

Calidad microbiológica y bacterias enteropatógenas en vegetales tipo hoja

Microbiological Quality and Enteropathogenic Bacteria in Leaf Vegetables

**Rincón V., Gresleida¹; Ginestre P., Messaria²;
Romero A., Sonia²; Castellano G., Maribel² y
Ávila R., Yeiny²**

¹Cátedra de Bacteriología Clínica. ²Cátedra de Bacteriología General.
Escuela de Bioanálisis, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.
gresle61@hotmail.com

Resumen

Para analizar la calidad microbiológica en vegetales tipo hoja y la incidencia de bacterias enteropatógenas se analizaron 150 muestras (50 lechugas, 50 cilantros y 50 perejiles) recolectadas en dos supermercados de Maracaibo. Se determinó Coliformes Totales (CT) y *Escherichia coli* (EC) según la norma COVENIN N°3276:1997; para la determinación de bacterias enteropatógenas (*Salmonella*, *Aeromonas* y *Vibrio*) se utilizaron medios de enriquecimiento y selectivos. La identificación de especies se realizó empleando pruebas bioquímicas. En 81,33% (122/150) de las muestras se obtuvieron contajes de CT entre 10³-10⁵ UFC/g. La recuperación de EC fue de 10,00%. La frecuencia de enteropatógenos fue de 28%, siendo *Aeromonas* el género más aislado con un 95,91%. La mayor recuperación de enteropatógenos se obtuvo en las muestras de cilantro (40,00%), seguida de perejil (34,00%) y lechuga (20,00%); *A. caviae* fue la especie más recuperada (59,18%) seguida de *A. hydrophila* (30,62%). *Salmonella spp* se recuperó en 2 (4,08%) muestras. La presencia de indicadores entéricos (CT y EC) y de bacterias enteropatógenas sugiere que los vegetales tipo hoja presentan una inadecuada calidad sanitaria y pueden ser fuente de gastroenteritis.

Palabras clave: vegetales tipo hoja, coliformes totales, calidad microbiológica, *E. coli*, bacterias enteropatógenas, *Aeromonas*.

Abstract

To analyze the microbiological quality of leaf vegetables and the incidence of enteropathogenic bacteria, 150 samples (50 lettuce, 50 coriander and 50 parsley) collected in two supermarkets in Maracaibo, were studied. Total coliforms (TC) and *Escherichia coli* (EC) according to COVENIN guideline N° 3276: 1997, were determined; for the identification of enteropathogenic bacteria (*Salmonella*, *Aeromonas*, *Vibrio*), enrichment and selective media were used. Species identification was made using biochemical tests. In 81.33% (122/150) of the samples obtained, TC counts were between 10^3 - 10^5 CFU/g. EC recovery was 10.00%. The frequency of enteropathogens was 28%, with *Aeromonas* the most isolated genus (95.91%). Greater recovery of enteropathogens was obtained from coriander (40.00%), followed by the parsley (34.00%) and lettuce samples (20.00%); *A. caviae* was the most recovered specie (59.18%) followed by *A. hydrophila* (30,62%). *Salmonella spp* were recovered in 2 samples (4.08%). The presence of enteric indicators (TC and EC) and enteropathogenic bacteria suggests that the sanitary condition of the leafy vegetables is inadequate and can be a source of gastroenteritis.

Key words: Leaf vegetable, total coliforms, microbiological quality, *E. coli*, enteropathogenic bacteria, *Aeromonas*.

Introducción

El consumo de hortalizas es vital para la salud humana puesto que poseen innumerables propiedades alimenticias, son fuente inagotable de vitaminas, minerales, fibra y energía (1); y pueden contribuir de alguna forma con la prevención de enfermedades cardiovasculares y gastrointestinales (2-4). Sin embargo, por sus características físicas y de cultivo, estos productos están expuestos a contaminación de tipo biológica y química, constituyendo un riesgo para la adquisición de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

Las ETA son consideradas como un problema de salud pública a escala mundial, siendo el agua y los alimentos las principales fuentes de enfermedades entéricas agudas. El Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), ha estimado 76 millones de casos al año en Estados Unidos, con 5.000 muertos. En países en desarrollo, se estima en 2 millones de niños la mortalidad por enfermedades diarreicas causadas por alimentos y agua contaminada (5). En el continente

americano figuran entre las primeras causas de morbilidad en menores de 5 años, con una incidencia promedio de cuatro episodios diarreicos anuales por niño (6). Estas enfermedades típicamente son causadas por microorganismos y/o sus toxinas y la mayoría se manifiestan como cuadros gastrointestinales, que varían en gravedad y duración.

En Venezuela, según un informe epidemiológico emitido por el Ministerio del Poder Popular para la Salud (7), durante el año 2008, se detectaron, investigaron y reportaron 42 brotes de ETA (datos provisionales), involucrando un total de 1058 casos. Sólo 35,7% de los brotes fueron confirmados por laboratorio.

Una variedad de bacterias han sido implicadas en brotes ETA asociadas con el consumo de hortalizas frescas, tomate, perejil, lechuga, espinacas, celery y tomate (8-11).

Los principales microorganismos patógenos involucrados en brotes de ETA son *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes*. *Shigella spp* también se han asociado a brotes de enfermedades por consumo de diversas variedades de lechuga (8).

Además, se ha documentado la presencia de *Aeromonas* en una variedad de vegetales frescos incluyendo alfalfa, brócoli, coliflor, lechuga, cilantro, perejil y espinacas (12, 13).

Tomando en cuenta que los vegetales frescos forman parte esencial de la dieta humana y además pueden estar asociados con la transmisión de microorganismos patógenos, el objetivo de esta investigación fue evaluar la calidad microbiológica y la presencia de bacterias enteropatógenas (*Salmonella Aeromonas* y *Vibrio*) en vegetales tipo hoja que se expenden en dos supermercados de la localidad.

Materiales y Métodos

Se analizó un total de 150 muestras (50 lechugas, 50 cilantros y 50 perejiles), adquiridas en dos supermercados de Maracaibo (75 del supermercado A y 75 del supermercado B). Las muestras fueron recolectadas al azar, colocadas asépticamente en bolsas plásticas estériles y transportadas en condiciones de refrigeración al laboratorio de la Cátedra de Bacteriología de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad del Zulia, para su procesamiento bacteriológico.

Las muestras se prepararon siguiendo las recomendaciones establecidas por la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) en la normativa N°1126-89 (14) la cual se describe brevemente a continuación.

Se homogenizaron 25 gramos de cada muestra, con la ayuda un Stomacher 80®, en 225 mL de agua peptonada al 0,1%. Posteriormente, se prepararon las respectivas diluciones y se procedió a la determinación de Coliformes Totales (CT) y *Escherichia coli* (EC), mediante la técnica de Petrifilm. Norma COVENIN N°3276-1997 (15). El recuento de CT y *E. coli* se expresó como UFC/g de muestra.

Para la investigación de *Aeromonas* y *Vibrio*, se procedió a pesar 25 gramos de muestra, homogeneizada con la ayuda de un Stomacher 80®, en 225 mL de agua peptonada alcalina pH 8,6 (medio de enriquecimiento). Se incubó por 24 horas a 35°C; luego se inocularon los siguientes medios selectivos: agar ampicilina almidón y agar D'Nasa azul de toluidina-ampicilina (*Aeromonas*) y tiosulfato citrato bilis sucrosa (*Vibrio*) (16). La identificación bioquímica de los aislamientos se realizó según la metodología descrita por Abbott y col. (17).

El aislamiento e identificación de *Salmonella* se realizó según las recomendaciones de la Comisión Venezolana de Normas Industrial (COVENIN). Detección de *Salmonella* 1291-1988 (18).

El análisis estadístico de los datos fue realizado utilizando el paquete estadístico SPSS (Statistical Products of services Solutions), versión 10.5 para Windows (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). El análisis de asociación entre tipo de expendio y tipo de vegetal se realizó mediante tablas de contingencia y cálculo del estadístico chi cuadrado (nivel de significancia 0,05). A fin de comparar las proporciones de muestras positivas para *Aeromonas* en cada vegetal se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis, con un nivel de significancia de 0,05.

Resultados

De las 150 muestras de vegetales frescos tipo hoja analizadas, 122 (81,33%) presentaron contajes de coliformes totales (CT) entre 10^3 - 10^5 UFC/g; mientras que en 28 especímenes (18,67%) se obtuvo recuentos menores de 10^2 UFC/g (datos no mostrados). Aunque muchas normas internacionales no consideran los coliformes totales dentro de los grupos microbianos utilizados como criterios

para evaluar la calidad microbiológica de vegetales frescos, algunos autores han referido que contajes elevados de estos microorganismos, como los encontrados en los vegetales analizados, se relacionan con falta de higiene en los alimentos (19).

La Tabla 1 representa los niveles de CT obtenidos en las muestras de vegetales tipo hoja. En relación con el rango de CT entre 10^3 - 10^5 UFC/g obtenido en las muestras de lechuga, se puede apreciar que el mayor porcentaje de recuperación se obtuvo en el supermercado B (68%), encontrándose una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) con respecto al supermercado A; no así, para los especímenes de cilantro y perejil; en los cuales no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$). Además, se puede observar que las muestras de cilantro y perejil con rango de CT entre 10^3 - 10^5 UFC/g, fueron significativamente superiores a las obtenidas en las lechugas ($p < 0,05$).

El porcentaje de aislamiento de *E. coli* (EC) en las muestras de vegetales analizadas fue de 10,00% (15/150). De las 50 muestras de lechuga solo una, proveniente del supermercado B, presentó niveles de EC de 1×10^3 UFC/g. Mientras que en cilantro se recupera-

ron 8 muestras (5 del supermercado A y 3 del supermercado B) con rango entre 10^3 - 10^4 UFC/g. En los especímenes de perejil se obtuvieron 6 muestras (3 en cada supermercado) con contajes de EC entre 10^3 - 10^4 UFC/g (datos no mostrados).

De las 150 muestras de vegetales tipo hojas analizadas 42 (28,00%) resultaron positivas para bacterias enteropatógenas; en 35 de estas se aisló solo un microorganismo, mientras que en 7 especímenes se recuperaron 2 enteropatógenos (Gráfico 1). La distribución de muestras positivas de acuerdo al expendio fue de 23 para el supermercado A y 19 para el supermercado B. De acuerdo al tipo de vegetal la ocurrencia de muestras positivas para enteropatógenos fue la siguiente: lechuga (9), cilantro (20) y perejil (13).

La frecuencia de aislamiento de bacterias enteropatógenas en vegetales tipo hojas se observa en el Gráfico 2. Las especies de *Aeromonas* constituyeron los microorganismos más frecuentemente aislados. Sólo se obtuvo dos aislamientos de *Salmonella*. Además se recuperó una cepa de *V. furnisii*, no obstante la asociación de este microorganismo con gastroenteritis no ha sido ampliamente documentada, sin embargo ha sido aislado de pa-

Tabla 1. Rango de coliformes totales en muestras de vegetales tipo hoja.

Tipo de Vegetal	Supermercado			
	A		B	
	UFC/G	N (%)	UFC/G	N (%)
Lechuga	$<1 \times 10^2$	14(56)	$<1 \times 10^2$	8(32)
	1×10^3 - 3×10^5	11 ^a (44)	1×10^3 - 8×10^5	17 ^b (68)
Cilantro	$<1 \times 10^2$	2(8)	$<1 \times 10^2$	1(4)
	11×10^3 - 37×10^5	23 ^a (92)	6×10^3 - 23×10^5	24 ^a (96)
Perejil	$<1 \times 10^2$	1(4)	$<1 \times 10^2$	2(8)
	8×10^3 - 16×10^5	24 ^a (96)	4×10^3 - 26×10^5	23 ^a (92)

Número de muestras=150.

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Letras iguales en una misma fila indican que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$).

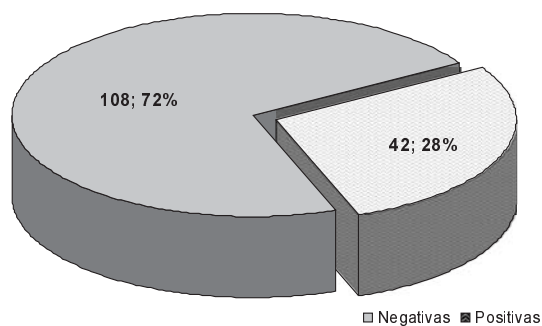


Gráfico 1. Porcentaje de positividad para enteropatógenos en muestras de vegetales tipo hoja.

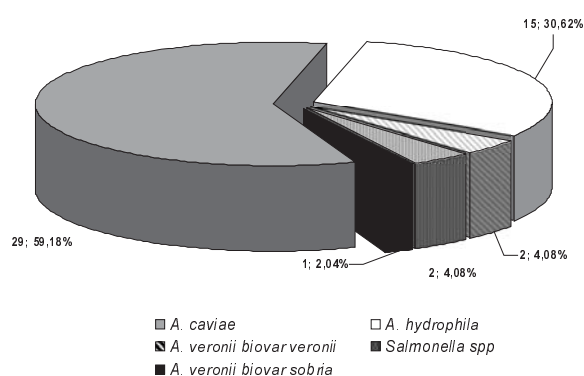


Gráfico 2. Frecuencia de aislamiento de bacterias enteropatógenas en vegetales tipo hoja.

cientes con gastroenteritis aguda al menos en dos brotes de intoxicación alimentaria y de las heces de un lactante de un mes de vida (20).

La Tabla 2 muestra la distribución de *Aeromonas* spp según el expendio y el tipo de

vegetal. En las 23 muestras positivas provenientes del supermercado A se obtuvieron las siguientes especies de *Aeromonas*: 17 *A. caviae* y 8 *A. hydrophila*. En el supermercado B se recuperaron 12 *A. caviae*, 7 *A. hydrophila*, 2 *A. veronii biovar veronii* y 1 *A. veronii biovar sobria*. El aislamiento de *Aeromonas* según el expendio no resultó estadísticamente significativa ($p > 0,05$). En este estudio, la distribución de especies de *Aeromonas* según el tipo de vegetales fue la siguiente: en las muestras de cilantro se obtuvieron 15 *A. caviae* y 5 *A. hydrophila*. En los perejiles se recuperaron 9 *A. caviae* y 8 *A. hydrophila*; mientras que en las lechugas la distribución fue de 5 *A. caviae*, 2 *A. hydrophila*, 2 *A. veronii biovar veronii* y 1 *A. veronii biovar sobria*, diferencias que resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las muestras de cilantro y perejil con respecto a las muestras de lechuga.

Discusión

Un elevado porcentaje de las muestras de vegetales estudiadas (81,33%) presentaron recuentos de CT totales entre 10^3 - 10^5 UFC/g; esta elevada carga microbiana indica que estos alimentos pueden representar una fuente potencial de microorganismos patógenos. En otros países latinoamericanos, diver-

Tabla 2. Muestras positivas para *Aeromonas* spp según expendio y tipo de vegetal.

Expendio	Positivas		Negativas		Total	
	N	%	N	%	N	%
Supermercado 1	23	30,7	52	69,3	75	100,0
Supermercado 2	19	25,3	56	74,7	75	100,0
Vegetal						
Cilantro	20	40,0	30	60,0	50	100,0
Lechuga	10	20,0	40	80,0	50	100,0
Perejil	17	34,0	33	66,0	50	100,0

Número de muestras=150.

Los investigadores (4, 21-24) han realizado contajes de CT en estudios dirigidos a evaluar la calidad microbiológica de vegetales de consumo frescos y reportan contajes que oscilan entre 10^3 - 10^9 NMP/g. Por otra parte, Mukherjee y col. (25), en un estudio realizado en Minnesota, reportó un recuento promedio de CT de 10^2 NMP/g en frutas y verduras.

La contaminación de hortalizas puede ser consecuencia de irrigación con agua contaminada con heces de humanos o de animales, uso de abonos orgánicos como estiércol, omisión o desconocimiento de las condiciones sanitarias básicas de manipulación, así como deficiente calidad sanitaria del agua utilizada para lavar los vegetales cosechados (1, 26).

Investigadores nacionales e internacionales han recuperado EC de una gran variedad de alimentos de consumo fresco, con un amplio rango de recuperación. González, A. y col. (22) recuperaron EC en 10,00% de 150 muestras analizadas, estos resultados pueden compararse con los obtenidos en esta investigación. No obstante, Sagoo y col. (27) comunicaron una baja frecuencia de EC (1,50%) en vegetales frescos listos para el consumo con niveles de 10^2 UFC/g. Otros autores reportan niveles de EC superiores a los encontrados en este estudio. Curtis y col. (28); Ginestre (23); Monge y col. (4) y Mukherjee y col. (25) encontraron porcentajes de 76,22%, 52,00%, 42,00% y 22,40% respectivamente. De igual manera López y col. (24) y Rivera-Jacinto y col. (21) han reportado EC en más de un 30% de muestras de vegetales.

En Venezuela no existen normas que regulen estos alimentos desde el punto de vista microbiológico. A nivel internacional la guía microbiológica PHLS (Advisory Committee for Food and Dairy Products) toma como referencia criterios establecidos para EC para clasificar los vegetales en 3 categorías de

acuerdo con los niveles de contaminación: satisfactorio (<20 UFC/g), aceptable de (20 - $<10^2$ UFC/g) e insatisfactorio de ($\geq 10^2$ UFC/g) (29). En atención a estos criterios, los resultados de este estudio reflejan que 90,00% (135/150) de los vegetales fueron satisfactorios y 10,00% (15/150) insatisfactorios.

En esta investigación, 28,00% (42/150) de las muestras fueron positivas para bacterias enteropatógenas, siendo las especies de *Aeromonas* las más aisladas (95,91%), lo cual coincide con los estudios de Guevara y col. (30), quienes reportaron 100% de aislamiento en productos de vegetales crudos y ensaladas de vegetales con mínimo procesamiento.

Otras investigaciones reflejan un amplio rango de recuperación de *Aeromonas spp* en diversos vegetales frescos. Así, Rodríguez y col. (31) encontraron 55,34% en vegetales empacados en bolsas de polipropileno. Arias y col. (32) y Callister y col. (33) reportaron 42,70% y 31,30% de positividad para este microorganismo. Otros autores informan porcentajes de aislamientos más bajos que oscilan entre 19%-28% (34-37). De igual forma, Beuchat (12) obtuvo porcentajes de positividad para *Aeromonas* de 6,10% en ensaladas de vegetales y 5,20% en espinacas.

A. caviae fue la especie más frecuentemente aislada, con un porcentaje de recuperación de 59,18% (29/49). *A. hydrophila* se aisló en 30,62% (15/49). Este predominio de *A. caviae* sobre *A. hydrophila* coincide con los estudios publicados por otros investigadores (30-31,35), en los cuales se refleja un notable predominio de *A. caviae* sobre *A. hydrophila*. Sin embargo, contrastan con lo publicado por Brion y col. (34), quienes reportan un mayor porcentaje de aislamiento de *A. hydrophila* (82,60%) sobre *A. caviae* (8,70%).

A. caviae fue aislada con mayor frecuencia en muestras de cilantro (75,00%) y perejil (52,94%), en comparación con los especímenes de lechuga, en los cuales la recuperación fue notablemente inferior (21,27%). Esta diferencia de aislamiento entre los vegetales analizados puede estar relacionada con diversos factores, tales como; la adherencia del microorganismo a la estructura del vegetal, el contacto directo de las hojas con el aire, el suelo y el agua, la irrigación de los vegetales con aguas no tratadas, la sustitución de fertilizantes químicos por estiércol, las heces de los animales, la manipulación por los trabajadores, las técnicas de cosecha, las condiciones de transporte y la temperatura de almacenamiento inapropiada.

Salmonella constituye un gran problema de salud pública, tanto por la morbimortalidad debida a gastroenteritis y fiebres entéricas, como por las repercusiones económicas que conlleva, principalmente en la industria avícola. En esta investigación se aislaron sólo dos cepas de *Salmonella* (4.08%), resultados similares a los obtenidos por Vásquez y col. (38) y Arias & Antillon (32) quienes reportaron 3,10% y 2,00% de aislamientos de *Salmonella spp* en hortalizas y ensaladas tipo buffet, respectivamente. A diferencia de Muñoz (39) quien aisló este microorganismo en un 20, 00% en verduras. Esta notable diferencia de aislamiento de *Salmonella* en vegetales parece estar relacionada con varios factores: la flora competitiva que retarda su crecimiento, pH ácido, baja disponibilidad de azúcares, baja concentración del microorganismo, daño celular como consecuencia del procesamiento del alimento (40). Además, la presencia de flagelos parece necesaria para que *Salmonella* pueda adherirse a las hojas de los vegetales.

Los resultados de este estudio reflejan una elevada contaminación de los vegetales tipo hoja analizados por coliformes y especies de *Aeromonas*; de allí la necesidad de considerar estos alimentos como un factor de riesgo para la adquisición de ETA. Por lo tanto, se deben establecer criterios microbiológicos que indiquen los valores máximos admisibles de estos microorganismos en vegetales frescos, a fin de garantizar su inocuidad para los consumidores.

Referencias bibliográficas

- (1) García-Gómez R, Chávez-Espinosa J, Mejía-Chávez A, Durán de Bazúa C. Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City. Mexico. Rev Latinoam Microbiol 2002; 44(1): 24-30.
- (2) Arce G, Ávalos M, Giusti S, Miranda G, Tuhay N, Merino L. Consumo de vegetales crudos en la ciudad de Corrientes en relación con las enfermedades transmitidas por alimentos. Revista de Postgrado de la VIa Cátedra de Medicina de la UNNE 2002; 115:10-11.
- (3) Monge R, Arias M, Utzinger D. Presence of cytotoxic *Aeromonas* and *Plesiomonas shigelloides* in fresh vegetables. Rev Biomed 1998; 9:176-180.
- (4) Monge R, Chinchilla M, Reyes L. Estacionalidad de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica. Rev Bio. Trop 1996; 44(2):369-375.
- (5) Pigott DC. Foodborne illness. Emerg Med Clin North Am 2008; 26(2):475-497.
- (6) Larrea, F. Enfermedades transmitidas por alimentos. Boletín del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Dirección General Sectorial de Epidemiología. Dirección de Vigilancia Epidemiológica. Venezuela. 1998.
- (7) Ministerio del Poder Popular para la Salud. Gobierno Bolivariano de Venezuela. Boletín Epidemiológico. 10 al 16 Febrero de 2008. Semana Epidemiológica N° 07.

- (8) Ávila-Quezada G, Sánchez E, Muñoz E, Martínez LR y Villalobos E. Diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México. *Phyton* 2008; 77:129-136.
- (9) FSnet. 2005. *E. coli* infections traced to contaminated parsley. FSnet 31 October. University of Guelph, Canada. [cited May 2008] Disponible en: http://archives.foodsafety.ksu.edu/fsnet/2005/10-2005/fsnet_oct_31.htm#story3.
- (10) Soderstrom A, Lindberg A and Andersson Y. 2005. EHEC O157 outbreak in Sweden from locally produced lettuce, August-September 2005. *EuroSurveillance*, 10 (38) Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2794>.
- (11) Takkinen J, Nakari UM, Johansson T, Niskanen T, Siitonen A, Kuusi M. A nationwide outbreak of multiresistant *Salmonella typhimurium* in Finland due to contaminated lettuce from Spain, May 2005. *EuroSurveillance* 2005; 10(26) Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2734>.
- (12) Beuchat L. 1998. "Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review". Food Safety Unit, World Health Organization. Series: Report WHO/FSF/FOS/98.2. Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_manangement/en/surface_decon.pdf.
- (13) Blair I., McMahon M. and McDowell D. 1995. *Aeromonas*. Disponible en: http://www.science.ulst.ac.uk/food/PDFs/Ian_99_EFM.PDF.
- (14) Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. 1ª Revisión. 1126-89. 1989.
- (15) Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1997. Alimentos. Recuento de Coliformes y de *Escherichia coli*. Método en placa con películas secas rehidratables (Petrifilm) N° 3276-1997.
- (16) AOAC International. Compendium of Microbiological Methods for the Analysis of Food and Agricultural Products. Detection of *Aeromonas* species (Non-validated methods) Method 20.1. 2000.
- (17) Abbott S, Cheung W and Janda M. The Genus *Aeromonas*: Biochemical Characteristics, Atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2348-2357.
- (18) Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1988. Alimentos. Aislamiento e Identificación de *Salmonella*. 1ª revisión. N° 1291-88.
- (19) Noguera-Ugalde Y, Santos-López E, Zúñiga-Estrada A y Gómez-Aldapa C. Calidad Sanitaria de ensaladas de verduras crudas y listas para su consumo. *Industrias alimentarias* 2008; 9-21.
- (20) Win W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color. 6ta ed. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2008. p. 392.
- (21) Rivera-Jacinto M, Rodríguez-Ulloa C y López-Orbegoso J. Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. *Rev. Perú Med* 2009; 26(1):45-48.
- (22) González A, Muñoz E, Roldan C. Calidad microbiológica de los vegetales que se consumen frescos en la ciudad de Maracaibo. Tesis de Grado. Venezuela. 2005.
- (23) Ginestre M, Romero S, Rincón G, Castellano M, Ávila Y, Colina G y Perozo A. Indicadores entéricos en vegetales frescos que se comercializan en mercados populares de Maracaibo. *Rev Soc Ven Microbiol* 2009; 29:52-56.
- (24) López L, Romero J y Duarte F. Calidad microbiológica y efecto del lavado y desinfección en vegetales pretrozados expandidos en Chile. *ALAN* 2003; 53(4): 383-388.
- (25) Mukherjee A, Speh D, Dyck E, y Diez-González F. Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *J Food Prot* 2004; 67:894-900.
- (26) Valderrama A. Calidad bacteriológica de efluentes de aguas residuales de Cajamarca

- y su implicación en la salud. Tesis de Grado. Perú. 2004.
- (27) Sagoo S, Little C and Mitchell R. The microbiological examination of ready-to eat organic vegetables from retail establishments. LACOTS/PHIS Coordinated Liaison group studies. PHLS environmental surveillance unit. 2001.
- (28) De Curtis M, Franceschi O, Castro N. Determinación de la calidad microbiológica de los alimentos servidos en comedores de empresas privadas. ALAN 2000; 50(2): 117-182.
- (29) Gilbert R, Louvois J, Little C, Nye K, Ribeiro C et al. Guidelines for the Microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. Commun Dis Public Health. 2000; 3:163-167.
- (30) Guevara L y Diaz R. Incidencia de *Aeromonas hydrophila* en vegetales crudos y ensaladas de Vegetales con mínimo procesamiento. III Congreso Panamericano de calidad sanitaria de los alimentos. Caracas - Venezuela 2002
- (31) Rodríguez C., Díaz R. y Guevara L. Incidencia de *Aeromonas spp* en productos vegetales empacados en bolsas de polipropileno. Memorias II Congreso Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Caracas- Venezuela. 1999.
- (32) Arias, M. y Antillón, F. Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica: una revisión de 10 años. Rev Biomed 2000; 11(2):113-122.
- (33) Callister S and Agger W. Enumeration and characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolated from grocery store produce. Appl Environ Microbiol 1999; 53:249-253.
- (34) Brion D, Díaz R y Alvarado R. Incidencia de *Aeromonas hydrophila* en productos vegetales mínimamente procesados. Memorias I Congreso Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Caracas-Venezuela. 1996.
- (35) Ginestre M, Rincón G, Romero S, Harris B, Colina G. Especies de *Aeromonas* que se expenden en un mercado popular de Maracaiibo. Rev. Soc. Ven. Microbiol 2005; 25:96-99.
- (36) Raybaudi R, Martínez A y Díaz R. Incidencia y recuperación de *Listeria spp* y *Aeromonas spp* en vegetales empacados en bolsas de polipropileno Memorias I Congreso Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Caracas, Venezuela. 1996.
- (37) Herrera M, Mayorca C. y Urribarri M. Especies de *Aeromonas* en vegetales que se consumen frescos. Trabajo de Grado. Maracaiibo-Venezuela. Universidad del Zulia. Facultad de Medicina. 2005.
- (38) Vásquez S, Quiñones R, Moreno C, Salazar G, Gutiérrez C. 2002. Calidad microbiológica de seis hortalizas. México. II Congreso Panamericano de Calidad Sanitaria de los alimentos. Caracas-Venezuela. 2002.
- (39) Muñoz S. 2005. Frecuencia de enterobacterias en verduras frescas de consumo crudo expandidas en cuatro mercados de Lima Metropolitana. Tesis de Grado. Perú. 2005.
- (40) Albarracín F, Sarmiento A y Mercado M. Estimación de la proporción de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp* en quesos frescos (queso de hoja, cuajada) y queso Doble Crema producidos y comercializados en el Municipio de Pamplona, Norte de Santander. Bistua; 4(2): 30-41.