenido por medio de micropipetas la cantidad requerida para el análisis y con un asa se extiende.

### Figura 9.

*Cultivo por estriado en superficie*



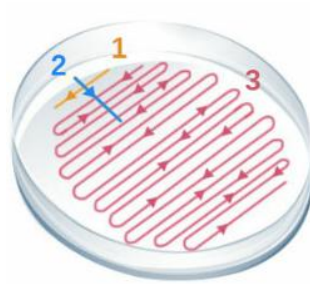
*Nota.* Tomado de García Hernández (s.f.).

### 2.11.2.2. *Técnica por estriado.*

Es un método fundamental en microbiología utilizado para aislar y cultivar microorganismos a partir de una mezcla de especies. Esta técnica permite obtener colonias individuales de bacterias en un medio sólido, facilitando su identificación y estudio (Caycedo Lozano et al., 2021).

#### **Figura 10.**

*Cultivo por estriado*



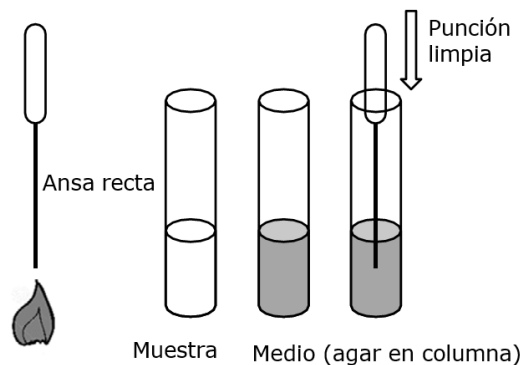
*Nota.* Tomado de Labster (s.f.).

### 2.11.2.3. *Siembra en tubos por picadura.*

Es para inocular medios de cultivo en tubos de ensayo, permitiendo el crecimiento de microorganismos en un medio semisólido. Esta técnica es especialmente útil para estudiar la motilidad de las bacterias y para realizar pruebas bioquímicas (Caycedo Lozano et al., 2021).

#### **Figura 11.**

*Siembra en tubos por picadura*



*Nota.* Tomado de Castillo Castillo et al. (s.f.).

#### **2.11.2.4. Siembra en tubos por estría simple.**

Se realiza en un tubo con un medio agar solido (Citrato) y se desliza el asa en la superficie de manera que se hagan en forma de surcos o estrías (Llanos García, 2024).

#### **Figura 12.**

*Siembra en tubos por estría simple*



*Nota.* Tomado de Castillo Castillo et al. (s.f.).

### **2.12. Agares de Identificación**

#### **2.12.1. Tipos de agar.**

##### ***Agar EMB (Eosin de Azul de metileno).***

El agar EMB es un medio de cultivo selectivo y diferencial utilizado principalmente para la identificación de gramnegativas especialmente del género *Escherichia* y *Enterobacter*, Contiene eosina y azul de metileno como colorantes, que inhiben el crecimiento de bacterias grampositivas y permiten la diferenciación de las gramnegativas, este cultivo se utiliza en agua, alimentos y heces, se realiza bajo condiciones que ya vienen especificadas en su envase su incubación en una temperatura adecuada de 35°C durante un periodo específico de 24-48 horas permitiendo el crecimiento de colonias identificando la bacteria de interés se define con un color metálico brillante (Britania, s.f.).

##### ***ALOA (Agar Luría-Bertani con Oligoelementos y Ácidos Orgánicos).***

Este agar es un tipo de medio de cultivo selectivo, diferencial utilizado principalmente para el aislamiento y la identificación de *Listeria spp*, una bacteria patógena que puede causar listeriosis, una enfermedad grave en humanos y animales. Este agar es específicamente para *Listeria* grampositiva, se utiliza para

alimentos, agua y otros productos donde se sospecha crecimiento de *Listeria spp* (Lirola, 2022), la preparación para este medio se realiza según sus indicaciones del fabricante, asegurando si dilución completamente y se esterilicé adecuadamente, la incubación adecuada a los 35°C, durante un periodo de 24 – 48 horas para permitir el crecimiento de colonias y tener la confirmación de la misma, su color característico es azulado o turquesa (Hernández Pérez y Giles Gómez, 2021).

#### ***XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato).***

El agar XLD se define como un medio de cultivo selectivo, utilizado principalmente para aislamiento y la identificación de bacterias del género *Salmonella* y *Shigella*, específicamente utilizado en muestras de alimentos, agua y heces, se toma encuentra que esta bacteria es una gramnegativa. Las condiciones de sembrado e identificación vienen especificadas desde el fabricante, este agar tiene algo en particular no se autoclave solamente se diluye y se dispensa, colocamos la muestra contaminada y su incubación adecuada a los 35°C, durante un periodo de 24–48 horas para permitir el crecimiento de colonias y tener la confirmación de la misma, su color característico es negro (Gil M. , Agar XLD, 2023).

#### ***CITRATO DE SIMMONS.***

Es un medio sólido utilizado como prueba bioquímica de identificación de microorganismos, especialmente de bacilos gramnegativos (*Escherichia coli* y *Salmonella*), para el uso de este citrato se da desde el fabricante, en el cual nos menciona su dilución para colocar en tubos eppendorf el Citrato de Simmons debe de tener una postura de forma vertical, colocamos el caldo preparado dejamos gelificar, la siembra se realiza únicamente en la superficie del agar sin hacer punción, e incubarse de 35-37°C durante 24 horas, culminado su tiempo se lee resultados, si el medio tiene de color verdes (origen), tenemos la prueba negativa y si el medio cambia de color azul indica la presencia de productos alcalinos dando positivos (Gil M. , Agar citrato de Simmons, 2023)

#### ***MR VP (Methyl Red-Voges-Proskauer)***

El MR VP normalmente utilizado para realizar las pruebas bioquímicas entre ellas encontramos Methyl Red (MR) y la prueba de Voges-Proskauer (VP), se utilizan para poder diferenciar entre diversas especies de bacterias, dentro del grupo

de *Enterobacteriaceae*, para la utilización de este agar se lee indicaciones del fabricante el medio se incuba de 35-37°C durante 24-48 horas para permitir su crecimiento, hay que tener en cuenta que estas pruebas son dos: Methyl Red (MR) y la prueba de Voges-Proskauer (VP), para ellos después de la incubación:

#### ***PRUEBA DE METHYL RED (MR)***

Después de la incubación se añade de 2 a 4 gotas de rojo de metilo al medio, se interpreta de la siguiente manera:

- **Rojo:** Un resultado positivo indica que la bacteria ha fermentado la glucosa produciendo ácidos, lo que baja el pH del medio ( $\text{pH} < 4.4$ ).
- **Amarillo:** Un resultado negativo indica que no se han producido suficientes ácidos ( $\text{pH} > 6.2$ ).

#### ***PRUEBA DE VOGES-PROSKAUER (VP)***

Posteriormente de la incubación se añade 15 gotas de  $\alpha$ -naftol y 5 gotas de solución de KOH (Hidrato de potasio), se agüita de una manera sutil y se deja reposar unos minutos, se interpreta:

- **Rojo:** Un resultado positivo indica la producción de acetilmetilcarbinol, lo que sugiere que la bacteria realiza fermentación, pero produce productos menos ácidos.
- **Amarillo o sin cambio:** Un resultado negativo indica que no se ha producido acetilmetilcarbinol (Gil, Test Voges-Proskauer: qué es, fundamento, preparación, usos, 2022).

#### ***Agua Peptonada.***

El agua peptonada es un medio de cultivo utilizado en microbiología para el crecimiento de microorganismos, utilizado en cultivos para bacterias y hongos en diversas aplicaciones micológicas. Sus indicaciones vienen desde el fabricante donde menciona que el medio, se esteriliza mediante autoclave a 121 °C durante 15-20 minutos para eliminar cualquier contaminante y su incubación 30-37°C durante un periodo específico depende del microorganismo en este caso 24 h (Jones et al., 2023).

### 2.13. Pruebas Bioquímicas

Procedimiento de laboratorio utilizado para determinar las propiedades químicas y fisiológicas de organismos vivos, especialmente microorganismos como bacterias, hongos y otros patógenos. Estas pruebas pueden analizar las reacciones químicas que ocurren dentro de las células y detectar la presencia o actividad de enzimas, metabolitos o compuestos específicos, son la base de la microbiología, la medicina, la biotecnología y otros campos relacionados (Tortora et al., 2019).

#### Tabla 14.

*Utilidad de cada uno de las pruebas*

Pruebas	Utilidad
CATALASA	Detecta la producción de la enzima catalasa, que descompone el peróxido de hidrógeno
OXIDASA	Detecta la presencia de citocromo u oxidasa
CITRATO	Evalúa la capacidad de utilizar citrato como única fuente de carbono.
INDOL	Determina la capacidad de producir indol a partir de triptófano.
ROJO METILO	Determina la capacidad de fermentar glucosa y producir ácidos.
VOGES PROSKAUER	Detecta la producción de acetilmetilcarbinol a partir de glucosa.

*Nota.* Tomando de Fernández et al. (2020).

#### **OXIDASA.**

Esta prueba se utiliza para detectar la presencia de enzimas oxidasas, la reacción de la oxidasa se debe a la presencia del sistema citocromo oxidasa, los citocromos son enzimas que forman parte de la cadena de transporte de electrones en la respiración aeróbica, transfiriendo electrones al oxígeno para formar agua, en general, el sistema citocromo oxidasa se encuentra sólo en organismos aeróbicos, algunos anaerobios facultativos y excepcionalmente algunos microaerófilos (*Vibrio fetus*), pero no en anaerobios estrictamente (Sagñay Lema, 2023). Sin actividad oxidasa,

asimismo, la presencia de oxidasa se asocia con la producción de catalasa, ya que degrada el peróxido de hidrógeno, que se produce durante la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica, las pruebas de oxidasa se utilizan principalmente para los siguientes fines: Identificamos todas las especies de *Neisseria* (+) y distinguimos *Pseudomonas* de los miembros oxidasa negativos de la familia *Enterobacteriaceae*. Es menos tóxico y mucho más sensible que el correspondiente compuesto dimetilo (reactivos de Gordon y Macleod), pero es caro, este reactivo tiñe las colonias oxidasa positivas con un color lavanda que cambia gradualmente de a un color negro violeta intenso (ULPGC, s.f.).

### **CATALASA.**

La catalasa es una enzima que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. La prueba se utiliza para comprobar la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen el citocromo oxidasa. La principal excepción son los estreptococos (*Streptococcus*). Originariamente, esta prueba era utilizada para diferenciar entre los siguientes géneros: *Streptococcus* (catalasa -) de *Micrococcus* (catalasa +) y/o *Staphylococcus* (catalasa +). *Bacillus* (+) de *Clostridium* (-). *Lysteria monocytogenes* (+) y/o *Corynebacterium* (+, con las excepciones de las especies *C. pyogenes* y *C. haemolyticum*, ambas -) de *Erysipelothrix* (-) (ULPGC, s.f.).

### **CITRATO DE SIMMONS.**

Es un medio de cultivo utilizado para identificar la capacidad de ciertas bacterias, especialmente del género *Enterobacteriaceae*, para utilizar el citrato como única fuente de carbono. En este medio, se inocula la bacteria y se incuba a 35-37 °C durante 24-48 horas. Si la bacteria puede metabolizar el citrato, se producirá un cambio en el pH, lo que resulta en un cambio de color del medio, que pasa de verde a azul. Este cambio indica un resultado positivo, lo que sugiere que la bacteria es capaz de utilizar el citrato. Bacterias como *Salmonella* y *Enterobacter* son ejemplos de organismos que pueden dar un resultado positivo en esta prueba (Valtek, 2024).

## **INDOL.**

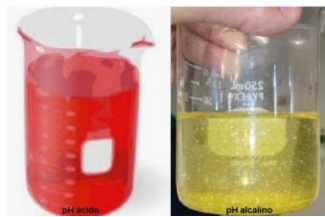
Mediante esta prueba se detecta la liberación de indol en un cultivo bacteriano, donde dicha liberación se debe a la degradación del aminoácido triptófano mediante el enzima triptófanas (Llanos García, 2024).

## **ROJO DE METILO.**

El rojo de metilo es un indicador de pH. (Fórmula: C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>). Actúa entre pH 4,2 y 6,3 variando desde rojo (pH 4,2) a amarillo (pH 6,3). Por lo tanto, permite determinar la formación de ácidos que se producen durante la fermentación de un carbohidrato (Llanos García, 2024).

### **Figura 13.**

*Rojo de metilo*



*Nota.* Tomado de Maestrovirtuale (s.f.)

## **VOGES PROSKAUER.**

Permite observar si el microorganismo fermenta la glucosa por la vía butanodiólica. Si es así, se forma un producto intermedio (acetona) que forma un complejo de color rojizo con el  $\alpha$ -naftol. Se usa en la identificación a nivel de especie de bacilos entéricos gramnegativo (Elder, 2023).

Esta prueba se utiliza para detectar la presencia de enzimas oxidasas, la reacción de la oxidasa se debe a la presencia del sistema citocromo oxidasa, los citocromos son enzimas que forman parte de la cadena de transporte de electrones en la respiración aeróbica, transfiriendo electrones al oxígeno para formar agua, en general, el sistema citocromo oxidasa se encuentra sólo en organismos aeróbicos, algunos anaerobios facultativos y excepcionalmente algunos microaerófilos (*Vibrio fetus*), pero no en anaerobios estrictamente. Sin actividad oxidasa, asimismo, la presencia de oxidasa se asocia con la producción de catalasa, ya que degrada el peróxido de hidrógeno, que se produce durante la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica, las pruebas de oxidasa se utilizan principalmente para los siguientes fines:

Identificamos todas las especies de *Neisseria* (+) y distinguimos *Pseudomonas* de los miembros oxidasa negativos de la familia *Enterobacteriaceae*. Es menos tóxico y mucho más sensible que el correspondiente compuesto dimetilo (reactivos de Gordon y Macleod), pero es caro, este reactivo tiñe las colonias oxidasa positivas con un color lavanda que cambia gradualmente de a un color negro violeta intenso (ULPGC, s.f.).

## **2.14. Pruebas moleculares**

### **2.14.1. PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) Convencional**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la técnica más utilizada en biología molecular. Fue desarrollada por Kary Mullis en 1985, por la cual le valió el premio en 1993, utilizando los datos obtenidos con esta metodología para secuenciar el ADN enzimáticamente. La PCR es una técnica utilizada para reproducir de forma rápida y selectiva fragmentos específicos de ADN o ARN (Palacios, 2023).

### **2.14.2. ¿Qué son pb (Par de Bases)?**

Unidad fundamental de longitud en el ADN definida por un par de bases nitrogenadas unidas por puentes de hidrógeno, específicamente adenina con timina o guanina con citosina (Genome).

## **2.15. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs)**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) se conceptualiza como la ingestión de alimentos y agua que contengan agentes contaminantes o etiológicos, en cantidades suficientes, que afecten la salud del ser humano a nivel individual o colectivo; la revelación más común de las enfermedades transmitidas por alimentos es el desarrollo de síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos, calambres abdominales y diarrea), sin embargo, estas enfermedades también pueden causar síntomas neurológicos, ginecológicos, inmunológicos y de otro tipo (Ministerio de Salud y Protección Social, 2019). La diarrea es el síntoma agudo más frecuente de las enfermedades de transmisión alimentaria, se estima que cada año las enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria o hídrica se cobran la vida de 2,2 millones de personas, en su mayoría niños. La infección transmitida por alimentos es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos conteniendo

microorganismos patógenos vivos y que han sobrepasado las barreras de protección de la persona (Ministerio de Salud Pública, 2019).

### **2.16. BPM en los mercados**

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), fueron desarrolladas por el Codex Alimentarius con el objetivo de proteger al cliente, dando a conocer que es un conjunto de principios básicos destinados a garantizar que los productos se los productos se produzcan en condiciones sanitarias suficientes y los riesgos característicos de producción y distribución se reducen. Existen varias pautas para BPM que determinan la gestión y gestión de la actividad con el objetivo de garantizar condiciones favorables para la producción segura de alimentos. También son útiles para el diseño y la gestión de negocios y los procesos y productos relacionados con los alimentos para el desarrollo (Intedya, s.f.).

#### **¿Qué importancia tiene las BPM en los mercados?**

Las Buenas prácticas de Manufactura (BPM) son cruciales en los mercados de Ecuador, ya que garantizan la inocuidad y calidad de los productos, lo que es esencial para la salud pública y la confianza del consumidor. Además, su implementación ayuda a las empresas a cumplir con normativas locales e internacionales, mejorando su competitividad en el mercado (Winterhalter, 2022). A través de las BPM, se fomenta y establece un mercado seguro, que se guía por los mismos Principios de Higiene de los Alimentos y proporciona garantías hacia los consumidores (Intedya, s.f.).

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. *Ubicación de la investigación*

Esta investigación se realizó en las instalaciones de los laboratorios de investigación de la Universidad del Estado Bolívar, sector Laguacoto II. En la siguiente Figura 14 se indica la ubicación de la investigación.

#### **Figura 14.**

##### *Ubicación de la investigación*



*Nota.* Tomado de Guaranda alcaldía (2022).

#### **3.1.1. Localización de la investigación.**

Este proyecto investigativo se llevó a cabo en la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agroindustrias, instalaciones del Departamento de Investigación Laguacoto II.

**Tabla 15.***Localización de la investigación*

<b>Ubicación</b>	<b>Localidad</b>
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Sector	Laguacoto II
Parroquia	San Sebastián
Dirección	Laguacoto II km ½ km vía Guaranda-San Simón
Establecimiento	Universidad Estatal de Bolívar
Unidad de producción	Complejo agroindustrial

*Nota.* Información del lugar de investigación. Tomado de Llanos García (2024).

**3.1.2. Situación geográfica y climática.****Tabla 16.***Situación geográfica y climática*

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Altura	2.622 msnm
Latitud	01°36'15"S
Longitud	78°59'54"W
Temperatura mínima	7°C
Temperatura media anual	14.4°C
Temperatura máxima	21°C
Humedad Relativa promedio	75%
Precipitación media anual	980 mm
Heliofanía promedio	900/horas/luz/año

*Nota.* Estación Meteorológica Laguacoto II. UEB (2021).

### **3.1.3. Zona de vida.**

Dentro del área de investigación en la cual se va a realizar la toma de muestra de las distintas frutas se tomará como principal referencia los diferentes mercados de Guaranda. Como referencia se tiene al mercado Bellavista o 24 de mayo, el mercado 10 de noviembre, mercado mayorista, mercado de Guanujo, mercado en Salinas y el mercado de la parroquia Simiatug.

Así también para realizar los diferentes análisis microscópicos se tomará como referencia la planta agroindustrial de la facultad de ciencias agropecuarias, recursos naturales y del ambiente ubicada en la vía San Simón, Laguacoto.

## **3.2. Metodología**

### **3.2.1. Material experimental.**

Se recolectará una muestra de frutas (Mora y Uva) y hortalizas (Lechuga y Brocoli), recolectada en los 5 mercados que se encuentran en el cantón Guaranda de la provincia de Bolívar, este caso se obtendrá un total de 24 muestras previas analizar.

### **3.2.2. Materiales de Oficina.**

- Esferos.
- Lápices.
- Carpetas.
- Cuaderno para apuntes.
- Portafolio.
- Memoria Flash.
- Borrador.
- Hojas papel bond A4.
- Calculadora.
- Computadora portátil.

### **3.2.3. Materiales de Laboratorio.**

- Mechero bunsen.
- Estrías para siembra.
- Cajas Petri.
- Vasos de precipitación.

- Guantes.
- Alcohol.
- Gradillas.
- Tubos de ensayo.
- Portaobjetos.
- Asa para siembra.
- Agares para cultivos (*EMB*, *ALOA* y *XLD*).
- Pipetas.
- Puntillas
- Fundas herméticas.
- Tubos de ensayo.

#### **3.2.4. Equipos.**

- Incubadoras.
- Cámara de bioseguridad.
- Balanza digital.
- Agitador vortex.
- Termociclador
- Transiluminador.
- Termobloque.
- Espectrofotómetro.

#### **3.2.5. Reactivos para pruebas de Indol.**

- Rojo de metil.
- Tiras de oxidasa.
- Agua Pectonada
- Alcohol al 70%.
- Agua Oxigenada
- Naftol
- Hidróxido de potasio al 40 %
- Citrato.
- MR-VC.

### 3.2.6. Reactivos para extracción de ADN.

- Kit de extracción (Invitrogen)

### 3.2.7. Reactivos para PCR

- GoTaq® Green Master Mix, 2X (Promega, 0000543067, USA)
- Primers Forward y Reverse (Invitrogen, 90489462),
- Nuclease-Free Wáter (Promega, 0000334315, USA),

### 3.3.Métodos

En la actualidad la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (Agrocalidad) en Ecuador es la encargada del control de las frutas en los mercados de Guaranda registrado en el último año, también nos indica que las estadísticas de consumo de frutas pueden variar según factores como la disponibilidad de productos, las preferencias culturales y los hábitos alimenticios de la población.

#### 3.3.1. Factores de Estudio.

De acuerdo a las particularidades de la investigación propuesta se plantea desarrollar los siguientes factores por los cuales se definen a continuación:

**Factor A:** Diluciones

**Factor B:** Patógenos.

#### Tabla 17.

*Factores de estudio y sus respectivos niveles*

Factor	Código	Nivel
Dilución	A	$a_1: 10 \text{ ng}/\mu\text{L}$
		$a_2: 20 \text{ ng}/\mu\text{L}$
		$a_3: 30 \text{ ng}/\mu\text{L}$
Patógenos	B	$b_1: E. coli O157:H7$
		$b_2: Listeria monocytogenes$
		$b_3: Salmonella spp$

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

**VR.** - Probar la sensibilidad del método con las distintas concentraciones.

### 3.3.2. Tratamientos.

Los tratamientos son derivados de los factores de estudio utilizándose estos como referencia para el desarrollo de la investigación destellándose en la Tabla 18.

**Tabla 18.**

*Tratamientos*

Tratamiento	Niveles		
	Código	Dilución	Patógeno
T1	$a_1b_1$	10 ng/ $\mu$ L	<i>E.coli</i>
T2	$a_1b_2$	10 ng/ $\mu$ L	<i>Listeria</i>
T3	$a_1b_3$	10 ng/ $\mu$ L	<i>Salmonella</i>
T4	$a_2b_1$	20 ng/ $\mu$ L	<i>E.coli</i>
T5	$a_2b_2$	20 ng/ $\mu$ L	<i>Listeria</i>
T6	$a_2b_3$	20 ng/ $\mu$ L	<i>Salmonella</i>
T7	$a_3b_1$	30 ng/ $\mu$ L	<i>E.coli</i>
T8	$a_3b_2$	30 ng/ $\mu$ L	<i>Listeria</i>
T9	$a_3b_3$	30 ng/ $\mu$ L	<i>Salmonella</i>

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

### 3.3.3. Características del experimento.

**Tabla 19.**

*Características del diseño factorial AxB*

Atributos del Diseño Factorial	
Número de factores experimentales	2
Número de niveles factor A	3
Número de niveles factor B	3
Número de réplicas	2
Unidades experimentales	18
Respuestas experimentales	1

*Nota.* Trabajo experimental. (2025)

### 3.3.4. Tipo de diseño experimental

Se empleará un Diseño A x B (2 x 2) con dos réplicas. Así mismo se aplicará un análisis de (ANOVA) para establecer las diferencias entre los tratamientos el cual está reflejado en el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$\mu$  = Efecto medio global

$\alpha_i$  = Efecto incremental sobre la media causado por el nivel  $i$  del factor A

$\beta_j$  = Efecto incremental sobre la media causado por el nivel  $j$  del factor B

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto incremental sobre la media causado por la interacción del nivel  $i$  del factor A y el nivel  $j$  del factor B

$\varepsilon_{ijk}$  = El término del error

**Tabla 20.**

*Modelo de Análisis de varianza ANOVA*

F. de Viabilidad	S. Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medio	$F_0$	Valor - P
<b>Efecto A</b>	$SC_A = \sum_{i=1}^a \frac{Y_{i..}^2}{bn} - \frac{Y_{...}^2}{N}$	$a - 1$	$CM_A = \frac{SC_A}{a - 1}$	$\frac{CM_A}{CM_E}$	$P(F > F_0)$
<b>Efecto B</b>	$SC_B = \sum_{j=1}^b \frac{Y_{.j.}^2}{an} - \frac{Y_{...}^2}{N}$	$b - 1$	$CM_B = \frac{SC_B}{b - 1}$	$\frac{CM_B}{CM_E}$	$P(F > F_0)$
<b>Efecto AB</b>	$SC_{AB} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{Y_{ij.}^2}{n} - \frac{Y_{...}^2}{N} - SC_A - SC_B$	$(a - 1)(b - 1)$	$CM_{AB} = \frac{SC_{AB}}{(a - 1)(b - 1)}$	$\frac{CM_{AB}}{CM_E}$	
<b>Error</b>	$SC_E = SC_T - SC_A - SC_B - SC_{AB}$	$ab(n - 1)$	$CM_E = \frac{SC_E}{ab(n - 1)}$		

---


$$\text{Total} \quad SC_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y_{ijk}^2 \quad abn - 1$$

$$- \frac{Y_{...}^2}{N}$$


---

*Nota.* Tomado de Llanos García (2024).

### **3.4. Métodos de evaluación y datos a tomarse**

#### **3.4.1. Variables de respuesta.**

##### ***Concentración de bacterias.***

Se realiza para evaluar el estado que se encuentran las frutas y hortalizas verificando así la presencia o ausencia de bacterias como *E. Coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, garantizando así la eficacia del proceso de cómo se distribuyen estas frutas y hortalizas en los mercados del cantón Guaranda, que son destinadas al consumo humano, indicando el nivel de limpieza que tienen estos mercados. Basados en la normativa NTE INEN 1334-1.

#### **3.4.2. Ubicación.**

En este documento se detalla la ubicación de los mercados. Es crucial señalar con precisión los sitios y direcciones exactas de los seis mercados que operan en el cantón Guaranda.

#### **3.4.3. Recolección de Muestras.**

La toma de muestras garantiza la fiabilidad de la información recopilada. Para esto, se incluirán los resultados cuantitativos obtenidos de las pruebas previamente indicadas, organizando los datos en tablas mediante el software Excel.

### **3.5. Manejo del experimento**

#### **3.5.1. Obtención de muestra.**

La obtención de las muestras para esta investigación se llevó a cabo siguiendo un protocolo específico para asegurar la claridad y evitar cualquier irregularidad.

Las muestras de Frutas y Hortalizas se obtuvieron de los 6 mercados del cantón Guaranda, mercados como: Mercado Bellavista, Mercado 10 de noviembre, Mercado mayorista, Mercado de Guanujo, Mercado de Salinas y Mercado de

Simiatug, se toma las muestras y se colocan en un cooler y hielo, para ser luego trasladarlas al departamento de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, en el cual se realizará los análisis propuestos por esta investigación.

### **3.5.2. Codificación e identificación de las muestras.**

Las 24 muestras entre frutas y hortalizas analizados se codificarán para poder identificarlas con la fecha que se realiza el cultivo, el mercado se reconoce por medio de orden que tenemos los puntos se coloca M1 y las réplicas hasta M1-3, esto se hace para organizar mejor cada toma de muestra, detallando lo siguiente: número de muestra recolectada y fecha.

### **3.5.3. Registro de las muestras.**

Una vez tomada las muestras de los mercados, se procede al registro de las muestras colocándolas en fundas ziploc, rotulando, tomada como base de la Normativa Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1750, catalogada como la Hortalizas y Frutas frescas. Muestreo donde nos menciona el almacenamiento de muestras para el laboratorio que debemos incluirse por lo menos los datos siguientes para el informe de muestreo:

Rotulado. Las muestras que se van a despachar deben marcarse en forma legible, de modo que se evite adulteraciones, debiendo incluirse la información siguiente:

- a) Designación del producto, especie y variedad, incluyendo el grado de calidad.
- b) Nombre del vendedor o remitente
- c) Lugar del muestreo
- d) Fecha y hora del muestreo
- e) Tamaño de la muestra para ensayos
- f) Identificación de lote y de la muestra (Nota de despacho, identificación del vehículo y lugar de almacenamiento)
- g) Número del informe del muestreo
- h) Nombre y firma de la persona que tomó la muestra rúbrica de las partes interesadas.
- i) Si es necesario, indicar la lista de ensayos que debe efectuarse.

El almacenamiento y transporte de la muestra para ensayos deberá efectuarse en condiciones que impidan cualquier cambio en el producto. (Gracia, 2021)

**Tabla 21.***Codificación, identificación registro de las muestras y origen*

<b>Código</b>	<b>Mercado</b>	<b>Lugar</b>	<b>de</b>	<b>Hora</b>
		<b>procedencia</b>		
$M_1$	Mercado Bellavista	C. Azuay y C. G-13		9:00 am
$M_2$	Mercado 10 de noviembre	de Av. Espejo y Convención de 1884		10:00 am
$M_3$	Mercado Mayorista (Guanujo)	Vía a la laguna las Cochas		9:00 am
$M_4$	Mercado Guanujo	de Calle. Manuel de Echandía		13:40 pm
$M_5$	Mercado Salinas.	de Av. Saigai Kanry		10:30 am
$M_6$	Mercado Simiatug.	de C.Gonzales Suarez		10:00 am

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

Se muestra a continuación el orden de recolección de las muestras en los distintos mercados del cantón a trabajar.

**Tabla 22.***Identificación de cada toma de muestras en el Mercado Bellavista*

<b>Código</b>	<b>Muestra</b>
M1	Uva
M1-1	Brócoli
M1-2	Mora
M1-3	Lechuga

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

**Tabla 23.**

*Identificación de cada toma de muestras en el Mercado 10 de noviembre*

<b>Código</b>	<b>Muestra</b>
M2	Uva
M2-1	Brócoli
M2-2	Mora
M2-3	Lechuga

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

**Tabla 24.**

*Identificación de cada toma de muestras en el Mercado Mayorista (Guanujo)*

<b>Código</b>	<b>Muestra</b>
M3	Uva
M3-1	Brócoli
M3-2	Mora
M3-3	Lechuga

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

**Tabla 25.**

*Identificación de cada toma de muestras en el Mercado Guanujo*

<b>Código</b>	<b>Muestra</b>
M4	Uva
M4-1	Brócoli
M4-2	Mora
M4-3	Lechuga

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

**Tabla 26.**

*Identificación de cada toma de muestras del Mercado de Salinas*

<b>Código</b>	<b>Muestra</b>
M5	Uva
M5-1	Brócoli
M5-2	Mora
M5-3	Lechuga

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

**Tabla 27.**

*Identificación de cada toma de muestras del Mercado de Simiatug*

<b>Código</b>	<b>Muestra</b>
M6	Uva
M6-1	Brócoli
M6-2	Mora
M6-3	Lechuga

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

### **3.6. Análisis microbiológico**

#### **Preparación de medios de cultivos.**

Para la preparación de los medios de cultivos que se utilizaron en las siembras microbiológica, se emplea agares como ALOA, EMB y XLD, estos agares son específicos para cada bacteria en estudio, se debe seguir un procedimiento estandarizado para garantizar su correcto uso, esto se debe de leer en las especificaciones de cada agar.

En esta preparación se debe de realizar una discreta referencia de los medios conjunto al porcentaje de muestras que se tenga, se calcula la cantidad del medio requerido, se procede a un pesado adecuado este agar se mezclado con agua

destilada Tipo II (Agua adecuada para este tipo de concentraciones), se realiza una breve homogenización. Teniendo ya una homogenización se coloca en el microondas, con el fin de disolver todos los grumos que se pueda observar, con el fin de que esta mezcla tenga una correcta rehidratación.

Una vez homogenizado los agares, se coloca a un auto clavado a condiciones de 121°C por dos horas, con el fin de garantizar la esterilidad del medio antes del uso, eliminar posibles microorganismos contaminantes este proceso solo se realiza en los agares ALOA y EMB, es importante resaltar que el agar XLD no se debe auto clavar, según las indicaciones que nos da desde fabrica, este agar solo se disuelve en el microondas y se dispensa en las cajas pretil.

Posteriormente, tras la esterilización de los medios se realiza el respectivo dispensado en las cajas Petri, bajo condiciones de bioseguridad, se deja que este agar se gelifique, posteriormente se coloca la muestra para analizar en Frutas y hortalizas.

#### **Preparación de la Muestra.**

Para la preparación de la muestra se realiza una correcta toma de muestras a las frutas y hortalizas, se lleva al laboratorio y se pesa 25 gr, colando en fundas ziploc, rotulamos según la fecha en la que se procesa dicha muestra, llevando a la cámara de bioseguridad y colocamos 250 ml de Cloruro de Sodio (Suero Fisiológico).

Después de realizar este paso se agita unos 20 seg y se lleva al termo bloque a condiciones de 25 °C por 10 min, tomamos unas micropipetas de la mezcla realizada se tomar 1000 µL, posteriormente colocamos el líquido en nuestras cajas petri, realizando una siembra directa, este proceso se realiza por duplicado de cada bacteria de interés, con el fin de garantizar la fiabilidad de los resultados obtenidos. Una vez completada la siembra, se rotula la muestra con la fecha correspondiente y sellamos caja. Con este proceso se llevan las cajas a incubar a 35 °C durante 48 horas, en este tiempo se permite el crecimiento para la lectura del crecimiento de la bacteria correspondiente en cada agar.

#### **Aislamiento y purificación de colonias.**

Antes de realizar el aislamiento de colonias, *E. coli*, *Listeria* y *Salmonella* se procede a revisar después de las 48 horas si se tiene un crecimiento microbiano en las placas, se toma la placa que tengan identificación del patógeno, con el fin de

realizar este aislamiento de las colonias sospechosas, se realiza un subcultivo, trasladando las colonias sospechosas a medios de cultivos nuevos para identificarlos después de 24 horas a 35°C.

### **Identificación bioquímica de microorganismos.**

#### ***PRUEBA DE OXIDASA.***

Para la elaboración de la prueba de oxidasa se utilizan tirillas de oxidasa, estas tirillas se utilizan en la colonia más contaminadas, en el cual a segundo vemos si reacciona, cuando es de resultado positivo nos da una coloración azulado o morado, indicando la presencia de oxidasa, cuando es negativo tiene ausencia del color.

#### ***PRUEBA DE CATALASA.***

Para la prueba de catalasa se coloca en un portaobjetos, una gota de peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 3%, con un asa de siembra se coloca una colonia de bacteria, para la identificación de esta prueba se observa una reacción de burbujeo confirmando un resultado positivo, caso contrario de no tener una reacción de burbujeo es negativo el resultado.

### **PREPARACIÓN PARA LAS PRUEBAS IMVIC.**

- **PRUEBA DE INDOL:** En un tubo de ensayo se coloca 5 mL de agua peptonada, conjunto con un asa estéril, se toma una colonia, colocando en el medio, se agita unos 10 segundos y se envía a incubación a 37 °C por 24 horas.
- **PRUEBAS DE VOGES-PROSKAUER:** En un tubo de ensayo colocamos 5 mL de caldo de MR-VP, con un asa esterilizada, colocamos una colonia agitamos 10 segundos y enviamos a incubar a 37 °C por 24 horas.
- **PRUEBAS DE ROJO METILO:** En un tubo de ensayo se coloca 5 mL, se toma 5 mL de caldo de MR-VP, con un asa colocamos una colonia, agitamos 10 segundos e incubamos a 37°C por 24 horas.
- **PRUEBA DE CITRATO:** Para esta prueba ya se tiene previamente preparado el medio donde ya está gelificado, se toma una colonia con un asa estéril y se siembra en la superficie del medio, sin romper el gel finalmente se inocula a 37°C por 24 horas.

### **Lectura de las pruebas IMVIC.**

- **PRUEBA DE INDOL:** Luego del tiempo transcurrido se añade 4 gotas de reactivo de Kovacs, después de unos minutos se visualiza resultados en caso de que se forme un anillo de color rojo en la superficie del medio el resultado es positivo, indicando la producción de indol, en caso de que no hubo cambio de coloración, su resultado es negativo.
- **PRUEBAS VOGERS-PROSKAUER:** Se añade 12 gotas de  $\alpha$ -naftol y 4 gotas de KOH se agita por unos segundos, dando una lectura que si los aros de la parte de arriba dan rojo son positivos y no hubo cambio de color, es negativo.
- **PRUEBAS DE ROJO METILO:** Se coloca 3 gotas de reactivo de rojo metilo se agita 5 segundos, si el medio se torna de color rojo, es un resultado positivo en caso de que se tenga una coloración amarilla o sin cambio en resultado negativo.
- **PRUEBAS DE CITRATO:** En este caso después de las 24 horas de incubación se procede a leer resultados, si el medio de cultivo d una coloración verde azulado es positivo y caso contrario del mismo medio permanece verde, el resultado es negativo.

### **Análisis Molecular (PCR) Reacción en cadena de la polimerasa.**

Para el análisis molecular se aplicó la metodología de PCR convencional. En lo cual de los aislados de las muestras de frutas y hortalizas conseguidos de los tres microorganismos de estudio se les extrajo su ADN mediante el método de aislamiento de ADN específico (Invitrogen Thermo Scientific Genomic DNA mini Kit, k182001, USA). Siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para la reacción de amplificación se utilizó el método de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional permitiendo así la identificación y detección de estos distintos genes ejecutándose en un volumen de total de 50  $\mu$ L conteniendo en el mismo 45  $\mu$ L de la mezcla de los reactivos y 5  $\mu$ L del ADN extraído en lo cual se utilizó reactivos como: Primers Forward y Reverse (Invitrogen, 90489462), Nuclease-Free Water (Promega, 0000334315, USA), GoTaq® Green Master Mix, 2X (Promega, 0000543067, USA) mismo que posee una mezcla maestra que ya

contiene en el mismo, tampón de reacción en concentraciones optimas, dNTP, ADN polimerasa GoTaq,MgCl<sub>2</sub> y los tintes de color amarillo y azul mismos que permiten monitorear el progreso durante el proceso de electroforesis. Seguidamente se colocó 45 µL de la solución GoTaq® Green Master Mix ya preparada en un micro tubo eppendorf y se adiciono 5 µL de AND que fueron extraídos de los aislados confirmados, se procede a llevar la solución lista al termociclador (Biometra TAdvanced) y se corre los ciclos establecidos en la tabla 14 para la amplificación en PCR de *Listeria*, *Salmonella*, *E. coli*.

Los resultados se analizarán mediante electroforesis horizontal con gel de agarosa (Agarose®) (Fisher bioreagents, BP160-100, USA) al 2%, preparado con el tampón al 1X, adicionando 4 µL del colorante Nucleic Acid Dye (Diamond™) y se someterá a 135 voltios durante un tiempo de 30 minutos para estimar el tamaño de los fragmentos de ADN amplificados con el uso de un marcador de pesos molecular de 100pb (INBIO HIGHWAYBS.A, K0177).

El ADN será amplificado mediante PCR (Reacción de Cadena Polimerasa) con el uso de cebadores que amplifican un fragmento del gen 16S ARNr, los iniciadores utilizados fueron descritos por (Meghdadi & Nassirabady, 2019), (Núñez & Bayas, 2019) y (Gómez & Torres, 2022) cuyas secuencias se detallan en la Tabla 28.

**Tabla 28.***Cebadores específicos utilizados en esta investigación*

Bacteria	Secuencia	Pares de bases bp	Referencias
<i>Listeria monocytogenes</i>	(R,5'- GCCGTCGATGATTTGAACTTCA TC-3') (F,5'- GAATGTAAACTTCGGCGCAATC AG-3')	388 bp	(Meghdadi y Nassirabady, 2019)
<i>Escherichia coli con su serotipo O157:H7</i>	(R,5'- GCTATTTCTGCCGATAAGAGA- 3') (F,5'- CCAGGCAAAGAGTTTATGTTGA-3') <i>invA3R</i>	212 bp	(Núñez y Bayas, 2019)
<i>Salmonella spp</i>	(R,5'-TCCATCAAATTAGCGGAGGC- 3')  <i>invA3F</i>  (F,5'-AACGTGTTCCGTCGTAAT-3')	244 bp	(Gómez y Torres, 2022)

*Nota.* Trabajo experimental (2025).**Tabla 29.***Condiciones para el proceso de (PCR) para Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Salmonella spp.*

# de ciclos	T (°C) / T <i>Listeria m.</i>	T (°C) / T <i>Salmonella spp.</i>	T (°C) / T <i>Escherichia coli</i>	Fases
1	95/2 min	95/5 min	95/2 min	Desnaturalización
	95/1 min	95/1 min	95/30 seg	Desnaturalización
30	53/45 seg	63/45 s	56/30 seg	Unión de iniciadores
	72/ 1 min	72/1 min	72/30 seg	Extensión
1	72/ 7 min	72/5 min	72/5 min	Extensión

*Nota.* Tomado de Meghdadi y Nassirabady (2019).

Los resultados de la (PCR) fueron visualizados mediante electroforesis, en una concentración de agarosa del 2% en 100 mL de la solución del tampón TAE 1X calentándolo en un microondas evitando la ebullición para que no se desnaturalice. Se efectuó la reacción de amplificación con un volumen final de 50  $\mu$ L, contenido 45  $\mu$ L de la mezcla y 5  $\mu$ L de ADN. Los reactivos a utilizar en la prueba PCR se representa en la Tabla 30 para cada uno de los microorganismos de estudio.

**Tabla 30.**

*Reactivos del TAE para PCR, en Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Salmonella spp*

Reactivos	Volumen uni.	Listeria N° de muestras	E – coli N° de muestras	Salmonella spp. N° de muestras
GoTaq®	12.5 $\mu$ L			
Green Master Mix, 2X				
Forwar primer, 10 $\mu$ M	0.25-2.5 $\mu$ L	9	4	4
River ,10 $\mu$ M	0.25 -2.5 $\mu$ L			
DNA Templade	1-5 $\mu$ L			
Nuclease-Free Wáter	25 $\mu$ L			
<b>Volumen total</b>		45,5 /9 = 5,05 $\mu$ L	45,5 /4= 11,37 $\mu$ L	45,5 /4 = 11,37 $\mu$ L

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

La muestra que contiene el ADN de las bacterias se depositó en el gel de agarosa con el marcador de peso molecular para así evaluar el tamaño de los fragmentos de ADN amplificados se utilizó un marcador de pesos molecular 100pb (INBIO HIGHWAYBS.A K0177) y así mismo se depositaron los blancos positivos para *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*. El proceso de electroforesis se ejecutó en 135 voltios en 30 minutos, una vez terminado este proceso de tñio el gel en la solución del tampón TAE 1X durante un tiempo de 25 minutos utilizando 4  $\mu$ L colorante Nucleic Acid Dye de la marca DiamondTM una vez trascurrido el tiempo se procedió a la visualización en el trasiluminador UV (Llanos García, 2024).

### **Concentración de la muestra.**

Según Blue-Ray Biotech (s.f.) “La elección del método adecuado de cuantificación de ácidos nucleicos es crucial para el éxito experimental. Los principales factores a considerar son el tipo y la concentración de la muestra, la pureza, los requisitos de especificidad, las aplicaciones posteriores, el tiempo y el coste. La espectrometría UV-Vis es adecuada para muestras altamente concentradas ( $>10$  ng/ $\mu$ L). La fluorimetría o la PCR son necesarias para muestras de baja concentración ( $<10$  ng/ $\mu$ L) y en situaciones que requieren la distinción entre ADN/ARN o la detección de secuencias específicas. La fluorimetría o la PCR se utilizan habitualmente en la cuantificación de bibliotecas NGS, mientras que la PCR es más fiable para muestras FFPE.”

### **3.7. Análisis de datos.**

El análisis de datos se efectúa mediante el software Statgraphics Centurion 19 y para el mapa.

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Interpretación de resultados

##### 4.1.1. Resultados de la toma de muestra en los mercados del Cantón

###### Guaranda.

Los resultados adquiridos se detallan en la siguiente tabla:

**Tabla 31.**

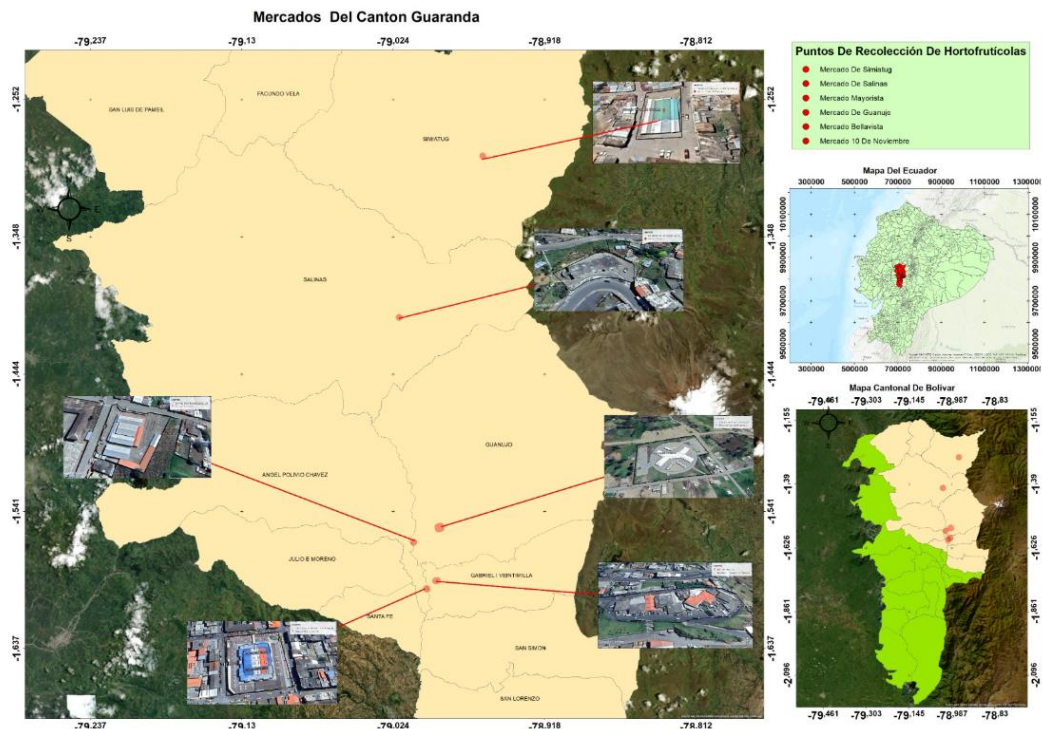
*Resultados de la toma de muestras de los mercados del Cantón Guaranda*

<b>Código</b>	<b>Origen Cantón</b>	<b>Identificación del Mercado</b>	<b>Lugar de Procedencia</b>
M1			
M1-1		Bellavista	Av Monseñor Candido
M1-2			Rada y Azuay
M1-3			
M2			
M2-1		10 de Noviembre	Calle Espejo y Sucre
M2-2			
M2-3			
M3		Mayorista	
M3-1	Guaranda		Guaranda Vía a las
M3-2			Cochas
M3-3			
M4		Guanujo	
M4-1			Calles Manuel de Echandía y Simón Bolívar
M4-2			
M4-3			
M5		Salinas	
M5-1			Vía Guaranda Salinas
M5-2			km 20
M5-3			
M6		Simiatug	
M6-1			Calle Angel Polivio
M6-2			Chavez y José García
M6-3			

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

**Figura 15.**

*Puntos de muestreo de los mercados del Cantón Guaranda.*



*Nota.* Puntos tomados de Google y realizado en ArcGis (2025).

En la Tabla 31 se presenta los resultados de la toma de muestras en los mercados del cantón Guaranda incluyendo de esta manera también las direcciones en donde se encuentra cada mercado, permitiendo saber exactamente la localización mediante coordenadas específicas ubicando los lugares y direcciones exactas dentro de un mapa con el objeto de identificar cada uno de los puntos estratégicos en los mercados del cantón Guaranda de la Provincia de Bolívar.

#### **4.1.2. Resultados microbiológicos.**

Los resultados en las pruebas microbiológicas, realizadas por duplicado en los mercados del cantón Guaranda indican que, en la mayoría, de placas existe contaminación alrededor del 70%

#### **4.1.3. Resultados bioquímicos.**

**4.1.3.1. Cuantificación de *Listeria monocytogenes* de las muestras de productos hortofrutícolas de los diferentes mercados del Cantón Guaranda.**

Para la cuantificación de la *Listeria monocytogenes* se realiza pruebas bioquímicas en base a los productos hortofrutícolas tomados de los diferentes mercados como se muestra en la Tabla 32.

**Tabla 32.**

*Valores obtenidos mediante resultados de las pruebas bioquímicas en *Listeria monocytogenes**

Código	Bacteria	Pruebas Bioquímicas				PRUEBAS IMVIC							
		CATALASA		OXIDASA		ROJO DE METILO		INDOL		VOGUES POSKAUER		CITRATO	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M1		+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M1-1		+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
M1-2		+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M1-3		+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M2-2		+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
M2-3		+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M3		+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
M3-1		+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
M3-2		+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
M3-3		-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
M4		+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
M4-1	<i>Listeria</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
M4-2		+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
M4-3		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M5		+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
M5-1		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M5-2		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M5-3		+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
M6		+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
M6-1		+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
M6-2		+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M6-3		+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

La Tabla 32 muestra el análisis de *Listeria monocytogenes* en varias muestras (M1-3, M2-2, M2-3, M3-3, M4, M4-3, M5-1 y M6-2) tomadas por duplicado de mercados en el Cantón Guaranda. Los resultados sugieren deficiencias en las prácticas de higiene en el área de frutas y hortalizas.

Las muestras M1, M1-1, M1-2, M2, M2-1, M3, M3-1, M3-2, M4-1, M4-2, M5, M5-2, M5-3, M6, M6-1 y M6-3 no se detectaron la presencia de *Listeria*, indicando que estas cumplen con los estándares establecidos. Además que IFSAC (2022) describe a este microorganismo perjudicial que se encuentra presente en los alimentos, capaz de causar listeriosis gastrointestinal tanto en humanos como en animales. Wiśniewski et al. (2023) destaca de igual forma que el patógeno, *L. monocytogenes*, tiene la capacidad de contaminar frutas y verduras en diversas fases, que abarcan desde su cultivo inicial hasta su procesamiento final. De esta manera Ortiz (2020) establece que *Listeria monocytogenes* es un microorganismo que se encuentra en zonas húmedas y frías que pueden soportar hasta 1° C por lo tanto es indispensable la higiene personal, la desinfección constante de zonas de almacenamiento y distribución.

Ante estos resultados el autor Carracedo Ghione et al. (2023), nos menciona, en la actualidad los abortos a temprana edad son por una mala alimentación y desinfección de las frutas y hortalizas consumidas, ante estos estudios proporcionados es que se llega a ver que en la ciudadanía no se tiene un control de higiene, antes de ser preparados, no tienen un proceso de desinfección apropiado provocando la *Listeria monocytogenes* enfermedades de nivel alto como: Abortos, enfermedades estomacales, gastroenteritis, fiebre y Diarrea.

**4.1.3.2. Cuantificación de *Escherichia coli* de las muestras de productos hortofrutícolas de los diferentes mercados del cantón Guaranda.**

**Tabla 33.**

Valores obtenidos mediante resultados de las pruebas bioquímicas de *Escherichia coli*

Código	Bacteria	Pruebas Bioquímicas								PRUEBAS IMVIC			
		CATALASA		OXIDASA		ROJO DE METILO		INDOL		VOGUES POSKAUER		CITRARTO	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M1		-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
M1-1		-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
M1-2		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M2		-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
M2-1		-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
M2-2		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M2-3		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M3-3	<i>E. coli</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M4-3		+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M5-1		+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
M5-2		+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
M2-1		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M3		+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M3-1		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M6-1		-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M6-2		+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+

Nota. Trabajo experimental (2025).

La Tabla 32 detalla la presencia de *Escherichia coli* en muestras duplicadas (M2-1, M3 y M6-2) de mercados del Cantón Guaranda. Estos hallazgos sugieren una implementación deficiente de las Buenas Prácticas de Higiene (BPH) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en la sección de frutas y hortalizas. En contraste, las muestras M1, M1-2, M1-3, M2, M2-2, M2-3, M3-1, M3-2, M3-3, M4, M4-1, M4-2, M4-3, M5, M5-1, M5-2, M5-3, M6, M6-1 y M6-3 no mostraron concentración de *E. coli*, indicando su conformidad con los estándares establecidos. Según González (2023) manifiesta que *E. coli* es predominantemente de origen intestinal su presencia en alimentos se da cuando los microorganismos se

transfieren de una superficie o alimento contaminado a otro no contaminado o a través del contacto directo o de manera indirecta mediante la transferencia de contaminantes por superficies, utensilios o personas que manipulan los alimentos. Puesto que Peláez (2021) describe las vías de contagio de ciertas infecciones, señalando que estas incluyen tanto el consumo de alimentos y agua contaminados como la transmisión directa entre personas o a través de superficies contaminadas. Además, FCC (2020) especifica que la principal fuente de exposición parece ser la ingesta de alimentos contaminados, mencionando ejemplos como carne molida cruda o mal cocida, leche sin pasteurizar y productos frescos. Esto sugiere que las prácticas de higiene alimentaria y el manejo adecuado de los alimentos son cruciales para prevenir la propagación de estas infecciones.

#### 4.1.3.3. Cuantificación de *Salmonella spp* de las muestras de productos Hortofrutícolas de los diferentes mercados del cantón Guaranda.

**Tabla 34.**

Valores obtenidos mediante resultados de las pruebas bioquímicas de *Salmonella spp*

Pruebas Bioquímicas		PRUEBAS IMVIC											
Código	Bacteria	CATALASA		OXIDASA		ROJO DE METILO		INDOL		VOGUES POSKAUER		CITRARTO	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M2		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M2-1		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
M2-3		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M3		+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M3-1		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M3-2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
M3-3		-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M4	<i>Salmonella</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
M4-1		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M4-2		+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
M4-3		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
M5		+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M5-1		+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M5-2		+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
M5-3		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-

Pruebas Bioquímicas	PRUEBAS IMVIC											
M6	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
M6-1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
M6-2	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
M6-3	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+

Nota. Trabajo experimental (2025).

El análisis de *Salmonella* en muestras duplicadas de mercados del Cantón Guaranda, presentado en la Tabla 33, revela la presencia de este patógeno en las muestras M2-3, M3-1 y M6-2. Esto señala posibles problemas con las prácticas de higiene y en la sección de frutas y hortalizas de los mercados. En contraste, la ausencia de *Salmonella* en las muestras M1, M1-1, M1-2, M1-3, M2, M2-1, M2-2, M3, M3-2, M3-3, M4, M4-1, M4-2, M4-3, M5, M5-1, M5-2, M5-3, M6, M6-1 y M6-3 sugiere que estas cumplen con los criterios de calidad establecidos. Con estos resultados relacionando a Cortés-Higareda (2021) manifiesta que, de todas las muertes ocasionadas por enfermedades transmitidas por alimentos, la *Salmonella* es responsable de casi un tercio. A pesar de esto, el problema es aún mayor, puesto que la Organización Mundial de la Salud estima que entre el 60% y el 80% de los casos de salmonelosis no se notifican (Cortés-Higareda M. et al., 2021).

De igual forma Tenesaca (2020) confirma que la *Salmonella* en alimentos puede causar enfermedades leves, graves y en ocasiones hasta mortales, por lo que está considerada dentro de las diez primeras notificaciones obligatorias en Ecuador por lo tanto para prevenir que este patógeno cause mayores daños es indispensable cumplir con normativas INEN y con BMP dentro y fuera del lugar de distribución.

#### 4.1.4. Resultados bioquímicos.

**Tabla 35.**

*Resultados de positivos para PCR de Listeria monocytogenes*

Código	Bacteria	Pruebas Bioquímicas								PRUEBAS IMVIC			
		CATALASA		OXIDASA		ROJO DE METILO		INDOL		VOGES POSKAUER		CITRATO	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M1-3		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M2-2		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M2-3		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M3-3		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M4	<i>Listeria</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M4-3		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M5-1		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M6-2		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

Para comprobar la existencia de la bacteria *Listeria monocytogenes*, en las pruebas bioquímicas se toma en cuenta que para la prueba de catalasa todas las repeticiones deben de salir positivas (+), en la prueba en OXIDASA las repeticiones deben de salir negativa (-), en la prueba del ROJO DE METILO sus resultados deben de ser positivas (+), para las pruebas INVIC, en la prueba Indol su resultado debe de ser positive (+), en las pruebas de VOGES PROSKAUER los resultados en replicas negativas (-) y para las pruebas del CITRATO son negativas (-), no debe de tener un cambio en su coloración, estas muestras positivas son del mercado Bellavista, con el código M1-3 Lechuga, Mercado 10 de noviembre, con la muestra positivas con los códigos : M2-2 Mora, M2-3 Lechuga, Mercado Mayorista (Guanujo) con códigos M3-3 Lechuga, Mercado de Guanujo muestras positivas con los códigos M4 Uva, M4-3 Lechuga, Mercado de Salinas con su código M5-1 Brócoli y Mercado se Simiatug con muestras positiva de M6-2 Mora. Relacionando a Cortés-Higareda M. et al. (2021) la confirmación de la presencia de *Listeria monocytogenes* por medio de pruebas bioquímicas, la prueba de catalasa debe arrojar resultados positivos en todas las repeticiones (+) se debe considerar la validación y la rotación de desinfectantes, BMP para reducir el riesgo de establecimiento de nichos tanto en frutas como en hortalizas.

**Tabla 36.***Resultados de positivos para PCR de Escherichia coli*

PRUEBAS BIOQUÍMICAS		PRUEBAS IMVIC											
CÓDIGO	BACTERIAS	CATALASA		OXIDASA		INDOL		ROJO DE METILO		VOGES PROSKAUER		CITRATO	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M2-1		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M3	<i>E. COLI</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M6-2		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-

Nota. Trabajo experimental (2025).

Para comprobar la existencia de la bacteria *Escherichia coli*, en las pruebas bioquímicas se toma en cuenta que para la prueba de catalasa todas las repeticiones deben de salir positivas (+), en la prueba en OXIDASA las repeticiones deben de salir negativa (-), en la prueba del ROJO DE METILO sus resultados deben de ser positivas (+), para las pruebas INVIC, en la prueba Indol su resultado debe de ser positivo (+), en las pruebas de VOGES PROSKAUER los resultados en replicas negativas (-) y para las pruebas del CITRATO son negativas (-), no debe de tener un cambio en su coloración. Mercados que nos dan positivos: Mercado 10 de noviembre código M2-1 Brócoli, Mercado Mayorista (Guanujo) código M3 Uva y Mercado de Simiatug código M6-2 Mora. En comparación a FDA (2024), las frutas y verduras que crecen cerca del suelo o que tienen superficies irregulares que dificultan la limpieza pueden tener un mayor riesgo de contaminación, por lo cual es necesario realizar las Pruebas IMVIC que constan de cuatro pruebas que se utilizan comúnmente para diferenciar entre las bacterias coliformes, incluyendo *E. coli* tomando como referencia al Indol y rojo de metilo con respuestas positivas y a Voges-Proskauer y citrato con respuestas negativas.

**Tabla 37.***Resultados de positivos para PCR de Salmonella spp*

CÓDIGO	BACTERIAS	PRUEBAS BIOQUÍMICAS						PRUEBAS IMVIC					
		CATALASA		OXIDASA		ROJO DE METILO		INDOL		VOGES PROSKAUER		CITRATO	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M2-3		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M3-1	<i>SALMONELLA</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M6-2		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

Para comprobar la existencia de la bacteria *Salmonella spp*, en las pruebas bioquímicas se toma en cuenta que para la prueba de catalasa todas las repeticiones deben de salir positivas (+), en la prueba en OXIDASA las repeticiones deben de salir negativa (-), en la prueba del ROJO DE METILO sus resultados deben de ser positivas (+), para las pruebas INVIC, en la prueba Indol su resultado debe de ser positivo (+), en las pruebas de VOGES PROSKAUER los resultados en replicas negativas(-) y para las pruebas del citrato son negativas (-), no debe de tener un cambio en su coloración. Dando a conocer que hay contaminación en los mercados y su respectiva fruta o hortalizas: Mercado 10 de noviembre, con los códigos: M2-3 Lechuga, Mercado Mayorista (Guanujo), código de muestra 3-1 Brocoli y Mercado de Simiatud, con el código M6-2 Brocoli. Con respecto a esto, se ha documentado que las frutas y verduras frescas son los principales medios de transmisión de estas bacterias dañinas; sin embargo, la identificación oportuna de estas bacterias aún no se ha implementado en la cadena de producción y durante el tratamiento posterior a la recolección de los productos agrícola (Vázquez-Boland y otros, 2021).

#### 4.1.5. Medición del ADN por medio del nanodrop.

La medición del ADN se realiza principalmente a través de la espectrofotometría y la concentración.

- **Espectrofotometría:** Para cuantificar el ADN, se emplea un espectrofotómetro, siendo el Nanodrop un ejemplo común. Este instrumento mide la cantidad de luz ultravioleta (UV) que una muestra

de ADN es capaz de absorber a una longitud de onda específica de 260 nm, ya que el ADN presenta una absorción característica y constante a esta longitud de onda.

- **Concentración:** La concentración de ADN en una muestra se puede determinar directamente a partir de la cantidad de luz que absorbe. Para realizar este cálculo, se utilizan fórmulas fundamentadas en la Ley de Beer-Lambert.

$$A = \log_{10} \left( \frac{I_0}{I} \right) = \epsilon cl$$

#### **4.1.6. Identificación de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* mediante Reacción de Cadena Polimerasa (PCR).**

Tras confirmar la identidad de *Listeria*, *Escherichia coli*, y *Salmonella* mediante observaciones microscópicas y pruebas microbiológicas en medios selectivos, se procedió a aislar su ADN. Para esta extracción, se empleó el kit de Invitrogen 90489462, siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante, ya que este contiene todos los reactivos necesarios. Una vez obtenido el ADN de cada microorganismo, se evaluó su pureza utilizando un espectrofotómetro Nanodrop One de THERMO SCIENTIFIC, registrando los valores de pureza para cada muestra de ADN. Se analizaron los niveles de pureza del ADN extraído de cada microorganismo. En total, se utilizaron 14 aislamientos de *Listeria*, *Escherichia coli*, y *Salmonella*. Estas cepas se obtuvieron de muestras de los mercados ubicadas en el cantón Guaranda, tras ser identificadas mediante análisis microbiológicos selectivos.

Según Mejía (s.f.) la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) fundamenta su funcionamiento en la repetición secuencial de tres etapas cruciales, la desnaturalización, Alineamiento y Extensión alcanzando temperaturas entre 94 y 98 grados Celsius, la temperatura disminuye, permitiendo que fragmentos cortos de ADN sintético, con los cebadores, se adhieran a las secciones correspondientes en las hebras de ADN el cual es el objetivo, destacando que se emplean cebadores diseñados específicamente para cada microorganismo que se busca identificar, como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, y *Escherichia coli* en el contexto de este análisis

**4.1.6.1. Concentración de ADN extraído mediante Genomic DNA Mini kit k182001. De *Listeria*.**

**Tabla 38.**

*Concentración de ADN mediante Espectrofotómetro Nanodrop para *Listeria monocytogenes**

<i>Listeria</i>	Nanodrop
Código	ng/μL
M1-3	47,2
M2-2	24,1
M2-3	28,2
M3-3	63,8
M4	92,8
M4-3	84,7
M5-1	99,4
M6-1	93,5

*Nota.* Trabajo experimental (2025)

**4.1.6.2. Concentración de ADN de *Escherichia coli*.**

**Tabla 39.**

*Concentración de ADN mediante Espectrofotómetro Nanodrop para *Escherichia coli**

<i>Escherichia coli</i>	Nanodrop
Código	ng/μL
M2-1	70,5
M3	81,9
M6-2	99,4

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

#### 4.1.6.3. Concentración de ADN de *Salmonella*.

**Tabla 40.**

*Concentración de ADN mediante Espectrofotómetro Nanodrop para Salmonella*

<i>Salmonella</i>	Nanodrop
Código	ng/μL
M2-3	57,4
M3-2	72,7
M6-2	49,8

*Nota.* Trabajo experimental (2025).

Las concentraciones de ADN obtenidas mostraron niveles de pureza dentro de los rangos aconsejados. Específicamente, las relaciones de absorbancia (260/280) se encontraron dentro del intervalo óptimo para ADN puro, establecido entre  $\geq 1.6$  y 2.1, donde Llanos (2024) dice que la cantidad de ADN recuperado dependió de cada muestra y de su contenido original de material genético. Sin embargo, los resultados arrojaron concentraciones de ADN óptimas y suficientes para llevar a cabo análisis moleculares detallados.

De los 14 aislados en total de las bacterias de *Listeria*, *Escherichia coli*, y *Salmonella* que se extrajo ADN utilizando el kit de Invitrogen 90489462, se obtuvieron diversas concentraciones de material genético, donde el valor más alto para *Listeria* fue de la muestra M5-1 y con un ADN de 98.5 ng/μL y en el menor M2-2 con 24,1ng/μL, *Escherichia coli* la muestra M6-2 con ADN de 99,4 ng/μL, mientras que el menor M2-1 con 70,5ng/μL y en *Salmonella* M3-2 con un ADN de 72,7 ng/μL y el menor M2-3 con 57,4 ng/μL, observando los resultados obtenidos estén dentro de los valores de referencia considerando ADN de calidad optima.

#### 4.1.7. Cálculos matemáticos de la Sensibilidad.

Para el cálculo dentro de ensayos de PCR convencional el rango recomendaciones de concentración de ADN es de 5 – 50 ng/μL, para ello se tomó en cuenta un rango útil para los tratamientos, en el cual se tiene 10 ng/μL para una concentración baja, 20 ng/μL para una concentración media y 30 ng/μL para una concentración más alta siendo válida.

Para la evaluación experimental, se toma en cuenta tres concentraciones de ADN genómico, lo cual parte de una solución stock de 100 ng/μL.

Para esto, se utiliza la ecuación de dilución:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

Donde

$C_1$ : Concentración inicial de ADN.

$V_1$ : Volumen del stock requerido.

$C_2$ : Concentración final deseada.

$V_2$ : Volumen final.

**Tabla 41.**

*Concentraciones deseadas*

Bacteria	ADN ng/μL	10 ng/μL	20 ng/μL	30 ng/μL
<i>Escherichia coli O157:H7</i>	98,5 ng/μL	10,15 μL	20,30 μL	30,45 μL
<i>Listeria monocytogenes</i>	99,4 ng/μL	10,06 μL	20,12 μL	30,18 μL
<i>Salmonella spp</i>	72,7 ng/μL	13,76 μL	27,51 μL	41,27 μL

Nota. Trabajo experimental (2025).

En la Tabla 42 se presenta las cantidades de agua en grado molecular que se debe adicionar según las concentraciones adecuadas para las diluciones a partir del ADN extraído en estudio presentadas en 10 ng/μL, 20 ng/μL y 30 ng/μL.

#### 4.1.8. Concentraciones del ADN para el ANOVA.

**Tabla 42.**

*Concentraciones de ADN para el análisis de ANOVA.*

TRATAMIENTOS	Dilución 10ng/μL			Dilución 20 ng/μL			Dilución 30 ng/μL		
	<i>E.coli</i>	<i>Listeria</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i>	<i>Listeria</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i>	<i>Listeria</i>	<i>Salmonella</i>
$T_1$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$T_2$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$T_3$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$T_4$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$T_5$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$T_6$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$T_7$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$T_8$	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$T_9$	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Nota. Trabajo experimental (2025).

En la Tabla 42 se muestra los rangos de dilución de cada uno de las bacterias en estudio, dando a conocer que todos los tratamientos nos dan un valor de 1, que significa que tiene un rango de sensibilidad algo en las concentraciones de 10, 20 y 30 ng/ $\mu$ L.

### **4.3. Análisis molecular**

#### **4.3.1. Detección de *Listeria monocytogenes* mediante reacción de cadena de polimerasa (PCR).**

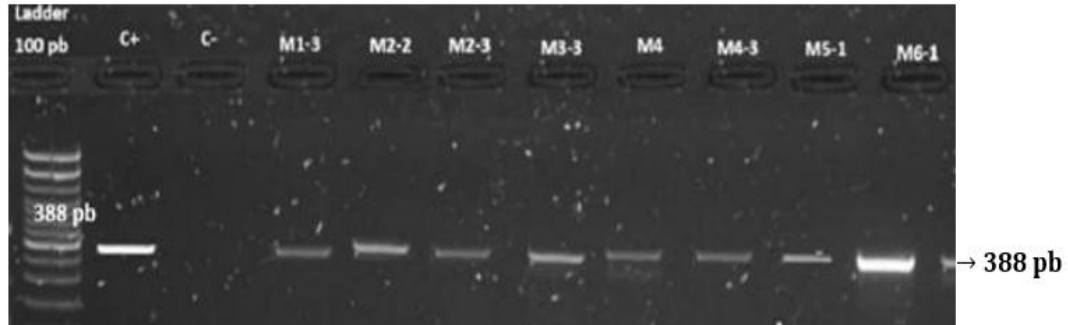
El ADN que se extrajo de los cultivos puros de *Listeria monocytogenes* se sometió a análisis y a un proceso de amplificación. En la amplificación de *Listeria monocytogenes* se utilizó los cebadores de marca Invitrogen cuya secuencia fue de (R,5'-GCCGTCGATGATTTGAACTTCATC-3') y *Listeria* (F,5' GAATGTAAACTTCGGCGCAATCAG-3') que examina el género de *Listeria* requerido para amplificar en fragmentos de aproximación de 388 bp.

De las 25 muestras recolectadas se realiza las pruebas bioquímicas en la cual nos muestras que 8 muestras dan positivas a *Listeria monocytogenes*, entre ellas están M1-3, M2-2, M2-3, M3-3, M4, M4-3, M5-1 y M6-1 las mismas que fueron extraídas el ADN y analizadas por medio de PCR como se muestran en la Figura 16.

Las condiciones del termociclador para realizar este proceso fueron las siguientes: Un ciclo a 95°C durante un tiempo de dos minutos, 30 ciclos de desnaturalización a 95°C por un minuto, el anillamiento a 53°C por un tiempo de 45 segundos, la extensión a 72°C por un minuto y la extensión final a 72°C por 7 minutos y para que se mantenga se bajó a 4 °C durante un tiempo de 7 minutos. Mediante el análisis PCR y la técnica de electroforesis tras observar en la foto documentador con luz ultravioleta los resultados de los aislados pertenecieron a la especie de *L. monocytogenes* en el cual se utilizó controles positivos de *Listeria monocytogenes*.

## Figura 16.

*Resultados de electroforesis después de realizar PCR con los aislados de Listeria monocytogenes*



*Nota.* Trabajo experimental (2025).

### 4.3.2. *Detección de Escherichia coli mediante reacción de cadena de polimerasa (PCR).*

La amplificación se llevó a cabo utilizando cebadores de la marca Invitrogen diseñados para el serotipo O157:H7 de *Escherichia coli*. Las secuencias de estos cebadores fueron (R, 5'-GCTATTTTCCTGCCGATAAGAGA-3') y (F, 5'-CCAGGCAAAGAGTTTATGTTGA-3'), los cuales identifican el género *E. coli* y produjeron fragmentos de ADN de un tamaño aproximado de 212 pb.

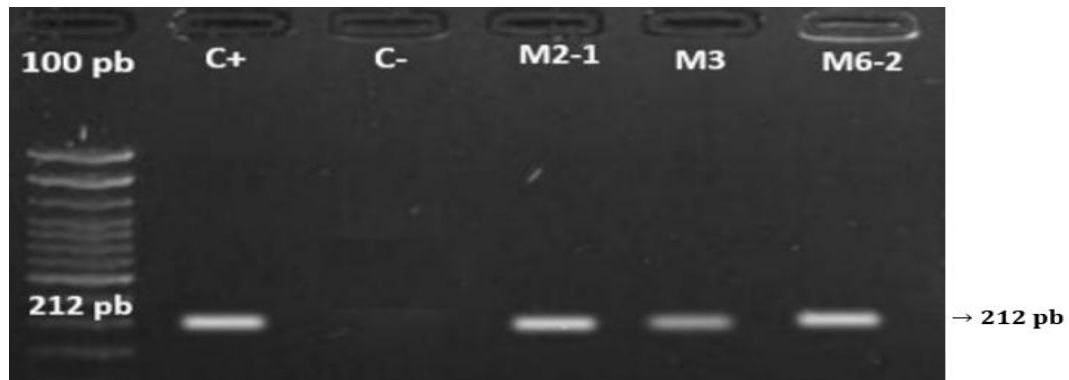
De las 25 muestras recolectadas por duplicado, de las cuales tres de ellas como se muestra en la Figura 16 M2-1, M3 y M6-2, mismas que fueron extraídas el ADN y analizadas mediante PCR.

Las condiciones en el termociclador para realizar el proceso fueron las siguientes: Un ciclo a 95°C durante un tiempo de dos minutos, 30 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 segundos, el anillamiento a 56°C por un tiempo de 30 segundos, la extensión a 72°C por 30 segundos y un ciclo final a 72°C por cinco minutos y para que se mantenga se bajó a 4 °C durante un tiempo indefinido.

Mediante el análisis PCR y la técnica de electroforesis tras observar en la foto documentador con luz ultravioleta los resultados de los aislados pertenecieron a la especie de *Escherichia coli* perteneciente al serotipo OH:157 en el cual se utilizó controles positivos de *Escherichia coli*.

## Figura 17.

Resultados de electroforesis después de realizar PCR con los aislados de *Escherichia coli*



Nota. Trabajo experimental (2025).

### 4.3.3. Detección de *Salmonella* spp. mediante reacción de cadena de polimerasa (PCR).

Del ADN extraído de los aislados de *Salmonella* spp. fue analizado y amplificado mediante el método descrito por Nuñez & Bayas (2019).

La amplificación del ADN se llevó a cabo utilizando los cebadores Invitrogen invaA3R (R,5'-TCCATCAAATTAGCGGAGGC-3') e inva3F (F,5'-AACGTGTTTCCGTCGTAAT-3'). Estos iniciadores están diseñados para reconocer secuencias genéticas específicas del género *Salmonella* spp., produciendo fragmentos de ADN de un tamaño aproximado de 244 pb.

De las 25 muestras recolectadas por duplicado. Tres de ellas entre ellas M2-3, M3-1 y M6-2, mismas que fueron extraídas el ADN y analizadas mediante PCR.

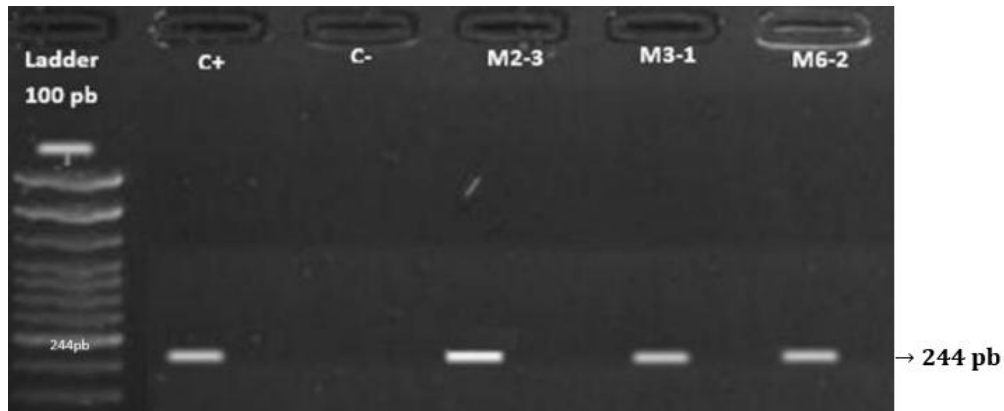
Las condiciones en el termociclador para realizar el proceso fueron las siguientes: Un ciclo a 95°C durante un tiempo de 5 minutos, 30 ciclos de desnaturalización a 95°C por un minuto, el anillamiento a 63°C por un tiempo de 45 segundos, la extensión a 72°C por un minuto y la extensión final a 72°C por 5 minutos y para que se mantenga se bajó a 4 °C durante un tiempo indefinido.

Mediante el análisis PCR y la técnica de electroforesis tras observar en la foto documentador con luz ultravioleta los resultados de los aislados pertenecieron a la

especie de *Salmonella spp* en el cual se utilizó controles positivos de *Salmonella spp*.

**Figura 18.**

*Resultados de electroforesis después de realizar PCR con los aislados de Salmonella spp*

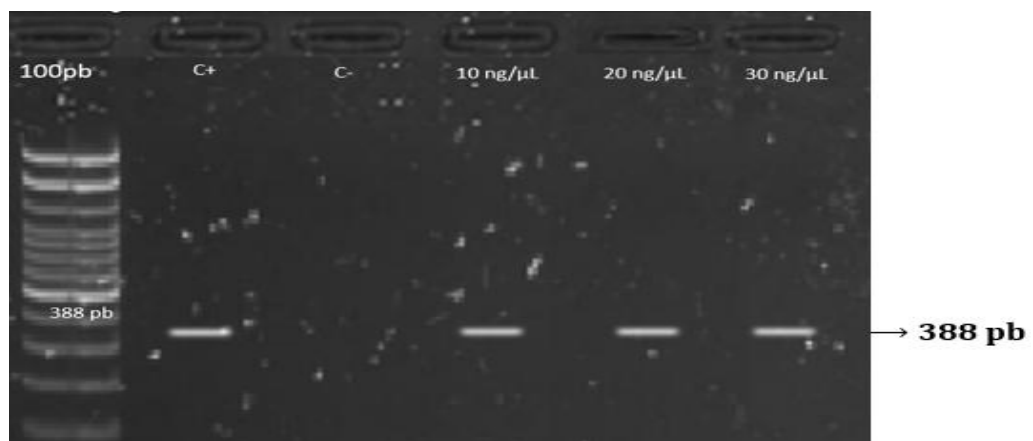


*Nota.* Trabajo experimental (2025).

**4.3.4. PCR en Sensibilidad de los patógenos en estudio.**

**Figura 19.**

*Sensibilidad de Listeria monocytogenes*



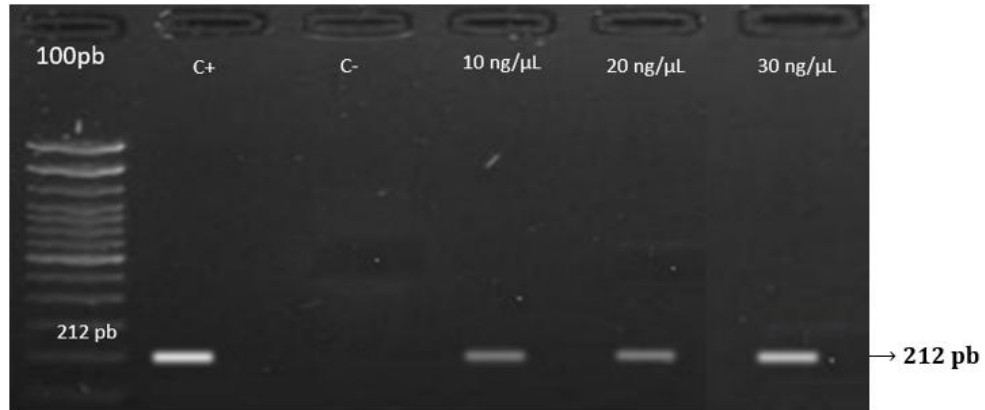
*Nota.* Trabajo experimental (2025).

La prueba de sensibilidad en *Listeria monocytogenes* muestra la amplificación del fragmento del interés, indicando que la PCR es suficientemente sensible para determinar desde 10 a 30 ng/μL, bajo estas condiciones experimentales, todas las bandas específicas son únicas del par primario y condiciones óptimas para PCR, lo

que nos indica que es suficientemente sensible para determinar desde muy bajo las condiciones experimentales.

**Figura 20.**

*Sensibilidad en Escherichia coli*

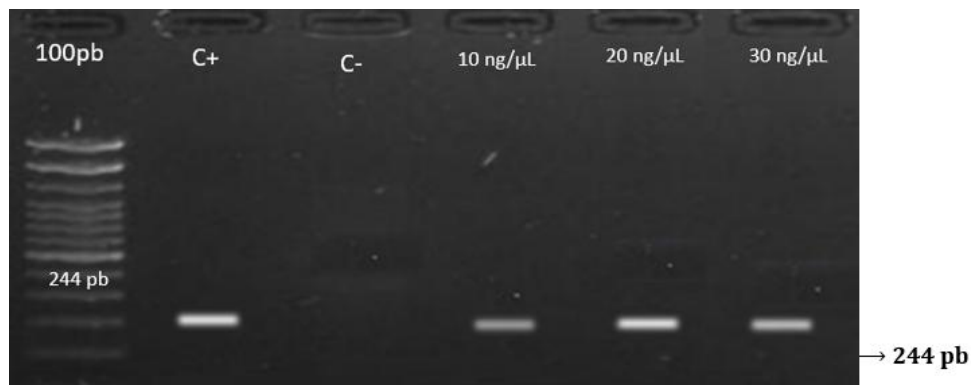


*Nota.* Trabajo experimental (2025).

En el caso de la PCR para la sensibilidad en *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de ADN muestras que todas las bandas son claras en la posición de 212 pb, dando a conocer que, si se tiene una amplificación adecuada desde 10, 20 y 30 ng/μL.

**Figura 21.**

*Sensibilidad en Salmonella spp*



*Nota.* Trabajo experimental (2025).

La evaluación de la sensibilidad en PCR para *Salmonella spp*, se puede observar que la amplificación es visible desde los 10 ng/μL, se puede observar un leve

aumento de intensidad a mayores concentraciones, indicando que las condiciones de sensibilidad son apropiadas.

#### 4.4. ANOVA

Con los datos obtenidos en la tabla 41, se muestra que, a raíz de estos análisis, podemos desarrollar nuestro ANOVA, para la lectura y aceptación de hipótesis.

##### 4.4.1. Varianza mediante ANOVA.

**Tabla 43.**

*Análisis de varianza mediante un ANOVA multifactorial*

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Observación
Efectos Principales						
<b>A: Tratamiento</b>	0,0246914	2	0,0123457	1,00	0,3729	
<b>B: Dilución</b>	0,0246914	2	0,0123457	1,00	0,3729	SN
<b>INTERACCIONES</b>						
<b>AB</b>	0,0493827	4	0,0123457	1,00	0,4133	
<b>RESIDUOS</b>	0,888889	72	0,0123457			
Total (Corregido)	0,987654	80				

*Nota.* Datos obtenidos a partir del análisis mediante el software Statgraphics Centurion 19 y se observa que no tiene significancia.

En la Tabla 42 se presenta los resultados obtenidos del análisis de varianza (ANOVA) multifactorial para determinar si existen efectos significativos individuales o en interacción entre los factores: tipo de bacteria y concentración de ADN. Donde se evalúa la varianza explicada por cada factor y su interacción, al comparar la variabilidad entre los tratamientos con la variabilidad interna.

La finalidad de este análisis es identificar con precisión si los cambios en las concentraciones y en los microorganismos afectan la sensibilidad de detección mediante la PCR, donde se obtuvieron valores p de 0,3729 para cada efecto, y con ello poder hacer la interpretación para aceptar o rechazar la hipótesis nula con el nivel de confianza estadístico.

**Tabla 44.***Análisis de medias mediante un ANOVA multifactorial*

<b>Nivel</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Error Est.</b>	<b>Límite Inferior</b>	<b>Límite Superior</b>
<b>MEDIA GLOBAL</b>	81	0,987654			
<b>Tratamiento</b>					
<b>1</b>	27	0,962963	0,0213833	0,920336	1,00559
<b>2</b>	27	1,0	0,0213833	0,957373	1,04263
<b>3</b>	27	1,0	0,0213833	0,957373	1,04263
<b>Dilución</b>					
<b>10</b>	27	0,962963	0,0213833	0,920336	1,00559
<b>20</b>	27	1,0	0,0213833	0,957373	1,04263
<b>30</b>	27	1,0	0,0213833	0,957373	1,04263
<b>Tratamiento por Dilución</b>					
<b><i>E. Coli;10</i></b>	9	0,888889	0,037037	0,815057	0,962721
<b><i>E. Coli;20</i></b>	9	1,0	0,037037	0,926168	1,07383
<b><i>E. Coli;30</i></b>	9	1,0	0,037037	0,926168	1,07383
<b><i>Listeria;10</i></b>	9	1,0	0,037037	0,926168	1,07383
<b><i>Listeria;20</i></b>	9	1,0	0,037037	0,926168	1,07383
<b><i>Listeria;30</i></b>	9	1,0	0,037037	0,926168	1,07383
<b><i>Salmonella;10</i></b>	9	1,0	0,037037	0,926168	1,07383
<b><i>Salmonella;20</i></b>	9	1,0	0,037037	0,926168	1,07383
<b><i>Salmonella;30</i></b>	9	1,0	0,037037	0,926168	1,07383

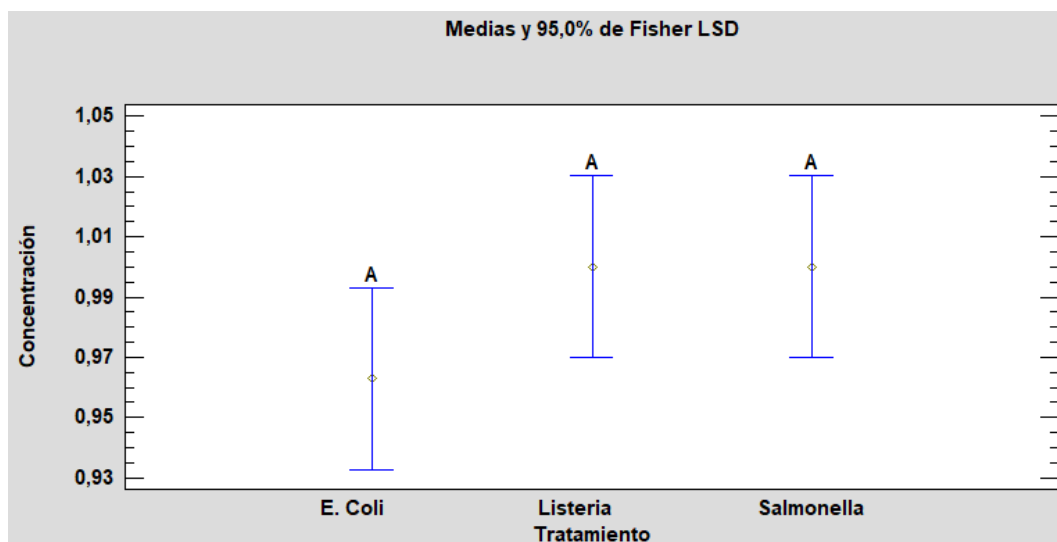
*Nota.* Datos obtenidos a partir del análisis mediante el software Statgraphics Centurion 19.

En la Tabla 43 se presentan los resultados del análisis de medias aritméticas que se obtuvieron del diseño experimental multifactorial, con la finalidad de comparar la respuesta de los factores evaluados para concentraciones de ADN (10, 20 y 30 ng/μL) y los microorganismos (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp*), sobre la sensibilidad de detección mediante la técnica de PCR. El análisis

muestra el comportamiento de las medias por tratamiento y permite establecer si existen diferencias estadísticas significativas entre los niveles evaluados.

**Figura 22.**

*Análisis de medias con 95% de Fisher LSD*



*Nota.* Datos obtenidos a partir del análisis mediante el software Statgraphics Centurion 19.

En la Figura 22 se muestra el análisis de comparación de medias de diferentes tratamientos evaluados, utilizando el método de Diferencia Mínima Significativa de Fisher con un intervalo de confianza del 95%, permitiendo visualizar que tratamientos presentan diferencias estadísticamente entre sí. Se observa que las medias que comparten la misma letra no son significativamente distintas, facilitando la interpretación de los grupos homogéneos.

#### **4.3. Comprobación de la hipótesis**

##### **Hipótesis nula ( $H_0$ )**

El análisis desarrollado por la PCR convencional en las diferentes bacterias *Escherichia coli* (*Bacterium coli commune*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*) y *Salmonella* (*Salmonella Typhimurium*), con las concentraciones de 10, 20 y 30 ng/ $\mu$ L, no presenta diferencia en la sensibilidad del método.

##### **Hipótesis Alternativa ( $H_1$ )**

El análisis desarrollado por la PCR convencional en las diferentes bacterias *Escherichia coli* (*Bacterium coli commune*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*) y

*Salmonella* (*Salmonella Typhimurium*), con las concentraciones de 10, 20 y 30 ng/ $\mu$ L, presenta diferencia en la sensibilidad del método.

### **Validación de la hipótesis**

Para la validación de este proyecto es fundamental la comprobación de la hipótesis, para lo cual se realizó un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial mediante la utilización del software Statgraphics Centurion 19, donde se consideró como factores el tratamiento (combinación de tres patógenos a diferentes concentraciones) y las diversas cantidades de diluciones de ADN (10, 20 y 30 ng/ $\mu$ L), cómo se observa en la Tabla 43.

### **Interpretación**

Si  $p$  es  $>$  a ( $\alpha$ ):

$$H_1 = \text{Si } (T_c^2) > (T_t^2)$$

Si  $p$  es  $<$  a ( $\alpha$ ):

$$H_0 = \text{Si } (T_c^2) \leq (T_t^2)$$

### **Decisión**

Nivel de confianza:  $\beta = 0,95$

Nivel de significancia:  $\alpha = 0,5$

Con base al análisis obtenido con el ANOVA multifactorial, se tiene que el valor  $p$  correspondiente al factor A: Tratamiento es 0,3729, por lo que:

$$p = 0,3729 > \alpha = 0,05$$

Mientras que el valor del factor B: Dilución es 0,3729, se da que:

$$p = 0,3729 > \alpha = 0,05$$

Ambos valores son mayores al nivel de significancia establecido, lo cual indica que el tipo de tratamiento como la concentración del ADN tienen un efecto estadísticamente significativo con respecto a la variable de respuesta (detección por PCR).

Con esto permite aceptar la Hipótesis Nula ( $H_0$ ), donde plantea que no existen diferencias significativas en la sensibilidad del método PCR a distintas concentraciones. Por lo que, se rechaza la Hipótesis Alternativa ( $H_1$ ), la cual sostiene que existe una diferencia en la sensibilidad de detección de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella Typhimurium*, con respecto de la concentración del ADN extraído.

## CAPITULO V

### 5.1. CONCLUSIONES

Se detectó una contaminación significativa por microorganismos patógenos en el 58% de las muestras analizadas. Es relevante señalar que, de acuerdo con la norma NTE INEN 1334-1, la presencia de cualquier nivel de contaminación en frutas y hortalizas las hace no aptas para el consumo público, incluso si no todas las muestras resultaron contaminadas.

La identificación y confirmación de los tres patógenos en estudio se logró a través de la caracterización inocua de microorganismos mediante cultivos y pruebas bioquímicas. El análisis se centró en los cultivos duplicados con mayor contaminación y resultados positivos consistentes en las pruebas bioquímicas. Los resultados mostraron una contaminación por *Listeria monocytogenes* en un tercio de las muestras (33%), específicamente en M1-3, M2-2, M2-3, M3-3, M4, M4-3, M5-1 y M6-2. Tanto *Escherichia coli* como *Salmonella* se detectaron en el 12.5% de las muestras (M2-1, M3 y M6-2 para *E. coli*; M2-3, M3-1 y M6-2 para *Salmonella*), lo que evidencia problemas de higiene, se toma también los porcentajes de los puntos para saber cuál es la hortofrutícola más contaminada de las 14 muestras positivas para nuestros patógenos en estudio tenemos Lechuga con un 46%, Brócoli 23%, Uva 16% y la Mora 15% dándonos a entender que en la hortaliza más contaminada es la Lechuga.

El método de PCR convencional demostró ser capaz de detectar concentraciones de ADN. El análisis presentado ayuda a conocer que desde el uso de 10  $\mu$ L de muestra, señala que el método de sensibilidad empieza desde la cantidad mínima para una detección eficaz, por cada par de bases utilizado específicamente del patógeno de estudio, donde se demuestra que las referencias de estudio que se ha basado esta investigación son aptas para determinar si el método de sensibilidad tiene relevancia con el estudio.

Los resultados de los métodos de cultivo y las pruebas bioquímicas, especialmente en las muestras con crecimiento de apariencia sospechosa, fueron validados mediante la técnica de PCR convencional. Con este resultado se llegó a confirmar

que la PCR convencional es una herramienta eficaz y sensible para la detección específica de los patógenos *Listeria monocytogenes*, *Escherichia O157:H7* y *Salmonella spp* que tenemos en estudio del desarrollo de la investigación.

## 5.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda desarrollar e implementar programas de capacitación integral y obligatorio sobre BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) y BPA (Buenas Prácticas Agrícolas), dirigido a los agricultores, consumidores, comerciantes, manipuladores de alimentos, y personal involucrado en la cadena de suministro de frutas y hortalizas en los mercados, a su vez a los trasportistas, que abastecen a los mercados. Enfocándose en la prevención de la contaminación cruzada, la higiene personal (lavado de manos adecuado), la limpieza y desinfección de superficies y equipos, y el manejo adecuado de los productos.

Los puestos de venta asociados a las muestras con mayor contaminación (como el Mercado de Simiatug mostrado como M6, presentó contaminación por los tres patógenos) deben ser objeto de una intervención prioritaria. Se recomienda realizar una evaluación detallada de sus prácticas y condiciones para identificar y corregir las deficiencias, donde implicaría la adopción de procedimientos más estrictos como limpieza y desinfección, la mejora de distribución de residuos, y la implementación de barreras para prevenir la contaminación cruzada.

Para los consumidores se recomienda, que sus frutas y hortalizas antes de ser consumidas deben de tener un proceso de desinfección, para ello el Ministerio de salud pública, conjunto con la agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria nos mencionan en la Pag 17 sobre la “Desinfección de frutas y hortalizas en hogares y pequeños establecimientos de alimentos”, que se debe de ocupar 1 ppm que es equivalente a 0.0001% y 2 ppm en situaciones de emergencia, y para establecimientos 50 ppm de cloro para desinfectar frutas y 100 ppm de cloro para hortalizas, de 2-5 minuto y enjuagar con abundante agua.

Implementación de la PCR como Herramienta de Monitoreo, dada la alta sensibilidad de la PCR convencional demostrada en este estudio se recomienda incorporar esta técnica como una herramienta complementaria y eficaz, para tomar en cuenta que se debe capacitar al personal de los laboratorios locales en la aplicación y la interpretación de los resultados de la PCR convencional para asegurar su uso adecuado y eficiente en el monitoreo de la calidad microbiológica de los alimentos.

Se recomienda desarrollar protocolos de análisis integrado que combine de manera eficiente los métodos de cultivo, las pruebas bioquímicas y la PCR para obtener resultados confiables sobre la presencia de patógenos en los alimentos además que es importante validar y estandarizar los métodos de PCR utilizados para asegurar su precisión, reproducibilidad y confiabilidad en el contexto específico del análisis de frutas y hortalizas en los mercados de Guaranda.

A raíz de los resultados obtenidos de los análisis realizados, se recomienda difundir al público en general para prevenir enfermedades causadas por estos contaminantes, por ende, alentar a la Universidad Estatal de Bolívar, a implementar proyectos de vinculación con la sociedad para hablar de estos temas muy relevantes, en nuestra sociedad.

Para próximas investigaciones es recomendable utilizar, únicamente primers específicos de las secuencias que se necesite estudiar, es decir que sean verificados, para cada género o cada especie.

## BIBLIOGRAFÍA

- AgenciaEFE. (11 de septiembre de 2023). *Científicos logran triplicar la capacidad de la bacteria "E. coli" para producir electricidad*. El Dinero: <https://eldinero.com.do/246139/cientificos-logran-triplicar-la-capacidad-de-la-bacteria-e-coli-para-producir-electricidad/>
- Agencias. (31 de octubre de 2024). *Las uvas, una fruta que te ayudará a controlar los niveles de azúcar en sangre*. La Vanguardia: <https://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20211221/5961/uvas-frutas-propiedades-beneficios.html>
- Álvarez Proaño, C. M. (2020). *Evaluación de diferentes tipos de embalaje e índices de madurez en babaco (Vasconcellea pentagona)*. Universidad Técnica de Ambato: <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/31398>
- American Academy of Pediatrics. (2025). *10 causas de intoxicación por alimentos y contaminación de la comida*. HealthyChildren: <https://www.healthychildren.org/Spanish/health-issues/conditions/abdominal/Paginas/Food-Poisoning-and-Food-Contamination.aspx#:~:text=Sucedo%20cuando%20g%C3%A9rmenes%20como%20por,se%20manipulan%20o%20cocinan%20adecuadamente.>
- Arias Tenesaca, A. A. (2020). *Determinación de la prevalencia de Salmonella spp*. Cuenca: Universidad Politécnica Salesiana. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18591>
- Bedri. (s.f.). *Las uvas*. La Página de Bedri: [https://www.bedri.es/Comer\\_y\\_beber/Vino/Uvas.htm](https://www.bedri.es/Comer_y_beber/Vino/Uvas.htm)
- Blue-Ray Biotech. (s.f.). *Métodos de cuantificación de ácidos nucleicos: una guía completa*. Blue-Ray Biotech: <https://www.blue-raybio.com/en/resource/detail/Nucleic-Acid-Quantification-Methods-A-Comprehensive-Guide>
- BrainKart. (s.f.). *Waterborne Diseases*. BrainKart: [https://www.brainkart.com/article/Waterborne-Diseases\\_40000/](https://www.brainkart.com/article/Waterborne-Diseases_40000/)
- Britania. (s.f.). *E.M.B. Agar (con Eosina y Azul de Metileno)*. Britania: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_6054e713a290e.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6054e713a290e.pdf)

- Burbano Ortiz, C. S. (2020). Incidencia de listeria monocytogenes y staphylococcus aureus en la planta de procesamiento de lácteos de Nono. *Universidad de las Américas*. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12136>
- Cardona, W. A., y Bolaños-Benavides, M. M. (2019). *Manual de nutrición del cultivo de mora de Castilla (Rubus glaucus Benth.) bajo un esquema de buenas prácticas en fertilización integrada*. AGROSAVIA. <https://doi.org/10.21930/agrosavia.manual-18>
- Carracedo Ghione, C., Ortiz, F., Ortiz, E., Trezza, C., Bongiorno, C., Collaro, A., . . . Di Cuatro, N. (19 de 10 de 2023). Abortos tempranos y su relación con la listeria monocytogenes y el citomegalovirus: reporte de un caso. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de Córdoba*, 80. Revista de la Facultad de Ciencia Médicas de Córdoba: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/med/article/view/42776>
- Carroll, K. C., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Detrick, B., . . . Sakanari, J. A. (27 de 05 de 2016). *Microbiología médica* (27 ed.). McGraw Hill Medical. [accessmedicina: https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1837](https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1837)
- Castillo Castillo, J., Gurrola Togasi, A. M., Herrera Islas, M. T., y Islas Fonseca, Y. (s.f.). *Introducción al Análisis Bacteriológico*. Escuela Nacional Preparatoria, UNAM. <http://www.ete.enp.unam.mx/IntroAnaBacter.pdf>
- Caycedo Lozano, L., Corrales Ramírez, L. C., y Trujillo Suárez, D. M. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36). <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- Cayuela, M. J. (12 de septiembre de 2022). *Tipos de uvas para elaborar el vino*. Casa gourmet: <https://www.casagourmet.es/blog/tipos-de-uvas-en-el-vino/>
- Chiroque Montalban, J. E., y Castaño Concepción, M. R. (28 de octubre de 2019). *Caracterización de la Lechuga (Lactuca sativa.L.) en la unidad Guayabal*. Engormix: [https://www.engormix.com/agricultura/miscellaneous/caracterizacion-lechuga-lactuca-sativa\\_a44527/](https://www.engormix.com/agricultura/miscellaneous/caracterizacion-lechuga-lactuca-sativa_a44527/)

- Cigna. (2024). *Infección por E. coli por los alimentos o el agua*. Cigna: <https://www.cigna.com/es-us/knowledge-center/hw/temas-de-salud/infeccion-por-e-coli-por-los-alimentos-o-el-agua-hw133795>
- Coformación. (2025). *Contaminación de los alimentos*. Coformación: <https://carnet-de-manipulador-de-alimentos.com/lecciones/contaminacion-alimentos/#:~:text=En%20la%20contaminaci%C3%B3n%20de%20tipo,gaviotas%2C%20palomas%2C%20gorriones>).
- Correa Peña, S. R. (2022). *Efecto de la aplicación del bioabono proveniente de desechos de cervecería en el rendimiento y crecimiento de los cultivos de lechuga (Lactuca sativa) y brócoli (Brassica oleracea Var. Itálica) en la Quinta Experimental Docente "La Argelia", provincia de*. Universidad Nacional de Loja. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/24818>
- Corresponsal, C. (2024). *La lista de retirada de queso muestra los estados sujetos a advertencia de listeria*. Es de Latino: <https://www.esdelatino.com/la-lista-de-retirada-de-queso-muestra-los-estados-sujetos-a-advertencia-de-listeria/>
- Cortés-Higareda, M., Bautista-Baños, S., Ventura-Aguilar, R. I., Landa-Salgado, P., y Hernández-López, M. (2021). Bacterias patógenas de los alimentos agrícolas frescos y mínimamente procesados. Estado actual en el control del género Salmonella. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 22(1), 12-28. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81367929003>
- CuerpoMente. (s.f.). *Brócoli*. CuerpoMente: <https://www.cuerpomente.com/guia-alimentos/brocoli>
- CuerpoMente. (s.f.). *Guía de alimentos: Lechuga*. CuerpoMente: <https://www.cuerpomente.com/guia-alimentos/lechuga>
- Elder. (2023). *Informe de micro #4 1 .docx - METABOLISMO BACTERIANO PRACTICA N°4*. University of Notre Dame: <https://www.coursehero.com/es/file/207792112/Informe-de-micro-4-1docx/>
- Elika. (2022). Tipos de contaminación alimentaria. *Elika*, 6, 1-5. <https://alimentos.elika.eus/wp-content/uploads/sites/2/2017/10/6.Tipos-de-contaminaci%C3%B3n-alimentaria.pdf>

- Enciclopedia del Ecuador. (s.f.). *Guaranda*. Enciclopedia del Ecuador:  
<https://www.encyclopediadelecuador.com/guaranda/>
- Espinoza, V. (2022). Herramientas de sistemas de información geográfica (SIG) para detectar construcción de edificaciones no regularizadas empleando información de base de datos catastral frente a imágenes actualizadas. *Universidad Estatal Península de Santa Elena*, 1-111.  
<https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/8928>
- Familydoctor.org. (2022). *Infección por E. coli*. Familydoctor.org:  
<https://es.familydoctor.org/condicion/infeccion-por-e-coli-es/>
- FAO. (s.f.). *Alimentación y agricultura sostenibles*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura:  
<https://www.fao.org/sustainability/es>
- Farbe Naturals. (s.f.). *Indicador de pH rojo de metilo, ¿Qué es y para qué funciona?* Farbe Naturals: <https://farbe.com.mx/indicador-de-ph-rojo-de-metilo-que-es-y-para-que-funciona/>
- Farooq, M., Uzair, M., Raza, A., Habib, M., Xu, Y., Yousuf, M., . . . Ramzan Khan, M. (2022). Descubriendo las lagunas de investigación para paliar los impactos negativos del cambio climático en la seguridad alimentaria: una revisión. *Front Plant Sci*, 13(927535).  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.927535>
- FDA. (2024). *Investigación sobre el brote de E. coli O157:H7: Cebollas*. FDA:  
<https://www.fda.gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts>
- FDA. (2025). *Listeria (listeriosis)*. FDA: <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/listeria-listeriosis>
- Frutas & Hortalizas. (s.f.). *Uva, Vitis vinifera / Vitaceae*. Frutas & Hortalizas:  
<https://www.frutas-hortalizas.com/Frutas/Origen-produccion-Uva.html#:~:text=La%20vid%20es%20originaria%20de,principal%20con tinente%20productor%20es%20Europa>
- Fundación Española de la Nutrición (FEN). (s.f.). *Uva*. Fundación Española de la Nutrición (FEN):  
<https://www.fen.org.es/MercadoAlimentosFEN/pdfs/uva.pdf>

- Fundación Española del Corazón. (2025). *Antioxidantes, ¿qué son y para qué sirven?* Fundación Española del Corazón: <https://fundaciondelcorazon.com/blog-impulso-vital/3250-antioxidantes-ique-son-y-para-que-sirven.html>
- García Hernández, A. S. (s.f.). *Apuntes Microbiología: Estructura celular, cinética de crecimiento y medios de cultivo*. uDocz: <https://www.udocz.com/apuntes/387687/apuntes-microbiologia-estructura-celular-cinetica-de-crecimiento-y-medios-de-cultivo>
- Garcinuño Martínez, R. M. (s.f.). *Contaminación de los alimentos durante los procesos de origen y almacenamiento*. Facultad de Ciencias. UNED.
- Genome. (s.f.). *Par de bases*. National Human Genome Research Institute: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Par-de-bases>
- Gil, M. (2022). *Test Voges-Proskauer: qué es, fundamento, preparación, usos*. Lifeder: <https://www.lifeder.com/test-voges-proskauer/>
- Gil, M. (2023). *Agar citrato de Simmons*. Lifeder: <https://www.lifeder.com/agar-citrato-de-simmons/>
- Gil, M. (2023). *Agar XLD*. Lifeder: <https://www.lifeder.com/agar-xld/>
- Gómez, A. (2025). Esta es la verdura rica en antioxidantes que protege la salud del hígado y tiene propiedades anticancerígenas. *Infobae*. <https://www.infobae.com/mexico/2025/04/10/esta-es-la-verdura-rica-en-antioxidantes-que-protege-la-salud-del-higado-y-tiene-propiedades-anticancerigenas/>
- Gracia, M. (2021). *Normativa: HORTALIZAS Y FRUTAS FRESCAS. MUESTREO*. Quizlet: <https://quizlet.com/ec/597658706/normativa-hortalizas-y-frutas-frescas-muestreo-flash-cards/>
- Guaranda alcaldía. (2024). *Datos Importantes*. Guaranda alcaldía: <https://www.guaranda.gob.ec/newsiteCMT/datos-importantes/>
- Haro Villacrés, A. P. (2019). *Caracterización molecular de la mora de zonas alto andinas del Ecuador*. UDLA - Universidad de las Américas. <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/11905/1/UDLA-EC-TIB-2019-40.pdf>

- Harvard Health Publishing. (22 de julio de 2024). *Remedios caseros y autocuidado para la ciática*. Harvard Health Publishing: <https://www.health.harvard.edu/pain/sciatica-home-remedies-and-self-care>
- Hernández Pérez, H. A., y Giles Gómez, M. (2021). *Métodos Microbiológicos para el Análisis de Alimentos* (1st ed.). Universidad Nacional Autónoma de México. <https://recursos.db.uanl.mx/img/books/libro65-metodosmicrobiologicos.pdf>
- IFSAC. (2022). *Foodborne illness source attribution estimates for 2020 for Salmonella, Escherichia coli O157, and Listeria monocytogenes using multi-year outbreak surveillance data, United States*. The Interagency Food Safety Analytics Collaboration. <https://www.cdc.gov/ifsac/media/pdfs/P19-2020-report-TriAgency-508.pdf>
- iNaturalist Ecuador. (s.f.). *Lechuga (Lactuca sativa)*. iNaturalist Ecuador: <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/122976-Lactuca-sativa>
- iNaturalist Ecuador. (s.f.). *Mora Silvestre (Rubus glaucus)*. iNaturalist Ecuador: <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/63146-Rubus-glaucus>
- iNaturalist Ecuador. (s.f.). *Vid (Vitis vinifera)*. iNaturalist Ecuador: <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/79519-Vitis-vinifera>
- iNaturalistEc. (s.f.). *Brócoli Brassica oleracea var. italica*. iNaturalistEc: <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/315267-Brassica-oleracea-italica>
- Infoagro México. (s.f.). *Aspectos del cultivo de brócoli*. Revista InfoAgro México: <https://mexico.infoagro.com/aspectos-del-cultivo-de-brocoli/>
- Intedya. (s.f.). *Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)*. Intedya: <https://www.intedya.com/internacional/103/consultoria-buenas-practicas-de-manufactura-bpm.html>
- Invesa. (s.f.). *Mora*. Invesa: <https://www.invesa.com/product/mora/>
- Jones, C., Romagnoli, P., y Trynka, G. (2023). Blood Sample collection and PBMC isolation JAGUAR.v4. *Protocols.io*. <https://doi.org/10.17504/protocols.io.e6nvwx4zlmk/v1>
- Karabeleko. (s.f.). *La lechuga, larga historia y muchas propiedades*. Karabeleko: <https://www.karabeleko.org/es/la-lechuga-larga-historia-y-muchas-propiedades>

- Kramer, L. D. (2023). Generalidades sobre los virus. *Manual MSD*.  
msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-  
infecciosas/virus/generalidades-sobre-los-virus
- Labster. (s.f.). *Método de siembra por estría*. Labster:  
<https://theory.labster.com/es/streaking/>
- Lirola, A. (17 de 01 de 2022). *Agar-agar: qué es, propiedades y cómo cocinarlo*.  
CONASI: <https://www.conasi.eu/blog/consejos-de-salud/agar-agar-propiedades-como-cocinarla/>
- Llanos García, F. A. (2024). Evaluación de la calidad del agua embotellada en la provincia bolívar a través de análisis biomoleculares (PCR) y cultivos microbiológicos. *Tesis de grado*. Guaranda, Ecuador: Universidad Estatal de Bolívar. <https://www.dspace.ueb.edu.ec/handle/123456789/6735>
- Maestrovirtuale. (s.f.). *Rojo de metilo: características, preparación y aplicaciones*.  
Maestrovirtuale: [https://maestrovirtuale.com/vermelho-metilico-caracteristicas-preparacao-e-aplicacoes/?expand\\_article=1](https://maestrovirtuale.com/vermelho-metilico-caracteristicas-preparacao-e-aplicacoes/?expand_article=1)
- Mayo Clinic. (2022). *Infección por salmonela*. Mayo Clinic:  
<https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/salmonella/symptoms-causes/syc-20355329>
- MedlinePlus. (6 de noviembre de 2024). *Organismo Salmonella typhi*.  
MedlinePlus:  
[https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_imagepages/1048.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/1048.htm)
- Mejía, R. (s.f.). *PCR: qué es y qué aplicaciones tiene*. Genotipia:  
<https://genotipia.com/pct/>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2020). *Productores de la provincia Bolívar reciben semillas de hortalizas*. Ministerio de Agricultura y Ganadería:  
<https://www.agricultura.gob.ec/productores-de-la-provincia-bolivar-reciben-semillas-de-hortalizas/>
- Ministerio de Salud Pública. (2019). *Regulación sanitaria alimentos y bebidas para consumo humano*. Ministerio de Salud Pública:  
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/P/P/SNA/normograma-sanitario-alimentos-bebidas.pdf>

- Ministerio de Salud Pública. (29 de enero de 2021). *Subsistema de vigilancia Sive-Alerta enfermedades transmitidas por agua y alimentos Ecuador, SE 03, 2021*. Ministerio de Salud Pública: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/01/Etas-SE-03.pdf>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2019). *Enfermedades transmitidas por alimentos ETA*. Ministerio de Salud y Protección Social: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/P/ET/abece-eta-final.pdf>
- Mr. Broko. (s.f.). *Taxonomía del brocoli: clasificación y morfología*. Mr. Broko: <https://mrbroko.com/taxonomia-del-brocoli/>
- Palacios, C. A. (2023). *Desarrollo de una plataforma para la producción de proteínas recombinantes de interés biotecnológico. Producción de ADN polimerasas termoestables para la amplificación de ácidos nucleicos*. Universidad Nacional de Moreno. repositorio.unm.edu.ar.: <http://repositorio.unm.edu.ar:8080/jspui/handle/123456789/703>
- Parentesys Press. (28 de noviembre de 2019). *Pruebas bioquímicas: Campylobacter spp. Bacilos curvos*: <https://press.parentesys.com/29674/pruebas-bioquimicas-campylobacter-spp-con231063>
- Peñalver, C., y Rodríguez, J. (2023). *Enfermedades Transmitidas por Alimentos ETA*. Universidad Central de Venezuela (UCV): <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/22115/1/Tema%204.%20Enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos.%20Parte%20I.pdf>
- Pérez Cedillo, G. E. (2019). *Sensibilidad de Escherichia coli obtenida de urocultivos en pacientes de 11 a 40 años de edad*. Universidad Técnica de Machala. [https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/14687/1/E-11264\\_PEREZ%20CEDILLO%20GLENDA%20ESTEFANIA.pdf](https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/14687/1/E-11264_PEREZ%20CEDILLO%20GLENDA%20ESTEFANIA.pdf)
- Pilar Suárez, L., Barranquero Gómez, M., y Salvador, Z. (22 de agosto de 2023). *Listeriosis en el embarazo: síntomas, prevención y tratamiento*. Reproducción Asistida ORG: <https://www.reproduccionasistida.org/listeriosis-y-embarazo-sintomas-y-prevencion/>

- Prefectura de Manabí. (septiembre de 2022). *Política pública para la implementación de la agricultura agroecológica, como instrumento que contribuya a la aplicación de normas amigables con el ambiente, el productor, con su entorno familiar, social y económico*. Prefectura de Manabí. Resolución GPM-DPON-2022-002-PPU: <https://www.manabi.gob.ec/wp-content/uploads/2023/03/POLITICA-PUBLICA-AGRICULTURA-AGROECOLOGICA.pdf>
- Redacción Petra. (29 de diciembre de 2024). *Enfermedades transmitidas por alimentos*. Revista Petra: <https://revistapetra.com/enfermedades-transmitidas-por-alimentos/>
- Rocha, J., y Abrantes, P. (2019). *Geographic Information Systems and Science*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75243>
- Roche, J., Campaña, X., Macas, A., Fajardo, A., Asuero, A., Barragán, J., . . . Aguilar, P. (septiembre de 2023). *Estudio de mercado de las Cadenas Agroalimentarias del Ecuador*. Intendencia Nacional de Abogacía de la Competencia: <https://www.sce.gob.ec/sitio/wp-content/uploads/2023/10/Estudio-de-mercado-de-las-cadenas-agroalimentarias-del-Ecuador-SCPM-IGT-INAC-003-2022.pdf>
- Sagñay Lema, S. I. (2023). *Análisis físico-químico y microbiológico del agua para el consumo humano de la comunidad Airón cantón Chambo, provincia de Chimborazo*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/21752/1/56T01300.pdf>
- Saucedo Carrillo, J. E. (2024). *Resistencia a antibióticos en bacterias enteropatógenas (Patotipos de E. Coli y Salmonella spp.) presentes en tomate (Solanum lycopersicum) en puntos de venta en el área metropolitana de Monterrey, Nueva León*. Universidad Autónoma de Nueva León. <http://eprints.uanl.mx/28847/1/1080313147.pdf>
- Schmidt-Durán, A., Rodríguez-Monroy, M., y Acosta-Montoya, O. (2024). La mora tropical de altura (*Rubus adenotrichos* Schltdl.) como potencial alimento funcional: una mirada a las investigaciones realizadas. *Tecnología en Marcha*, 37(1), 128-148. <https://doi.org/10.18845/tm.v37i1.6654>

- Serpyme. (2021). *Medidas para evitar sumarios sanitarios por quejas de tus clientes*. Serpyme: <https://www.consultoraserpyme.cl/category/sabias-que/page/2/>
- Tortora, G. J., Funke, B. R., y Case, C. L. (2019). *Microbiology: An Introduction* (13 ed.). Pearson.
- Tour Salinerito. (2024). *Cooperativa de Producción Agropecuaria*. Tour Salinerito: <https://toursalinerito.com/cooperativa-de-produccion-agropecuaria/>
- Trevijano. (s.f.). *Brócoli*. Trevijano: <https://www.trevijano.com/ingredientes/brocoli/>
- UAJMS. (s.f.). *La lechuga: características, cultivo y producción*. UAJMS: [https://biblioteca.uajms.edu.bo/biblioteca/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=39348](https://biblioteca.uajms.edu.bo/biblioteca/opac_css/doc_num.php?explnum_id=39348)
- ULPGC. (s.f.). *Pruebas bioquímicas de identificación de bacterias*. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria: [https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35729/pruebas\\_bioquimicas\\_de\\_identificacion\\_de\\_bacterias.pdf](https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35729/pruebas_bioquimicas_de_identificacion_de_bacterias.pdf)
- Vaca, G., Aldaz, E., Arcos, K., y Tubon, I. (31 de diciembre de 2022). Efectos del uso de la Uva (*Vitis vinífera*) en recubrimientos comestibles y odontología: una revisión bibliográfica. *Universidad Regional Autónoma De los Andes "UNIANDES"*, 7(2), 2-3. <https://revistas.itsup.edu.ec/index.php/Higia/article/view/726/1474>
- Valtek. (2024). *Agar Citrato de Simmons*. Valtek S.A.: <https://valtek.cl/wp-content/uploads/2024/11/Agar-Citrato-de-Simmons-Valtek-Version-4.pdf>
- Vázquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-Bernal, G., Goebel, W., . . . Kreft, J. (2021). *Listeria Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants*. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(3), 584-640. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.584-640.2001>
- Vida Orgánica. (28 de abril de 2024). *¡Descubre el Secreto Verde de la Salud y el Sabor! Todo lo que Necesitas Saber sobre el Aguacate: Origen, Variedades, Beneficios y más*. Vida Orgánica: <https://vidaorganica21.blogspot.com/>
- Winterhalter. (29 de septiembre de 2022). *Qué significa BPM en alimentos | Qué son las buenas prácticas de manufactura*. Winterhalter:

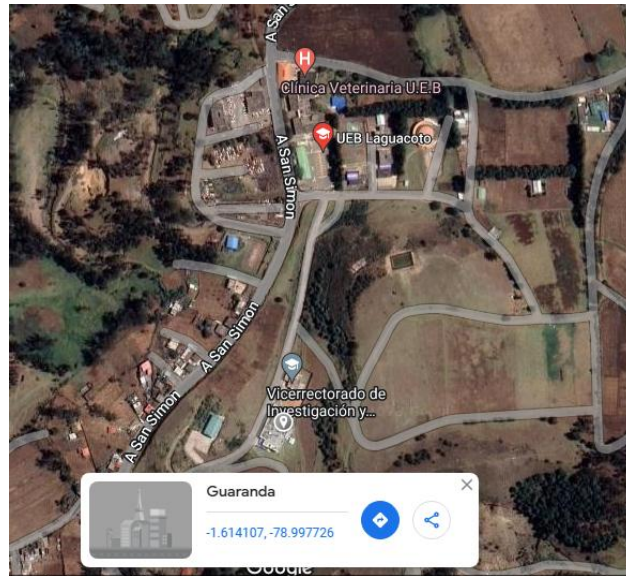
<https://www.winterhalter.com/cl-es/blog-winterhalter/que-son-las-buenas-practicas-de-manufactura-bpm-y-su-importancia-en-la-industria-de-alimentos/>

Wiśniewski, P., Chajęcka-Wierzchowska, W., y Zadernowska, A. (2023). Impacto del procesamiento a alta presión (HPP) en *Listeria monocytogenes* : descripción general de los desafíos y las respuestas. *Foods*, 13(1), 14. <https://doi.org/10.3390/foods13010014>

## ANEXOS

### Anexo 1.

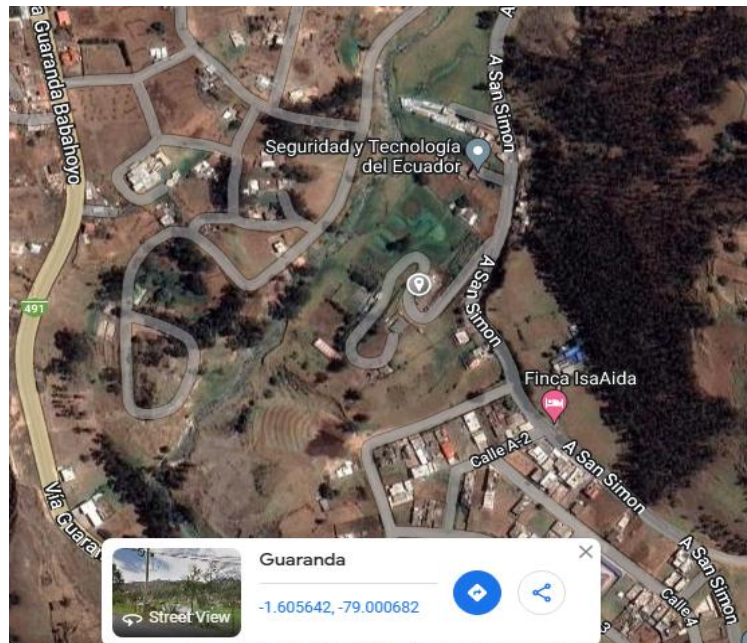
*Mapa y coordenadas del laboratorio general de la UEB*



*Nota.* Tomado de la ubicación mediante “Google Maps”

### Anexo 2.

*Mapas y coordenadas del laboratorio general de la UEB*



*Nota.* Tomado de la ubicación mediante “Google Maps”


**Anexo 3.**

*Formatos de fichas de recolección de datos*

<b>UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR</b>				
<b>FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS</b>				
<b>NATURALES Y DEL AMBIENTE</b>				
<b>CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL</b>				
<b>Ficha De Recolección De Datos</b>				
<b>Código</b>	<b>Mercado</b>	<b>Lugar de procedencia</b>	<b>Hora</b>	<b>Fecha</b>
$M_1$				
$M_2$				
$M_3$				
$M_4$				
$M_5$				
$M_6$				

## Anexo 4.

### Análisis microbiológicos

 <b>VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b>	<b>LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b>	Código	BBM20250
	<b>INFORME DE RESULTADOS DE TESIS</b>	Versión	1
		Año	2025
		Página	1 de 2

INFORME DE ENSAYOS N.º 111-2025

Descripción de la muestra	
<b>Solicitantes</b>	Caragulla Siza Karen Rashel Pacheco Muñoz Diana Elizabeth
<b>Muestras</b>	Muestras de Hortalizas
<b>Código asignado UEB</b>	INV 111
<b>Estado de la muestra</b>	Líquida
<b>Envase de recepción</b>	Envases
<b>Análisis requerido(s)</b>	"IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS DE LOS MERCADOS DEL CANTÓN GUARANDA"
<b>Fecha de recepción</b>	6 de enero 2025
<b>Fecha de análisis</b>	6 de enero 2025 al 18 de marzo del 2025
<b>Fecha de informe</b>	3 de abril 2025
<b>Técnico asignado</b>	SXSJ

#### Pruebas Microbiológicas y Bioquímicas para la identificación de *E. coli* en productos hortofrutícolas

Código	Bacteria	Pruebas Bioquímicas				Pruebas IMVIC							
		Catalasa		Oxidasa		Rojo de metilo		Indol		Voges Poskauer		Citrato	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M1	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
M1-1	<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
M1-2	<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M2	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
M2-1	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
M2-2	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M2-3	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M3-3	<i>E. coli</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M4-3	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M5-1	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
M5-2	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
M2-1	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M3	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M3-1	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M6-1	<i>E. coli</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M6-2	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+

Pruebas Microbiológicas y Bioquímicas para la identificación de *Salmonella spp.* en productos hortofrutícolas

IMVIC	Bacteria	Pruebas Bioquímicas						Pruebas IMVIC					
		Catalasa		Oxidasa		Rojo de metilo		Indol		Voges Proskauer		Citrato	
Código		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M2	<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M2-1	<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
M2-3	<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M3	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M3-1	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M3-2	<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
M3-3	<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
M4	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
M4-1	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
M4-2	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
M4-3	<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
M5	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M5-1	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M5-2	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
M5-3	<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
M6	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
M6-1	<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
M6-2	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
M6-3	<i>Salmonella spp.</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+

Pruebas Microbiológicas y Bioquímicas para la identificación de listeria spp. en productos hortofrutícolas

		Pruebas Bioquímicas						Pruebas IMVIC					
Código	Bacteria	Catalasa		Oxidasa		Rojo de metilo		Indol		Voges Poskauer		Citrato	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
M1	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M1-1	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
M1-2	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M1-3	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M2-2	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
M2-3	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
M3	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
M3-1	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
M3-2	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
M3-3	<i>Listeria. spp</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
M4-1	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
M4-2	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
M4-3	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M5	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
M5-1	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
M5-2	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M5-3	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
M6	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
M6-1	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
M6-2	<i>Listeria. spp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M6-3	<i>Listeria. spp</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+

 SANTIAGO SANTOS SANTIAGO JARA	 FAVIAN BAYAS DR. FAVIAN BAYAS
Elaborado Ing. Santiago Santos	Recibido Dr. Favian Bayas

**Anexo 5.**

*Norma NTE INEN 1750*



**INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN**

Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 1750:1994**

---

**FECHA DE CONFIRMACIÓN: 2012-09-28**

**HORTALIZAS Y FRUTAS FRESCAS. MUESTREO**

**Primera Edición**

FRESH FRUITS AND VEGETABLES. SAMPLING.

First Edition

---

DESCRIPTORES: Alimentos, hortalizas, frutas, muestreo.  
AL 02.01.202  
CDU: 694.1/635.11  
CIU: 1.110

**Anexo 6.**

*Norma NTE INEN 1334-1*



Quito – Ecuador

**NORMA  
TÉCNICA  
ECUATORIANA**

**NTE INEN 1334-1**

Cuarta revisión  
2014-02

**ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONSUMO  
HUMANO. PARTE 1. REQUISITOS**

**FOOD PRODUCTS LABELLING FOR HUMAN CONSUMPTION. PART. 1.  
REQUIREMENTS**

## **Anexo 7.**

*Ministerio de salud pública, conjunto con la agencia Nacional de Regulación,  
Control y Vigilancia Sanitaria*

**Agencia Nacional de Regulación,  
Control y Vigilancia Sanitaria**

## **INFORME TÉCNICO**

**Análisis del Impacto Regulatorio sobre el riesgo de  
productos higiénicos de uso industrial que no hayan  
demostrado su seguridad y eficacia para ser  
utilizados en establecimientos regulados por la  
ARCSA y para su uso como productos higiénicos  
desinfectantes de grado alimentario.**

ARCSA-INF-DTNS-2024-0XX

Fecha de Elaboración: 10/04/2024

**Dirección Técnica de Elaboración, Evaluación y Mejora  
Continua de Normativa, Protocolos y Procedimientos**

LA AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA SE RESERVA EL DERECHO DE ESTE DOCUMENTO, EL CUAL NO DEBE SER USADO PARA OTRO PROPÓSITO DISTINTO AL PREVISTO EN EL MISMO, DOCUMENTOS IMPRESOS O FOTOCOPIADOS SON COPIAS NO CONTROLADAS, VERIFICAR SIEMPRE CON LA ÚLTIMA VERSIÓN VIGENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL.



**Anexo 8.**

*Recolección de muestras*

**Mercado Bellavista**



**Mercado 10 de noviembre**



## Mercado Mayorista (Guanajujo)



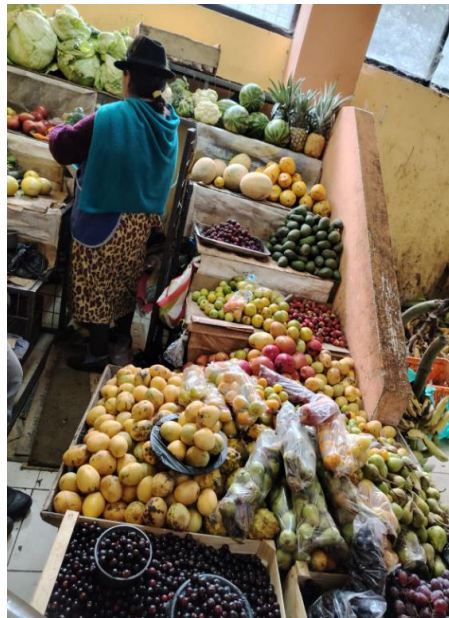
## Mercado Guanujo



## Mercado de Salinas.



## Mercado se Simiatug

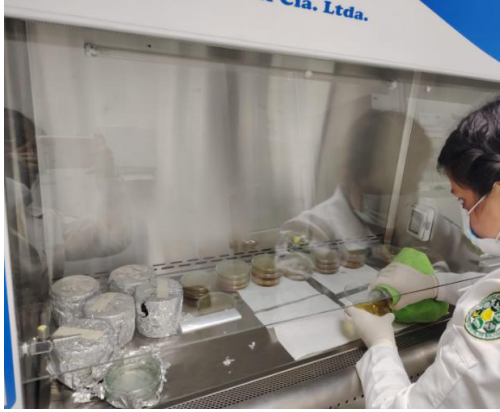


## Anexo 9.

### *Análisis microbiológicos*

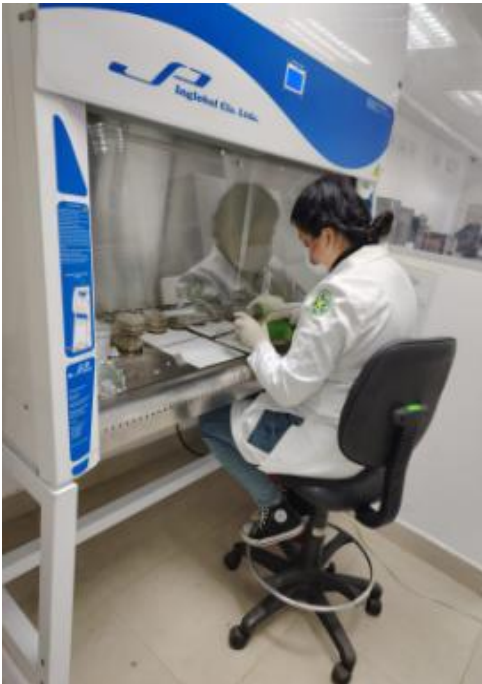
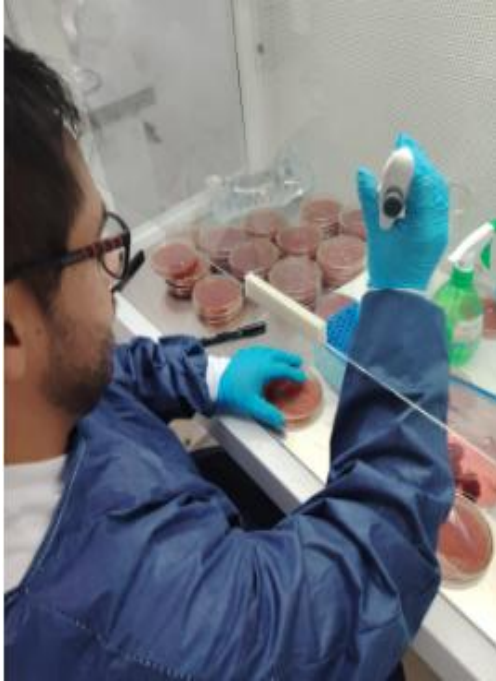
#### Preparación de medios de cultivo selectivos



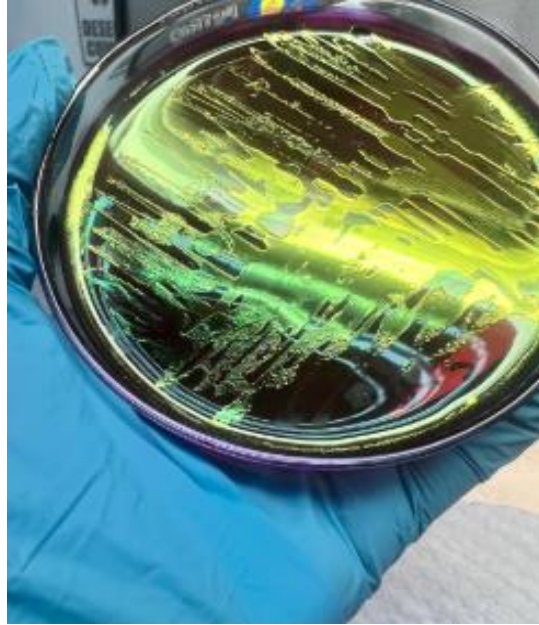


### Siembra Directa

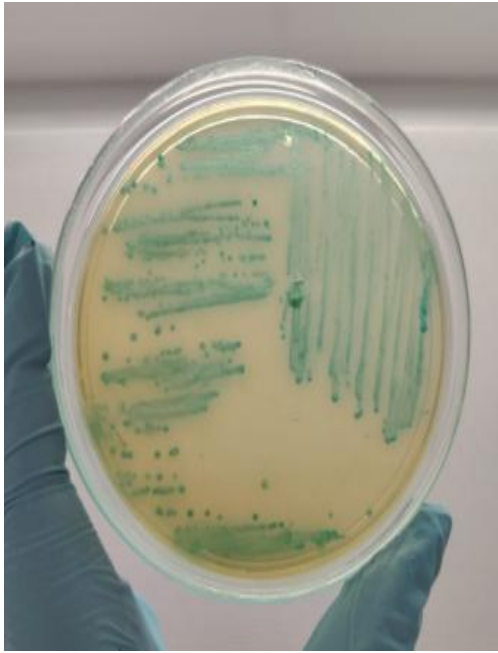




Lectura de muestras



*E.coli*



*Listeria*



*Salmonella*

## Pruebas bioquímicas

### CATALASA



### OXIDASA



## PRUEBAS IMVIC

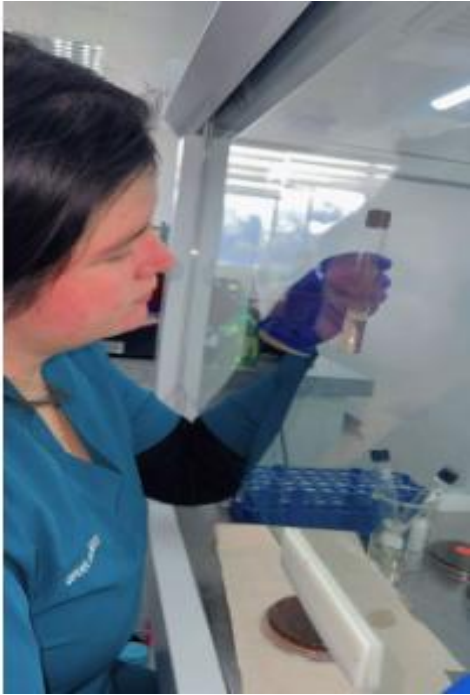
### ROJO DE METILO



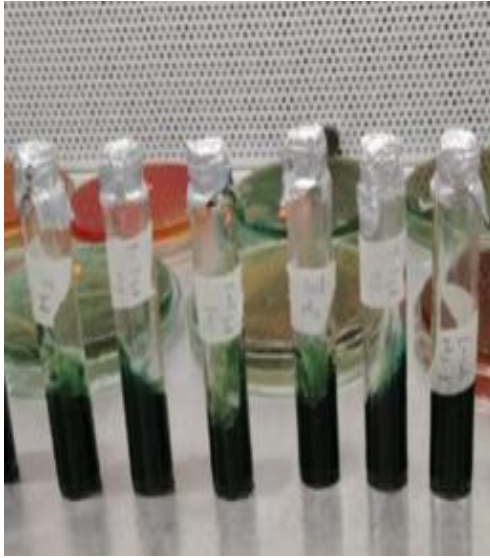
### INDOL



**VOGUES POSKAUER**



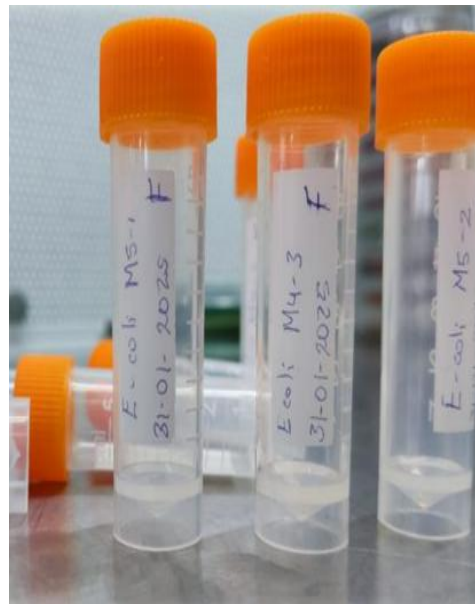
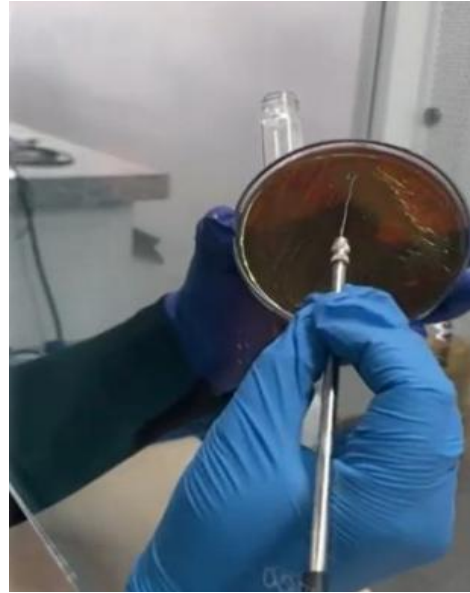
## CITRATO



## Anexo 10.

### *Purificación de cepas*

### Purificación de cepas



## Anexo 11.

### *Extracción de ADN mediante mini kit y electroforesis*

#### **Extracción de ADN mediante mini kit**





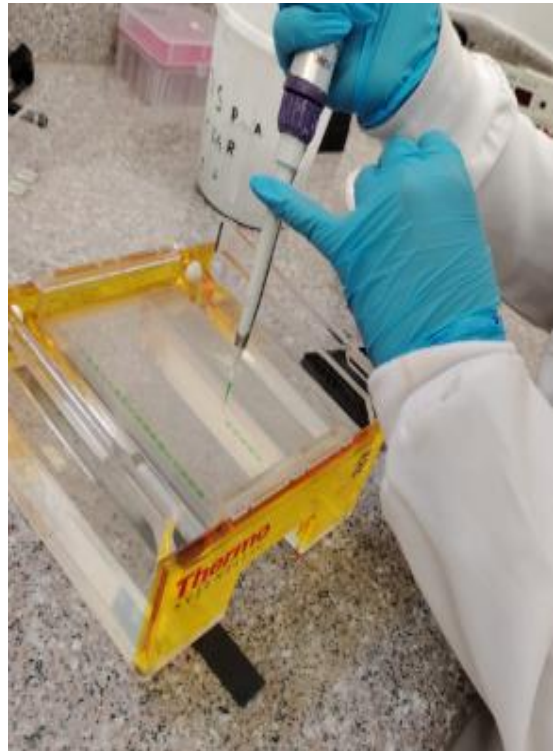
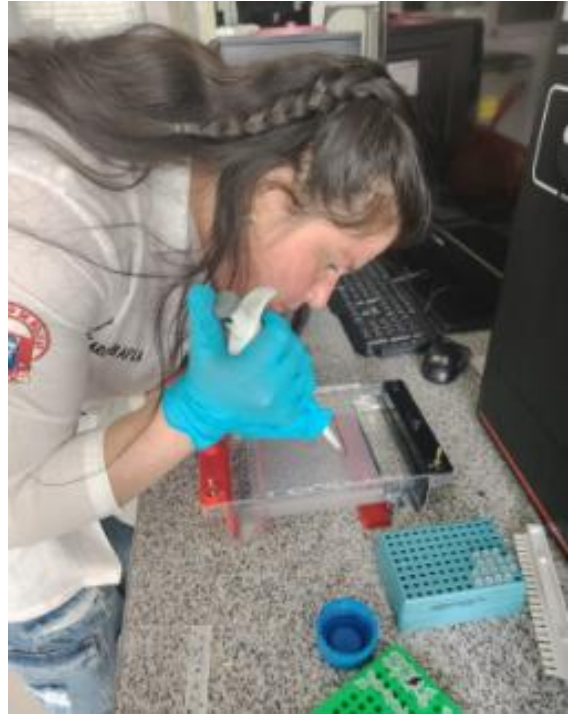
### Lectura de ADN en Nanodrop

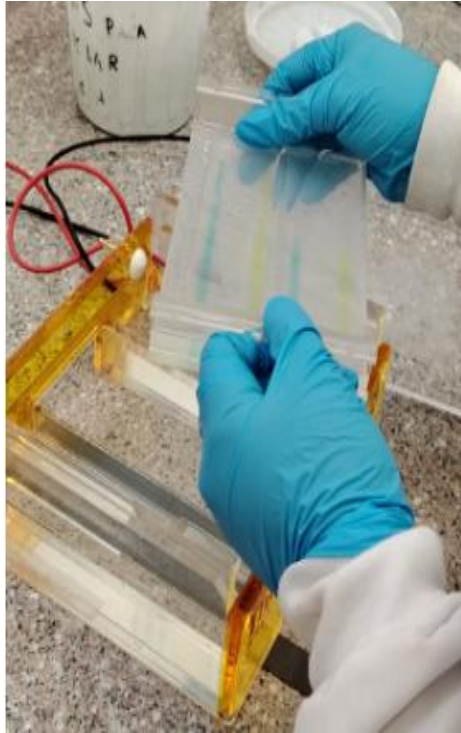




**Amplificación de ADN extraído**







## Termociclador



El termociclador que se utilizó en este estudio de marca Applied Biosystems, un producto de Thermo Fisher Scientific. Específicamente, se trata del modelo Veriti 96-Well Thermal Cycler, un termociclador utilizado para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

## **Anexo 12.**

### *Glosario de términos Técnico*

**Salud Pública.** - Es el campo donde se encarga de proteger y mejorar la salud de las personas y comunidades, a través de estudios, con el fin de promocionar un estilo de vida saludable.

**Electroforesis.** - Es la técnica que permite la separación de material genético o proteínas, según su campo eléctrico.

**Indol.** - Indica la presencia de triptofanasa en reacción con el triptófano.

**Rojo de Metil.** - Un indicador de pH, en el cual cambia la coloración para saber si la muestra produce ácido.

**Medios de cultivo.** - Se considera a un medio de cultivo aquel que sirva como comida para las bacterias a identificar.

**UFC.** - Unidades formadoras de colonia.

**Cepas microbiología.** - Se considera una cepa microbiológica aquello que proviene de una célula orgánica (Virus, hongos o bacteria).

**Estriado.** - Se encarga de distribuir una muestra de microorganismo, en un medio de cultivo sólido.

**M.O.-** Microorganismo.