



Potencial de incorporación postcosecha de microorganismos patógenos en estructuras frutales*

Postharvest intake potential of pathogenic microorganisms in fruit structures

Gabriela Davidovich-Young¹, Ruth De la Asunción-Romero¹, Óscar Acosta-Montoya¹

* Recepción: 8 de febrero, 2023. Aceptación: 30 de agosto, 2023. Esta revisión se realizó en el marco del proyecto de investigación “Evaluación del potencial de infiltración de microorganismos patógenos durante el proceso de lavado de banano por inmersión y cinéticas de sobrevivencia de *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 durante la maduración del fruto” 735-B9-600, Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

¹ Universidad de Costa Rica, Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, San José 11501-2060, Costa Rica. gabriela.davidovich@ucr.ac.cr (autor para la correspondencia; <https://orcid.org/0000-0001-6221-4141>); ruth.delaasuncion@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0003-4507-6407>); oscar.acosta@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0001-8156-6556>).

Resumen

Introducción. En los últimos años se ha visto un aumento en el consumo de productos agrícolas frescos, lo que genera preocupación por brotes alimentarios relacionados con estos, debido a la incorporación de microorganismos patógenos en los frutos. Los aspectos relacionados con esta incorporación han sido estudiados en algunos frutos, sin embargo, no se ha logrado esclarecer todo lo asociado con este tema. **Objetivo.** Investigar y resumir lo relacionado con la incorporación de microorganismos patógenos en estructuras frutales. **Desarrollo.** Este trabajo se realizó en Costa Rica entre julio de 2021 y setiembre de 2022; en él se contrasta la definición de internalización e infiltración y se describen las condiciones que favorecen la incorporación de microorganismos patógenos en los frutos, así como las vías de entrada y los patrones de distribución de los microorganismos incorporados. También se discuten las estrategias de control para prevenir la incorporación de patógenos en dichas estructuras. **Conclusión.** La mayoría de las investigaciones sobre la incorporación de microorganismos patógenos en frutos se concentran en pocos productos y rinden resultados diversos y a veces contradictorios. Resulta pertinente orientar investigaciones futuras hacia la valoración del fenómeno en condiciones más cercanas a las de operaciones comerciales de interés, así como reforzar las estrategias que aseguren una adecuada implementación de las buenas prácticas agrícolas y las buenas prácticas de manufactura.

Palabras clave: infiltración, bacterias, frutas, tecnología postcosecha.

Abstract

Introduction. In recent years, there has been an increase in the consumption of fresh agricultural products, raising concerns about foodborne outbreaks related to these products due to the incorporation of pathogenic microorganisms into the fruits. The aspects related to this incorporation have been studied in some fruits; however, not everything associated with this issue has been clarified. **Objective.** To investigate and summarize the incorporation of pathogenic microorganisms into fruit structures. **Development.** This work was conducted in Costa Rica between July 2021 and September 2022. It contrasts the definition of internalization and infiltration and describes the conditions



that favor the incorporation of pathogenic microorganisms into fruit, as well as the routes and distribution patterns of the incorporated microorganisms. Control strategies to prevent the incorporation of pathogens into these structures are also discussed. **Conclusion.** Most research on the incorporation of pathogenic microorganisms into fruits focuses on a few products and yields diverse and sometimes contradictory results. It is pertinent to direct future research towards evaluating the phenomenon under conditions closer to those of commercial operations of interest and to reinforce strategies that ensure the proper implementation of good agricultural practices and good manufacturing practices.

Keywords: infiltration, bacteria, fruits, postharvest technology.

Introducción

A medida que ha aumentado el consumo de productos frescos, se ha observado un incremento en la probabilidad de que estos causen enfermedades y brotes relacionados con patógenos microbianos (Carstens et al., 2019; Deering et al., 2012; Erickson, 2012). La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés), define el término patógeno de transmisión alimentaria como una bacteria, virus o parásito que puede contaminar los alimentos y causar enfermedad (Lampel et al., 2012).

Entre los años 2010 y 2017, ocurrieron 1797 brotes de origen alimentario en Estados Unidos, de los cuales el 12,7 % (228) se atribuyeron a productos frescos (Carstens et al., 2019; Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2022a). Otro dato relevante es que entre el año 2018 y 2021, se han reportado al menos diez brotes multiestatales en Estados Unidos relacionados con patógenos como *Cyclospora* sp., *Salmonella* sp., y *Listeria monocytogenes*. Los alimentos vinculados incluyen frutos y vegetales precortados, por ejemplo, papaya, melón, cebollas, entre otros. En algunos casos los patógenos se encuentran en la superficie del alimento, mientras que, en otros, el patógeno se incorpora en este (CDC, 2022b).

En la producción de frutos y vegetales frescos, se adoptan las buenas prácticas agrícolas y de manufactura para ofrecer alimentos inocuos. Las buenas prácticas agrícolas son un conjunto de acciones que dan como resultado alimentos y productos agrícolas no alimentarios inocuos, con base en la sostenibilidad económica, social y ambiental (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2012; Lefebvre et al., 2015). Las buenas prácticas de manufactura son condiciones de infraestructura y procedimientos establecidos para todos los procesos de producción y control de alimentos, bebidas y productos afines, con el objeto de garantizar la calidad e inocuidad de dichos productos según normas aceptadas a nivel internacional (Presidencia de la República et al., 2012). Además de las prácticas de prevención antes descritas, cuando hay contaminación microbiológica en productos frescos, el lavado y la desinfección se convierten en la primera línea de defensa, puesto que no hay otras etapas de reducción microbiológica en este proceso productivo (Bartz, 2006). El problema con esta operación es que no siempre resulta efectiva, debido a la incorporación de los microorganismos patógenos en el fruto, tema que se abordará a lo largo de esta revisión.

El objetivo de esta revisión bibliográfica fue investigar y resumir la información relacionada con la incorporación de microorganismos patógenos en estructuras frutales. Para esto, se recopiló la literatura científica disponible en bases de datos, tanto en idioma inglés como en español.

Se realizó una búsqueda de revisiones de literatura en Web of Science, con el empleo de los términos “infiltr*” or “internaliz*” y “fruit*” or “plant*” or “produce*” en el título. Fueron seleccionados tres documentos que cumplen con los cuatro criterios de inclusión sobre la temática a desarrollar: incorporación, postcosecha, microorganismos patógenos y frutos. Luego, se revisaron las referencias de esas revisiones de literatura y fueron seleccionadas aquellas publicaciones que cumplieron con los cuatro criterios de inclusión. Se empleó Google Scholar, se

revisaron las publicaciones que citan las revisiones de literatura y fueron seleccionadas aquellas que cumplieron con los criterios. Con el objetivo de validar la búsqueda y selección, para las publicaciones seleccionadas, se aplicó el mismo proceso de revisión de referencias y citas.

Se excluyeron de esta revisión los artículos científicos relacionados con incorporación de microorganismos en otras etapas de producción diferentes a postcosecha, así como incorporación en otras estructuras que no sean las frutales, como tallos y flores.

Infiltración e internalización

En el contexto de las ciencias biológicas, la internalización se refiere al proceso a través del cual una partícula atraviesa la superficie de una masa y es incorporada en ella (Erickson, 2012). Los microorganismos patógenos que se internalizan podrían estar localizados en diferentes zonas de estructuras frutales, tales como el tejido vascular o intercelular, estomas o grietas en la cutícula, o bien en hendiduras (Erickson, 2012).

La internalización corresponde al movimiento de microorganismos hacia espacios intercelulares del tejido vegetal y con frecuencia se produce por canales de agua, los cuales proveen una conexión continua entre la superficie de la estructura frutal y sus células interiores (por ejemplo, cuando la superficie de un fruto se encuentra húmeda). Cuando el agua, que podría contener los microorganismos patógenos, entra en contacto con estos canales, es internalizada por fuerzas capilares internas. Las zonas más comunes en las que se presentan canales de agua son a través de daños superficiales recientes y cicatrices del tallo, congestionadas con agua (Bartz et al., 2021).

La infiltración corresponde al ingreso de agua en superficies secas y ocurre cuando la presión externa del líquido en contacto con la superficie del fruto sobrepasa la resistencia hidrofóbica natural de la cera o la presencia de aire en las aperturas de la superficie del tejido vegetal. Por ejemplo, la infiltración podría ocurrir cuando se sumergen frutos en agua a menor temperatura (al enfriarse el fruto, se produce un vacío en el interior que hace ingresar el agua y los microorganismos que contiene) o cuando los frutos son sujetos a una alta presión de agua, ya sea por inmersión (presión hidrostática) o durante el transporte en canales de agua (Bartz et al., 2021).

El proceso de internalización a través del cual los microorganismos ingresan al apoplasto puede ser activo o pasivo. Durante la internalización activa, los microorganismos ingresan a través de la superficie del tejido vegetal hacia los espacios intracelulares, de forma consistente con la actividad mostrada por los patógenos de las plantas (a través de la cutícula, estomas, lenticelas, hidátodos o daños superficiales). La internalización pasiva implica que los microorganismos son acarreados en el apoplasto a través de un objeto que causa daño en el tejido, o por la penetración en las aperturas de agua, aerosoles o partículas que contienen los microorganismos (Bartz, 2006).

Hay autores que se refieren al término internalización con respecto a la incorporación de patógenos bacterianos en tejidos vegetales, y la información reportada en la literatura permite establecer dos principales rutas de ingreso: (a) a través de aperturas naturales en la superficie de la planta y/o espacios producidos por daño biológico o físico, y (b) mediante el transporte acuoso hacia el interior del tejido (Deering et al., 2012).

El ingreso de microorganismos de fuentes ambientales y superficies vegetales hacia el interior del apoplasto se denomina de manera general internalización, fenómeno que puede ocurrir de forma activa o pasiva. Se produce de forma activa si el microorganismo emplea actividad propia (por ejemplo, flagelar) para introducirse a través de una columna de fluido hacia el tejido vegetal, mientras que la forma pasiva corresponde a la suspensión del microorganismo en agua externa que se incorpora a través de aperturas en la superficie, debido a procesos físicos (Bartz et al., 2015).

El uso de los términos infiltración e internalización no se encuentra estandarizado entre diferentes fuentes de literatura científica, pero ambos términos se refieren, de manera general, a la incorporación de microorganismos en frutos, independiente de la vía o mecanismo. A lo largo de este documento se empleará el término incorporación, aunque las referencias citadas bien podrían indicar infiltración, internalización o incluso ambos.

Principales hallazgos sobre incorporación de microorganismos

La incorporación de microorganismos en frutos se ha analizado desde el año 1977, cuando Segall et al. (1977) estudiaron el efecto de la temperatura del agua de los tanques de lavado en el deterioro del tomate (*Solanum lycopersicum*), producto en el cual ha sido estudiado este fenómeno con mayor frecuencia. Los principales resultados con respecto a incorporación de microorganismos en tomate se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Principales resultados reportados en la literatura sobre la incorporación de microorganismos patógenos en el fruto de tomate (*Solanum lycopersicum*).

Table 1. Main results reported in the literature on the incorporation of pathogenic microorganisms in tomato fruit (*Solanum lycopersicum*).

Microorganismo	Principales resultados	Referencia
<i>Salmonella</i> Montevideo	Incorporación del microorganismo, efecto significativo del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa	Zhuang et al. (1995)
<i>Salmonella</i> Typhimurium y <i>Escherichia coli</i> O157:H7	Incorporación de los microorganismos	Ibarra-Sánchez et al. (2004)
<i>Salmonella</i> Thompson	Incorporación del microorganismo, efecto no significativo del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa; efecto significativo de variedad de fruto, interacción de los factores variedad de fruto y tiempo posterior a remoción del tallo	Xia et al. (2012)
<i>Salmonella</i> Newport	Incorporación del microorganismo, efecto significativo del tiempo de inmersión del fruto en la suspensión acuosa, interacción de los factores tiempo de inmersión y diferencial de temperatura; efecto no significativo de profundidad de inmersión	Zhou et al. (2014)
<i>Salmonella enterica</i> (6 serovares)	Incorporación del microorganismo, efecto significativo del tiempo de inmersión del fruto en la suspensión acuosa; efecto no significativo del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa; efecto variado de condiciones experimentales de grado de madurez del fruto	Turner et al. (2016)

A través del tiempo, se continuaron los estudios de los fenómenos de incorporación de microorganismos en diferentes frutos, se valoraron distintos patógenos y el impacto de tratamientos postcosecha variados en este proceso, tales como hidrogenfriamiento y lavado. Sin embargo, como se evidencia a lo largo de esta revisión de literatura, aún existen resultados que contrastan entre los estudios de algunos autores.

Los principales resultados de incorporación de microorganismos reportados en la literatura, con respecto a distintos frutos, se muestran en el Cuadro 2, los cuales van del año 1999 al 2019, año en el que son reportados los resultados más recientes sobre el tema. Esto demuestra la relevancia de este tópico en el tiempo y sugiere que aún quedan interrogantes por resolver. Así también, estos estudios sirven de base para el desarrollo de nuevas investigaciones por otros autores, ya que dan pautas acerca de sitios de incorporación de patógenos, motivos para que se de dicha incorporación, diferencias entre estructuras frutales, entre otros.

Cuadro 2. Principales resultados reportados en la literatura sobre la incorporación de microorganismos patógenos en otros frutos.

Table 2. Main results reported in the literature on the incorporation of pathogenic microorganisms in other fruits.

Fruto	Microorganismo	Principales resultados	Referencia
Manzana (<i>Malus domestica</i>)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Incorporación del microorganismo, posible efecto del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa, independiente de condiciones experimentales de variedad del fruto	Buchanan et al. (1999)
Manzana	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Incorporación del microorganismo, independiente de condiciones experimentales de diferencial de temperatura y presión	Burnett et al. (2000)
Manzana	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Incorporación del microorganismo	Burnett & Beuchat (2002)
Mango (<i>Mangifera indica</i>)	<i>Salmonella</i> Enteritidis	Incorporación del microorganismo, independiente de condiciones experimentales de grado de madurez del fruto	Penteado et al. (2004)
Naranja (<i>Citrus sinensis</i> Valencia)	<i>Salmonella</i> Enteritidis y <i>Escherichia coli</i> O157:H7	Incorporación de los microorganismos, independiente de condiciones experimentales de diferencial de temperatura (no evaluadas por inmersión); efecto significativo de tamaño de daño superficial y nivel de inoculación	Eblen et al. (2004)
Melón (<i>Cucumis melo</i>)	<i>Salmonella</i> Poona (5 cepas)	Incorporación del microorganismo en corteza, efecto variado de condiciones experimentales de diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa y variedad del fruto	Richards & Beuchat (2004)
Mango	<i>Salmonella enterica</i>	Incorporación del microorganismo	Branquinho Bordini et al. (2007)
Mango	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Incorporación del microorganismo	Soto et al. (2007)
Aguacate (<i>Persea americana</i> Hass)	<i>Listeria monocytogenes</i>	Incorporación del microorganismo	Chen et al. (2016)
Melón	<i>Listeria monocytogenes</i>	Incorporación del microorganismo, efecto no significativo del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa; efecto variado de condiciones experimentales de variedad del fruto y técnica de cosecha	Macarisin et al. (2017)
Banano (<i>Musa acuminata</i>)	<i>Escherichia coli</i>	Sin evidencia de incorporación del microorganismo	Girón Revolorio et al. (2019)

Condiciones que favorecen la incorporación de microorganismos

El manejo postcosecha de muchos frutos establece la realización de operaciones de limpieza y enfriamiento previo al almacenamiento, donde es común el uso de agua en operaciones como limpieza, transporte y enfriamiento de frutos. El hidrogenfriamiento del producto (empleo de duchas o inmersión) o lavado con agua a una temperatura menor que la temperatura de los frutos, promueven la incorporación de microorganismos. Bajo estas condiciones, se produce un diferencial negativo de presión, como resultado de la contracción de espacios con aire en el interior del fruto (Erickson, 2012). Podría ocurrir la incorporación de microorganismos cuando el producto es sujeto al contacto con agua a una alta presión; por ejemplo, durante el transporte en canal, limpieza o por efecto de la presión hidrostática durante su inmersión (Bartz et al., 2021).

En el caso de la presión hidrostática, su efecto sería aditivo al diferencial de presión asociado con el diferencial de temperatura ya mencionado y el aumento de presión, producto de la profundidad de inmersión, se produciría de forma rápida. Además, la presión hidrostática podría deformar los alimentos y producir la salida de aire ocluido en los tejidos. Al removerse la presión hidrostática, el producto es probable que recupere su volumen original, lo cual producirá un diferencial interno de presión, el cual permitirá la incorporación de agua (Bartz, 2006). Un estudio que demuestra lo anterior, es en el que hubo ingreso de agua en tomates mantenidos a 8 cm bajo la superficie de un baño de agua (Bartz & Showalter, 1981).

En la literatura se ha reportado de manera consistente la evaluación del efecto del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa sobre la incorporación de microorganismos patógenos. Los resultados de la evaluación de este efecto serán detallados para cada uno de los frutos que se indican en el Cuadro 1 y en el Cuadro 2. También ha sido abordado el efecto del tiempo (Turner et al., 2016; Zhou et al., 2014), así como los efectos de otras variables. Se ha evaluado el efecto de la variedad (Buchanan et al., 1999; Macarisin et al., 2017; Richards & Beuchat, 2004; Xia et al., 2012) y del grado de madurez del material vegetal (Penteado, et al., 2004; Turner et al., 2016), efectos de la presión (Burnett et al., 2000) y de la profundidad de inmersión (Zhou et al., 2014), así como otros relacionados con técnica de cosecha (Macarisin et al., 2017), tiempo posterior a la remoción del tallo (Xia et al., 2012) y grado de daño superficial en el fruto (Burnett & Beuchat, 2002; Eblen et al., 2004).

La incorporación de microorganismos patógenos como resultado de un diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa, ha sido reportada en aguacate (*Persea americana* Hass) al producirse hidrogenofriamiento (Chen et al., 2016), así como en mango (*Mangifera indica*), posterior a un proceso de tratamiento hidrotérmico de desinfección seguido de hidrogenofriamiento (Branquinho Bordini et al., 2007; Penteado et al., 2004; Soto et al., 2007). En el caso de naranja (*Citrus sinensis* Valencia), se ha reportado la incorporación como resultado de un diferencial de temperatura (diferenciales evaluados de 33 °C y 13 °C), pero no realizado por inmersión, sino como resultado de inoculación en las cicatrices del tallo (con el empleo de una única gota de inóculo sobre la superficie) y enfriamiento en aire (Eblen et al., 2004).

Con respecto al melón (*Cucumis melo*), se reportó la incorporación de microorganismos patógenos por efecto de un diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa, pero es posible que esté relacionado con la estructura superficial de este. Se mostró que un diferencial de temperatura negativo de 26 °C (fruta a 4 °C, disolución de inóculo a 30 °C) promovió la incorporación (Richards & Beuchat, 2004). También se ha reportado la incorporación de microorganismos patógenos como resultado de un diferencial de temperatura, pero se encontró un efecto no significativo del diferencial de temperatura sobre el grado de incorporación, determinado como nivel de población del microorganismo incorporado en el tejido (Macarisin et al., 2017).

En el caso de la manzana (*Malus domestica*), se evidenció la incorporación de microorganismos patógenos y un posible efecto del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa sobre el grado de incorporación (Buchanan, et al., 1999), así como efectos no significativos entre condiciones experimentales de diferencial de temperatura sobre el grado de incorporación (Burnett et al., 2000). De manera independiente pero relacionada, ha sido reportada la incorporación de microorganismos patógenos al producir un diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa (Burnett & Beuchat, 2002).

Para el tomate, ha sido reportada la incorporación de microorganismos patógenos, así como un efecto significativo del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa, encontrándose una mayor incorporación cuando la temperatura de la suspensión acuosa era menor (Zhuang et al., 1995), así como la incorporación de microorganismos patógenos aun cuando la temperatura del producto es similar a la del agua de inmersión (Ibarra-Sánchez et al., 2004). Se han reportado efectos no significativos del diferencial de temperatura entre el fruto y la suspensión acuosa sobre el grado de incorporación del microorganismo patógeno (Xia et al., 2012).

También en tomate, se ha visto una interacción significativa entre los factores tiempo de inmersión y diferencial de temperatura sobre el grado de incorporación del microorganismo patógeno, presentándose un efecto positivo del

diferencial de temperatura cuando el tiempo de inmersión aumenta (Zhou et al., 2014). Se ha reportado un efecto significativo del tiempo de inmersión, pero un efecto no significativo del diferencial de temperatura sobre el grado de incorporación del microorganismo patógeno (Turner et al., 2016).

No hubo evidencia de incorporación de *E. coli* en banano (*Musa acuminata*), al simularse las condiciones de desleche por inmersión. Sin embargo, no se controló ni documentó un diferencial de temperatura durante el experimento (Girón Revolorio et al., 2019).

Los resultados parecen indicar que reducir el diferencial de temperatura entre el fruto y el agua (independiente de su uso), podría reducir el riesgo de incorporación de microorganismos patógenos en suspensión acuosa. Sin embargo, la magnitud de la reducción de este diferencial de temperatura no ha sido determinada y no podría establecerse como única medida de control del peligro, dado que hay evidencia de incorporación en condiciones de inmersión en agua, pero en ausencia de este diferencial, como se ha demostrado en tomate (Ibarra-Sánchez et al., 2004). Una reducción del tiempo de inmersión podría reducir el riesgo de incorporación, pero no eliminarlo. Resulta relevante recalcar que la incorporación de microorganismos patógenos en frutos podría tener lugar incluso sin que se produzca una inmersión, por ejemplo, a través de ingreso directo por las cicatrices del tallo (Eblen et al., 2004).

Vías de entrada y patrones de distribución de microorganismos

Como ha sido planteado en el apartado anterior, el potencial de entrada de microorganismos patógenos al interior de los frutos en la fase de postcosecha puede ser afectado por distintas condiciones de proceso (Zhou et al., 2014).

Resultan también relevantes la estructura y otras características de la superficie del producto y del tejido vascular (Zhou et al., 2014), como elementos que influyen en los efectos que puedan tener las condiciones ambientales y de operación en el ingreso de microorganismos patógenos o de deterioro. El conocimiento de las vías de entrada y los patrones de distribución de los microorganismos incorporados en el interior de diferentes estructuras frutales, es esencial para minimizar este fenómeno, puesto que los agentes desinfectantes que puedan emplearse en las etapas de postcosecha no podrán ejercer su efecto sobre los patógenos que residan dentro de las estructuras frutales (Erickson, 2012).

De manera general, el ingreso de bacterias al tejido se da a través de aberturas naturales en la superficie (estomas, lenticelas, hidátodos, uniones laterales de las raíces, inflorescencias) y de aberturas derivadas del daño físico, como heridas o cortaduras, accidentales o de proceso, o del daño biológico (Bartz, 2006; Deering et al., 2012; Erickson, 2012). Entre los frutos, en los cuales la incorporación de patógenos ocurre a través de la cicatriz de corte o arranque, se incluyen tomate (Turner et al., 2016), naranja, toronja (Merker et al., 1999), manzana (Buchanan et al., 1999; Burnett et al., 2000), mango (Branquinho Bordini et al., 2007) y melón cantaloupe (Macarisin et al., 2017).

En el caso de tomate, un estudio señaló que *S. enterica* parece cambiar de lugar dentro del tejido, aunque la vía de ingreso en general es a través del corte del tallo o del tejido de la cicatriz (Bartz et al., 2015), que es poroso de acuerdo con Xia et al. (2012). En frutos con el tallo removido, el avance de disoluciones coloreadas se presentó alrededor de la columela, mientras que, en frutos con el tallo adherido, la incorporación resultó evidente debajo de la cutícula en el borde del tallo, hacia los hombros del fruto. El tener el tallo adherido muestra un aparente efecto protector al ingreso de agua en tomate (Bartz & Showalter, 1981).

La profundidad de la incorporación de *S. enterica* en los tejidos de tomate fresco incrementó a mayores tiempos de inmersión. Con tiempos de 2 a 5 min, la incorporación fue localizada en el tejido central ubicado debajo de la cicatriz del tallo (hasta 7 mm), con una densidad de población de menos de 0,5 log UFC/g; con tiempos de inmersión de 10 a 15 min, las células llegaron hasta profundidades de 22 y 27 mm debajo de la cicatriz y la

población fue mayor, y excedió 3,0 log UFC/g (tiempo de inmersión de 15 min). Además, este estudio evidenció que las células bacterianas persistieron en el tejido central del fruto de tomate durante 14 días en almacenamiento (Zhou et al. 2014).

En un estudio de inmersión de tomate en una mezcla de seis diferentes serovares de *S. enterica*, se encontró que la incorporación del microorganismo fue más alta en el segmento debajo de la zona de abscisión, sin encontrar un efecto significativo del diferencial de temperatura (Turner et al., 2016). La incorporación de *S. Montevideo* en el tejido central del fruto de tomate a través de la cicatriz del tallo fue confirmada por Zhuang et al. (1995).

El aparente efecto protector del tallo adherido al fruto, mencionado en tomate, fue reportado también por Macarasin et al. (2017) en melón cantaloupe, con una mayor incorporación de *L. monocytogenes* en frutos sin tallo residual que en frutos cosechados con una porción corta del tallo adherido. La distribución de disoluciones coloreadas de *L. monocytogenes*, se extendió a través del mesocarpo epidérmico por medio de los haces vasculares a todo lo largo del fruto hasta el área del cáliz.

En aguacate Hass, se encontró que la incorporación de *L. monocytogenes* desde la superficie hacia porciones comestibles del fruto, también se daba a través del corte o cicatriz del tallo, cuando se inocula de forma directa y se simulan condiciones de hidrogenfriamiento. Esta bacteria fue detectada en la porción cercana a la cicatriz durante un almacenamiento de 15 días a 4 °C al usar inoculación directa (50, 130, 500, y 1300 UFC/fruto). Al simular hidrogenfriamiento en agua con 6 y 8 log UFC/ml del microorganismo, se detectó incluso en el extremo opuesto del fruto, aunque las concentraciones máximas (5,90 a 7,19 log UFC/g a 10 y 15 días de almacenamiento a 4 °C) se encontraron en la porción adyacente a la cicatriz (Chen et al., 2016).

En el caso de naranja y toronja, se determinó que el ingreso de la disolución de tinta (FD&C Blue No.1 brilliant blue CI 42090, 200 mg l⁻¹), ocurrió primero a través de la cicatriz del tallo y en segundo lugar, a través de pequeñas heridas de punción cicatrizadas que no fueron detectadas antes de los ensayos. No se encontraron señales de incorporación cuando el diferencial de temperatura era negativo (fruto frío, disolución tibia) y se determinó que la toronja es más susceptible a la incorporación que la naranja, debido a una posible mayor proporción de aire en el tejido, lo que resulta en un mayor diferencial de presión al este contraerse cuando el fruto se enfría (Merker et al., 1999).

La incorporación de *S. enterica* y de *E. coli* O157:H7 en naranja fue observada en inoculaciones en la cicatriz del tallo, así como a través de agujeros superficiales de diámetro 0,68 – 0,91 mm. Al sumergir el producto en una solución coloreada (200 mg ml⁻¹ de FD&C Blue No. 1) solo se observó incorporación al aplicar un diferencial de temperatura de 17 °C (fruto a 21 °C y agua a 4 °C). Las frecuencias de incorporación observadas en este estudio fueron muy bajas, lo cual se debe al largo tiempo transcurrido (de varias semanas) desde la cosecha al momento de las pruebas experimentales (Eblen et al., 2004).

En un estudio sobre la incorporación de *Salmonella* Typhimurium en pulpa de mango, el ingreso se dio a través de estructuras naturales, como elementos vasculares y lenticelas (Soto et al., 2007). Otros autores indicaron que la incorporación de *S. enterica* en mango se da a través del tallo y se distribuye en el fruto por medio del sistema vascular, incluso hasta el extremo floral, esto evidenciado con disoluciones coloreadas (Branquinho Bordini et al., 2007). Otro estudio demostró ingreso de tinta a través de la cicatriz del tallo, la cual llegó hasta la parte media del fruto (Penteado et al., 2004). Un comportamiento similar fue observado al usar *S. enterica*, donde el extremo floral mostró la menor incidencia del patógeno en frutos inmaduros y maduros (Penteado et al., 2004).

En manzana cv. Red Delicious, por el contrario, la vía de ingreso parece ser el extremo floral del fruto. Se determinó que la incorporación de *E. coli* O157:H7 por inmersión ocurre a través del tubo floral hacia la cavidad ventral y lóculos de las semillas, y que este patógeno puede adherirse a irregularidades de la cutícula cerosa de la superficie, así como penetrar el tejido en heridas de punción (Burnett et al., 2000). Otros autores encontraron células viables de *E. coli* O157:H7 en la pared del tubo floral, lenticelas y cutícula, dañada o no, luego de una inoculación por inmersión, lo que indica que el corazón de la manzana puede alojar altos números de células que quedan protegidas de tratamientos de desinfección (Burnett & Beuchat, 2002).

En otro estudio con cuatro variedades de manzana, en los tratamientos que mostraron incorporación de *E. coli* O157:H7, la mayor presencia del patógeno fue localizada en el corazón externo, entendido como la sumatoria del área cercana al extremo floral y al extremo del tallo, y llega en algunos tratamientos hasta la zona del corazón interno. En pruebas de penetración de tinta, estos mismos autores confirmaron que el ingreso se da por el extremo floral, y encontraron incorporación a través de la piel, sobre todo en áreas con daños superficiales (Buchanan et al., 1999).

En manzana cv. Red Delicious dañada con pequeñas rupturas o cortes, e inoculada con *E. coli* O157:H7, se encontró que este patógeno puede crecer y distribuirse dentro del tejido, causa degradación del citoplasma y ruptura de la membrana celular y el tonoplasto (Janes et al., 2005). En frutos de la misma variedad, se determinó que las células del patógeno pueden alojarse en grietas e irregularidades superficiales naturales, y en las placas de cera de la cutina, que quedan protegidas de procesos de desinfección (Kenney et al., 2001).

En el caso de banano, un estudio que simuló la etapa de lavado mediante inmersión en agua con 4,8 log UFC/ml de *E. coli* ATCC 25922 por 15 y 30 min, indicó que, aunque la cáscara presentó altos niveles de contaminación, no se detectó presencia del microorganismo en la parte comestible del fruto, se señalaron como posibles factores protectores la alta impermeabilidad de la cáscara y la presión positiva que ejerce el látex que emana del área de corte (Girón Revolorio et al., 2019). Sobre los riesgos de incorporación de microorganismos patógenos en este producto de alto volumen comercial a nivel mundial, hay estudios en desarrollo en la Universidad de Costa Rica (Azofeifa Zumbado, 2020; Brenes Fernández, 2022; Valverde Jiménez, 2020).

Existe evidencia de que, incluso sin alcanzar los tejidos internos de un producto vegetal, microorganismos patógenos pueden quedar fuera del alcance de tratamientos de desinfección. Diferentes estudios mencionan que las bacterias han sido capaces de ingresar en aberturas naturales como la cavidad subestomática en hojas y quedan protegidas de tratamientos de desinfección luego del cierre de las células guarda (Deering et al., 2012). También se pueden alojar dentro de grietas o rajaduras de la cutícula de diferentes productos frescos, como en la manzana (Burnett et al., 2000); en lechuga enfriada al vacío se han observado estomas agrandados, lo que podría favorecer la penetración de microbiota patógena (Erickson, 2012).

En estructuras superficiales complejas, como la del melón cantaloupe provista de una red porosa, la adherencia externa y la incorporación de patógenos en capas subyacentes a la cutícula es posible y se ve favorecida por la estructura, como se determinó con *Salmonella* Poona (Richards & Beuchat, 2004). Si bien este producto es consumido sin piel, los microorganismos patógenos alojados en la estructura de la cáscara y en la cicatriz del tallo pueden ser transferidos a la pulpa en operaciones de pelado o cortado.

En algunos productos, las características de la superficie continua, constituyen una barrera efectiva al ingreso de microorganismos. Por ejemplo, en aguacate Hass, no se encontró que agua teñida e inoculada con diferentes niveles de *L. monocytogenes* ingresara a través de la cáscara, solo a través de la cicatriz del tallo, al simular hidrogenofriamiento (Chen et al., 2016).

Algunos autores han señalado que el ingreso de agua en tomate se da a través de la cicatriz del tallo, debido a su gruesa pared celular, así como a que la epidermis posee gran cantidad de cutina y es carente de estomas, y que el tejido en la zona de corte o abscisión cambia sus características con el paso del tiempo; además, se encontró que el tiempo de espera previo a operaciones de lavado favoreció una menor incorporación de agua al estar el tejido menos congestionado (Turner et al., 2016). De igual manera, otros estudios indican que después de la cosecha, la porosidad al agua de la cicatriz del tallo en tomate, es máxima y luego disminuye con el paso del tiempo (Bartz, 2006; Xia et al., 2012).

La porosidad de las heridas a gases y a humedad cambia a lo largo del tiempo después de la cosecha, debido a la lignificación o suberización de capas de células o a la formación de capas de cierre como el peridermo (Bartz, 2006). Desde esta perspectiva, el tiempo de espera entre la remoción del tallo y las operaciones que requieren de inmersión en agua podría reducir la incidencia de incorporación de microorganismos patógenos como se sugiere

en el caso de tomate (Xia et al., 2012). Con naranja y toronja también se menciona el tiempo transcurrido desde la cosecha como una causa de baja incidencia de incorporación de microorganismos (Merker et al., 1999).

El uso de sustancias coloreadas mezcladas con el medio acuoso para observar el patrón de ingreso y distribución de fluidos incorporados dentro de la estructura frutal, ha resultado útil en diferentes estudios (Buchanan et al., 1999; Chen et al., 2016; Merker et al., 1999). En el caso de la incorporación de *L. monocytogenes* en aguacate, se encontró que el uso de tinta (1 % de acid blue 9) permitió guiar la toma de muestras de tejido interno, pero los patrones de penetración de tinta no fueron siempre consistentes con la incorporación bacteriana. Se observó que el tinte utilizado penetraba más en el fruto que las células, aunque todas las áreas con presencia del patógeno mostraron presencia del tinte (Chen et al., 2016).

Los estudios con tinte (0,1 % brilliant blue FD&C no.1) resultaron precisos al predecir el potencial de incorporación de patógenos en mango (Penteado et al., 2004). La posibilidad de usar suspensiones de partículas de carbón coloreadas, de tamaño promedio aproximado al de las bacterias, como la tinta india, en lugar de disoluciones de tinta, que en general muestran una mayor penetración en el tejido vegetal que las células bacterianas, es mencionada como una alternativa por Bartz et al. (2015).

Como una limitación de alcance general en varios estudios sobre ingreso de patógenos en productos frescos, se menciona la dificultad para llevar a cabo ensayos más allá del nivel de laboratorio, se recomienda escalar al menos al nivel de planta piloto (Chen et al. 2016; Macarisin et al., 2017).

Resulta indispensable la familiarización con las características de la estructura frutal de interés, en el marco del análisis de la efectividad de los diferentes procesos en los que podría existir riesgo de incorporación de microorganismos patógenos, a fin de determinar las condiciones adecuadas para la prevención de este fenómeno y favorecer la implementación de acciones preventivas para evitar la presencia de estos microorganismos en los medios líquidos que entran en contacto con el producto. Esto dado que, incluso sin alcanzar los tejidos internos del producto, los microorganismos patógenos podrían quedar ocultos o protegidos de los desinfectantes en estructuras de la superficie del producto (Deering, et al. 2012; Erickson, 2012), lo que resulta de especial preocupación en el caso de productos que se consumen sin pelar.

Resultan importantes todos los esfuerzos hacia la implementación de esquemas de buenas prácticas agrícolas en general, y en particular lo relacionado con la calidad microbiológica del agua utilizada en producción y en postcosecha, así como las estrategias relacionadas con buenas prácticas de manufactura, a fin de garantizar la ausencia de microorganismos patógenos y minimizar el riesgo de su incorporación a los productos.

Estrategias de control para prevenir la incorporación de microorganismos

Después de la cosecha algunos frutos y vegetales pasan por sistemas de lavado, canales de transporte con agua, sistemas de hidrogenfriamiento y otros similares. Estas operaciones podrían facilitar la incorporación de microorganismos en los frutos (Bartz & Showalter, 1981; Bartz, 1982; Erickson, 2012; Zhuang et al., 1995).

El potencial de incorporación de células viables en estas operaciones postcosecha es mayor si el agua está contaminada y los agentes antimicrobianos son ineficaces, debido a su baja concentración u otros factores (Food and Drug Administration [FDA], 1998). Se deben mantener niveles efectivos de desinfectantes en el agua que tiene contacto con los frutos durante la cosecha y el procesamiento posterior, para evitar la contaminación cruzada y la incorporación de patógenos y microorganismos de deterioro en el producto, en las superficies que presentan cortes o daños (Erickson, 2012).

Se pueden aplicar tratamientos desinfectantes para reducir los patógenos después del lavado (Zhuang & Beuchat, 1996); sin embargo, estos tratamientos están destinados a reducir los microorganismos en la superficie. Si los microorganismos están ubicados en el interior del producto, incluso justo debajo de la piel o cáscara, es posible

que el desinfectante no tenga contacto con estos, o que se inactive si es sensible a la materia orgánica (Wei et al., 1995; Zhang & Farber, 1996).

Lo anterior fue demostrado al desinfectar con cloro manzanas Red Delicious inoculadas con *E. coli* O157:H7, donde se obtuvo como resultado una mayor cantidad de células viables en las estructuras internas que en la superficie de estas (Burnett & Beuchat, 2002). Lo mismo sucedió al evaluar la desinfección con cloro (110 mg l⁻¹) de tomates verdes maduros inoculados con *Salmonella* Montevideo (5-6 log UFC/cm²), donde se demostró que la efectividad del cloro para disminuir la concentración del patógeno en el tejido del núcleo fue menor que su efectividad en la contaminación superficial (Zhuang et al., 1995).

El agua de contacto con los alimentos en las operaciones postcosecha deberá tener las concentraciones adecuadas de desinfectantes, a lo largo de todo el proceso y en el tiempo. Cuando se considere que el proceso de inmersión puede facilitar la incorporación de los microorganismos al interior de los frutos, se deberán usar sistemas de lavado y desinfección preliminares por medio de rociado, antes de continuar con las operaciones postcosecha por inmersión. Estos sistemas de rociado deberán garantizar la inocuidad del agua y tener una adecuada concentración de desinfectantes, para evitar la incorporación de microorganismos en esta etapa previa a la inmersión (FDA, 1998).

Está comprobado que los químicos como el ozono se degradan rápido en las operaciones de inmersión postcosecha, mientras que el cloro o ácido hipocloroso proveen ventajas (Bartz, 2006). Debido a lo anterior, la necesidad de evitar la contaminación cruzada del agua al fruto, en las operaciones postcosecha que requieren inmersión o rociado con agua, ha instaurado el uso de cloro como principal agente antimicrobiano. Si bien se ha reconocido su capacidad para reducir los microorganismos patógenos y de deterioro, ciertas desventajas han llevado a la búsqueda de nuevas alternativas de desinfección y prevención de la incorporación de microorganismos como el uso de agua electrolizada, ozono, ultrasonido, ultravioleta, entre otros tratamientos que pueden utilizarse de forma individual o combinados entre sí (Giannakourou & Tsironi, 2021; Girón Revolorio et al., 2019).

En un estudio se reportaron grandes cantidades de células de *E. coli* O157:H7 adheridas a la región del cáliz de manzanas y a todas sus estructuras centrales, lo que indica que el patógeno puede evadir el lavado mecánico, el tratamiento con productos químicos y otras intervenciones para reducirlo o eliminarlo (Burnett et al., 2000). En otra investigación, se lavaron manzanas durante 1 min con agua clorada (2000 mg l⁻¹ de hipoclorito de sodio) y luego se enjuagaron con agua potable, lo que logró reducciones en la extensión de la contaminación del núcleo externo y de la cáscara de las manzanas, aunque no se eliminó toda la población de *E. coli* O157:H7 (Buchanan et al., 1999).

Los estudios que se describen a continuación demuestran que en operaciones de hidrogenfriamiento hay incorporación de microorganismos y que, si se da este fenómeno, los tratamientos convencionales de descontaminación de superficies no reducirán ni eliminarán el peligro potencial de enfermedad de transmisión alimentaria, cuando se consuma el producto.

Con respecto a mango, algunos autores demostraron que el agua que ingresa al fruto durante el hidrogenfriamiento permitió la incorporación de *Salmonella* en la pulpa y sobrevive dentro del fruto durante al menos una semana (Penteado et al., 2004). Acerca de la incorporación de *L. monocytogenes* en melones, se encontró que el patógeno puede incorporarse en los frutos cuando se encuentra en el agua en concentraciones de 4 y 6 log UFC/ml (Macarisin et al., 2017) y se ha demostrado que los pimientos absorben agua durante el hidrogenfriamiento (Corey & Tan, 1990), lo que podría contribuir con la incorporación de patógenos.

En aguacates, se demostró que el hidrogenfriamiento con agua que contenía 6 y 8 log UFC/ml de *L. monocytogenes*, permitió la incorporación de este patógeno en el fruto (Chen et al., 2016). Otra investigación demostró que el ingreso de agua en fresas hidrogenfriadas permitió la incorporación pasiva de fitopatógenos suspendidos en el agua, cuando el agua no tenía suficiente cloro libre (Ferreira et al., 1996), por lo que existe la posibilidad de que patógenos para el ser humano se incorporen en este alimento.

Debido a la posibilidad de incorporación de distintos patógenos en frutos durante los procesos de hidrogenfriamiento, otros autores han investigado acerca de agentes como iones de cobre y desinfectantes, que

puedan colocarse en esta operación postcosecha y que impidan o reduzcan este fenómeno. Este es el caso de un estudio realizado con mangos (cv. Tommy Atkins), cuyo objetivo fue evaluar la efectividad del cloro y los iones cobre para reducir *S. Typhimurium* del agua (6 log UFC/ml) y evitar la contaminación de la pulpa. Tanto el cloro como los iones de cobre, utilizados en concentraciones de 5 y 8 mg l⁻¹ cada uno, redujeron el microorganismo en el agua (reducciones de 3 a 5 log UFC/ml) y evitaron la incorporación de este en el fruto; mientras que en el tratamiento control sin desinfectantes, hubo incorporación de 2 log UFC/g de *Salmonella* en la pulpa (Soto et al., 2007). Lo anterior indica que, tanto el cloro como los iones de cobre en las concentraciones analizadas, fueron efectivos en la prevención de la contaminación de la pulpa de los mangos; además, las regulaciones de Estados Unidos indican que una reducción de 2 log UFC/ml de microorganismos surrogados en el tanque de hidroenfriamiento, es considerada una reducción eficaz del microbicida utilizado (United States Environmental Protection Agency, 1997).

En tomates, una vez que los patógenos se incorporan, la aplicación de desinfectantes no es efectiva y la reducción de microorganismos es casi imposible, a menos que se realice un tratamiento térmico (Sapers, 2001; Zheng et al., 2013). Debido a lo anterior, el gobierno de Estados Unidos exige la implementación de buenas prácticas agrícolas y de manufactura a los productores de tomate. Este programa requiere que el agua utilizada en postcosecha tenga un nivel de cloro libre ≥ 150 mg l⁻¹, pH de 6,5 a 7,5, temperatura 5 °C mayor que la temperatura de la pulpa del fruto e inmersión total < 2 min a una profundidad $< 0,30$ m (Bartz et al., 2015; Florida Department of Agriculture and Consumer Services, 2015). Las condiciones antes descritas, podrían no ser adecuadas para controlar de forma efectiva la incorporación de *Salmonella* en tomates (Bartz & Showalter, 1981). Existen hallazgos contradictorios que indican que el calentamiento del agua de inmersión no previene la incorporación de microorganismos en tomate y que más bien, esta práctica puede ser perjudicial para la calidad del fruto (Ibarra-Sánchez et al., 2004; Segall et al., 1977).

El cloro como agente desinfectante en tomates, ha sido estudiado por diferentes autores a través de los años (Sapers, 2001; Wei et al., 1995; Xia et al., 2012; Zhou et al., 2014; Zhuang et al., 1995). La cloración del agua en las empacadoras no desinfecta los tomates contaminados, pero sí reduce el número de microorganismos capaces de incorporarse en frutos sanos (Zhou et al., 2014). Resultados similares se encontraron al desinfectar tomates (100 mg l⁻¹, 2 min, a temperatura ambiente) inoculados con *S. Montevideo*, donde se logró reducir el patógeno, pero no eliminarlo, tanto de las superficies del fruto como de las cicatrices del tallo (Wei et al., 1995). Un estudio que evaluó la profundidad de los tomates en los tanques de descarga señala que, si los tomates se sumergen a una profundidad de 91 cm, se produce una rápida incorporación con agua contaminada, mientras que si la profundidad a la que se sumergen los tomates es < 61 cm y se mantienen como una sola capa de frutos, la incorporación es mucho menor (Zhou et al., 2014).

En un estudio que analizó el efecto del diferencial de temperatura en la incorporación de *S. enterica*, cuando las condiciones de tiempo (2 min) y profundidad (no más de dos capas de tomates) se mantuvieron constantes, se demostró que no hubo efecto del diferencial de temperatura en la incorporación del patógeno y que el efecto es limitado en cuanto a la cantidad de células que se incorporan (Xia et al., 2012). Este y otros estudios indican que el hecho de reducir la concentración de células en el agua de inmersión, permite una menor incorporación de los patógenos (Xia et al., 2012; Zhou et al., 2014), mientras que el control de temperatura podría no siempre ser efectivo.

Debido a lo anterior, es crítico mantener la concentración de desinfectante en los tanques de descarga y canales de transporte, para evitar la sobrevivencia e incorporación de patógenos, así como de microorganismos de deterioro en los frutos, o buscar tratamientos alternativos a esta desinfección por medio del uso de agua tratada con tecnologías emergentes como ozono, ultravioleta, ultrasonido y otros (Giannakourou & Tsironi, 2021; Xia et al., 2012; Zhou et al., 2014; Zhuang et al., 1995).

En cuanto al tiempo, períodos más largos en el tanque de descarga aumentan las posibilidades de incorporación de microorganismos en tomate, en particular al aumentar la profundidad de inmersión (Zhou et al., 2014). Acerca de la temperatura, la regulación de esta en el agua del tanque de descarga debe ser una medida de control

complementaria a la cloración para prevenir la incorporación de microorganismos (Zhou et al., 2014); incluso el Codex Alimentarius menciona que se deberá controlar y registrar la temperatura del agua de las operaciones postcosecha por inmersión, para prevenir la incorporación de microorganismos en frutos (FAO & World Health Organization [WHO], 2017).

En otro estudio se evaluó la desinfección de tomates con cloro y con ácido láctico, a temperaturas de 5 y 55 °C, después de la inoculación con *Salmonella* Typhimurium y *E. coli* O157:H7. Al usar ácido láctico, había ausencia de *Salmonella* Typhimurium, pero presencia de *E. coli* O157:H7. Los tomates desinfectados con cloro presentaban ambos patógenos. El estudio demostró incorporación de patógenos en tomate por medio de inmersión en agua a temperatura similar a la del producto. Los autores concluyeron que las poblaciones se redujeron dentro y sobre los tomates mediante la aplicación de ácido láctico rociado a 55 °C y que esto podría ser una alternativa a la desinfección con cloro de los frutos (Ibarra-Sánchez et al., 2004).

Otro aspecto que influye en la eficacia del cloro como desinfectante en el procesamiento del tomate, es la calidad de la superficie del fruto y el punto de incorporación de los microorganismos. El tratamiento de desinfección con cloro es efectivo si el inóculo de microorganismos se deposita en superficies lisas y libres de daños, pero el efecto es el contrario si los microorganismos se encuentran con superficies dañadas o vías que se han descrito como rutas de incorporación (Bartz et al., 2015).

La reducción de *Samonella* de 6,4 log mayor cuando el inóculo se colocó sobre superficies lisas de los tomates que cuando este se colocó sobre cicatrices o heridas del tallo (150 mg l⁻¹ de cloro libre, pH 6,5 y temperatura de 35 °C) fue demostrado por Felkey et al. (2006). Otro estudio similar determinó la eficacia de la desinfección con cloro a 200 mg l⁻¹ para inactivar *Salmonella* en tomate. El tratamiento con cloro de los tomates inoculados en superficies lisas redujo la carga microbiológica en más de 5,0 log UFC/tomate; por el contrario, las reducciones fueron de 2,5 y 1,3 log UFC/tomate para la cicatriz del tallo y las heridas superficiales, respectivamente (Yuk et al., 2005). Esto puede explicarse debido a que las heridas frescas del fruto, así como cicatrices del tallo congestionadas con agua, conectan la superficie con el espacio libre interno, lo que permite la incorporación de microorganismos antes de que el desinfectante ejerza su efecto (Bartz et al., 2015). Según lo anterior, puede concluirse que hay una mayor reducción de microorganismos cuando la superficie del fruto se encuentra intacta y que al agregar cloro al agua de manipulación postcosecha de los tomates, se previene la acumulación de microorganismos en el agua, así como la contaminación cruzada entre frutos, ambas condiciones de riesgo para la incorporación microbiológica.

Otra estrategia de control para evitar la incorporación de microorganismos es la relacionada con la conservación de la calidad de la superficie del fruto. Un ejemplo de esto, son las cicatrices del tallo de los tomates, las cuales absorben mayor cantidad de agua justo después de la cosecha, cantidad que disminuye con el tiempo. Hay menor absorción de agua en tomates, si estos se cosechan y almacenan hasta el día siguiente, antes de continuar con las operaciones postcosecha de las plantas empacadoras. Durante este tiempo, las cicatrices del tallo y heridas pequeñas en la superficie del fruto disminuyen en tamaño, reduciéndose así las vías de entrada del agua y los microorganismos (Bartz, 2006; Turner et al., 2016; Xia et al., 2012).

La misma estrategia de control puede implementarse en naranjas y toronjas, donde también se ha observado la disminución del tamaño de las vías de entrada de los microorganismos con el paso del tiempo (Merker et al., 1999).

La selección de cultivares es otra forma de prevención para la incorporación de microorganismos. En tomates, la cantidad de agua que absorbe el fruto por la cicatriz del tallo, se relaciona de forma directa con la variedad de tomate que se cultive (Bartz, 1991), por lo que la selección de variedades que absorben menos agua contribuirá con la disminución del riesgo de incorporación de microorganismos.

La utilización de acciones mecánicas durante las etapas de lavado y/o desinfección es otra estrategia de control que ha sido valorada para prevenir la incorporación de microorganismos en frutos y vegetales. Al respecto, se observó un aumento en la eficacia de reducción de microorganismos al desinfectar frutos con 200 mg l⁻¹ de cloro o 5 % de peróxido de hidrógeno si los frutos se frotaban durante los 2 min del tratamiento de inmersión (Ukuku

& Fett, 2004). La contaminación no se logró erradicar de forma completa. En otro estudio, se indicó que, al haber contaminación en heridas de frutos de tomate, el lavado mecánico no ofrece ventajas para la prevención de incorporación de microorganismos (Bartz, 2006).

El riesgo de incorporación de microorganismos se puede minimizar mediante el uso de sistemas de aseguramiento de la inocuidad, como el análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP, por sus siglas en inglés) (Bartz & Tamplin, 2003). En este caso, el objetivo es minimizar la incorporación de agua en los frutos, así como evitar el contacto de microorganismos con heridas abiertas o puntos clave de incorporación de estos (Bartz, 2006). Este sistema de aseguramiento de la inocuidad debe contemplar la forma de evitar la incorporación de microorganismos en el alimento, cuando este se encuentra en contacto con agua. Esto incluye la inocuidad del agua de contacto, así como estrategias para minimizar los patógenos presentes en el producto que puedan incorporarse en estas operaciones del proceso.

Conclusiones

La mayoría de las investigaciones sobre la incorporación de microorganismos patógenos en frutos publicadas en el período de estudio se concentran en pocos productos, son abundantes las referencias al fenómeno en tomate y manzana. Por ello, se considera relevante fortalecer la investigación sobre este tema en otros frutos que, por su alta producción, dinámica comercial y hábitos de consumo asociados, tienen el potencial de impactar en la salud pública y en las dinámicas de mercados domésticos e internacionales.

Las investigaciones en cuanto a las condiciones que favorecen o desfavorecen la incorporación de microorganismos patógenos en diferentes frutos, e incluso en el mismo, rinden resultados diversos y a veces contradictorios. De igual forma, la información analizada indica que las vías de entrada y la distribución de los microorganismos incorporados dentro del fruto, puede variar con base en el manejo del producto, su morfología o bien el efecto de operaciones previas.

Resulta pertinente orientar investigaciones futuras hacia la valoración del fenómeno en condiciones más cercanas a las de operaciones comerciales de interés, así como reforzar las estrategias que aseguren una adecuada implementación de las buenas prácticas agrícolas y de manufactura, que eviten la presencia de microorganismos patógenos en los frutos y en los medios acuosos utilizados en las operaciones de preparación de estos para su comercialización.

Referencias

- Azofeifa Zumbado, M. F. (2020). *Evaluación del potencial de infiltración de tinta en banano variedad cavendish durante la operación de eliminación de látex (desleche)* [Tesis de licenciatura, Universidad de Costa Rica]. Repositorio KERWA. <https://www.kerwa.ucr.ac.cr/handle/10669/86175>
- Bartz, J. A. (1982). Infiltration of tomatoes immersed at different temperatures to different depths in suspensions of *Erwinia carotovora* sbsp. *carotovora*. *Plant Disease*, 66(4), 302–306. <https://doi.org/10.1094/PD-66-302>
- Bartz, J. A. (1991). Relation between resistance of tomato fruit to infiltration by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and bacterial soft rot. *Plant Disease*, 75(2), 152–155. https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1991Articles/PlantDisease75n02_152.PDF
- Bartz, J. A. (2006). Internalization and infiltration. In G. M. Sapers, J. R. Gorny, & A. E. Yousef (Eds.), *Microbiology of fruits and vegetables* (1st ed., pp. 75–94). Taylor and Francis. <https://doi.org/10.1201/9781420038934>

- Bartz, J. A., & Showalter, R. K. (1981). Infiltration of tomatoes by aqueous bacterial suspensions. *Phytopathology*, 71(5), 515–558. <https://doi.org/10.1094/Phyto-71-515>
- Bartz, J. A., & Tamplin, M. L. (2003). Sales of vegetables for the fresh market: the requirement for hazard analysis and critical control points (HACCP) and sanitation. In J. A. Bartz, & J. K. Brecht (Eds.), *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables* (Chapter 23, pp. 563–578). Marcel Dekker. https://irrec.ifas.ufl.edu/postharvest/HOS_5085C/Reading%20Assignments/BartzBrecht-23-HACCP%20and%20Sanitation.pdf
- Bartz, J. A., Vallad, G. E., & Sargent, S. A. (2021, January 28). *Guide to identifying and controlling postharvest tomato diseases in Florida* (Publication No. HS866). University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/hs131>
- Bartz, J. A., Yuk, H. G., Mahovic, M. J., Warren, B. R., Sreedharan, A., & Schneider, K. R. (2015). Internalization of *Salmonella enterica* by tomato fruit. *Food Control*, 55, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.046>
- Branquinho Bordini, M. E., Asturiano Ristori, C., Jakabi, M., & Scala Gelli, D. (2007). Incidence, internalization and behavior of *Salmonella* in mangoes, var. Tommy Atkins. *Food Control*, 18(8), 1002–1007. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.06.003>
- Brenes Fernández, N. (2022). *Evaluación de la sobrevivencia de E. coli ATCC 25922 durante el transporte de banano de exportación y determinación de condiciones de desinfección del fruto durante la operación de desleche* [Tesis de licenciatura, Universidad de Costa Rica]. Repositorio SIBDI de la Universidad de Costa Rica. <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/17566>
- Buchanan, R. L., Edelson, S. G., Miller, R. L., & Sapers, G. M. (1999). Contamination of intact apples after immersion in an aqueous environment containing *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*, 62(5), 444–450. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-62.5.444>
- Burnett, S. L., Chen, J., & Beuchat, L. R. (2000). Attachment of *Escherichia coli* O157:H7 to the surfaces and internal structures of apples as detected by confocal scanning laser microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11), 4679–4687. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.11.4679-4687.2000>
- Burnett, S. L., & Beuchat, L. R. (2002). Differentiation of viable and dead *Escherichia coli* O157:H7 cells on and in apple structures and tissues following chlorine treatment. *Journal of Food Protection*, 65(2), 251–259. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.2.251>
- Carstens, C. K., Salazar, J. K., & Darkoh, C. (2019). Multistate outbreaks of foodborne illness in the United States associated with fresh produce from 2010 to 2017. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 2667. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02667>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2022a, February 3). *National Outbreak Reporting System (NORS)*. <https://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2022b). *Multistate Foodborne Outbreak Notices*. <https://www.cdc.gov/foodborne-outbreaks/active-investigations/all-foodborne-outbreak-notices.html>
- Chen, Y., Evans, P., Hammack, T. S., Brown, E. W., & Macarisin, D. (2016). Internalization of *Listeria monocytogenes* in whole avocado. *Journal of Food Protection*, 79(8), 1440–1445. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-075>
- Corey, K. A., & Tan, Z.-Y. (1990). Induction of changes in internal gas pressure of bulky plant organs by temperature gradients. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 115(2), 308–312. <https://doi.org/10.21273/JASHS.115.2.308>

- Deering, A. J., Mauer, L. J., & Pruitt, R. E. (2012). Internalization of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in plants: A review. *Food Research International*, 45(2), 567–575. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.058>
- Eblen, B. S., Walderhaug, M. O., Edelson-Mammel, S., Chirtel, S. J., De Jesus, A., Merker, R. I., Buchanan, R. L., & Miller, A. J. (2004). Potential for internalization, growth, and survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 in oranges. *Journal of Food Protection*, 67(8), 1578–1584. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.8.1578>
- Erickson, M. C. (2012). Internalization of fresh produce by foodborne pathogens. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 283–310. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101211>
- Felkey, K. D., Archer, D. L., Baraz, J. A., Goodrich R. M., & Schneider K. R. (2006). Chlorine disinfection of tomato surface wounds contaminated with *Salmonella* spp. *Hort Technology*, 16(2), 253–256. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.16.2.0253>
- Ferreira, M. D., Bartz, J. A., Sargent, S. A., & Brecht, J. K. (1996). As assessment of the decay hazard associated with hydrocooling strawberries. *Plant Disease*, 80(10), 1117–1122. <https://doi.org/10.1094/PD-80-1117>
- Florida Department of Agriculture and Consumer Services. (2015). *Tomato best practices manual*. <https://www.flrules.org/gateway/ruleno.asp?id=5G-6.009>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). *Towards the future we want - End hunger and make the transition to sustainable agricultural and food systems*. <https://www.fao.org/publications/card/en/c/ecc34e77-9678-5e45-9656-57f7c9d434b7/>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, & World Health Organization. (2017). *Code of hygienic practice for fresh fruits and vegetables CXC 53-2003*. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/en/>
- Food and Drug Administration. (1998, October 26). *Guidance to industry: Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables*. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-guide-minimize-microbial-food-safety-hazards-fresh-fruits-and-vegetables>
- Giannakourou, M. C., & Tsironi, T. N. (2021). Application of processing and packaging hurdles for fresh-cut fruits and vegetables preservation. *Foods*, 10, Article 830. <https://doi.org/10.3390/foods10040830>
- Girón Revolorio, B., Cano Granados, F., & Monney Castillo, L. (2019). Determinación de la presencia de *Escherichia coli* en la cáscara y parte comestible del banano y evaluación de su crecimiento durante el proceso de postcosecha y almacenamiento a temperatura controlada. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 28(2), 26–35. <https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.v28i2.52>
- Ibarra-Sánchez, L. S., Alvarado-Casillas, S., Rodríguez-García, M. O., Martínez-González, N. E., & Castillo, A. (2004). Internalization of bacterial pathogens in tomatoes and their control by selected chemicals. *Journal of Food Protection*, 67(7), 1353–1358. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.7.1353>
- Janes, M. E., Kim, K. S., & Johnson, M. G. (2005). Transmission electron microscopy study of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple tissue. *Journal of Food Protection*, 68(2), 216–224. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.2.216>
- Kenney, S. J., Burnett, S. L., & Beuchat, L. R. (2001). Location of *Escherichia coli* O157:H7 on and in apples as affected by bruising, washing, and rubbing. *Journal of Food Protection*, 64(9), 1328–1333. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-64.9.1328>

- Lampel, K. A., Al-Khaldi, S., & Cahill, S. M. (Eds.) (2012). *Bad bug book* (2nd ed.). Food And Drug Administration. <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/bad-bug-book-second-edition>
- Lefebvre, M., Espinosa, M., Paloma, S. G., Paracchini, M. L., Piorr, A., & Zasada, I. (2015). Agricultural landscapes as multi-scale public good and the role of the Common Agricultural Policy. *Journal of Environmental Planning and Management*, 58(12), 2088–2112. <https://doi.org/10.1080/09640568.2014.891975>
- Macarisin, D., Wooten, A., de Jesus, A., Hur, M., Bae, S., Patel, J., Evans, P., Brown, E., Hammack, T., & Chen, Y. (2017). Internalization of *Listeria monocytogenes* in cantaloupes during dump tank washing and hydrocooling. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 165–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.018>
- Merker, R., Edelson-Mamel S., Davis, V., & Buchanan, R. (1999). *Preliminary experiments on the effect of temperature differences on dye uptake by oranges and grapefruit*. United States Food and Drug Administration.
- Penteado, A. L., Eblen, B. S., & Miller, A. J. (2004). Evidence of *Salmonella* internalization into fresh mangos during simulated postharvest insect disinfestation procedures. *Journal of Food Protection*, 67(1), 181–184. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.1.181>
- Presidencia de la República, Ministerio de Comercio Exterior, Ministerio de Economía, Industria y Comercio, & Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2012, junio 2). *Reglamento Técnico Centroamericano Buenas Prácticas de Higiene Para Alimentos No Procesados y Semiprocados y su Guía de Verificación N° 37057. Sistema Costarricense de Información Jurídica*. http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=72615&nValor3=88718&strTipM=TC#up
- Richards, G. M., & Beuchat, L. R. (2004). Attachment of *Salmonella* Poona to cantaloupe rind and stem scar tissues as affected by temperature of fruit and inoculum. *Journal of Food Protection*, 67(7), 1359–1364. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.7.1359>
- Sapers, G. M. (2001). Efficacy of washing and sanitizing methods for disinfection of fresh fruit and vegetable products. *Food Technology and Biotechnology*, 39(4), 305–311. <https://bit.ly/3YCRI30>
- Segall, R. H., Henry, F. E., & Dow, A. T. (1977). Effect of dump tank water temperature on the incidence of bacterial soft rot of tomatoes. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 90, 204–205.
- Soto, M., Chavez, G., Baez, M., Martinez, C., & Chaidez, C. (2007). Internalization of *Salmonella typhimurium* into mango pulp and prevention of fruit pulp contamination by chlorine and copper ions. *International Journal of Environmental Health Research*, 17(6), 453–459. <https://doi.org/10.1080/09603120701695593>
- Turner, A. N., Friedrich, L. M., & Danyluk, M. D. (2016). Influence of temperature differential between tomatoes and postharvest water on *Salmonella* internalization. *Journal of Food Protection*, 79(6), 922–928. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-525>
- United States Environmental Protection Agency. (1997, June 3–4). *A set of scientific issues being considered by the agency in connection with the efficacy testing issues concerning public health antimicrobial pesticides* (Final Report). Scientific Advisory Panel Meeting, VA, United States. https://archive.epa.gov/scipoly/sap/meetings/web/html/060397_mtg.html
- Ukuku, D. O., & Fett, W. F. (2004). Method of applying sanitizers and sample preparation affects recovery of native microflora and *Salmonella* on whole cantaloupe surfaces. *Journal of Food Protection*, 67(5), 999–1004. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.5.999>

- Valverde Jiménez, K. (2020). *Evaluación del potencial de infiltración de Escherichia coli ATCC 25922 durante el proceso de lavado por inmersión del banano* [Tesis de licenciatura, Universidad de Costa Rica]. Repositorio KERWA. <https://hdl.handle.net/10669/86192>
- Wei, C. I., Huang, T. S., Kim, J. M., Lin, W. F., Tamplin, M. L., Aod, J., & Bartz, J. A. (1995). Growth and survival of *Salmonella* Montevideo on tomatoes and disinfection with chlorinated water. *Journal of Food Protection*, 58(8), 829–836. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-58.8.829>
- Xia, X., Luo, Y., Yang, Y., Vinyard, B., Schneider, K., & Meng, J. (2012). Effects of tomato variety, temperature differential, and post-stem removal time on internalization of *Salmonella enterica* serovar Thompson in tomatoes. *Journal of Food Protection*, 75(2), 297–303. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-078>
- Yuk, H.-G., Bartz, J. A., & Schneider, K. R. (2005). Effectiveness of individual or combined sanitizer treatments for inactivating *Salmonella* spp. on smooth surface, stem scar, and wounds of tomatoes. *Journal of Food Science*, 70(9), 409–414. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb08326.x>
- Zhang, S., & Farber, J. M. (1996). The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. *Food Microbiology*, 13(4), 311–321. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/fmic.1996.0037>
- Zheng, J., Allard, S., Reynolds, S., Millner, P., Arce, G., Blodgett, R. J., & Brown, E. W. (2013). Colonization and internalization of *Salmonella enterica* in tomato plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(8), 2494–2502. <https://doi.org/10.1128/AEM.03704-12>
- Zhou, B., Luo, Y., Nou, X., Yang, Y., Wu, Y., & Wang, Q. (2014). Effects of postharvest handling conditions on internalization and growth of *Salmonella enterica* in tomatoes. *Journal of Food Protection*, 77(3), 365–370. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-307>
- Zhuang, R. Y., & Beuchat, L. R. (1996). Effectiveness of trisodium phosphate for killing *Salmonella* Montevideo on tomatoes. *Letters in Applied Microbiology*, 22(2), 97–100. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1996.tb01117.x>
- Zhuang, R. Y., Beuchat, L. R., & Angulo, F. J. (1995). Fate of *Salmonella* Montevideo on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(6), 2127–2131. <https://doi.org/10.1128/aem.61.6.2127-2131.1995>