

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA



UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Escuela de Formación Profesional de
Ciencias Biológicas

**“PRESENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa* Y *Staphylococcus aureus*; DURANTE
EL PROCESO DE EXPENDIO DEL FRUTO DE *Mauritia flexuosa* “AGUAJE”, EN LA
CIUDAD DE IQUITOS-2016”.**

TESIS

Requisito para optar el título profesional de

BIÓLOGO

Autoras:

Karol Almendra Ramírez Marayahua

Yeiko Eliza Rojas Campos

Iquitos-Perú

2017

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR



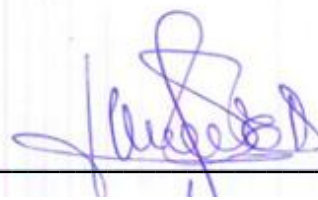
Blga. Teresa De Jesús Mori del Águila, Dra.

Presidente



Blga. María Elena Bendayán Acosta, MSc.

Miembro



Blga. Mildred Magdalena García Dávila, Dra.

Miembro

ASESOR



Mblgo. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala, Dr.

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS



UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dirección de Escuela de Formación
Profesional de Ciencias Biológicas

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 017


Iquitos, 24 de octubre de 2017


En la ciudad de Iquitos, a los veinticuatro días del mes de octubre del 2017 y, siendo las 11.30 a.m. horas; se reunió en el auditorio de las Direcciones de Escuelas de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNAP, el Jurado Calificador y Dictaminador de la tesis que suscribe, designado con Resolución Directoral N° 055-2016-DEFP-B-FCB-UNAP, presidido e integrado por; **Blga. TERESA DE JESÚS MORI DEL ÁGUILA, Dra., (Presidente); Blga. MARIA ELENA BENDAYAN ACOSTA, M.Sc., (Miembro) y Blga. MILDRED MAGDALENA GARCÍA DÁVILA, Dra. (Miembro)**, para escuchar, examinar y calificar la sustentación y defensa de la tesis titulada: “PRESENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*; “DURANTE EL PROCESO DE EXPENDIO DEL FRUTO DE *Mauritia flexuosa* “aguaje”, EN LA CIUDAD DE IQUITOS-2016”, por las Brs. **KAROL ALMENDRA RAMÍREZ MARAYAHUA** de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas, promoción 2015-II, graduada de bachiller con **R.R. N° 0566-2016-UNAP** de fecha 26 de mayo del 2016 de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas, y **YEIKO ELIZA ROJAS CAMPOS** de la promoción 2015-II, graduada de bachiller con **R.R. N° 0566-2016-UNAP** de fecha 26 de mayo del 2016; reconociendo como asesor al profesional: **Mbigo. ÁLVARO BENJAMIN TRESIERRA AYALA, Dr.;**

Durante todo el desarrollo de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Calificador y Dictaminador, considerando lo establecido en el nuevo Reglamento de Grados y Títulos, aprobado y puesto en vigencia mediante **RESOLUCIÓN DECANAL N° 206-2012-FCB-UNAP**; realizó la evaluación del desempeño del bachiller, considerando los criterios y el puntaje consignados en la tabla de valoración.

Culminado el acto, el Jurado Calificador y Dictaminador, con el puntaje alcanzado por las Bachilleres y, aplicando los términos establecidos en la tabla de calificación; dió como veredicto; APROBADO BUENA LA SUSTENTACIÓN DE TESIS, CALIFICADO COMO BUENA; quedando en consecuencia las candidatas **aptas** para ejercer la profesión de Biólogo, previo otorgamiento del título profesional por la autoridad universitaria competente y, su correspondiente inscripción al Colegio de Biólogos del Perú.

Finalmente, el Presidente del Jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 12.40 p.m. horas y en fe de lo cual, todos los integrantes suscriben la presente acta de sustentación por triplicado.


Blga. TERESA DE JESÚS MORI DEL ÁGUILA, Dra.
PRESIDENTE


Blga. MARIA-ELENA BENDAYAN ACOSTA, M.Sc.
MIEMBRO


Blga. MILDRED MAGDALENA GARCÍA DÁVILA, Dra.
MIEMBRO

Dirección: Plaza Serafín Filomeno S/N, Iquitos, Perú
Teléfono: 236121

www.unapiquitos.edu.pe
e – mail: fccbb@unapiquitos.edu.pe

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA

Emelda Tejada Del Castillo

Emelda Tejada Del Castillo
Jefa de Registro y Servicios Académicos



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA

Javier Souza Ferru

Blgo. Javier Souza Ferru, M.Sc.
SECRETARIO ACADEMICO



DEDICATORIA

Al Supremo Dios, por brindarme la oportunidad de estar en este mundo para servir a todos los organismos vivos. A mis padres: Wilma y Mario, como también a mis hermanas: Liz, Jessica y Ruth, por sus consejos, incentivándome a ser cada día mejor persona, por su apoyo incondicional en mi estudio y todo cuanto se refiera a mi desarrollo como persona.

A mis maestros que cada día me motivaron a seguir adelante en la investigación científica y se convirtieron en mis guías para formarme como la profesional que pretendo ser en un futuro cercano.

Y en especial a todas aquellas personas que aman y se apasionan por la investigación científica.

Karol Almendra Ramírez Marayahua

DEDICATORIA

A Dios, por permitir que siga aprendiendo cada día de su maravillosa creación, A mis queridos padres Delicia y José por ayudarme, brindarme todo su amor, confianza, enseñanzas y apoyo incondicional durante todo el recorrido de mi vida cotidiana y profesional. Además de su ayuda económica primordial para poder culminar con mis estudios satisfactoriamente. A mis hermanas Tathiana y Yanela, por llenarme de alegría todos los días.

A mis queridos profesores por el conocimiento compartido durante todo el recorrido profesional.

Yeiko Eliza Rojas Campos

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala, por su asesoramiento continuo y su gran apoyo incondicional durante el desarrollo de la investigación y durante la redacción de nuestro informe de tesis.
- Al Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA – UNAP) por la valiosa oportunidad de permitirnos realizar la presente tesis en dicha institución, además a todos los que forman parte y laboran en el área de Microbiología del CIRNA, que de una u otra forma contribuyeron con el desarrollo de la tesis.
- A la Blga. Carmen Reátegui Bardales, por su conocimiento brindado durante el desarrollo de la presente tesis en el Laboratorio de Parasitología, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP).
- A las Bachilleres Layné Guerra Vargas y Carolina Reátegui Reátegui, tesistas del CIRNA, por su ayuda en el laboratorio.

ÍNDICE

	Pág.
JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR _____	ii
ASESOR _____	iii
ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS _____	iv
DEDICATORIA _____	v
DEDICATORIA _____	vi
AGRADECIMIENTOS _____	vii
ÍNDICE _____	viii
LISTA DE CUADROS _____	xi
LISTA DE FIGURAS _____	xii
LISTA DE ANEXOS _____	xiii
RESUMEN _____	xiv
I. INTRODUCCIÓN _____	1
II. OBJETIVOS _____	4
2.1. General _____	4
2.2. Específicos _____	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA _____	5
3.1. Generalidades de <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje” _____	5
3.1.1. <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje”. _____	5
3.1.2. Distribución _____	5
3.1.3. Nombres vernáculos _____	5
3.1.4. Fruto _____	6
3.2. Generalidades de las muestras microbiológicas _____	7

3.2.1.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
3.2.1.1.	Efectos en la salud humana	7
3.2.1.2.	Fuentes y prevalencia	8
3.2.1.3.	Vías de exposición	8
3.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	9
3.2.2.1.	Epidemiología	10
3.2.2.2.	Patogenia	10
3.3.	Puestos ambulatorios	12
3.4.	Estudios anteriores	14
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	20
4.1.	Descripción del área de estudio	20
4.2.	Área de muestreo	20
4.2.1.	Muestra Biológica	20
4.3.	Materiales	21
4.3.1.	Materiales de Campo	21
4.3.2.	Materiales de Laboratorio	21
4.3.2.1.	Equipos	21
4.3.2.2.	Materiales de Vidrio	22
4.3.2.3.	Medios de Cultivo	22
4.3.2.4.	Reactivos	22
4.3.2.5.	Otros	22
4.4.	Métodos	23
4.4.1.	Obtención de la Muestra	23
4.4.1.1.	Etapa de campo	23
4.4.1.2.	Etapa de laboratorio	24
4.4.1.2.1.	Análisis Microbiológico	24
4.4.1.2.1.1.	Aislamiento e identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	24
4.4.1.2.1.2.	Aislamiento e identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29

4.5.	Tipo y diseño de investigación _____	32
4.6.	Población _____	33
4.7.	Muestra _____	33
4.8.	Procesamiento de la Información _____	33
V.	RESULTADOS _____	34
5.1.	Determinación de las etapas del proceso de expendio (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) del fruto de <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje”; donde están presentes <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> . _____	34
5.2.	Determinación de la etapa del proceso de expendio del fruto de <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje”, con mayor grado de contaminación con las bacterias en estudio _____	36
5.3.	Determinación del agente bacteriológico con mayor prevalencia. ____	38
5.4.	Distrito con negocios ambulatorios de <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje”; que posee mayor grado de contaminación. _____	42
VI.	DISCUSIÓN _____	44
VII.	CONCLUSIONES _____	50
VIII.	RECOMENDACIONES _____	51
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	52
X.	ANEXOS _____	58

LISTA DE CUADROS

Cuadro N° 01: Etapas del proceso de expendio (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) del fruto de <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje”; por distrito donde están presentes <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Cuadro N° 02: Etapa del proceso de expendio del fruto de <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje”, de la ciudad de Iquitos, que posee el mayor grado de contaminación con los microorganismos en estudio.....	36
Cuadro N° 03: Datos de las diferencias significativas de la etapa que posee el mayor grado de contaminación.....	37
Cuadro N° 04: Determinación del agente bacteriológico con mayor prevalencia en la ciudad de Iquitos.....	37
Cuadro N° 05: Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mediante las pruebas bioquímicas de la acción de los carbohidratos y la OXIDASA	39
Cuadro N° 06: Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> mediante las pruebas bioquímicas de la COAGULASA y CATALASA.....	40
Cuadro N° 07: Datos de las diferencias significativas de la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Cuadro N° 08: Datos de las diferencias significativas de la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Cuadro N°09: Distritos con negocios ambulatorios de <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje” de la ciudad de Iquitos que posee mayor grado de contaminación...	41
Cuadro N° 10: Datos de las diferencias significativas de los distritos de la ciudad de Iquitos.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 01: Etapa del proceso de expendio que posee el mayor grado de contaminación con agentes en el estudio.	35
Figura N° 02: Etapa del proceso de expendio del fruto de “aguaje”, de la ciudad de Iquitos, que posee el mayor grado de contaminación con los microorganismos en estudio.	37
Figura N° 03: Determinación del agente bacteriológico con mayor prevalencia en la ciudad de Iquitos.	38
Figura N° 04: Distrito con negocios ambulorios de <i>Mauritia flexuosa</i> “aguaje” con mayor grado de contaminación.	42

LISTA DE ANEXOS

ANEXO N° 01: Mapa de la ciudad de Iquitos con las cuatro zonas de muestreo: el distrito de Punchana, Iquitos, Belén y de San Juan Bautista.....	58
ANEXO N° 02: Mapa de ubicación del laboratorio donde se realizaron los ensayos microbiológicos (Ciudad de Iquitos).	59
ANEXO N° 03: Obtención de la muestra Post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta.	60
ANEXO N° 04: Flujograma de Trabajo de <i>Staphylococcus aureus</i>	61
ANEXO N° 05: Flujograma de Trabajo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
ANEXO N° 06: Materiales de Laboratorio	63
ANEXO N° 07: Muestras recolectadas.....	64
ANEXO N°08: Recolección de la 2da etapa en el área de muestreo.....	64
ANEXO N° 09: Observación de las muestras en el laboratorio.	65
ANEXO N° 10: Confirmación de <i>Staphylococcus aureus</i>	66
ANEXO N° 11: Confirmación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67
ANEXO N° 12: pH en las muestras de las 3 etapas.....	68

RESUMEN

La venta ambulatoria de frutas es un fenómeno que tiene gran importancia económica, sanitaria y sociocultural, principalmente en las zonas urbanas de la ciudad de Iquitos. Esta actividad constituye un medio importante para obtener ingresos, ya que estos alimentos son de bajo costo, siendo objeto de un amplio consumo y a menudo, representan una parte importante de la ingesta diaria. No obstante, las condiciones limitadas de higiene generan factores de riesgo potencial para la salud. La región Loreto presenta una gran diversidad de frutas comestibles, entre ellos, el más apreciado y consumido es el fruto *Mauritia flexuosa* “aguaje”, comercializándose en puestos de venta ambulatoria en todos los distritos de la ciudad de Iquitos y sin la más mínima higiene, expuesta al suelo, agua y otras partículas que se incorporan en el ambiente. Por lo tanto durante los meses de setiembre a diciembre del 2016 se llevó a cabo el análisis microbiológico para determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, durante las tres etapas del proceso de expendio del fruto de *Mauritia flexuosa* “aguaje” al consumidor (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta), mediante el método de aislamiento e identificación del crecimiento de colonias en agar manitol salado y agar cetrimide, respectivamente; se determinó que *Staphylococcus aureus* está presente en todas las etapas de expendio al consumidor siendo la especie más prevalente (100 %), a diferencia de *Pseudomonas aeruginosa* que presentó una prevalencia de 4 %, no se determinaron diferencias significativas entre los resultados respecto a la etapa y al distrito que posee el mayor grado de contaminación. Se infiere que la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, estarían causando problemas digestivos en el consumidor y problemas de piel en el vendedor respectivamente.

Palabras claves: Venta ambulatoria, aguaje, bacterias, prevalencia y grado de contaminación.

I. INTRODUCCIÓN

Las distintas etapas por las que un producto debe pasar desde la cosecha hasta su consumo tanto en fresco como procesado, proveen innumerables oportunidades para incrementar el nivel de contaminación bacteriana que naturalmente trae del campo; mucho más preocupante es la presencia de microorganismos perjudiciales para la salud, no visibles a simple vista ni detectables a través de cambios en la apariencia, sabor, color u otra característica externa. Se ha demostrado que determinados microorganismos patógenos tienen la capacidad de persistir sobre el producto lo suficiente como para constituir un peligro para el ser humano y de hecho se han reportado numerosos casos de enfermedades asociadas al consumo de frutas y hortalizas⁽¹⁾.

La exposición a alimentos lavados o preparados empleando agua contaminada y una higiene asociada al déficit del agua⁽²⁾, hace que las condiciones en las que se comercializa el fruto de *Mauritia flexuosa* "aguaje" en los diferentes puestos de venta de la ciudad de Iquitos no sean las ideales, evidenciado por la falta de suministro de agua, ya que solo utilizan un recipiente con agua para lavar los frutos maduros todo el día junto con la manipulación inadecuada. Esto representa un riesgo de contaminación al fruto, asociado con la alta temperatura durante todo el año, hace que los microorganismos como: *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* proliferen descontroladamente⁽³⁾.

P. aeruginosa se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, se puede aislar de muestras de suelo, aguas contaminadas, plantas y animales, teniendo

importancia para el hombre porque representa problemas en la salud pública debido a que es una bacteria oportunista⁽⁴⁾. Además, todos nosotros estamos en contacto diariamente con *P. aeruginosa*, ya que se encuentra en bajas cantidades en nuestros alimentos y en algunos artículos de limpieza. Por lo tanto todas las cepas son potencialmente patógenas para el hombre⁽⁴⁾. Siendo un riesgo latente para las vendedoras, si es que estas presentan heridas en las manos a causa de los cortes producido por el cuchillo, que se emplea para quitar la cascara de los aguajes.

S. aureus desde el punto de vista de sus factores de virulencia, tanto bioquímicos como estructurales, se le puede definir como un "patógeno perfecto", magníficamente equipado para colonizar, invadir, diseminarse y causar enfermedades graves, es una de las principales causas de infecciones tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, responsable de un amplio espectro de enfermedades con un rango que va desde infecciones menores de piel, gastroenteritis, hasta una infección fatal como la neumonía necrotizante⁽⁵⁾. Representando un riesgo latente para el vendedor y consumidor, si es que estas se encuentran en gran cantidad, ocasionando enfermedades gastrointestinales.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) constituyen uno de los problemas de salud más extensos en el mundo actual. La gastroenteritis y otras enfermedades diarreicas son causantes de pérdidas económicas y sociales en países de Latino América y el Caribe. Estos países han destinado poco esfuerzo para la creación e implementación de herramientas de prevención de brotes de

enfermedades causadas por alimentos⁽⁶⁾. Además, son muy pocos los sistemas de vigilancia epidemiológica de las ETA, que permitan conocer las causas de los brotes de éstas enfermedades⁽⁶⁾.

Además la ETA son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte en el mundo^(7,8). Por ello, el riesgo de contraer enfermedades transmitidas por el agua y los alimentos es considerado un problema de salud pública a nivel mundial, que afecta a personas de cualquier edad y condición social, siendo los grupos más vulnerables los lactantes, los niños de corta edad, las personas debilitadas o que viven en condiciones antihigiénicas y los ancianos^(7,8).

II. OBJETIVOS

2.1. General

Determinar la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, durante el proceso de expendio del fruto *Mauritia flexuosa* “aguaje”; en los distritos de la Ciudad de Iquitos.

2.2. Específicos

- Analizar las etapas del proceso de expendio (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) del fruto del “aguaje”; donde están presentes *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.
- Determinar la etapa del proceso de expendio (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) que posee el mayor grado de contaminación con agentes en estudio.
- Determinar el agente bacteriológico con mayor prevalencia.
- Seleccionar el distrito con negocios ambulatorios de “aguaje”; con mayor grado de contaminación.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Generalidades de *Mauritia flexuosa* “aguaje”

3.1.1. *Mauritia flexuosa* “aguaje”.

Mauritia flexuosa “aguaje”, es sin duda, el producto forestal diferente de la madera más importante en la vida económica de Iquitos. A pesar de tener una amplia distribución en todo el norte de Sudamérica y al este de los Andes, el comercio a gran escala solo se observa en Iquitos (Perú) y, en pequeña escala, en el Ecuador ⁽⁹⁾.

3.1.2. Distribución

Mauritia flexuosa “aguaje” es una palmera que se distribuye en América del sur, al Norte en la cuenca del Orinoco, las Guayanas, Venezuela, Trinidad y Tobago; al Sur en el Cerrado brasileño; por el Este en el litoral brasileño; y por el Oeste en los valles andinos en Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú ⁽¹⁰⁾. En la selva peruana, el aguaje es cultivado y explotado de poblaciones naturales pertenecientes a los departamentos de Loreto, Ucayali, Huánuco y San Martín; y además se menciona que el centro de diversidad del aguaje podría estar en la Amazonía peruana ⁽¹⁰⁾.

3.1.3. Nombres vernáculos

Mauritia flexuosa se llama “aguaje” en el Perú. La palabra español “aguaje” se reporta también a las crecientes grandes del mar, al agua que entra en los puertos o sale de ellos en las mareas, a las corrientes

impetuosas del mar, según el diccionario de la Real Academia de la Lengua Española. El diccionario de americanismos y el diccionario crítico etimológico español dan los siguientes derivados: "agualotal", "aguazal", "aguanoso". En Brasil, los nombres son indígenas: "burití" y "mirití" vienen del tupi "mburití" que significa alimento ("mbur") del árbol alto ("itf"). "Aete" e "itepalm" de la Guyana; "maurisie" o "morisí" del Suriname y "morete" del Ecuador; así como el nombre venezolano, "morighe", se dan una alteración de la palabra tupi. El nombre común utilizado en Colombia es "canangucha" que tiene su origen en el quechua kana=vegetal, anku=fibroso, aycha=carne. En Ecuador y en el norte del Perú también se utilizan "acho, achu o achua", nombre que, según, fue dado por los españoles⁽¹⁰⁾.

3.1.4. Fruto

La pulpa de aguaje es muy nutritiva, ya que tiene proteínas, grasas, carbohidratos y provitamina A en forma de α -caroteno, la misma que es consumida de manera directa o procesada como helados, mermeladas o refrescos; también es ampliamente utilizada en la extracción de aceite, a partir de sus semillas se fabrican artesanías, la que también puede ser molida para ser utilizada como alimento de ganado⁽¹⁰⁾. Adicionalmente, se le atribuye diversas bondades al α -caroteno; como por ejemplo, podría reducir el riesgo de enfermedad de Alzheimer, reducción de la mortalidad por cáncer de estómago, una baja concentración es asociada con un riesgo de infarto, y la administración oral de este carotenoide

proporciona un efecto fotoprotector, y se afirma que su uso concomitante con un bloqueador solar tópico proporciona mayor protección ⁽¹¹⁾.

3.2. Generalidades de las muestras microbiológicas

3.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa pertenece a la familia Pseudomonadaceae y es un bacilo gramnegativo aerobio con un flagelo polar. Cuando se cultiva en medios adecuados produce piocianina, un pigmento azulado no fluorescente. Muchas cepas producen también el pigmento verde fluorescente pioverdina. *P. aeruginosa*, al igual que otras *P.* fluorescentes, produce catalasa y oxidasa, así como amoníaco a partir de la arginina, y puede utilizar citrato como única fuente de carbono⁽¹²⁾.

P. aeruginosa es un habitante común de agua, suelos y plantas. En los hospitales puede ser encontrada en respiradores, humidificadores, vertederos, duchas, piscinas de hidroterapia y ocasionalmente en las manos de los trabajadores de la salud ^(12,13).

3.2.1.1. Efectos en la salud humana

P. aeruginosa puede causar diversos tipos de infecciones, pero rara vez causa enfermedades graves en personas sanas sin algún factor predisponente. Coloniza predominantemente partes dañadas del organismo, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las

lesiones físicas en los ojos. Desde estos lugares puede invadir el organismo y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis. Las personas con fibrosis quística o inmunodeprimidas son propensas a la colonización por *P. aeruginosa*, que puede conducir a infecciones pulmonares progresivas graves. Las foliculitis y las otitis relacionadas con el agua se asocian con ambientes húmedos y cálidos como las piscinas y bañeras de hidromasaje. Muchas cepas son resistentes a diversos antibióticos, lo que puede aumentar su relevancia en el ámbito hospitalario ⁽¹⁴⁾.

3.2.1.2. Fuentes y prevalencia

P. aeruginosa es un microorganismo común en el medio ambiente y puede encontrarse en las heces, el suelo, el agua y las aguas residuales. Puede proliferar en ambientes acuáticos, así como en la superficie de materias orgánicas propicias en contacto con el agua. *P. aeruginosa* es una fuente conocida de infecciones intrahospitalarias y puede producir complicaciones graves. Se han aislado en gran variedad de ambientes húmedos, como fregaderos, baños de agua, sistemas de distribución de agua caliente, duchas y bañeras de hidromasaje ⁽¹⁴⁾.

3.2.1.3. Vías de exposición

La vía de infección principal es la exposición de tejidos vulnerables, en particular herida y mucosa, a agua contaminada, así como la

contaminación de instrumentos quirúrgicos. La limpieza de lentes de contacto con agua contaminada puede causar un tipo de queratitis (14).

3.2.2. *Staphylococcus aureus*

S. aureus pertenece al género *Staphylococcus* de la familia *Micrococcaceae*. Las especies del género *Staphylococcus* son cocos gram positivos de 0,5 a 1 µm de diámetro, inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos, no forman esporas y generalmente no están capsulados. El nombre del género fue designado por Ogoston⁽¹⁵⁾ y deriva del griego *staphylé* (en racimo de uvas), debido a la morfología que adoptan las células de *Staphylococcus* en las tinciones que se realizan a partir de cultivos en medio de agar. En tinciones de muestra directa, los microorganismos también aparecen como células únicas o en parejas o formando tétradas⁽¹⁵⁾.

S. aureus es la especie más patógena y virulenta para el hombre, pero también puede encontrarse colonizando la piel y las mucosas. Las colonias de *S. aureus* presentan un color amarillo dorado característico debido a la producción de carotenoides durante su crecimiento, de ahí su nombre que deriva de la palabra latina con la que se designa el oro. *S. aureus* crece bien a altas concentraciones de NaCl, es coagulasa, DNAsa y catalasa positivo y fermenta el manitol,

lo que permite diferenciarlo del resto de especies del género *Staphylococcus* ⁽¹⁶⁾.

3.2.2.1. Epidemiología

S. aureus es un patógeno oportunista que forma parte de la microflora humana, pudiendo estar colonizada por esta bacteria entre el 30 % y el 50 % de la población, siendo la localización más frecuente la colonización nasal. El principal reservorio de *S. aureus* lo constituye el hombre enfermo o portador. La frecuencia de colonización es en el medio hospitalario, especialmente en pacientes sometidos a hemodiálisis, diabéticos tipo I, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados por el VIH y en adictos a drogas por vía parenteral (ADVP) ⁽¹⁶⁾.

El portador nasofaríngeo asintomático es también el origen más frecuente de *S. aureus* resistente a meticiclina (SARM). Actualmente este microorganismo es reconocido como uno de los patógenos más importantes causantes de infecciones nosocomiales en todo el mundo. Cuando una persona entra en contacto con una cepa SARM puede resultar colonizada, desarrollar infección y/o convertirse en portador ⁽¹⁷⁾.

3.2.2.2. Patogenia

La patogenia de las infecciones por *S. aureus* se produce al combinarse los factores de virulencia bacteriana con una disminución

de las defensas del huésped. En su acción patógena intervienen, los componentes de la pared celular y la producción de enzimas y toxinas favorecedoras de la invasión tisular, además de su capacidad para diseminarse y multiplicarse en los tejidos del huésped ⁽¹⁷⁾.

A) Componentes de la pared celular

- **Peptidoglicano:** es el componente básico de la pared de *S. aureus*. Le confiere resistencia y tolerancia osmótica. Tiene importantes propiedades biológicas: presenta actividad endotóxica, desencadena la producción de interleucina-1 por los monocitos, estimula la quimiotaxis y agregación de los leucocitos, activa el complemento e induce la producción de anticuerpos opsonizantes ⁽¹⁸⁾.
- **Ácidos teicoicos polisacáridos A:** son polímeros de fosfato específicos de especie, pueden estar unidos covalentemente al peptidoglicano de la pared o ligados a los lípidos de la membrana celular. Su función es mediar en la unión de los estafilococos a las superficies mucosas mediante uniones específicas a la fibronectina. Tienen la capacidad de inducir la producción de anticuerpos ⁽¹⁸⁾.
- **Diferentes proteínas** se pueden unir a la capa externa del peptidoglicano mediante enlaces covalentes:

- i) Proteínas que facilitan la adhesividad del microorganismo (proteína fijadora de colágeno, proteína fijadora de fibronectina).
- ii) Factor de agregación (dumping factor) ó coagulasa ligada a la célula, se une al fibrinógeno facilitando así la agregación bacteriana.
- iii) Proteína A, específica de *S. aureus*, activa el complemento y bloquea la fracción Fe de las Ig G, por lo que previene la eliminación del microorganismo mediada por anticuerpos inhibiendo la opsonización y la fagocitosis ⁽¹⁸⁾.
- iv) Cápsula externa o glucocálix: es de naturaleza polisacárida, facilita la adherencia de las bacterias y tiene capacidad antifagocitaria. Se han descrito 11 serotipos capsulares, de los cuales los serotipos 5 y 8 son los que se asocian con la mayor parte de las infecciones ⁽¹⁸⁾.

3.3. Puestos ambulatorios

Los puestos ambulatorios de alimentos son comunes en muchos lugares del mundo. Están presentes en casi todas las grandes ciudades del sur del mundo y desempeñan un papel integral en la vida cotidiana de millones de personas. Los alimentos de venta callejera ofrecen muchas ventajas: generalmente son

baratos, son fáciles de conseguir en horas y lugares no habituales, y con frecuencia son el único negocio que provee de comida a la población activa urbana pobre. Sin embargo y, a pesar de su carácter indudablemente positivo, el papel dominante que desempeñan los alimentos de venta informal en la nutrición de muchos habitantes de las ciudades plantea numerosos desafíos. Las condiciones insalubres, la deficiente calidad de los alimentos y la contaminación. Además, el carácter informal del sector y la consiguiente falta de reconocimiento legal constituyen un riesgo para aquéllos que están involucrados en la venta y preparación de estos alimentos ^(19,20).

Por muy beneficioso que pueda ser el papel desempeñado por los vendedores informales, conllevan a una serie de riesgos y lo hacen susceptibles a dinámicas que pueden resultar potencialmente peligrosas tanto para la sociedad en general como para los propios vendedores ^(19,20).

Los vendedores informales de alimentos suelen trabajar sin licencia, con un equipo improvisado y ocupando a menudo el espacio público. Aparte de interferir con otras actividades urbanas y ser una fuente importante de contaminación, esta característica también les hace objeto del hostigamiento y la extorsión de autoridades gubernamentales como la policía y del crimen organizado, ya que a menudo carecen de cualquier tipo de reconocimiento legal y, por tanto, de protección ^(19,20).

Los vendedores informales de alimentos forman parte de la economía sumergida y, consecuentemente, también eluden la regulación y el control.

Esto da lugar a una serie de riesgos para la salud. No se controla la procedencia, preparación y almacenamiento de los alimentos que se venden y las condiciones insalubres en las que trabajan muchos vendedores agravan el problema. La venta de alimentos nutricionalmente deficientes constituye otro problema adicional ya que la falta de concienciación de productores y consumidores evita que los vendedores ofrezcan platos sanos y nutritivos (19,20).

3.4. Estudios anteriores

Cuando ocurre la contaminación, muchos microorganismos patógenos poseen la capacidad de sobrevivir por largos períodos de tiempo en frutas y hortalizas frescas. Algunos microorganismos son también capaces de sobrevivir a procesos de desinfección, e incluso de multiplicarse en el producto durante almacenamiento. Entre las bacterias patógenas que han sido asociadas con el consumo de hortalizas frescas se pueden mencionar a *Escherichia coli* enterotoxigénica, *E. coli* enterohemorrágica, especies de *Shigella*, *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Clostridium* y *Staphylococcus* entre otras⁽¹⁾.

Durante los últimos años se ha elevado el consumo de frutas frescas, el cual ha traído como consecuencia casos de enfermedades causadas por microorganismos presentes en las frutas, por lo cual se ha incrementado los problemas de salud de los consumidores. La reducción y/o pérdida de la calidad sanitaria, y la contaminación por microorganismos patógenos en frutas puede ocurrir durante la pre-cosecha, el corte y recolección, el

almacenamiento y el transporte, en los puntos de venta, y en el mismo empleo final⁽²¹⁾.

El Centro para la Prevención y Control de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) considera que las bacterias podrían ser la principal causa de epidemias confirmadas con pruebas de laboratorio y que las principales razones son: Temperaturas no apropiadas de almacenamiento, higiene deficiente del personal, temperaturas no apropiadas de procesamiento, alimentos en contacto con superficies no limpias y equipo contaminado. Sostuvieron que, además, para el caso de los frutos, pueden contaminarse de manera "natural" con polvo y tierra durante el proceso de cosecha, manejo y almacenamiento y con microorganismos patógenos, por operaciones de lavado, riego o tratamientos superficiales con agua. Durante el transporte y distribución pueden también contaminarse con materiales extraños (metales, cristales, piedras)⁽²¹⁾.

A pesar que el consumo del fruto de "aguaje" es elevado en regiones como la de Loreto, se dispone de escasa información relacionada con la contaminación microbiana de este fruto, puesto que, gran parte de los estudios están orientados hacia otros frutos tropicales.

La presencia de *P. aeruginosa* puede ser significativa en algunos entornos como en centros sanitarios, no hay evidencia de que los usos normales del agua de consumo sean una fuente de infección para la población general. No obstante, puede asociarse la presencia concentraciones altas de *P. aeruginosa*

en el agua potable, especialmente en el agua envasada, con quejas sobre su sabor, olor y turbidez. *P. aeruginosa* es sensible a la desinfección, por lo que una desinfección adecuada puede minimizar su entrada en los sistemas de distribución ⁽¹⁴⁾.

P. aeruginosa es un bacilo gramnegativo no fermentador, ampliamente distribuido en la naturaleza, que constituye un habitante habitual del suelo, las plantas y el agua ⁽²²⁾.

Durante la evaluación de la presencia de bacterias en alimentos y en el ambiente, se determinó que las frutas son el alimento con los mayores porcentajes de contaminación (94%). Los resultados de las muestras de frutas fueron los siguientes: cuatro muestras (44%) fueron positivas por *S. aureus* y 11 muestras (69%) por *Pseudomonas*. Además, se seleccionaron al azar 76 aislamientos provenientes de las diferentes muestras de ensaladas, frutas y refrescos para identificarlas bioquímicamente. Los géneros que se encontraron con más frecuencia fueron *Pseudomonas* (25%) *Enterobacter* (20%) y *Staphylococcus* (21%) ⁽²³⁾.

En la pulpa refinada del aguaje, el procesamiento utiliza frutos fisiológicamente maduros, seleccionados, se lavan con agua potable y lejía comercial como desinfectante, para eliminar la carga microbiana. Se enjuagan los frutos y se colocan en recipientes (tinajas de acero inoxidable) con agua potable y se deja en reposo por 10 a 12 horas ⁽²⁴⁾.

Pseudomonas es un género verdaderamente ubicuo, lo cual parece ser consecuencia de los simples requerimientos nutritivos que posee, del rango de compuestos de carbón que utiliza y de su gran adaptabilidad genética y metabólica. Las especies de *Pseudomonas* pueden vivir en numerosos hábitats, que van desde diversos tipos de ambientes acuáticos y terrestres, hasta tejidos diversos de animales y plantas, incluyendo frutas y verduras; por lo tanto, el hábitat primario es ambiental. Esencialmente, cualquier hábitat con un rango de temperatura de 4-42°C, un pH comprendido entre 4 y 8 y que contenga compuestos orgánicos simples o complejos, es un hábitat potencial para *Pseudomonas*, así pues, las especies de *Pseudomonas* se encuentran en suelos y aguas que presentan unas condiciones aeróbicas, mesófilas y pH neutro. Debido a que la mayoría de las especies de este género son aeróbicas estrictas, el oxígeno es aparentemente casi el único requerimiento obligado para la colonización de un ambiente por *Pseudomonas* ⁽²⁵⁾.

Esta autora concluyó que las características morfológicas del pericarpio de *Mauritia flexuosa* “aguaje”, hace que sea un buen medio para la acumulación de suciedad y por consiguiente un buen reservorio para el transporte de contaminantes. También menciona que son pocas las precauciones que se toman en cuanto a la eliminación de la suciedad adherida al fruto, pues resalta que este fruto aparte de estar muchas veces en contacto con animales y excrementos de estos en su transporte, también se suelen vender a la intemperie, quedando expuestos al polvo que también trae consigo contaminantes de diversas índoles. Así resalta que lo peligroso de todo esto es

que muchas veces las cascarillas entran en contacto con la boca. El fruto al ser vendido a un cliente no sufre mayores tratamientos que un simple enjuagado. En los resultados de este estudio, se encontró presencia de *Escherichia coli* en la masa, derivado del fruto ⁽²⁶⁾

El agua puede contener microorganismos que causan enfermedades diarreicas. Estos padecimientos son causados por bacterias, virus y parásitos que se dispersan a través de la ruta fecal-oral que potencialmente pueden ser transmitidos por el agua de consumo, utilizada para diversas actividades en el hogar, incluyendo la higiene personal y la limpieza de frutas⁽²⁷⁾.

Durante el estudio de la calidad microbiológica de los frutos de *Mauritia flexuosa* “aguaje” que se comercializan en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, de los 24 puestos de venta ambulatorio, concluyen que 22 puestos no son aptos para el consumo humano de acuerdo a los criterios microbiológicos establecidos en la norma técnica sanitaria 071 – MINSA/DIGESA Vol. 01, debido a la presencia de mesófilos aerobios, también señalan que a pesar de haber obtenido resultados negativos para los indicadores *Escherichia coli* y *Salmonella sp*, se encontró la presencia de coliformes fecales y totales, lo que hace suponer que *Mauritia flexuosa* en todo el proceso desde su cosecha hasta su expendio al público consumidor no sufre mayores cuidados de desinfección y/o higiene ⁽²⁸⁾.

P. aeruginosa se caracteriza por estar ampliamente distribuida en la naturaleza formando parte de la microbiota normal del hombre. La tierra,

plantas, agua, corriente pueden actuar como reservorio con clara predilección por los ambientes húmedos tolerando un amplio rango de temperatura de crecimiento (hasta 50°C) ⁽²⁹⁾.

Durante el procesamiento de extracción de la pulpa de aguaje, para un comercio a nivel industrial, en la etapa de post cosecha se elimina toda la suciedad adherida al fruto y se realiza utilizando agua e hipoclorito de sodio (1ml/lit) para reducir la carga microbiana, y con ayuda de escobillas separar los restos de tierra del fruto. También, durante la etapa de maduración, el fruto y el agua se colocan en una olla en una relación 1:1, para el ablandamiento de la pulpa del fruto. Se depositan en una cocina y se pone al fuego hasta alcanzar una temperatura de 55 °C en un tiempo aproximado de 25 - 30 minutos a fuego lento⁽³⁰⁾.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Descripción del área de estudio

Los ensayos microbiológicos se realizaron en el laboratorio de la unidad especializada de Microbiología del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales (CIRNA) de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), ubicado en el departamento de Loreto, ciudad de Iquitos, provincia Maynas y distrito de San Juan Bautista (pasaje Los Paujiles s/n, AA.HH. Nuevo San Lorenzo). Climatológicamente, la presente ciudad se ubica dentro del tipo de clima A(r) A' H4, caracterizado por ser muy lluvioso; la zona de vida que predomina es la del Bosque Húmedo Tropical ⁽³¹⁾. Según información brindada por el SENAHMI, la temperatura promedio anual de Iquitos es de 26.6 °C; con una humedad relativa promedio de 105 %, la precipitación promedio anual de Iquitos es de 2616.2 mm por año. (Anexo N°02)

4.2. Área de muestreo:

Las muestras fueron recolectadas de los puestos de venta ambulancia de la ciudad de Iquitos (Punchana, Belén, Iquitos y San Juan Bautista).

4.2.1. Muestra Biológica

- 1) Fruto de *Mauritia flexuosa* "aguaje"; en su estado verde con cáscara.
- 2) Fruto de *Mauritia flexuosa* "aguaje"; con cáscara en su estado de maduración.
- 3) Fruto de *Mauritia flexuosa* "aguaje"; maduro sin cáscara.

En la 1era y la 3era muestra se lavaron los frutos con agua estéril para su posterior estudio y en la 2da muestra se colectó el agua empleada para la maduración para su posterior análisis.

4.3. Materiales

4.3.1. Materiales de Campo

- 1) Una Caja para transportar las muestras (termo).
- 2) Bolsas estériles (siploxs)
- 3) Frascos de vidrio transparente de 250 ml esterilizados con tapa rosca.
- 4) Tubos de ensayo con tapa rosca.

4.3.2. Materiales de Laboratorio

4.3.2.1. Equipos:

- 1) Balanza mecánica (OHAUS).
- 2) Balanza analítica (OHAUS Pioner).
- 3) Microscopio compuesto (HUND).
- 4) Horno Pasteur (Mettler). (Anexo N° 06; fotografía N°01).
- 5) Refrigeradora (Mabe).
- 6) Autoclave (Famarel). (Anexo N° 06; fotografía N°02).
- 7) Cámara de flujo laminar (Labconco). (Anexo N° 06; fotografía N°03).
- 8) Microondas (Panasonic). (Anexo N° 06; fotografía N°04).
- 9) Centrifuga (ISOLAB). (Anexo N° 06; fotografía N°05).
- 10) Estufa (Mettler) (Anexo N° 06; fotografía N°06).

4.3.2.2. Materiales de Vidrio

- 1) Vaso de precipitado de 250 ml.
- 2) Placas de Petri.
- 3) Tubos de ensayo.
- 4) Pipetas de vidrio de 10 ml.
- 5) Lámina porta objetos

4.3.2.3. Medios de Cultivo

- 1) Agar Manitol Salado.
- 2) Agar Cetrimide
- 3) Agar Tripticasa de soya (TSA)
- 4) Caldo Tripticasa de Soya
- 5) Caldo salado
- 6) Agua peptonada
- 7) Agar Triple sugar Iron (TSI)
- 8) Infusión cerebro corazón (BHI)

4.3.2.4. Reactivos

- 1) Set de GRAM
- 2) Cristal violeta
- 3) NaCl

4.3.2.5. Otros

- 1) Cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas.

- 2) Asa de inoculación para siembra por estrías y picadura.
- 3) Papel de aluminio.
- 4) Algodón grande
- 5) Gradillas
- 6) Lejía y detergentes.
- 7) Alcohol 96°
- 8) Agua destilada
- 9) Mechero de alcohol
- 10) Encendedor
- 11) Guantes
- 12) Mandil.
- 13) Micropipetas
- 14) Papel toalla
- 15) Papel bond

4.4. Métodos

4.4.1. Obtención de la Muestra

4.4.1.1. Etapa de campo:

Para la ejecución del presente trabajo se determinó 16 lugares de muestreo (Anexo N°01); dichos puntos estuvieron ubicados en los distritos de Punchana, Iquitos, Belén y San Juan (4 puntos de muestreo por distrito); donde se analizaron de cada uno de ellos 3 muestras (post

cosecha, maduración y acondicionamiento para su consumo). (Anexo N°7)

La muestra de post cosecha fue el fruto verde con cáscara, el cual fue lavado con agua estéril. La muestra de maduración, fue el agua donde se encuentran los agujes maduros con cáscara y por último la muestra de acondicionamiento para su consumo fue el agua esterilizada de los frutos maduros sin cascara listo para su consumo. (Anexo N°8; fotografía N°8, fotografía N°9)

4.4.1.2. Etapa de laboratorio:

Las muestras fueron llevadas al laboratorio de Microbiología; en un lapso de 2 horas; donde fueron sometidas a los siguientes análisis:

4.4.1.2.1. Análisis Microbiológico:

4.4.1.2.1.1. Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* (Anexo N°4):

➤ Procedimiento:

1. Se dejó reposar un volumen de 100 ml por cada una de las 3 muestras colectadas en campo (los frutos de *Mauritia flexuosa* “aguaje” verdes con cáscara, frutos con cáscara en maduración y los frutos maduros sin cáscara) por un periodo de 30 minutos, se descartó el sobrenadante y se trabajó con el precipitado.

2. Se colocó aproximadamente 28 ml en 4 tubos por cada muestra colectada y con ayuda de una pipeta estéril se transfirió a un tubo de vidrio estéril para llevarlo a centrifugar (25000 rpm/ 5 mts).
3. Se sacó 100 µl del precipitado de la muestra y se colocaron en un tubo de vidrio estéril, que contenía 4 ml de caldo tripticasa de soya, el cual fue incubado a 37°C x 24 h.
4. Se sacó una asada del cultivo en caldo tripticasa de soya y fue colocado en un tubo con 3ml de caldo salado el cual contenía 6.5 % de NaCl que facilita el crecimiento de bacterias halófilas y fue incubado a 37°C por 24 h.
5. Se sembró una asada del cultivo en caldo salado, en una placa con agar manitol salado y se incubó a 37°C x 24 h. (Anexo N° 10; fotografía N°10, 11; 12).
6. Se observó aquellas colonias amarillas brillantes, se replicó en caldo TSA; e incubó por 24 h a 37°C.
7. Se realizaron las pruebas de coloración Gram, pruebas de la coagulasa y de la catalasa. Las cepas conformadas por *Staphylococcus* Gram (+), catalasa (+) y coagulasa (+), correspondieron a *S. aureus*. (Anexo N°10; fotografía N°10, 11; 12).

➤ **Procedimiento de la coloración Gram y de las pruebas bioquímicas.**

a. Coloración Gram: Esta técnica de coloración nos permite separar a la mayoría de las bacterias en dos grupos las Gram positivas que se tiñen de color violeta y las Gram negativas que se tiñe de color rosa. La diferencia en la tinción radica en las estructuras de la pared celular de las bacterias.

- ✓ Colocar una gota de agua destilada en una lámina porta objetos limpia.
- ✓ Luego con la ayuda de un asa redonda estéril tomar un poco de muestra bacteriana a partir de una colonia aislada, emulsionar y extender la muestra de manera uniforme.
- ✓ Fijar la muestra con calentamiento moderado sobre la llama del mechero; teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo, ya que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las bacterias a observar.
- ✓ Cubrir la extensión fijada con solución Hacker o cristal violeta por 1 minuto.

- ✓ Lavar la extensión con agua destilada o corriente y cubrir inmediatamente con lugol dejando reposar por 2 minutos.
- ✓ Nuevamente lavar el extendido con agua corriente o destilada.
- ✓ Después se procede a decolorar la extensión con alcohol acetona.
- ✓ Lavar nuevamente la extensión con agua corriente o destilada.
- ✓ Cubrir la extensión con el colorante de contraste Safranina y dejar en reposo por 30 segundos.
- ✓ Lavar con agua corriente o destilada todo exceso de colorante y finalmente dejar secar la lámina a temperatura ambiente.
- ✓ Observar al microscopio con objetivo de inmersión de A: 100 X, colocando previamente sobre la lámina una gota de aceite de cedro.

b. Prueba de coagulasa

Se realiza para comprobar la facultad de la bacteria de coagular el plasma por acción de la enzima coagulasa, la cual aumenta la velocidad de coagulación del

plasma. El resultado final es la formación de un coágulo de fibrina.

Reactivo: Plasma humano.

Prueba en tubo (detecta coagulasa libre y ligada), la prueba de coagulasa en tubo es definitiva.

Control:

Positivo: *S. aureus*.

c. Prueba de catalasa

Determina la presencia de la enzima catalasa, esta enzima descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

Reactivo: Peróxido de hidrógeno al 3%.

Procedimiento

Con el asa de siembra, recoger el centro de una colonia pura de 18 a 24 horas y colocarla sobre un portaobjetos limpio.

Agregar una gota de H_2O_2 al 3% usando un gotero o una pipeta Pasteur.

No es necesario mezclar el cultivo con el H_2O_2 .

Observar una inmediata efervescencia (formación de burbujas) que indica una prueba positiva, de lo contrario se considera la prueba negativa.

Desechar el portaobjeto colocándolo en un desinfectante.

Realizar este procedimiento en forma paralela con cepas.

Controles:

Control positivo: *S. aureus*.

4.4.1.2.1.2. Aislamiento e identificación de *Pseudomonas aeruginosa*

(Anexo N° 5).

➤ **Procedimiento:**

1. Se dejó reposar un volumen 100 ml por cada una de las 3 muestras colectadas en campo (los frutos de *Mauritia flexuosa* “aguaje” verdes con cáscara, frutos con cáscara en maduración y los frutos maduros sin cáscara) por un periodo de 30 minutos, se descartó el sobrenadante y se trabajó con el precipitado.
2. Se colocó aproximadamente 28 ml en 4 tubos con cada muestra colectada y con ayuda de una pipeta estéril se transfirió a un tubo de vidrio estéril para llevarlo a centrifugar (25000 rpm/ 5 mts).
3. Se sacó 100 µl del precipitado de la muestra y se colocaron en un tubo de vidrio estéril, que contenía 4 ml

de caldo tripticasa de soya, el cual fue incubado a 37°C x 24 h.

4. Se sacó una asada del cultivo en caldo tripticasa de soya y fueron colocados en un tubo que contenía 3 ml de caldo peptonado con 0.02% de cristal violeta y se incubó a 37°C por 24 h.

5. Los tubos que mostraron crecimiento se replicaron en placas con agar cetrimide e incubaron a 37°C durante 24 a 48 h.

6. Se observaron las colonias productoras de pigmento verde a verde azulado, las cuales fueron aisladas y resembradas en tubos con TSA y se incubaron a 37°C x 24 h.

7. Se realizaron las siguientes pruebas: Coloración Gram, prueba de la oxidasa y TSI. Las cepas conformadas por bacilos Gram (-), oxidasa (+) y TSI (-), correspondieron a *P. aeruginosa* (Anexo N°11; fotografía N°13, 14; 15).

➤ **Procedimiento de las pruebas bioquímicas**

a. Prueba de Oxidasa

Esta prueba está basada en la identificación de una enzima bacteriana llamada Citocromo C oxidasa y para reducir el nombre se le dice oxidasa.

Oxidasa positiva: Significa que la bacteria si posee Citocromo C oxidasa, por lo que puede usar oxígeno en la producción de energía con una cadena de transporte de electrones.

Oxidasa negativa: Las enterobacterias es la típica oxidasa negativa. El que no la poseen significa que no puede usar el oxígeno en la cadena de transferencia de electrones o aplican un citocromo diferente para transferir electrones al oxígeno.

Interpretación

Oxidasa positiva: Se observó una coloración azul - violeta en un lapso no mayor a 30 segundos.

Oxidasa Negativa: No se observó ningún color en la tira reactiva.

b. Agar TSI: En estos medios se determina la capacidad de la bacteria de utilizar la lactosa, glucosa y sacarosa (en TSI), con producción o no de gas y la producción de ácido sulfhídrico.

Lectura: Es importante hacer la lectura entre las 18 – 24 horas para no obtener resultados erróneos. La lectura se hace sobre la base de tres características:

Utilización de hidratos de carbono, producción de gas y producción de ácido sulfhídrico.

El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad, si la bacteria fermenta la glucosa, acidificará el medio cambiando su color a amarillo mientras que si no es fermentadora de glucosa, el medio permanecerá de color rojo; si la bacteria fermenta lactosa o sacarosa, acidifica la superficie del medio volviéndolo color amarillo, mientras que si no lo es, la superficie permanece roja; si la bacteria produce ácido sulfhídrico (debido a la reducción de las sales de hierro), se presentará un ennegrecimiento del tubo (la producción de ácido sulfhídrico y el consiguiente ennegrecimiento del tubo pueden impedir ver la fermentación de la glucosa (fondo amarillo), pero este hecho implica directamente que la bacteria es fermentadora de glucosa). Si aparece rotura o desplazamiento del medio significa que la bacteria es productora de gas.

4.5. Tipo y diseño de investigación

El presente trabajo es una investigación que obedece a un diseño no experimental, transversal de tipo descriptivo.

4.6. Población

Todos los lugares de venta ambulancia de la ciudad de Iquitos, donde son expendidos los frutos de *Mauritia flexuosa* "aguaje".

4.7. Muestra

El número total de muestras analizadas se determinó según la cantidad de vendedoras del fruto de *Mauritia flexuosa* "aguaje", siendo un promedio de 10 lugares de venta por distrito de la ciudad de Iquitos

Se recolectaron un total de 48 muestras, para lo cual se establecieron 16 lugares de venta ambulancia, correspondiendo 4 lugares de muestreo para cada distrito de la ciudad de Iquitos (Punchana, Belén, Iquitos y San Juan), de cada lugar se extrajeron 3 muestras correspondientes a las etapas de post cosecha, maduración y acondicionamiento para su consumo.

4.8. Procesamiento de la Información

Luego del acopio de datos se procedió al análisis estadístico que determinó la presencia de las especies en estudio. El procesamiento de datos consistió en ordenar, estandarizar, codificar, tabular y elaborar la base de datos, mediante estadística descriptiva, utilizando el programa EXCEL 2013, para verificar la hipótesis planteada. Así mismo se empleó la prueba de homogeneidad de Chi cuadrado (χ^2) para ver la diferencia significativa existente en la presencia de *S. aureus* y *P. aeruginosa* durante el proceso de expendio del aguaje al consumidor.

V. RESULTADOS

Para determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* en las etapas del proceso de expendio del fruto del aguaje (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) en los distritos de la ciudad de Iquitos (San Juan, Belén, Iquitos y Punchana); se recolectaron 48 muestras (Cuadro N° 01), obteniendo los siguientes resultados (Cuadro N° 05):

5.1. Determinación de las etapas del proceso de expendio (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) del fruto de *Mauritia flexuosa* “aguaje”; donde están presentes *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Cuadro N° 01: Etapas del proceso de expendio (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) del fruto de *Mauritia flexuosa* “aguaje”; por distrito donde están presentes *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Etapas	Distritos	n	Presencia/Ausente	
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Post cosecha	San Juan	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
	Belén	4	1 (Presente)	4 (Presente)
	Iquitos	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
	Punchana	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
Maduración	San Juan	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
	Belén	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
	Iquitos	4	1 (Presente)	4 (Presente)
	Punchana	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
Acondicionamiento para la Venta	San Juan	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
	Belén	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
	Iquitos	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
	Punchana	4	4 (Ausente)	4 (Presente)
Total		48	2 Presentes/ 46 ausentes	48 presentes/0 ausentes

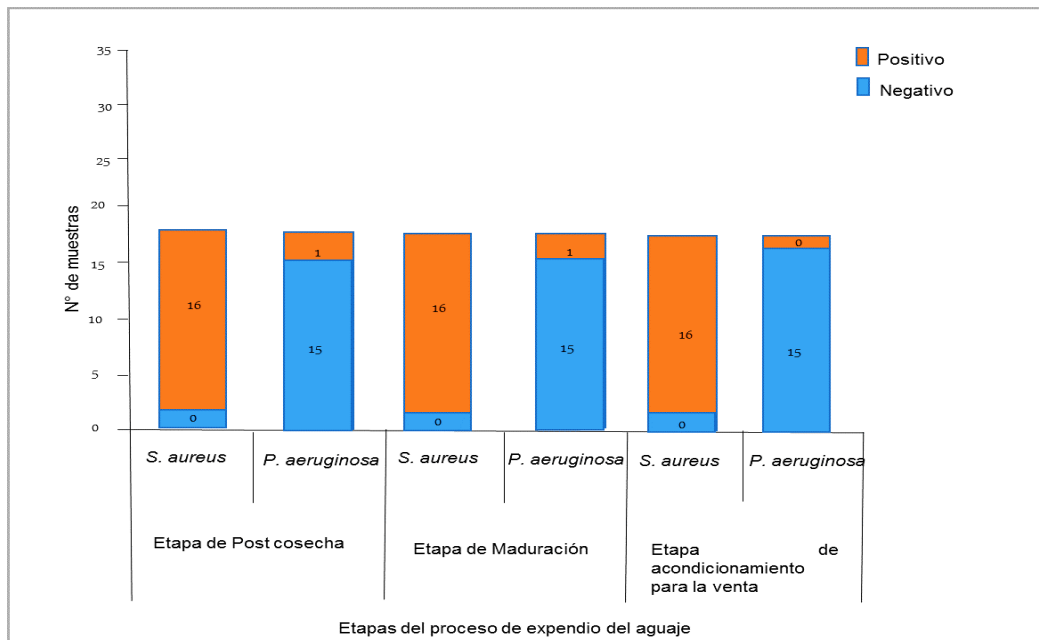


Figura N° 01: Etapas del proceso de expendio del “aguaje”; por distrito donde están presentes *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

En las tres etapas evaluadas en la ciudad de Iquitos, se registraron en ambas especies bacterianas: *S. aureus* y *P. aeruginosa*. En los distritos de San Juan, Belén, Iquitos y Punchana, de las 48 muestras analizadas, se aisló a *S. aureus* en todas las etapas y en todas las muestras analizadas, mientras que en el caso de *P. aeruginosa* solamente se registró la presencia en la etapa de Post cosecha y maduración, una vez en los distritos de Belén e Iquitos respectivamente, no se aisló en la etapa de acondicionamiento para la venta. (Cuadro N° 01; Figura N° 01).

De las 16 muestras de post cosecha analizadas (aguaje verde), el 100% y 2% estuvo contaminado con *S. aureus* y *P. aeruginosa* respectivamente, además

que en el 98 % de las muestras no se aisló a *P. aeruginosa*; así mismo, de las 16 muestras de la etapa de maduración (aguaje maduro) se obtuvo un resultado igual al mencionado en la etapa de post cosecha; mientras que en las 16 muestras analizadas de la etapa de acondicionamiento para la venta, que viene hacer el fruto pelado y expuesto al ambiente, se registró la presencia de *S. aureus* en un 100% y la ausencia de *P. aeruginosa* en un 100%. (Figura N° 01).

5.2. Determinación de la etapa del proceso de expendio del fruto de *Mauritia flexuosa* “aguaje”, con mayor grado de contaminación con las bacterias en estudio

Cuadro N° 02: Etapa del proceso de expendio del fruto de *Mauritia flexuosa* “aguaje”, de la ciudad de Iquitos, que posee el mayor grado de contaminación con los microorganismos en estudio.

Etapas	Grado de contaminación
Post cosecha	34%
Maduración	34%
Acondicionamiento para la venta	32%
Total (%)	100%

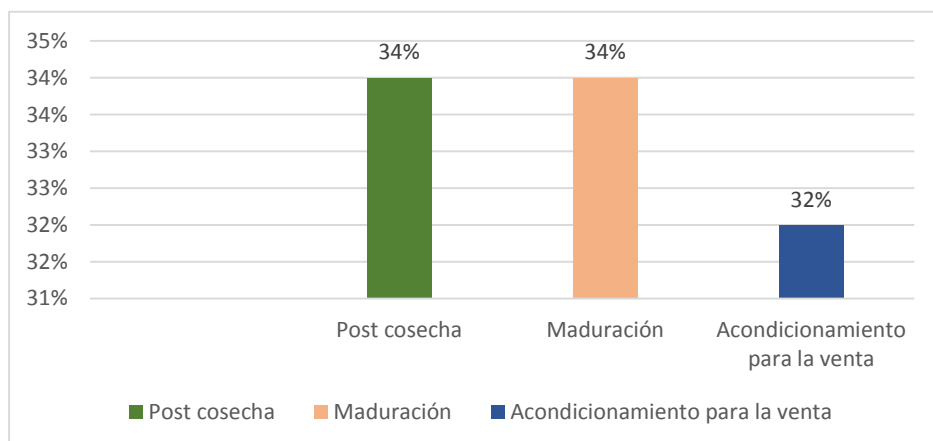


Figura N° 02: Etapa del proceso de expendio del fruto de “aguaje”, de la ciudad de Iquitos, que posee el mayor grado de contaminación con los microorganismos en estudio.

Las etapas del proceso de expendio con mayor grado de contaminación con las bacterias en estudio fueron: Post cosecha con 16 muestras positivas y 1 muestra positiva respectivamente con los agentes bacteriológicos mencionados (34 %), así mismo la etapa de Maduración presentó el mismo resultado (34 %) que la etapa de Post cosecha, mientras que en la etapa de acondicionamiento para la venta solo se determinó la contaminación con *S. aureus* en las 16 muestras (32 %). (Cuadro N° 02, Figura N° 02).

Cuadro N° 03: Datos de las diferencias significativas de la etapa que posee el mayor grado de contaminación.

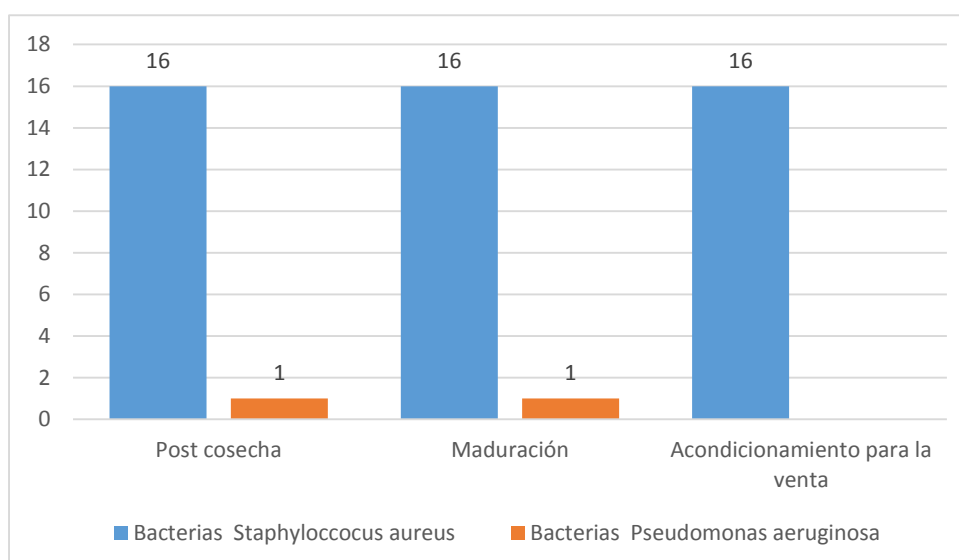
Cuadro de contingencia	
Grados de libertad: (Gl)	3
Chi cuadrado: (X^2)	0.98
Probabilidad: (p)	0.61

Según las pruebas estadísticas, en las tres etapas de expendio del fruto del aguaje evaluados, no existe diferencias significativas sobre que etapa posee el mayor grado de contaminación (x^2 (0.98039) = 0.61251; gl = 3; $p \leq 0.05$), lo cual significaría, que las tres etapas mencionadas están contaminadas indistintamente con las bacterias ya descritas (Cuadro N°03).

5.3. Determinación del agente bacteriológico con mayor prevalencia.

Cuadro N° 04: Determinación del agente bacteriológico con mayor prevalencia en la ciudad de Iquitos.

Etapas	Bacterias	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Post cosecha	16	1
Maduración	16	1
Acondicionamiento para la venta	16	0
Porcentaje total (%)	100%	4%



N° 03: Determinación del agente bacteriológico con mayor prevalencia en la ciudad de Iquitos.

El agente bacteriológico con mayor prevalencia fue *S. aureus*, debido a que estuvo presente en todas las muestras analizadas y al realizar los análisis estadísticos muestra un 100 % de prevalencia, a diferencia de *P. aeruginosa* quien solo muestra un 4 % de prevalencia (Cuadro N° 04 y figura N° 03).

Cuadro N° 05: Identificación de *Pseudomonas aeruginosa* mediante las pruebas bioquímicas de la acción de los carbohidratos y la OXIDASA.

Bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
	OXIDASA	Acción de los carbohidratos		
		Glucosa	Lactosa	Sacarosa
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	-	+	+	+
5	+	+	+	+
6	-	+	+	+
7	-	+	+	+
8	-	+	+	+
9	-	+	+	+
10	-	+	+	+
11	No se realizó			
12	No se realizó			
13	+	+	+	+
14	+	+	+	+
15	-	+	+	+
16	+	-	-	-
17	+	+	+	+
18	No se realizó			
19	-	+	+	+
20	No se realizó			
21	+	+	+	+
22	No se realizó			
23	No se realizó			
24	No se realizó			
25	No se realizó			
26	-	+	+	+
27	-	+	+	+
28	-	+	+	+
29	+	-	-	-
30	-	+	+	+
31	-	+	+	+
32	+	+	+	+
33	-	+	+	+
34	-	+	+	+
35	No se realizó			
36	No se realizó			
37	-	+	+	+
38	-	+	+	+
39	No se realizó			
40	No se realizó			
41	-	+	+	+
42	+	+	+	+
43	No se realizó			
44	No se realizó			
45	-	+	+	+
46	No se realizó			
47	No se realizó			
48	No se realizó			

En los 4 distritos de la ciudad de Iquitos, se evidenció la presencia de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* mediante la realización de la coloración Gram, el cual nos permitió separar a las bacterias en dos grupos: las Gram positivas y las Gram negativas, además se emplearon las pruebas bioquímicas respectivas para cada bacteria; en el caso de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* se realizó el medio de cultivo de TSI para determinar la acción de los carbohidratos y la prueba bioquímica de OXIDASA, obteniendo como resultado 2 muestras positivas (Cuadro N° 05).

Cuadro N° 06: Identificación de *Staphylococcus aureus* mediante las pruebas bioquímicas de la COAGULASA y CATALASA.

Bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>			
	COAGULASA		CATALASA	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Post cosecha	16	0	16	0
Maduración	16	0	16	0
Acondicionamiento para la venta	16	0	16	0

Para la bacteria *Staphylococcus aureus* se realizaron las pruebas bioquímicas de: COAGULASA y CATALASA, obteniendo como resultado las 48 muestras positivas (cuadro N° 06).

Cuadro N° 07: Datos de las diferencias significativas de la bacteria *Staphylococcus aureus*.

Cuadro de contingencia	
Grados de libertad: (Gl)	3
Chi cuadrado: (χ^2)	1.94
Probabilidad: (p)	0.05

Las pruebas estadísticas indican que si existe una diferencia significativa (χ^2 (1.94) = 0.05; gl = 3; $p \leq 0.05$) en la presencia de ambas bacterias sobre las muestras, señalando que *S. aureus* es la especie con mayor prevalencia en las tres etapas (Cuadro N° 07).

Cuadro N° 08: Datos de las diferencias significativas de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.

Cuadro de contingencia	
Grados de libertad: (Gl)	3
Chi cuadrado: (χ^2)	1.94
Probabilidad: (p)	1.88

Las pruebas estadísticas indican que *P. aeruginosa* es la especie con menor prevalencia en las muestras del fruto del aguaje (χ^2 (1.94) = 1.88; gl = 3; $p \leq 0.05$) (Cuadro N° 08).

5.4. Distrito con negocios ambulorios de *Mauritia flexuosa* “aguaje”; que posee mayor grado de contaminación.

Cuadro N°09: Distritos con negocios ambulorios de *Mauritia flexuosa* “aguaje” de la ciudad de Iquitos que posee mayor grado de contaminación.

Distritos	Grado de contaminación
San Juan	24%
Belen	26%
Iquitos	26%
Punchana	24%
Total (%)	100%

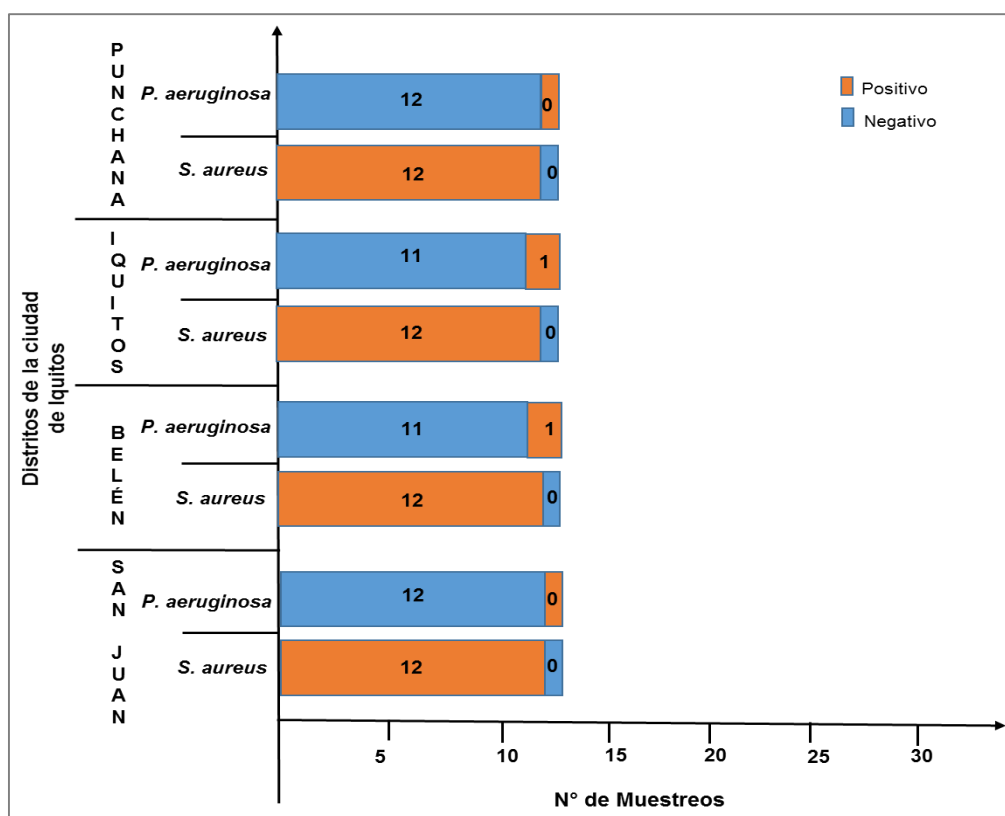


Figura N° 04: Distrito con negocios ambulorios de *Mauritia flexuosa* “aguaje” con mayor grado de contaminación.

Mediante los estudios realizados, indican que el distrito con negocios ambulorios de aguaje con mayor grado de contaminación fue Belén e Iquitos con un 26 % para ambos casos, seguido de Punchana y San Juan con un 24 % en ambos casos, no existen diferencias significativas con respecto al grado de contaminación con estos dos agentes bacterianos. (Cuadro N° 09 y figura N° 04).

Cuadro N° 10: Datos de las diferencias significativas de los distritos de la ciudad de Iquitos.

Cuadro de contingencia	
Grados de libertad: (Gl)	3
Chi cuadrado: (χ^2)	1.92
Probabilidad: (p)	0.58

En los cuatro distritos de expendio del fruto del aguaje evaluados, no existe diferencias significativas sobre qué distrito posee el mayor grado de contaminación ($\chi^2 (1.9231) = 0.58$; gl = 3; $p \leq 0.05$), lo cual significaría, que los cuatro distritos mencionadas están contaminados con las bacterias ya referidas (Cuadro N° 10).

VI. DISCUSIÓN

De las 48 muestras evaluadas del fruto *Mauritia flexuosa* “aguaje” se registraron la presencia de *S. aureus* en un 100% en las tres etapas (Post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) de las muestras analizadas a diferencia de *P. aeruginosa* que solo se registró en dos muestras representando un 4 % en dos etapas (Post cosecha y maduración), evidenciando la contaminación presente en los frutos comercializados diariamente en los puestos ambulatorios; coincidiendo con Orosco y Vílchez⁽²⁸⁾; quien evidencia la contaminación existente en los frutos mediante los resultados obtenidos de una muestra poblacional de 24 puntos de venta ambulatoria de la zona urbana del distrito de Punchana, en donde registraron *Escherichia coli* menores de 3 NMP por gramo de muestra de aguaje y la ausencia total de *Salmonella sp.* Y en el análisis de Coliformes fecales, coliformes totales y aerobios mesófilos, todos los puntos de venta superaron el valor límite de 10^4 UFC/g por muestra de *Mauritia flexuosa* “aguaje” y solo dos se encuentran por debajo de dicho valor, con 4.7×10^3 UFC/g y con 9.9×10^3 UFC/g. de acuerdo a las normas vigentes, 22 muestras resultaron no aptas para el consumo humano.

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo ubicuo que se encuentran en el suelo, en la materia orgánica en descomposición, en la vegetación y en el agua. También están reportados en los ambientes húmedos, como la comida, las flores de los jarrones, los lavabos, los baños e incluso las soluciones desinfectantes ^(36,37). Sin embargo comparando con nuestros resultados este microorganismo no se registró

en la gran mayoría de las muestras, debido a que el fruto maduro de *Mauritia flexuosa* “aguaje” presenta un bajo nivel de pH (3,74), correspondiente a un valor de acidez de 75% ^(34,35). Corroborando la investigación de Ruíz ⁽²⁵⁾ quien menciona que la mayoría de especies del genero *Pseudomonas* no crece bajo condiciones acidas (pH 4.5 o menor), esencialmente cualquier hábitat con un rango de temperatura de 4-42 °C, y un pH comprendido entre 4.5 y 8 es un hábitat potencial para *Pseudomonas*, lo que evidencia los resultados obtenidos de las muestras del aguaje verde quien tuvo un pH elevado de 8.4 por lo cual no se registró la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

No obstante se registró la presencia en la etapa de post cosecha y maduración de 2 muestras contaminadas de *Pseudomonas aeruginosa*, lo cual indica que existen cepas resistentes a un pH ácido y básico, como indica Riverón ⁽³⁶⁾, quien señala que la alta resistencia de estos microorganismos se debe a su capacidad de sintetizar enzimas, que les permiten adaptarse a condiciones extremas de pH y a medios escasos en fuentes de carbono, además Chitiva ⁽³⁷⁾, menciona que la membrana externa de *P. aeruginosa* es la responsable de su resistencia, porque está compuesta principalmente por lipo-polisacáridos (LPSs) que hacen la pared celular más resistente a moléculas hidrofóbicas, y su elevado contenido de magnesio hace una fuerte unión con los LPSs, que dificulta el paso de los biocidas a través de la membrana.

La ausencia de *P. aeruginosa* también se puede deber a las pruebas realizadas por Koolen⁽³⁴⁾, quien indica que existe actividad antimicrobiana producido por los

extractos fenólicos de los frutos que va desde leve a moderado contra la especie mencionada, debido a la composición química, mostrando la ausencia de ácidos grasos y compuestos fenólicos derivados del ácido shikímico. Así mismo Silveira ⁽³⁹⁾ menciona la actividad antimicrobiana del fruto de *Mauritia vinifera* "buriti" mediante extractos etanólicos la alta capacidad inhibidora a *P. aeruginosa*, confirmando que existe una alta capacidad antimicrobiana del genero *Mauritia* contra la bacteria *P. aeruginosa*.

Cabe recalcar que en nuestro estudio solo se determinó la presencia de *P. aeruginosa* en una muestra de agua, en la etapa de maduración, en contraste con estudios recientes, quien demuestra que esta especie puede presentarse en concentraciones altas, en el agua potable, especialmente en el agua envasada, con quejas sobre su sabor, olor y turbidez ⁽⁴⁵⁾.

Staphylococcus aureus, es un microorganismo caracterizado por tener las células vegetativas más resistentes, desarrollándose bien entre los 10 y 45°C y una amplia zona de pH (4,5 -9.3), pero la producción de su enterotoxina alcanza su máximo cuando la temperatura es de 35-40°C y con un pH (7-7.5); pero se ve sensible a una mayor acidez. Como también crece bien en un medio aeróbico como anaeróbico, pero bajo condiciones aeróbicas tolera actividades de agua que resultan insuficientes para otros microorganismos ⁽⁴⁰⁾. Contrarrestando con nuestros resultados en el cual esta bacteria se presentó en todas las etapas, creciendo a un pH ácido de 3.62 (etapa de maduración) y 3.92 (etapa de acondicionamiento para la venta) confirmando que esta bacteria tolera pH extremos, creciendo con

normalidad, además la etapa de post cosecha presento un pH de 8.4 afirmando lo mencionado por Gutiérrez ⁽⁴⁰⁾ que habita en un rango amplio de pH.

Por lo expuesto, nuestros resultados muestran a *S. aureus* como la bacteria prevalente ya que es uno de los microorganismos más resistentes conocidos (incluso pese a que no forma esporas)⁽⁴¹⁾. Se conoce que son muy persistentes en alimentos con contenido alto en sales y azúcares debido a sus toxinas son altamente estables, y resistentes al calor, congelación e irradiación, por lo que una vez formadas en el alimento, es extremadamente difícil eliminarlas^(42,43). Comprobando con los resultados obtenidos en nuestra investigación en donde se registró la presencia de la bacteria en los 4 distritos durante las tres etapas (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta); evidenciando que se desarrolla con normalidad, así como también puede soportar cambios bruscos en las distintas etapas del proceso de expendio del fruto del “aguaje”.

La contaminación de los alimentos se asocia al uso de materias primas contaminadas o a la inadecuada manipulación; transferencia de la bacteria desde las superficies de trabajo o desde los portadores ⁽⁴⁰⁾. Las características morfológicas del pericarpio, hace que sea un buen medio para la acumulación de suciedad y por consiguiente un buen reservorio para el transporte de contaminantes. Son pocas las precauciones que se toman en cuanto a la eliminación de la suciedad adherida al fruto, pues resalta que este fruto aparte de estar muchas veces en contacto con animales y excrementos de estos en su transporte, también se suelen vender a la intemperie, quedando expuestos al polvo que también trae consigo contaminantes

de diversas índoles. Así resalta que lo peligroso de todo esto es que muchas veces las cascarillas entran en contacto con la boca. El fruto al ser vendido a un cliente no sufre mayores tratamientos que un simple enjuagado. En los resultados de este estudio, se encontró presencia de *Escherichia coli* en la masa, derivado del fruto ⁽²⁶⁾. Como afirmamos en este estudio, la fuente de contaminación engloba muchos aspectos como, el producto bruto extraído del campo, el ambiente en el que laboran las vendedoras ambulantes de aguaje, donde se observa un ambiente inhóspito e insalubre, empleando el fruto sin el más mínimo cuidado en la desinfección, lavado, manipulación y utensilios insuficientemente higienizados; utilizando un solo recipiente con agua todo el día, propiciando un hábitat apropiado para el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y cepas resistentes de *Pseudomonas aeruginosa*.

Por otro lado, al parecer no existe una fase de expendio del fruto del aguaje que se relacione directamente con alguna de estas bacterias tal como se puede observar en la tabla N°02, las 3 etapas mostraron la presencia de las bacterias sin diferencias significativas. Confirmando lo mencionado por Díaz & Vernon ⁽²¹⁾, quienes señalan que una de las principales causas en el incremento de problemas de salud de los consumidores es debido al aumento de las posibilidades de contaminación que los frutos se exponen por el contacto con el agua y con el medio ambiente en general, así mismo a lo largo de la cadena pueden ir sumándose factores que lleven a obtener un producto de deficiente calidad sensorial, nutricional y de inocuidad.

Presentándose durante la precosecha, el corte y recolección, el almacenamiento y el transporte, en los puntos de venta, y en el mismo empleo final.

El hecho de haber registrado una elevada tasa de contaminación por *S. aureus*, en las 3 etapas del proceso de expendio, podría constituir un factor de riesgo especialmente para el consumidor, toda vez, que muchas de estas cepas suelen ser enterotoxigénicas, de igual modo se pondría en riesgo la salud del vendedor, más aun si por el empleo del cuchillo para pelar el fruto podría ocasionar una lesión traumática, a nivel de piel con la consecuente infección de esta bacteria oportunista que también queda registrado como responsable de la infección de heridas ⁽⁴⁵⁾.

VII. CONCLUSIONES

- *Staphylococcus aureus* estuvo presente durante las tres etapas de expendio (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta) del fruto de *Mauritia flexuosa* “aguaje” en la ciudad de Iquitos, mientras que *Pseudomonas aeruginosa* solo se registró en dos etapas (Post cosecha y maduración).
- Durante la evaluación de las tres etapas del proceso de expendio (post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta); las diferencias estadísticas no fueron significativas registrándose similar grado de contaminación.
- El agente bacteriológico con mayor prevalencia que se registró durante las pruebas microbiológicas fue *Staphylococcus aureus*; existiendo un riesgo para el consumidor y el vendedor por los altos registros de esta bacteria; mientras que para el vendedor no existe mayor riesgo debido a que los índices de *Pseudomonas aeruginosa* son bajos.
- Todos los puestos de expendio del fruto de *Mauritia flexuosa* “aguaje” estudiados, ubicados en los distritos de la ciudad de Iquitos presentan un alto grado de contaminación con *Staphylococcus aureus* y dos cepas *Pseudomonas aeruginosa*.

VIII. RECOMENDACIONES

- Continuar con los estudios referentes, determinando en que momento las bacterias se incorporan en el fruto de *Mauritia flexuosa* “aguaje”, pudiendo ser diversos las fuentes de contaminación como el suelo, agua, las manos de las manipuladoras, recipientes, utensilios, transporte, etc.
- Realizar estudios complementarios de cuantificación de la bacteria *Staphylococcus aureus* y saber si produce la enterotoxina causante de los problemas gastrointestinales en los consumidores.
- Realizar estudios de las cepas resistentes de *Pseudomonas aeruginosa*, a pH extremos presentes en el fruto del aguaje.
- Llevar a cabo investigaciones acerca de la actividad antimicrobiana del fruto del aguaje empleando otras metodologías contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* entre otras bacterias perjudiciales para los seres vivos.
- Ejecutar planes de concientización sanitaria para las personas que se dedican a vender ambulatoriamente productos de consumo para la ciudadanía.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Figuerola F, Rojas L. Procesamiento de frutas y hortalizas mediante métodos artesanales y de pequeña escala, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Santiago de Chile; 1993. 190 p.
2. Gonzáles M, Torres T, Chiroles S. Calidad microbiológica de aguas costeras en climas tropicales. 2003; 4:1–8 p.
3. Un Water. Agua limpia para un mundo sano. In 2010. Available from: www.worldwaterday2010.info
4. MicrobitosBlog. *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*; Morfología, medios de cultivo, enfermedades y más. [Internet]. MICROBITOS. 2015 [cited 2016 Jun 8]. Available from: <https://microbitos.wordpress.com/2015/04/28/pseudomonas-aeruginosa-p-putida-p-fluorescens-morfologia-medios-de-cultivo-enfermedades-y-mas/>
5. Cervantes E, García R, Salazar P. Importancia de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente intrahospitalario y adquirido en la comunidad. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2014; 4 (4):196–204 p.
6. Jay, J. Taxonomy, Role, and Significance of Microorganisms in Foods. 6a ed. Estados Unidos de América: Modern Food Microbiology; 2000. 790 p.
7. Organización mundial de la Salud. Guía para la calidad del agua potable. 3rd ed. Vol. 1. OMS; 2006. 398 p.

8. Organización mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua potable. 3rd ed. Vol. 1. Ginebra: OMS; 2004. 1-101 p.
9. Henderson A. The Palms of the Amazon. N Y. 1995; 361 p.
10. Aspajo FP. Caracterización molecular de los morfotipos de frutos de aguaje *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) en la región Loreto. 2010; 65 p.
11. Criado C, Moya M. Vitaminas y antioxidantes. Actualizaciones el médico. 2009; Available from: http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf
12. Kerr K, Snelling A. *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. J Hosp Infect. 2009; 73(4):338–444 p.
13. Ferreira H, Lala E. *Pseudomonas aeruginosa*: Um alerta aos profissionais de saúde. Rev Panam Infectol. 2010; 12(2):44–50 p.
14. Victorica J, Galván M. *Pseudomonas aeruginosa* as an indicator of health risk in water for human consumption. Water Sci Technol. 2001 Jun 1; 43(12):49–52 p.
15. Ogston A. Micrococcus poisoning. 1883; 17:24–58 p.
16. Bannerman T. *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalase-positive cocci that grow aerobically. A: Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington D. C.: Murray; 2003. 1000 p.
17. Wenzel R, Bertino J, Baron E, Arias K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: a consensus panel's definition and guidelines. Am J Infect Control. 1998; 26:102–10 p.

18. Borraz C. Epidemiología de la resistencia a metilicina en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en hospitales españoles. [Doctoral]. [España]: Barcelona; 2006. 189 p.
19. Food and Agriculture Organization. Alimentación, nutrición y agricultura. Alimentos de Venta Callejera. Volumen 17/18. Roma; 1996. (Fecha de acceso julio del 2017) Disponible en URL:<http://www.fao.org/docrep/W3699T/W3699T00.htm>.
20. Caballero A, Carrera J, Legomin M. Evaluación de la vigilancia microbiológica de alimentos que se venden en las calles. Rev Cubana Aliment Nutr 1998; 12 (1): 7-10 p.
21. Díaz R, Vernon C. Inocuidad microbiológica de frutas frescas y mínimamente procesadas. 1999; 3(2): 133-136 p.
22. Bouza E, García F, Marín M, Díaz M, Sánchez R, Vindel A. *Pseudomonas aeruginosa*: Estudio multicéntrico en 136 hospitales españoles. Rev Esp Quimioterap. 2003; 16(1):41-2 p.
23. Jiménez F, Garro L, Rodríguez E, Zeledón Z. Evaluación de la presencia de bacterias en alimentos y en el ambiente de una sección de oncología de un hospital nacional, San José, Costa Rica. Arch Latinoam Nutr. 2004 Sep; 54(3):303-7 p.
24. Gonzales A. Frutales Nativos Amazónicos. Patrimonio Alimenticio de la Humanidad. Iquitos; 2007. 1-76 p.

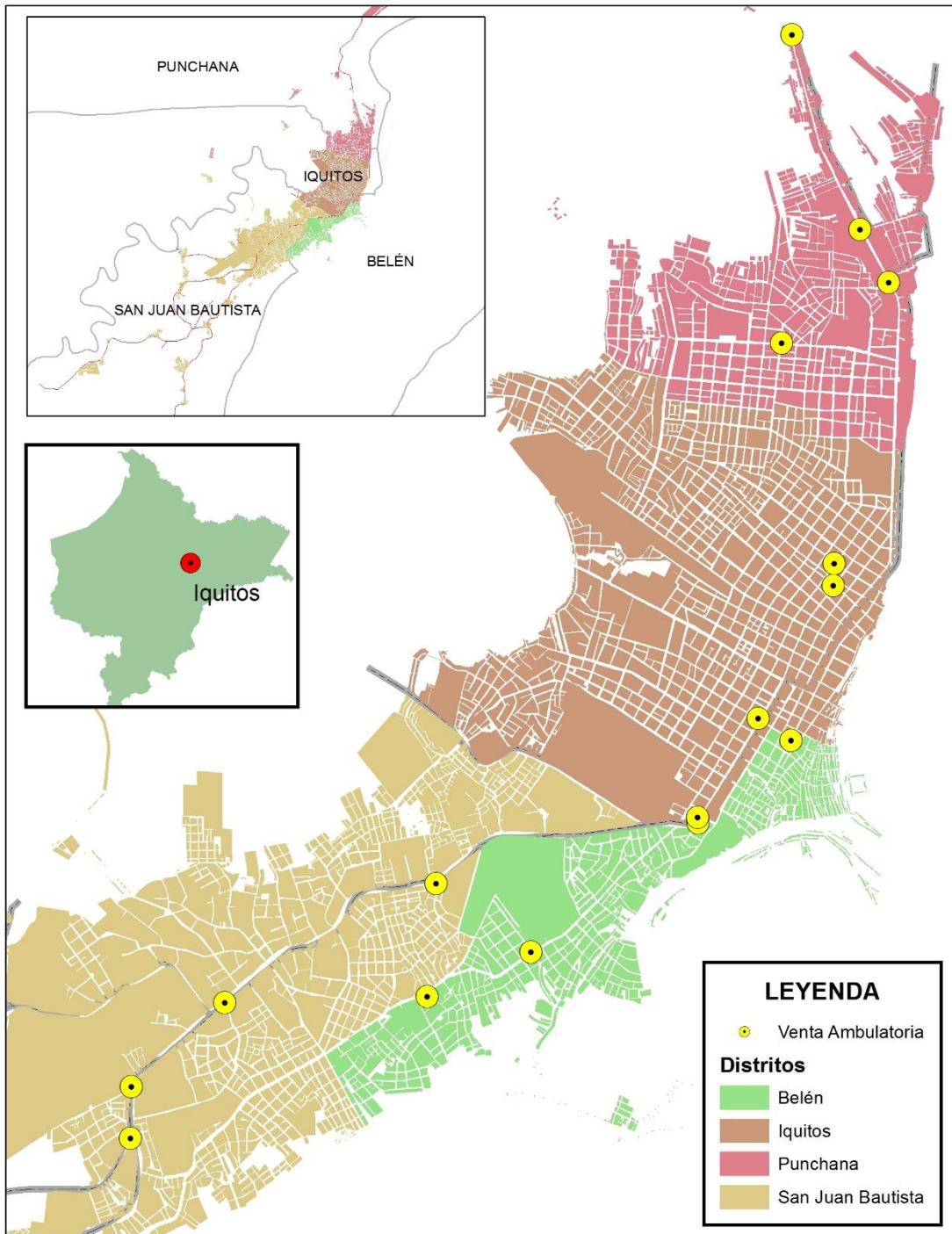
25. Ruiz L. *Pseudomonas aeruginosa*: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos. [Doctoral]. [Barcelona]: Universidad de Barcelona; 2007. 156 p.
26. López C. Contaminación Microbiológica del Aguaje Como Fruto y Masa; 2009. 26 p.
27. Ramírez E, Robles E, Sainz M. Calidad microbiológica del acuífero de Zacatepec, Morelos, México. Rev Int Contam Ambient. 2009; 25: 247–55 p.
28. Montero M. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos [Doctoral]. [Barcelona]: Universidad Autonoma de Barcelona; 2012. 108 p.
29. Rainforest Aliance. Evaluación participativa de la fenología de las palmeras aguaje (*Mauritia flexuosa*) y ungurahui (*Oenocarpus bataua*) en la comunidad nativa Tres Islas, Madre de Dios. 2015. 36 p.
30. Kalliola R, Puhakka M, Danjoy W. Amazonía Peruana-Vegetación Húmeda en el llano Subandino. Gummerus Printing, Jyväskylä, Finland; 1993. 153-166 p.
31. Orosco W, Vílchez B. Calidad microbiológica de los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se comercializan en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, Loreto, 2012, 63 p.
32. Murray P, Rosenthal K, Pfäuer M. Microbiología Medica. 5ta ed. España; 2007. 927 p.
33. Günter Schlegel H, Zaborosch C. Microbiología General. Barcelona: George Thieme Verlag de Stuttgart; 1997. 669 p.

34. García R, Reátegui M. Conservación de pulpa de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje” con aplicación de métodos de factores combinados. RAIA. 2002; 2(1):59–68 p.
35. Guerra M, Madrigal L, Hidalgo G. Caracterización físico-química del fruto de la palma de moriche (*Mauritia flexuosa*) y de harina del tronco. 2011. 1-12 p.
36. Riverón F, Hernández J, Machado C. Resistencia Bacteriana. Rev Cubana Med Milit. 2003; 32(1):44–80 p.
37. Chitiva R, Dussan J. Evaluación de materiales para la inmovilización de *Pseudomonas spp.* en biorremediación de fenol. Rev Colombiana Biotecnol. 2003; 5(2):5–10 p.
38. Koolen H, da Silva F, Gozzo F, de Souza A, de Souza A. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.). 2013 Apr; 51(2):467–73 p.
39. Silveira C, Pessanha C, Lawrence M, Neves Junior I, Menezes F, Kaplan M. La actividad antimicrobiana de los frutos de *Syagrus oleracea* y *Mauritia vinifera*. Rev Bras Farmacogn. 2005 Jun; 15(2): 3 p.
40. Gutiérrez J. Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos. Ediciones Díaz de Santos; 2000. 606 p.
41. Silva M. Epidemiología: [Internet]. 2007 [cited 2016 Nov 7]. Available from: http://7staphylococcus-aureus.blogspot.com/2007/11/epidemiologa_2543.html
42. Ingraham J. Introducción a la Microbiología. Vol. 2. 1998. 784 p.

43. Hurtado M, Parte D, Brito A. *Staphylococcus aureus*: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. Rev Soc Venez Microbiol. 2002 Jul; 22(2):112–8 p.
44. López V. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Lima: Guzlop; 2011. 197 p.
45. http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_11.pdf. Consultado: 30 de enero 2017. pág. 202 p.

X. ANEXOS

ANEXO N° 01: Mapa de la ciudad de Iquitos con las cuatro zonas de muestreo: el distrito de Punchana, Iquitos, Belén y de San Juan Bautista.



ANEXO N° 02: Mapa de ubicación del laboratorio donde se realizaron los ensayos microbiológicos (Ciudad de Iquitos).



Fuente: Google earth

ANEXO N° 03: Obtención de la muestra Post cosecha, maduración y acondicionamiento para la venta.

Etapa: Post cosecha



Llevar al laboratorio para realizar los análisis correspondientes.

Colocar las muestras de los frutos verdes con cáscara en un frasco con 100 ml de agua esterilizada.

Etapa: Maduración



Llevar al laboratorio para realizar los análisis correspondientes.

Colocar 100 ml de agua donde se encuentran los frutos maduros con cáscara en un frasco estéril.

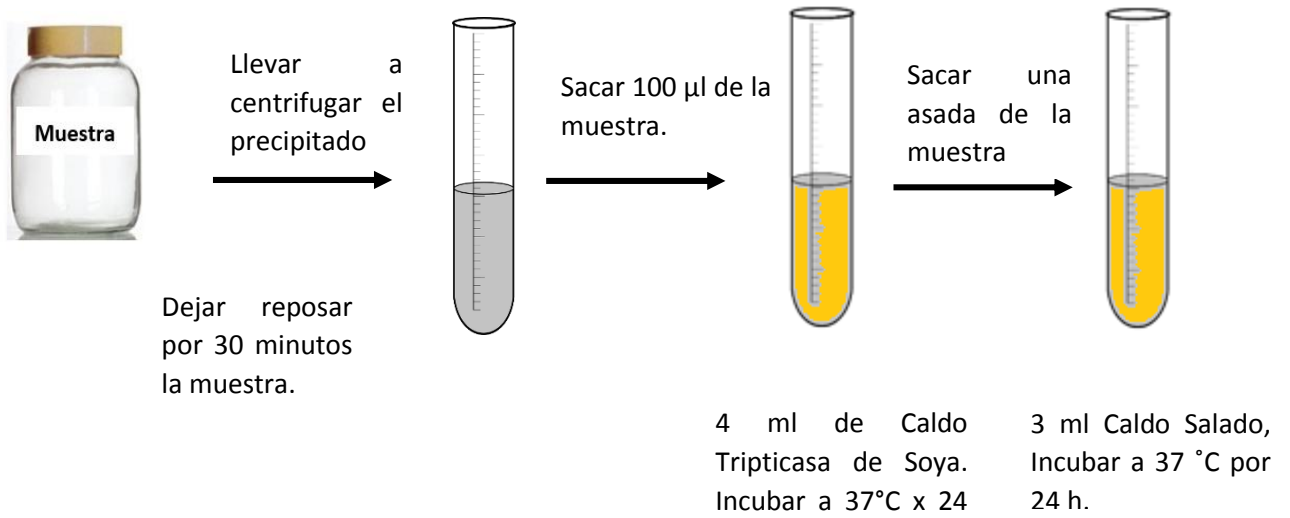
Etapa: Acondicionamiento para la venta



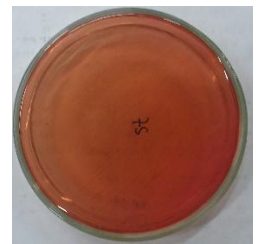
Llevar al laboratorio para realizar los análisis correspondientes.

Colocar los frutos maduros sin cáscara en un frasco con 100 ml de agua estéril.

ANEXO N° 04: Flujoograma de Trabajo de *Staphylococcus aureus*.

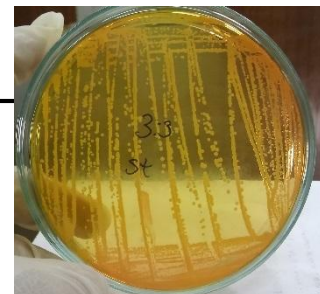


Agar Manitol salado. Incubar a 37°C x 24 h.



Sembrar una asada a una placa con agar e Incubar a 37°C durante 24 h, los que presentaron turbidez se sembraron en las placas.

Incubar por 24 horas a 37 °C



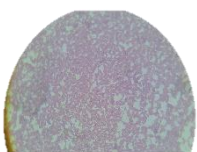
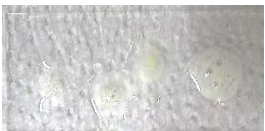
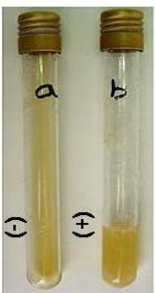
Observar aquellas colonias brillantes.

Siembra de colonias típicas con TSA

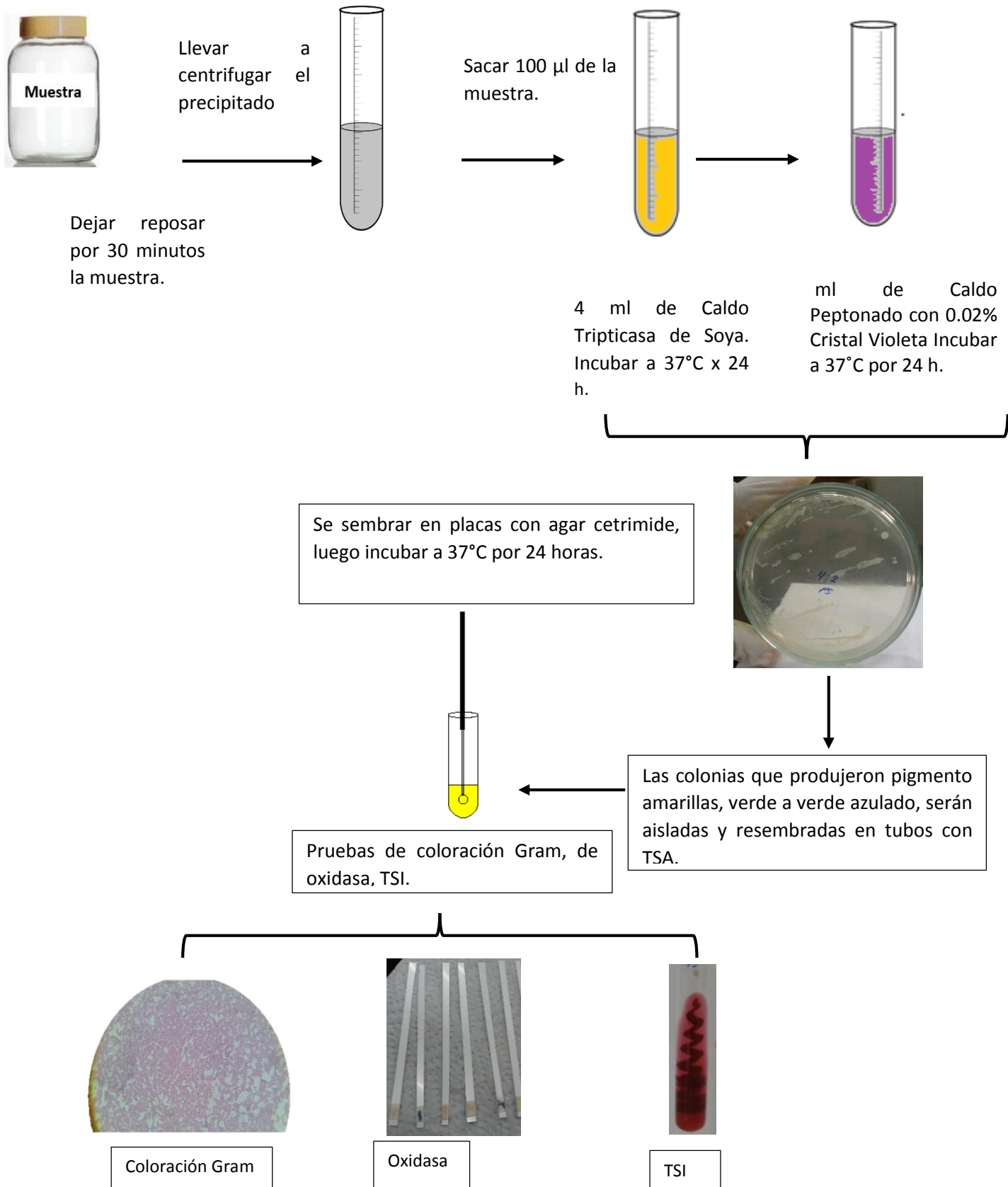
Realizar la prueba de coagulasa

Realizar la prueba de Catalasa

Realizar la coloración Gram.



ANEXO N° 05: Flujograma de Trabajo de *Pseudomonas aeruginosa*.



ANEXO N° 06: Materiales de Laboratorio.

Equipos



Fotografía N° 01: Horno Pasteur.



Fotografía N° 02: Autoclave.



Fotografía N° 03: Cámara de flujo laminar.



Fotografía N° 04: Microondas.



Fotografía N° 05: Centrifuga.



Fotografía N° 06: estufa.

ANEXO N° 07: Muestras recolectadas.



Fotografía N° 07: las 3 etapas.

ANEXO N°08: Recolección de la 2da etapa en el área de muestreo.

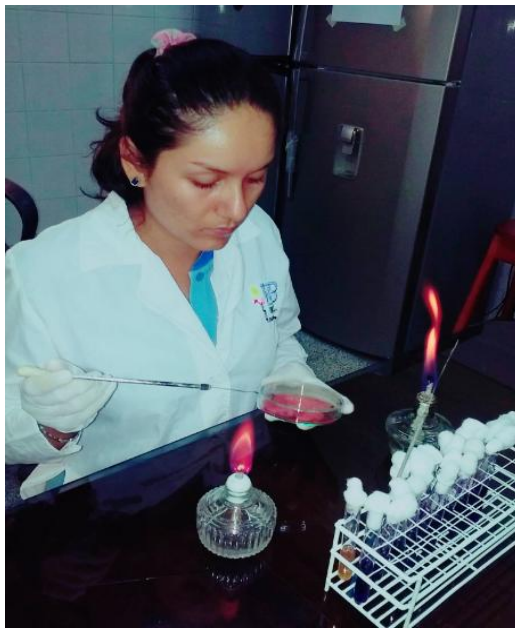


Fotografía N° 08: Recolección de la 2 da etapa.



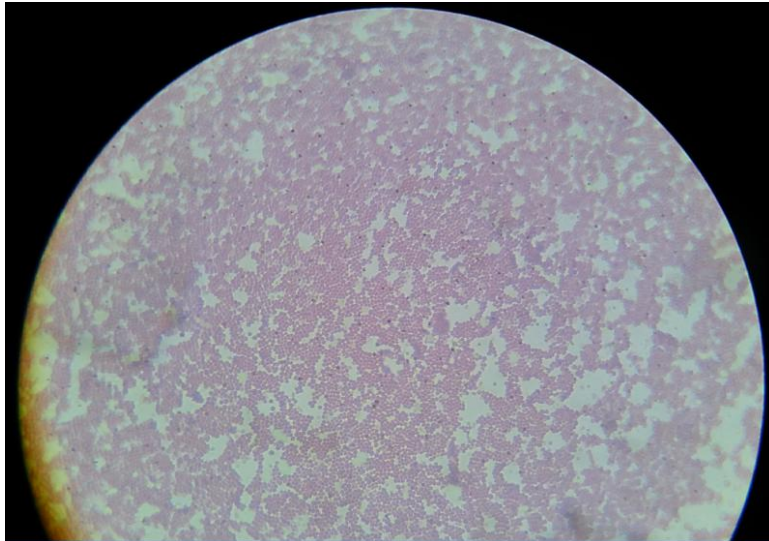
Fotografía N° 09: Recolección de la 1era etapa y 3era etapa.

ANEXO N° 09: Observación de las muestras en el laboratorio.



Fotografía N° 09: Siembra en agar manitol saldo.

ANEXO N° 10: Confirmación de *Staphylococcus aureus*.



Fotografía N° 10: observación de colonias en forma de cocos.

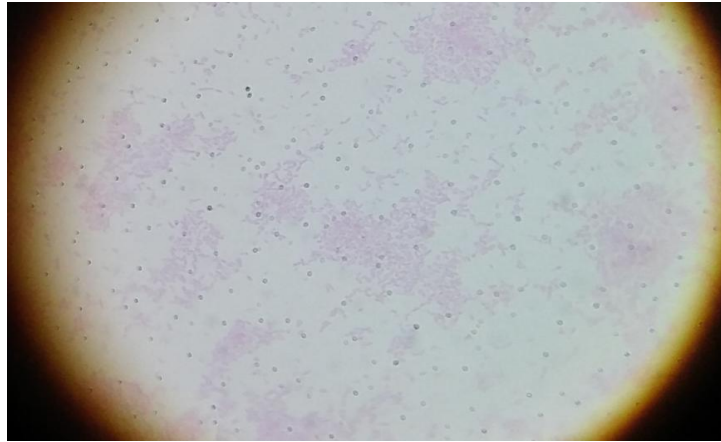


Fotografía N° 11: Coagulasa (+).



Fotografía N° 12: Catalasa (+).

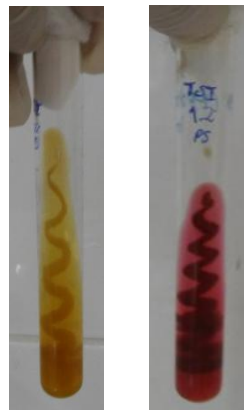
ANEXO N° 11: Confirmación de *Pseudomonas aeruginosa*.



Fotografía N° 13: Observación de colonias en forma de bacilos.



Fotografía N° 14: Prueba de la oxidasa; tira color azul (+).



Fotografía N° 15: TSI color amarillo (-) rojo (+).

ANEXO N° 12: pH en las muestras de las 3 etapas.



Fotografía N° 16: pH en la 1era etapa (post cosecha).



Fotografía N° 17: pH en la 2da etapa (maduración).



Fotografía N°18: pH en la 3 era etapa (acondicionamiento para la venta).