

**EVALUACIÓN DE PELIGROS MICROBIOLÓGICOS EN CILANTRO
(*Coriandrum sativum*) Y LECHUGA (*Lactuca sativa*), PRODUCIDOS EN
PUERTO RICO**

Por

Angélica María Peluffo Rivera

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
En
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGUEZ
2009**

Aprobado por:

Edna Negrón, Ph D.

Miembro, Comité Graduado

Fecha

Melvin Irizarry, M.S.

Miembro, Comité Graduado

Fecha

Lynette E. Orellana, Ph D.

Presidente, Comité Graduado

Fecha

Ana I. Vélez, M.S.

Representante de Estudios Graduados

Fecha

Edna Negrón, Ph D.

Coordinadora

Programa Ciencia y Tecnología de Alimentos

Fecha

ABSTRACT

Foodborne illness is associated with a range of foods, including fresh produce. Produce are recognized as an important component of a healthy diet. Most produce are grown in a natural environment and are often consumed raw without any type of intervention that reduce, control, or eliminate pathogens prior to consumption. The Center for Disease Control estimates that, in the 1990's, at least 12 percent of foodborne-outbreak-associated illnesses were linked to fresh produce. Therefore, in order to prevent foodborne outbreaks with fresh produce, risk assessment has been recognized around the world as a systematic way to organize information and help blish viable and realistic interventions. The objective of this study was to evaluate the presence of pathogenic microorganism on cilantro and lettuce cultivated and produced in Puerto Rico under hydroponic systems. One hundred twenty samples of each vegetable were randomly harvested and processed for microbiological analysis following standard procedures recommended by the Food and Drug Administration for aerobic plate counts, coliforms, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* and *Escherichia coli* O157: H7. In addition, a Good Agricultural Practice (GAP) assessment was conducted through interviews and direct observation of activities in situ. The average microbiological counts were: 3.76 to 6.83 log CFU/g for aerobic microorganisms; 2.04 to 5.14 log CFU/g for coliforms, and less than 1 log CFU/g for *Escherichia coli* in cilantro. For the lettuce the aerobic counts were from 3.48 to 6.50 log CFU/g and 1.70 to 5.69 log CFU/g for coliforms. *E. coli* was not detected under the conditions tested. *Shigella sonnei* and *Escherichia coli* O157: H7 were not isolated. Farmers must be trained in GAP: 94.1% of them do not maintain records that demonstrate all operations in the farm and 64.7% need to improve hygiene training for workers.

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas a través de alimentos están asociadas a una gran variedad de alimentos, incluyendo frutas y hortalizas frescas las cuales son reconocidas como parte importante de una dieta saludable; la mayor parte de ellas crecen en ambientes naturales y son normalmente consumidos en estado fresco sin ningún tipo de intervención que reduzca, controle o elimine patógenos previo al consumo. El Centro para el Control de Enfermedades estima que para los 90 al menos el 12 por ciento de los brotes asociados a enfermedades transmitidas por los alimentos estuvieron relacionados con frutas y hortalizas frescas. Por lo tanto, en orden de prevenir brotes de enfermedades transmitidas a través de los alimentos, la evaluación de peligros ha sido reconocida en el mundo como una forma sistemática para organizar la información y ayudar a hacer intervenciones realistas y viables. El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de microorganismos patógenos en cilantro y lechuga producidos en Puerto Rico bajo sistemas hidropónicos. Ciento veinte muestras de cada hortaliza fueron cosechadas aleatoriamente y procesadas para el análisis microbiológico siguiendo los procedimientos estándares recomendados por la Administración de Drogas y Alimentos para el conteo de aerobios en plato, coliformes, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli* O157:H7. En adición, una evaluación de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) fue realizado a través de entrevistas y observación directa de las actividades en el lugar. Los promedios de los conteos microbiológicos fueron: de 3.76 a 6.83 log CFU/g para microorganismos aerobios; de 2.04 a 5.14 log CFU/g para coliformes y menos de 1 CFU/g para *Escherichia coli* en cilantro. Para la lechuga el conteo de aerobios fue de 3.48 a 6.50 log CFU/g y de 1.70 a 5.69 log CFU/g para coliformes. *E. coli* no fue detectado bajo las condiciones estudiadas. *Shigella sonnei* y *Escherichia coli* O157: H7 no fueron aisladas. Los agricultores deben recibir capacitación en BPA: 94.1% de ellos no mantienen registros que demuestren todas las operaciones realizadas en la finca y el 64.7% necesita mejorar el adiestramiento de los trabajadores en higiene.

Derechos de Autor Reservados©
Angélica María Peluffo Rivera
2009

DEDICATORIA

A tí Yahvé en acción de gracias por tu infinita misericordia.

“Nada es imposible para tí” (Jeremías 32, 17),

y a tí María madre de bondad.

!Gracias!!!

AGRADECIMIENTOS

Cualquier palabra expresada en estas páginas es insuficiente para agradecer a todas las personas que permitieron realizar esta investigación, a todos ustedes gracias por su apoyo, a los que han estado desde el momento en que me motivaron para aplicar a el programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos en la Universidad de Puerto Rico en Mayagüez, a los que han sido aliento y compañía en este camino, aquí no menciono nombres ni apellidos ustedes saben quiénes son y se saben aludidos (*Marcos Vidal – Mi regalo*).

Especial agradecimiento a toda mi familia por estar allí siempre, a mis amigos y compañeros de maestría quienes siempre me dieron ánimo, especialmente a Diana Tamarís Turizo, Ingrid López Maldonado, Lurdes Siberio Pérez, Luz Alba Florián Algarín y Maribel Alemañy de Jesús, quienes me acompañaron durante la recolección de muestras y experimentos en el laboratorio, con ustedes esta tarea se hizo más fácil. Al doctor Fernando Pérez Muñoz por sus consejos y siempre preocuparse como lo haría un verdadero padre, a Ivette Viseepó (Bessie) por esos gestos de cariño y confianza que con gran ternura siempre tiene un sí a nuestras peticiones.

A la doctora Lynette E. Orellana Feliciano que me aceptó y guió para llevar a cabo este proyecto, gracias por su orientación, paciencia, apoyo y amistad, a la doctora Edna Negrón de Bravo por ser una consejera constante, al profesor Melvin Irizarry por su disposición y guía como miembro del comité graduado.

A todos los agricultores que desinteresadamente permitieron la visita a sus fincas, la recolección y donación de las muestras y la información brindada, así mismo a los directores y miembros de los núcleos de producción, Organización de Productores Comerciales en Hidropónicos de Puerto Rico (OPCH) e Hidrovegetales de Puerto Rico Inc. y al Agrónomo Manuel Crespo.

Finalmente quiero agradecer al USDA-CSREES que bajo el proyecto número 2006-51100-0365 ofrecieron la ayuda económica para sufragar los gastos relacionados con esta investigación.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Abstract	ii
Resumen	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Tabla de Contenido	vii
Lista de Tablas	ix
Lista de Figuras	x
Lista de Apéndices	xi
Introducción	1
Revisión de Literatura	3
Materiales y Métodos	15
1. Obtención y Preparación de Muestras	15
2. Análisis Fisicoquímico	16
a. Medición de pH	16
b. Medición de actividad de agua	16
3. Análisis Microbiológico	16
a. Recuento total de aerobios	16
b. Recuento de organismos indicadores	16
c. Detección de <i>Shigella sonnei</i> en cilantro	16
d. Detección de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 en lechuga	19
4. Evaluación de Buenas Prácticas Agrícolas en la Finca	20
5. Análisis dístico	20

Resultados y Discusión	21
1. Resultados Microbiológicos y Fisicoquímicos.	21
2. Resultados de la Evaluación de Buenas Prácticas Agrícolas en la Finca.	28
a. Mantenimiento de registros	29
b. Adiestramiento de trabajadores en higiene personal	30
c. Instalación de sanitario y lavado de manos	33
d. Calidad del agua de aspersión e irrigación	33
e. Pozos Profundos de la finca	33
f. Uso y almacenamiento de Plaguicidas	37
g. Animales salvajes	37
h. Saneamiento de la cosecha y el campo	37
i. Saneamiento y seguridad en la empacadora	37
j. Plan de acción para el manejo pos-cosecha de los productos	42
k. Bioseguridad de la finca	42
l. Manejo de emergencias	42
Conclusiones	46
Recomendaciones	48
Referencias	49
Apéndices	54

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valor nutricional de la lechuga.	Página 6
Tabla 2. Área de Producción de Hidropónicos en P.R. año 2007.	7
Tabla 3. Área de Producción de Cilantro y Lechuga Hidropónicos en P.R. año 2007.	7
Tabla 4. Lechuga y otros vegetales. 2007. Censo de agricultura de Puerto Rico.	8
Tabla 5. Consumo de Hortalizas en Puerto Rico. Año 2006.	8
Tabla 6. Resumen de muestras analizadas para <i>E. coli</i> patogénico. DMP 2007.	12
Tabla 7. Resumen de muestras analizadas para <i>E. coli</i> patogénico. DMP 2004	13
Tabla 8. Resumen de muestras analizadas para <i>Salmonella</i> . DMP 2004	13
Tabla 9. Resultados Microbiológicos y Físico – Químicos en cilantro.	21
Tabla 10. Resultados Microbiológicos y Físico – Químicos en lechuga.	22
Tabla 11. Recuentos de aerobios en cilantro y lechuga según Gerencia con Calidad Total – HACCP para alimentos crudos.	24
Tabla 12. Plan de acción para el mantenimiento de registros.	31
Tabla 13. Plan de acción para el adiestramiento de trabajadores en higiene personal.	32
Tabla 14. Plan de acción para la instalación de inodoros y lavamanos.	34
Tabla 15. Plan de acción para la calidad del agua de aspersión e irrigación	35
Tabla 16. Plan de acción para los pozos profundos de la finca.	36
Tabla 17. Plan de acción para el uso y almacenamiento de plaguicidas.	38
Tabla 18. Plan de acción para el manejo de animales salvajes en la finca.	39
Tabla19. Plan de Acción para el Saneamiento de la Cosecha y el Campo.	40
Tabla 20. Plan de Acción para el Saneamiento y seguridad en la empacadora.	41
Tabla21. Plan de Acción para el manejo pos-cosecha de los productos.	43
Tabla22. Plan de Acción para la bioseguridad de la finca.	44
Tabla23. Plan de Acción para el manejo de emergencias.	45

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Frecuencia de brotes de enfermedades transmitidas a través de alimentos relacionadas con frutas y hortalizas frescas.	2
Figura 2. Fotos de Cultivo hidropónico de cilantro y lechuga bajo el sistema de recirculación de la solución mineral en tubos.	3
Figura 3. Foto de Cilantro.	4
Figura 4. Foto de lechuga.	5
Figura 5. Mapa de Puerto Rico. Se señalan los pueblos donde están ubicadas las fincas muestreadas.	15
Figura 6. Foto de “MacConkey Agar” con colonias de <i>Shigella sonnei</i> y colonias de la flora fecal.	17
Figura 7. Foto de plato petri con “MacConkey Agar” inoculado con muestra de cilantro	18
Figura 8. Fotos de tubos con “Triple Sugar Iron Agar” (TSI).	18
Figura 9. Foto de plato petri con Agar MacConkey II.	19
Figura 10. Promedio del recuento de aerobios en fincas productoras de cilantro	23
Figura 11. Promedio del recuento de aerobios en fincas productoras de lechuga	23
Figura 12. Promedios del recuento de coliformes en fincas productoras de cilantro.	25
Figura 13. Promedios del recuento de coliformes en fincas productoras de lechuga	25
Figura 14. Promedios de medida pH de muestras en fincas productoras de cilantro	26
Figura 15. Promedios de medida de a_w de muestras en fincas de cilantro	27
Figura 16. Promedios de medida de pH de muestras en fincas productoras de lechuga	27
Figura 18. Promedios de medida a_w de muestras en fincas productoras de Lechuga	28
Figura18. Diagrama de cadena de suplidores de cilantro y lechuga hidropónicos	29

LISTA DE APÉNDICES

	Página
Apéndice A. Fotografías entregando y discutiendo con agricultor los resultados microbiológicos y buenas prácticas de agricultura de su finca.	55
Apéndice B. Estadística descriptiva de cilantro y lechuga	57

INTRODUCCIÓN

Una dieta rica en frutas y hortalizas es altamente promovida por los gobiernos por los beneficios a la salud atribuidos por la comunidad científica (1). Es así como entre 1970 y 1997 el consumo anual de hortalizas en los dos Unidos aumentó en un 24% (2, 3, 4) y se estima que entre el año 2000 y 2020 este consumo de Futas y hortalizas también aumente de un 24 a un 27% (5). Sin embargo, existe una sucesiva incidencia de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos relacionados con frutas y hortalizas frescas, que pueden debilitar la confianza del consumidor respecto a la inocuidad y beneficios a la salud de estos productos, teniendo en cuenta que este tipo de alimentos no son sometidos a ningún tipo de procesamiento que reduzca o elimine la presencia de microorganismos patógenos (6).

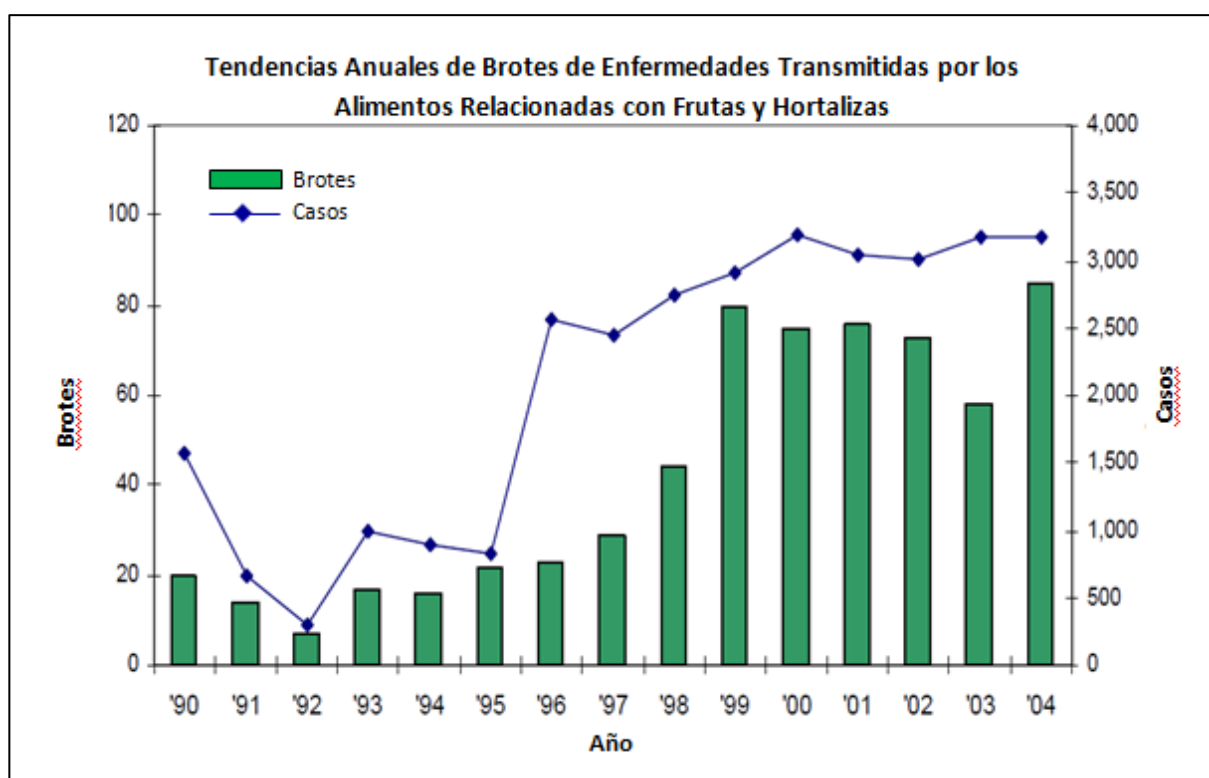
Entre el año 1990 y el 2004, ocurrieron un total de 639 brotes relacionados con frutas y hortalizas frescas. Así mismo, en el año 2004 se duplicó el número de brotes -85 - en comparación con el año 1998 – 44 brotes - (Ver Figura 1). Este cambio se puede relacionar con los esfuerzos de vigilancia a partir de 1998 por parte del Centro para el Control y prevención de Enfermedades (CDC) -por sus siglas en inglés- (7). Así mismo el Departamento de Drogas y Alimentos de los dos Unidos (FDA), ha reportado avisos de retiro y advertencia al consumidor sobre la presencia de microorganismos patógenos como, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli* O157:H7, en vegetales frescos incluyendo cilantro y lechuga (8).

La presencia de organismos dañinos en las hortalizas frescas está afectada por varios factores. Entre estos se encuentran, el suelo contaminado con inundaciones, el agua de riego de mala calidad, falta de higiene de los empleados, pobre control de plagas, presencia de animales y hasta el mismo aire. Todos estos factores pueden exponer este tipo de alimento a microorganismos contaminantes que son patógenos al ser humano (9, 10, 11). Además, las frutas y hortalizas frescas se caracterizan por poseer una actividad de agua (a_w) mayor a 0.85 y un pH entre 5.0 y 6.0 (12). Estos parámetros intrínsecos de este tipo de alimento contribuyen al crecimiento y desarrollo de los microorganismos en el mismo.

En Puerto Rico, el cilantro y la lechuga son parte de la dieta diaria, por su uso variado en la cocina de la Isla. Su diverso uso ha motivado su producción, convirtiendo este sector hortícola en uno de los más dinámicos dentro de la agricultura local (13).

investigación tuvo como propósito obtener información de las prácticas agrícolas en Puerto Rico y de la presencia de microorganismos relacionados con enfermedades transmitidas a través de hortalizas, específicamente en el cilantro y la lechuga. La información obtenida permitirá a los productores y a las autoridades correspondientes, diseñar acciones correctivas y medidas de intervención que conlleven a la prevención y reducción de enfermedades.

Los objetivos específicos de investigación fueron evaluar la calidad general del cilantro (*Coriandrum sativum*) y la lechuga (*Lactuca sativa*) producidos en Puerto Rico, realizando un recuento total en plato. Medir la actividad de agua y el pH. Identificar la presencia de coliformes totales, coliformes fecales, *Shigella sonnei* en cilantro, *Escherichia coli* O157:H7 en lechuga. blecer medidas preventivas y/o de intervención adecuadas para los peligros microbiológicos identificados.



Fuente: Center for Science in the Public Interest. http://www.cspinet.org/foodsafety/produce_data.pdf

Figura 1. Frecuencia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, relacionadas con frutas y hortalizas frescas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cultivo Hidropónico

El cultivo hidropónico, también llamado cultivo sin suelo, es una tecnología en la que se cultiva en soluciones minerales (agua con fertilizantes) con o sin el uso de un medio como sustrato sólido artificial y no en el suelo, como es tradicional. Su nombre proviene del griego “*hydro*”, agua y “*ponos*”, trabajo. Se dice que este sistema de agricultura fue descubierto en el siglo XIX (Figura 2). Como sustrato sólido para sostener las plantas se utiliza vermiculita, perlita agrícola, cáscaras de arroz, fibras de coco, lana de roca o higrodón, entre otros (14,15).



Figura 2. Fotos de cultivo hidropónico de cilantro y lechuga producidos bajo el sistema de recirculación de la solución mineral en tubos.

Entre las ventajas del cultivo hidropónico están: el uso de menor espacio, producción de alimentos en zonas áridas, ya sea en climas templados o fríos, no se requiere maquinaria agrícola, puede haber mayor higiene en los cultivos y su riego no erosiona la tierra. Sin embargo entre algunas desventajas del cultivo hidropónico está el costo relativamente alto de la inversión inicial a nivel comercial, los cuidados especiales que se requieren, así como la disponibilidad de un abastecimiento continuo de agua (15, 16).

Cilantro

Es una hierba anual parecida al perejil (Figura 3), pertenece a la familia Apiaceae (*Umbelliferae*), originaria de Europa meridional. Aparece en registros históricos egipcios de 1550 A.C y llegó al Caribe, Centro y Sur América a través de los colonizadores españoles. Su crecimiento es rápido y recto, las hojas en el tallo central son ovaladas con bordes dentados, en las ramas laterales son más sencillas y delicadas. Las flores son de color blancuzco, rosa pálido moradas con racimos en forma de sombrilla, las cuales se encuentran al final de las ramas. Todas las partes de la planta son comestibles, las semillas son llamadas “coriandro”. Por su sabor y aroma se usan para sazonar y la hoja se usa como especia en la cocina (17, 18, 19).



Figura 3. Foto de cilantro.

Fuente: <http://www.viable-herbal.com/images/herbs/cilantro-bsp.jpg>

Para el cultivo hidropónico del cilantro, se siembra la semilla en el medio de propagación llamado oasis (higrodón), se dejan a la sombra para que ocurra el proceso de germinación y a los cinco días se ubican a la luz solar. Además, durante el día se supe de agua con pH neutro tres o cuatro veces al día luego de la siembra. Entre los doce y catorce días, las plantas con uno y medio a dos pulgadas de altura son llevadas a la mesa de producción y se ubican dentro de los tubos. Las plantas crecerán por un tiempo aproximado de cuatro semanas donde se debe controlar la frecuencia de riego, la concentración de fertilizante y la frecuencia del control de plagas (18, 20). El tiempo de cosecha depende del

tamaño requerido de las plantas: doce pulgadas de altura se da aproximadamente a los veintitrés días, catorce pulgadas a los veintiocho días. El peso de la unidad de venta debe ser de cuatro onzas. El empaque se realiza en bolsas plásticas perforadas para la ventilación y luego en cajas de cartón (18).

Lechuga

La lechuga, es una planta anual, de la familia de las “*Asteraceae*”; nombre binomial “*Lactuca sativa*”. Proviene del género “*lactuca*” del latín “*lac*”, que significa leche, refiriéndose a la apariencia lechosa de la savia de planta (Figura 3). Se puede consumir durante todo el año debido a las muchas variedades que se cultivan. Es originaria del mediterráneo y llegó con Cristóbal Colón a América. Se conocía como una planta que crecía en la maleza y actualmente es una de las hortalizas más antiguas, después de la papa, la lechuga es la verdura más consumida en los Estados Unidos. Tiene usos diversos pero generalmente se consume en ensaladas frescas (21, 22, 23).



Figura 3. Foto de lechuga

Las lechugas se pueden clasificar según su forma en: lechuga de cabeza, lechuga de hoja suelta y la romana. La lechuga de cabeza describe a las variedades cuyas hojas crecen como una rosa cerrada. La lechuga de hoja suelta incluye variedades de lechugas con hojas que salen del tallo, las hojas son más crujientes y tienen mejor sabor. La lechuga romana tiene forma alargada y sus hojas externas son más oscuras, de textura crujiente y sabor fuerte. La lechuga es una excelente fuente alimenticia (Tabla 1), sin embargo la lechuga romana es la que más proporciona nutrientes y es excelente fuente de vitamina C.

Tabla 1. Valor nutricional de la lechuga.

Valor Nutricional	
Una taza de hojas de lechuga cruda picada (47g)	
Calorías	9 (37.7 kJ)
Fibra Dietética	1.3 g
Proteína	1 g
Carbohidratos	1.34 g
Vitamina A	1,456 UI
Vitamina C	13.44 mg
Calcio	20.16 mg
Hierro	0.62 mg
Potasio	162.4 mg

Fuente: Lettuce. 2009. University of Illinois Extension. Urban Programs.

Una guía completa del cultivo hidropónico de lechuga está disponible en el Manual de lechuga de la Universidad de Cornell (24)

Producción de Cilantro y Lechuga en Puerto Rico

Entre los cultivos principales producidos en hidropónicos en Puerto Rico están: lechuga, recaó, cilantro, tomate, ají dulce y pimiento morrón. Entre los cultivos secundarios en hidropónicos se encuentran: lechuga romana, pepinillo, albahaca, germinados y otras plantas aromáticas (25) (Tabla 2 y Tabla 3).

Tabla 2. Área de Producción de Hidropónicos en P.R. Año 2007.

Área de Producción de Hidropónicos	
Número de productores	270
Número de estructuras	681
Total área de pies ² en estructuras	2,282,653 pies ²
Total área de cuerdas en estructuras	52 cuerdas

Tabla 3. Área de Producción de Cilantro y Lechuga cultivados en Hidropónicos en P.R. Año 2007.

Área de Producción de Cilantro y Lechuga en Hidropónicos			
Cultivos	Productores	Pueblos	Área neta de cosecha
Cilantro	81	36	452,607 pies ²
Lechuga	52	30	432,362 pies ²

En la tabla 4 se presenta el número de fincas, cuerdas y libras cosechadas en Puerto Rico para el año 2007 (26).

Tabla 4. Lechuga y otros vegetales.
2007 Censo de agricultura de Puerto Rico

Cultivos Cosechados	Año 2007
Lechuga	
Fincas	55
Cuerdas	23
Libras	1,386,383
Otros vegetales o melones (incluyendo hidropónicos)	
Fincas	115
Cuerdas	246
Libras	1,189,765

El valor de la producción de hortalizas en Puerto Rico para el año 2006 - 2007 fue de \$35.6 millones; cifra representa el 10.7% del valor total por concepto de cultivos. Así mismo el consumo per cápita de hortalizas frescas en Puerto Rico en el año 2006 fue de 89.20 lb, de los cuales 7.07 lb que es el 7.92 % corresponden al consumo de lechuga (Tabla 5) (27).

Tabla 5. Consumo de Hortalizas en Puerto Rico. Año 2006

Consumo per cápita de hortalizas Frescas 2006	
Algunos Cultivos	Libras
Tomate	20.01
Cebolla	8.88
Calabaza	8.55
Lechuga	7.07
Pimiento	2.68

Coliformes

La calidad sanitaria de un alimento, proviene de los cuidados en materia de higiene con que fue producido. Las malas prácticas sanitarias pueden resultar en pérdida de calidad, daño y en algunos casos generar un peligro a la salud. Las bacterias coliformes incluyen aerobios y anaerobios facultativos, gram-negativos, no formadores de esporas, capaces de fermentar lactosa con la producción de ácido y gas a 32°C en 48 h. Este grupo incluye bacterias de origen fecal y no fecal y pertenecen principalmente al género de *Escherichia* y *Enterobacter* de la familia *Enterobacteriaceae* (28).

Las bacterias coliformes se encuentran normalmente en grandes números en frutas y hortalizas frescas debido a que se cultivan en un ambiente abierto y natural. *E. coli* ha sido usado como indicador de contaminación fecal en alimentos y agua. Variedades patogénicas de *E. coli* y *Salmonella*, con frecuencia han do implicados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos relacionados con frutas y hortalizas frescas, por lo que son organismos de importancia en salud pública (29, 30).

Shigella

Shiguella es un género bacteriano perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* integrado por bacterias de forma bacilar, no esporuladas, inmóviles, pero animados de movimiento pendular (oscilación). Son bacterias gram negativas, aerobias - anaerobias facultativas y citocromo-oxidasa negativo. Los mismos fermentan la glucosa sin producción de gas. No obstante, se han encontrado algunos biotipos que producen gas a partir de la glucosa. El género *Shigella* se divide en cuatro especies: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei*. (31, 32).

Las infecciones con *Shigella* pueden contraerse por comer alimentos contaminados y estos a su vez pueden contaminarse por contacto con personas infectadas que los manipulan y se olvidan de lavarse las manos con jabón después de utilizar el baño. Además las hortalizas pueden contaminarse si se cosechan de un campo en el que las aguas de riego se contaminan con residuos fecales. Las infecciones con *Shigella* también pueden adquirirse al beber o bañarse en agua contaminada. El agua puede contaminarse si recibe aguas residuales o si alguien con shigelosis se baña en ella (12).

Shigella es un microorganismo altamente infeccioso y una dosis de 10 a 100 células puede causar infección (31). El período de incubación es de 1 a 4 días pero puede llegar hasta los 8 días. *Shigella* es una bacteria resistente a pH bajos (pH 2.5) y así se facilita su tránsito a través del estómago (32). La mayoría de las personas infectadas con *Shigella* contraen diarrea, fiebre y calambres estomacales a partir de un día o dos después de su exposición a la bacteria. La diarrea es a menudo sanguinolenta. En algunas personas, especialmente en los niños de corta edad y los ancianos, la diarrea puede ser tan grave que el paciente necesite ser hospitalizado. Una infección aguda con fiebre elevada también puede ir acompañada de ataques o convulsiones en niños menores de 2 años de edad (33, 34).

***Escherichia coli* .**

Escherichia coli se encuentra generalmente en los intestinos animales, incluyendo el humano y, por ende, puede estar presente en las aguas usadas. Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, móvil por medio de flagelos que rodean su cuerpo y no forma esporas. La bacteria es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa (28). Teniendo en cuenta su mecanismo de patogenicidad y cuadro clínico, las cepas de *E. coli* causantes de diarrea se clasifican en seis grupos: enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica, también conocida como productoras de toxina Vero o toxina semejante a Shiga (EHEC o VTEC o STEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y de adherencia difusa (DAEC) (12).

E. coli enterohemorrágica (EHEC) ha sido asociada con brotes caracterizados por dolor abdominal, diarrea acuosa con sangre y poco o nada de fiebre, cuadro al que se le llama colitis hemorrágica (CH). La bacteria más comúnmente aislada para este síndrome es *E. coli* del serotipo O157:H7. La bacteria también se asocia con casos del síndrome urémico hemolítico (SUH) caracterizado por daño renal agudo, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática, precedida por diarrea con sangre. *E. coli* es productora de una citotoxina con actividad en células Vero, por lo que se le llama verotoxina (VT). A las cepas capaces de producirla se les denomina *E. coli* verotoxigénicas (VTEC). La capacidad toxigénica de las cepas es necesaria para que el paciente desarrolle colitis hemorrágica y diarrea con sangre, ya que la citotoxina STX es el principal mecanismo de patogenicidad de EHEC (34, 35).

E. coli O157:H7 en particular no fermenta el D-sorbitol ni produce β -glucuronidasa. *E. coli* O157:H7 se puede encontrar en bovinos, cabras, borregos y con menos frecuencia en cerdos y pollos. Su principal reservorio es el intestino de ganado bovino, pero también se ha logrado recuperar de frutas y hortalizas como lechuga, rábanos y alfalfa. Además se ha encontrado en productos procesados como mayonesa, jugos de naranja y manzana no pasteurizados; aún cuando estos alimentos tengan un pH de 3.4, condición en la que puede sobrevivir varios días. La transmisión de *E. coli* O157:H7 puede ser al ingerir carne cruda o mal cocida, leche cruda, agua contaminada pero también puede ser transmitida de persona a persona por la indebida manipulación de alimentos. Una pequeña dosis infecciosa de 50 a 100 células es suficiente para causar infección (31).

Frutas, hortalizas y patógenos

Una gran variedad de frutas y hortalizas han sido relacionados con varios patógenos; entre ellas zanahoria, melón, espárrago, germinados de soja y alfalfa, brócoli, coliflor, tomate, pepino y hojas verdes como lechuga, espinaca, perejil, cilantro y repollo. Los brotes con los que han do relacionadas s hortalizas incluyen bacterias patógenas como *Salmonella* spp, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolítica* y *Aeromonas* spp. (11, 31). *L. monocytogenes* ha demostrado crecer en hortalizas refrigeradas, incluyendo lechuga, brócoli, coliflor, y el espárrago (28). También se han asociado a brotes de virus como hepatitis A y norovirus y parásitos como *Giardia lamblia* (11).

En el año 2001 el Congreso, autorizó la financiación de un programa de vigilancia microbiológica para blecer una nueva base de referencia microbiana del suministro nacional de frutas y vegetales frescos. El Programa de Datos Microbiológicos (MDP), fue blecido como parte de la más amplia iniciativa presidencial de seguridad alimentaria. MDP tiene la misión de reunir información con respecto a la incidencia y la identificación de patógenos y organismos indicadores en frutas y hortalizas (29).

Los productos seleccionados para ser analizados en el MDP son consultados con la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) y se eligen por ser frutas y hortalizas de alto consumo en los dos Unidos que comúnmente se ingieren crudos y adicionalmente han do

implicados con brotes de origen alimentario (29, 30). Para el año 2007 MDP el incluyó germinados de alfalfa, melón, lechugas frescas pre-cortadas en bolsa, cebolla verde, y tomates que fueron analizados para determinar la presencia de *Escherichia coli* genérico, cepas de *E. coli* potencialmente patógenas, *E. coli* O157:H7 y *Salmonella*. Además los laboratorios analizaron bacterias coliformes en todas muestras de lechuga fresca pre-cortada en bolsa.

La lechuga fresca pre-cortada en bolsa es un producto listo para comer que se lava antes del empaque. Por lo tanto, solo muestras empacadas en bolsas fueron analizadas para detectar la presencia de bacterias coliformes. Los datos indican una reducción significativa de bacterias coliformes en comparación con lechuga fresca, lo que demuestra que el lavado y otras medidas adoptadas en la preparación de lechuga fresca cortada y empacada disminuyen en gran medida el número de bacterias coliformes normalmente esperados en la misma. Sin embargo, cuatro muestras positivas de cepas de *E. coli* patogénico fueron aisladas de 5279 muestras analizadas (30) (Tabla 6).

En el 2004 se analizaron muestras de melón, apio, lechuga de hoja y romana, tomates, cebolla verde, cilantro y perejil para *E. coli* con potencial patogénico y *Salmonella*. Se identificaron 43 muestras contaminadas con *E. coli* patogénico. En melón, cilantro, cebolla verde, lechuga romana y perejil se aisló una muestra con *Salmonella*, en cada producto (Tabla 7 y Tabla 8).

Tabla 6. Resumen de muestras analizadas para *E. coli* patogénico. MDP 2007.

Producto	Número de muestras evaluadas	Número de muestras escanadas por mPCR	Número de muestras positivas de <i>E. coli</i> patogénico
Melón	1,062	1,062	1
Cebollas Verdes	1,067	1,067	0
Lechuga en bolsa	1,039	1,039	2
Geminados (Alfalfa)	1,047	1,047	1
Tomates	1,064	1,064	0
Total	5,279	5,279	4

Fuente: USDA. MDP. Progress Update and 2007 Summary. Table 3.
<http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=STELPRDC5067866>

Tabla 7. Resumen de muestras analizadas para *E. coli* patogénico. MDP 2004.

Producto	Número de muestras evaluadas	Número de muestras positivas de <i>E. coli</i> patogénico
Melón	2,233	2
Apio	1,113	1
Cilantro	574	8
Cebolla verde	1,128	2
Lechuga	3,339	19
Perejil	588	10
Tomates	2,236	1
Total	11,211	43

Fuente: USDA. MDP. Progress Update and 2004 Summary. Table 3.
<http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=MDPSUMM04>

Tabla 8. Resumen de muestras analizadas para *Salmonella*. MDP 2004.

Producto	Número de muestras evaluadas	Número de muestras positivas de <i>E. coli</i> patogénico	Numero de positivos aislados
Melón	2,233	2	1
Apio	1,113	1	0
Cilantro	574	8	1
Cebolla verde	1,128	2	1
Lechuga	3,339	19	1
Perejil	588	10	1
Tomates	2,236	1	0
Total	11,211	43	5

Fuente: USDA. MDP. Progress Update and 2004 Summary. Table 5.
<http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=MDPSUMM04>

Buenas Prácticas Agrícolas

Durante las últimas décadas se ha observado un aumento en los casos de enfermedades transmitidas por alimentos a través de frutas y hortalizas frescas. Esto se cree puede ser debido a factores tales como: la cosecha en un ambiente natural vulnerable a contaminación con patógenos, la calidad del agua agrícola, el uso de estiércol como

fertilizante, la presencia de animales en campos o áreas de empaque, la salud e higiene de los empleados durante la producción, procesamiento, transporte, distribución y preparación, el aumento en el consumo crudo sin ningún tipo de intervención para reducir, controlar o eliminar patógenos, la globalización y el aumento de personas en el grupo de alto riesgo.

Por lo tanto, en enero de 1997, el Presidente Clinton anunció una Iniciativa de Seguridad Alimentaria para mejorar la seguridad del abastecimiento de alimentos en los Estados Unidos, que hoy se conoce como la Guía para Reducir al Mínimo el Riesgo Microbiano en los Alimentos en Frutas y Vegetales Frescos. La guía posee indicaciones para la cosecha, manejo y empaque de frutas y vegetales siguiendo Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas Manufactureras. Una vez el alimento está contaminado, remover o matar los microorganismos es difícil. Por lo tanto, la prevención de la contaminación microbiana desde la producción hasta la distribución es mejor que otros tratamientos para eliminar la contaminación que pueda ocurrir. La documentación de programas preventivos y el entrenamiento de empleados en todos los niveles son piezas claves para el desarrollo de programas de seguridad de alimentos exitosos.

Los lineamientos indicados en la Guía para Reducir al Mínimo el Riesgo Microbiano en los Alimentos, en el Caso de Frutas y Vegetales Frescos, son de carácter voluntario, no una regulación. Así mismo orienta a los productores, compradores, empacadores y procesadores de frutas y vegetales de los peligros microbiológicos potenciales de la cadena de producción. Las prácticas descritas en este documento son conocidas como Buenas Prácticas Agrícolas (BPA). Las BPA son una guía general en inocuidad de alimentos, que incluye aspectos en la producción donde la inocuidad puede ser comprometida durante la producción y cosecha e incluye los siguientes (6, 36): prevención de contaminación, uso del terreno y los alrededores, calidad del agua de uso agrícola y agua utilizada en el procesamiento de frutas y vegetales, calidad del estiércol animal y desechos orgánicos municipales sólidos, la salud e higiene de los trabajadores, adecuada construcción y uso de las instalaciones sanitarias, uso de plaguicidas y fertilizantes, la sanidad en el campo, limpieza de las instalaciones de empaque y el transporte.

Actualmente existen programas de naturaleza gubernamental para trabajar con la inocuidad de alimentos siguiendo Buenas Prácticas Agrícolas para algunas frutas y hortalizas; entre ellos, los vegetales de hoja verde, tomate, melón, setas, pimientos, espinacas y fresas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. **Obtención y preparación de muestras.** Se visitaron diecisiete fincas hidropónicas, seis que cultivan lechuga, seis que cultivan cilantro y cinco cultivan ambos cultivos. Las fincas están localizadas en los pueblos de Adjuntas, Arecibo, Canóvanas, Ciales, Guayanilla, Hatillo, Jayuya, Lajas, Lares, Mayagüez, Moca, San Sebastián y Utuado (Figura 5). Para llevar a cabo el análisis microbiológico se obtuvo un total de diez muestras de cilantro y diez muestras de lechuga. Cada muestra representaba doce unidades de venta al detal. La unidad de venta fue de cuatro onzas para el cilantro y diez onzas para la lechuga. Las plantas fueron seleccionadas aleatoriamente de una misma mesa de producción, se empacaron en bolsas de polietileno y por último en una caja de cartón. Las muestras fueron transportadas al laboratorio de Microbiología de Alimentos del programa CITA de la UPRM para ser analizadas. En el laboratorio, a cada planta se le retiró el oasis junto con las raíces y se cortaron los tallos y hojas en tamaño de un centímetro de longitud.



Figura 5. Mapa de Puerto Rico. Se señalan los pueblos donde están ubicadas las fincas muestreadas.

2. Análisis Fisicoquímico.

- a. **Medición de pH.**: Se utilizó como instrumento de medición el potenciómetro (pH meter AB 15 Accumen Basic®) previamente calibrado con soluciones amortiguadoras pH 4.00, 7.00 y 10.00. Se tomaron 20 gramos de muestra la cual fue homogenizada con 20 mililitros de agua destilada en un mortero de porcelana y luego filtrada. Se realizó medición por triplicado.
- b. **Medición de Actividad de agua (a_w)**: Se midió el a_w en un higrómetro (Aqua Lab Cx-2®). Las muestras, en igual proporción de tallos y hojas, se colocaron en los platos de medición del instrumento, cubriendo toda la superficie del fondo del plato sin que la muestra sobrepasara la mitad de la altura del mismo. medición se realizó por triplicado.

3. Análisis Microbiológico.

Para el recuento de aerobios (APC) y el recuento de organismos indicadores, se realizaron diluciones en serie desde 10^{-1} hasta 10^{-6} a partir de veinticinco gramos de muestra.

- a. **Recuento total de aerobios (APC)**. Para este procedimiento se utilizó el método convencional de recuento total de aerobios en plato, explicado en el capítulo tres del Manual de Análisis Bacteriológico -BAM por sus siglas en inglés– (35) utilizando Placas APC Petrifilm™ 3M (37)
- b. **Recuento de organismos indicadores**. El recuento de coliformes fecales y coliformes totales se realizó siguiendo lo indicado en el capítulo cuatro del BAM (35), utilizando Placas para Recuento de *E. coli*/Coliformes Petrifilm™ 3M (38).
- c. **Detección de *Shigella sonnei* en cilantro**. El método convencional de cultivo para *Shigella sonnei*, señalado en el capítulo seis del BAM (35) fue utilizado en este análisis. Primero se homogenizaron veinticinco gramos de muestra en doscientos veinticinco mililitros de GN Broth Hajna con novobiocin (0.5 µg/ml) y se dejó en reposo por 10 minutos a temperatura ambiente con agitación periódica. solución fue utilizada como enriquecimiento y primera dilución (10^{-1}).

El supernadante de la misma (con pH de 7.0 ± 0.2 , ajustado cuando fue necesario) se vertió en un erlenmeyer estéril, se colocó dentro de una jarra anaeróbica con catálisis y se incubó a 44°C por 20 horas. Pasado este tiempo se agitó la suspensión y se sembró con la técnica de estriado en plato en “MacConkey agar” (MAC). Se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-6} con agua peptonada al 0.1% y se sembraron 0.1 mililitros de cada una de s diluciones en un plato con MAC por medio de la técnica de esparcido en plato por duplicado. Los platos fueron incubados a 35°C por 20 horas. A cabo de este tiempo se seleccionan como colonias sospechosas de *Shigella sonnei* aquellas de color rosa traslúcidas con o sin bordes ásperos (Figura 6 y 7). Las colonias sospechosas se inoculan en “Triple Sugar Iron Agar” (TSI) e incuban a 35°C de 18 a 24 horas, así mismo en “Motility Test Medium” a 35°C de 24 a 48 horas. Por último, se desechan considerando como resultados negativos a *Shigella sonnei* los tubos que muestren motilidad, formación de gas, producción de H_2S en el fondo del tubo y los que presenten fermentación de sucrosa o lactosa indicado por cambio de color del medio de rojo a amarillo (Figura 8). No obstante, todas las colonias no sospechosas o negativas a *Shigella sonnei* fueron analizadas al igual que las positivas hasta el final del protocolo. Se llevó a cabo un control negativo para este microorganismo.

Colonias de flora la normal fecal (fermentadores de lactosa, colonias rojizas) mezcladas con *Shigella sonnei* (no fermentadora de lactosa, colonias rosa) traslúcidas) (Rebecca Buxton, University of Utah)



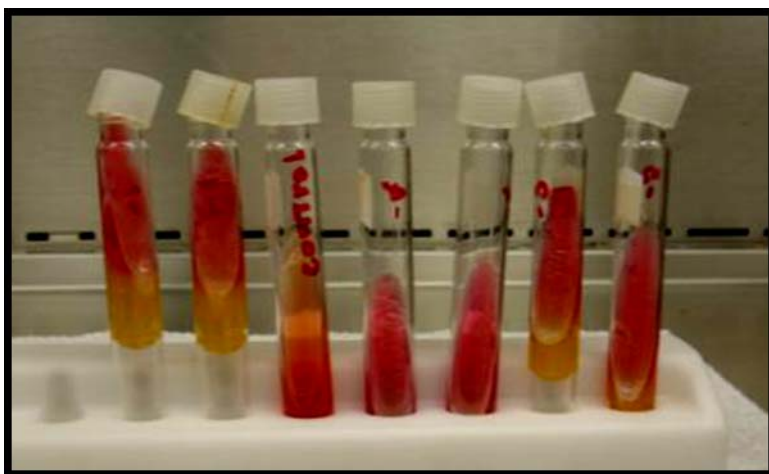
Fuente: <http://www.microbelibrary.org/ASMOOnly/details.asp?id=1976&Lang=&ISkip=20>

Figura 6. Foto de “MacConkey Agar” con colonias de *Shigella sonnei* y colonias de la flora fecal.

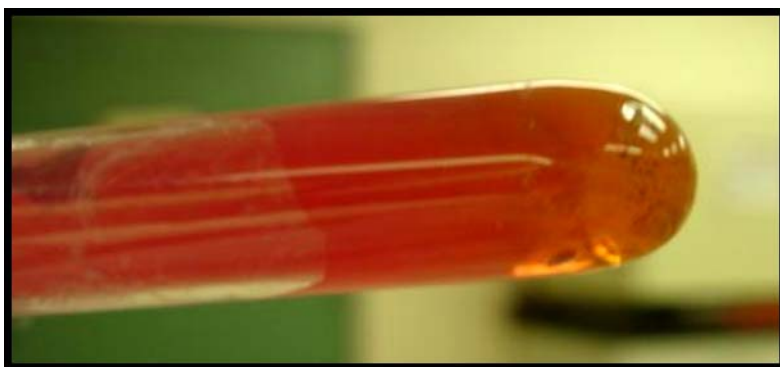


Colonias color rosa y rosa intenso no traslúcidas, no se aislaron colonias típicas de *Shigella sonnei*.

Figura 7. Foto de plato petri con “MacConkey Agar” inoculado con muestra de cilantro.



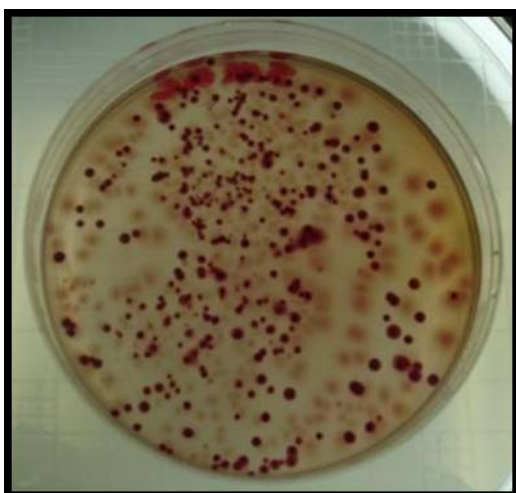
Tubos con “TSI agar”, presentan formación de gas y producción de H_2S en el fondo del tubo.



Producción de H_2S en el fondo del tubo

Figura 8. Fotos de tubos con “Triple Sugar Iron Agar” (TSI).

- c. **Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en lechuga.** Se siguió el método indicado en el capítulo cuatro- a del Manual de Analisis Bacteriológico (BAM) (35), homogenizando veinticinco gramos de muestra en doscientos veinticinco mililitros de “Tryptic Soy Broth” (TSB), utilizando solución como enriquecimiento y primera dilución (10^{-1}). La misma fue incubada a $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, pasado este tiempo, se realizó diluciones seriadas hasta 10^{-6} con agua peptonada al 0.1% seguido por esparcido de 0.1 mililitros de cada una de s diluciones en platos con “MacConkey II Agar con Sorbitol” “SMAC”. Los platos fueron incubados a temperatura de entre 35°C y 37°C por un periodo entre 18 y 24 horas; todos los platos se sembraron por duplicado. Se seleccionan como sospechosas aquellas colonias incoloras – sorbitol negativo (Figura 9.) y se estrian cinco colonias positivas en un plato con “EC Medium with MUG” e incubó a 37°C por 24 horas. Luego se observaron bajo luz U.V y se seleccionan como positivas las colonias que no emitan fluorescencia (MUG negativo). Las colonias negativas también fueron analizadas al igual que las positivas desde el inicio. Se realizó la prueba de aglutinación de látex con “RIM™ *Escherichia coli* O157:H7 Látex Test REMEL”, siguiendo las instrucciones de la prueba. Si ocurre aglutinación del test (O157 y H7) y no aglutinación del control en un minuto, el resultado se reporta positivo a *E. coli* O157:H7 (39). En cada experimento se realizó un control positivo de *E. coli* O157:H7, además de un control negativo para este microorganismo.



Agar MacConkey II con Sorbitol inoculado con muestra de lechuga. Se observan colonias rosa y rosa intenso, no hay colonias incoloras.

Figura 9. Foto de plato petri con Agar MacConkey II con Sorbitol.

4. Evaluación de Buenas Prácticas Agrícolas en la Finca (BPA).

La evaluación de las buenas prácticas agrícolas (BPA) se realizó mediante observación de las actividades realizadas en la finca y entrevista a los agricultores, usando como guía el manual de BPA: “La Inocuidad de los Alimentos Comienza en la Finca. Autoevaluación del Agricultor Sobre los Riesgos en la Inocuidad de los Alimentos.”, preparado por Anusuya Rangarajan et al., 2003 (40). Los resultados fueron enviados los agricultores, a una parte de ellos les fueron entregados y discutidos personalmente (Apéndice A).

5. Análisis dístico.

Las variables, recuentos de aerobios totales, recuento de coliformes, de a_w y pH fueron evaluadas usando el programa Infostat, realizando un análisis dístico descriptivo que incluye la media, mediana, desviación estándar, varianza, coeficiente de variación, valor mínimo y valor máximo (Apéndice B.). Para la obtención de estos parámetros dísticos, se utilizaron los promedios de las muestras analizadas para cada finca, así mismo los conteos microbiológicos reportados originalmente en unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g.), fueron transformados a su logaritmo en base 10 (Log CFU/g). Los resultados de la evaluación de las Buenas Prácticas Agrícolas, se presentan en porcentajes por número de fincas que se incluyen en cada categoría evaluada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Frutas y hortalizas frescas como lechuga, cilantro, perejil, melón y tomate, entre otros, han do asociados a brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos, relacionados con varios patógenos como *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli* O157:H7. La presencia de estos y los microorganismos típicos en los vegetales se ven afectadas por la composición química y propiedades fisicoquímicas, especialmente el alto valor de actividad de agua a_w de dichos vegetales, igualmente influyen cada una de las etapas en la cadena de producción, incrementando los peligros de contaminación a las que son expuestos estos alimentos (41).

1. Resultados Microbiológicos y Fisicoquímicos.

Tabla 9. Resultados Microbiológicos y Físico – Químicos en **cilantro**. n =10

Aerobios (log ₁₀ UFC/g)	Coliformes Totales (log ₁₀ UFC/g)	E. coli (UFC/g)	<i>Shigella sonnei</i>	Aw	pH
3.76– 6.83	2.04 – 5.14	<1	Ausente	0.973 – 0.996	6.02 – 6.34

Para cilantro los resultados del recuento de microorganismos aerobios presentan un promedio de 5.88 log UFC/g (Tabla 9) que es similar a 5.77 log UFC/g, promedio encontrado en cilantro cultivado en el suelo por Johnston, et al., 2005 (42). A diferencia de los aerobios, el promedio en coliformes totales de 3.47 log UFC/g es mayor comparado con el reportado por el mismo autor 1.3 log UFC/g este resultado pudo presentarse por las diferentes condiciones de producción y manejo del cultivo durante la cosecha. En el caso de *E. coli* su recuento fue menor de 1 UFC/g en investigación y en el estudio realizado por Johnston, et

al., 2005 (42), sin embargo en otro estudio con cilantro orgánico su presencia fue mayor con recuentos de hasta 4.2 log UFC/g (43).

La lechuga (Tabla 10) presentó un promedio de 5.15 log UFC/g en el conteo de aerobios el cual es mayor que el promedio de las hojas internas 4.8 log UFC/g y menor que el de las hojas externas 5.5 log UFC/g en lechuga cultivada en el suelo por Aycicek et al., 2006 (44). También es mayor que el reportado para lechuga roja no procesada, 4.15 ± 0.22 log UFC/g, por Allende et al., 2004 (45). Se pueden considerar estos conteos típicos para este tipo de producto, teniendo en cuenta que se han reportado rangos de 5 log a 7 log UFC/g para lechuga sin procesar y mínimamente procesada (46, 47, 48).

El conteo de coliformes totales en lechuga fue en promedio de 3.28 log UFC/g. Este valor es menor que el promedio reportado de 4.3 log y 5.3 log UFC/g para las hojas internas y externas de lechuga respectivamente (44); también es menor que el encontrado en lechuga roja) (3.67 ± 0.50 UFC/g (45). Por otra parte *E. coli* no estuvo presente en ninguna de las muestras analizadas, sin embargo se han reportado entre 10.0% y 13.3% de muestras positivas en las hojas internas y externas (44). En cambio, en la lechuga cultivada en sistema convencional se reportó en un rango de entre 5 UFC/g y 260 UFC/g (44).

Tabla 10. Resultados Microbiológicos y Físico – Químicos en lechuga. n=10

Aerobios (log ₁₀ UFC/g)	Coliformes Totales (log ₁₀ UFC/g)	E. coli (log ₁₀ UFC/g)	<i>E. coli</i> O157:H7	Aw	pH
3.48 – 6.50	1.70 – 5.69	0 ^a	Ausente	0.960 – 1.004	5.97 – 6.45

a. *E. coli* no creció en las muestras analizadas.

Buscando los criterios microbiológicos para frutas y vegetales frescos se encontró que en dos Unidos no existe un estándar oficial respecto al límite máximo de microorganismos aeróbicos y nivel de coliformes permitido. Sin embargo, en Europa la carga microbiana máxima permitida para vegetales frescos cortados es de 5 log UFC/g (50). En la figuras 10 y figura 11 se observa que el promedio de los recuentos de aerobios en cilantro y lechuga frescos respectivamente obtenidos en investigación, sobrepasa dicho límite para

vegetales cortados. Sin embargo es importante tener en cuenta que los primeros no han sido sometidos a ningún proceso de lavado a diferencia de los cortados.

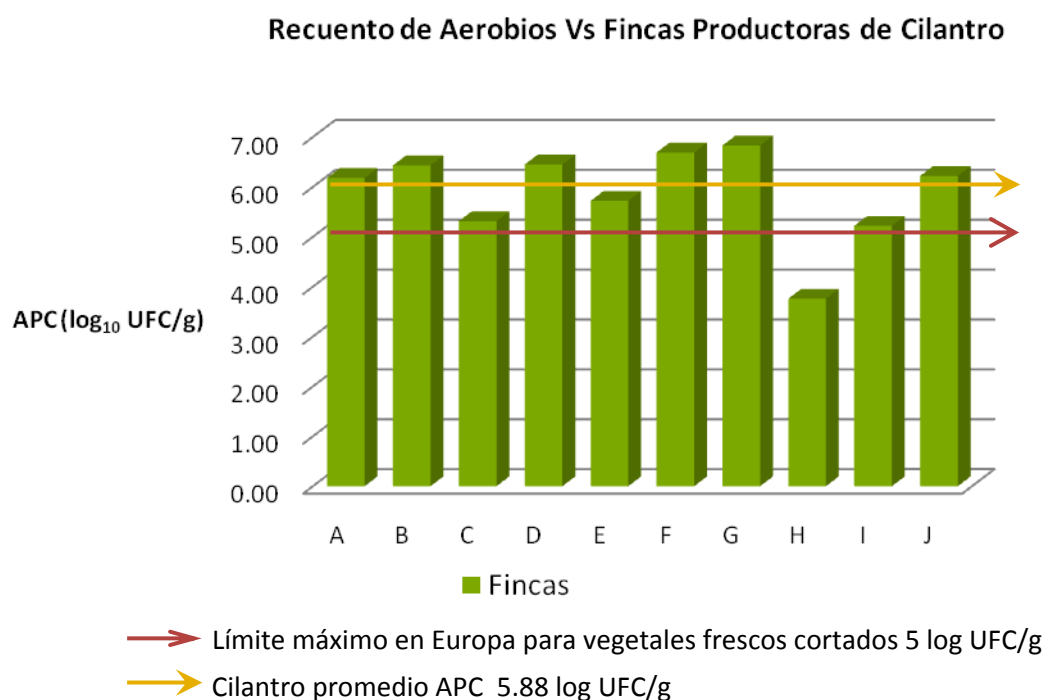


Figura 10. Promedio del recuento de aerobios en fincas productoras de cilantro.

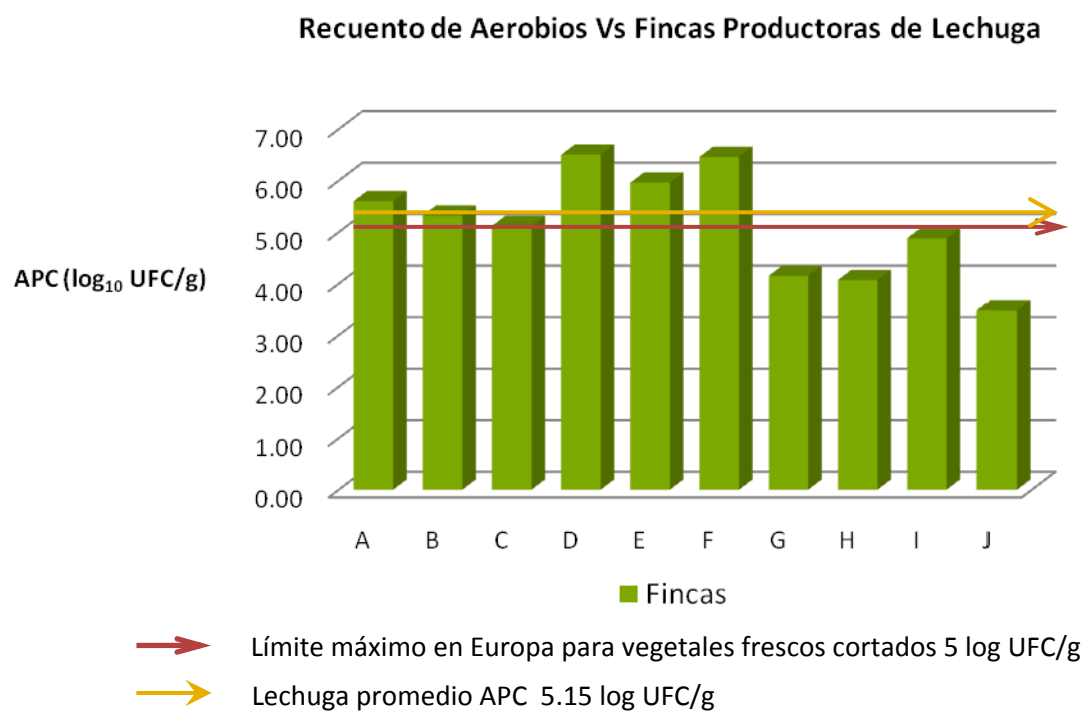


Figura 11. Promedio del recuento de aerobios en fincas productoras de lechuga

En la tabla 11. se clasifican los recuentos de aerobios obtenidos en cilantro y lechuga según los criterios presentados por las directrices técnicas que blecen la calidad microbiológica de los alimentos crudos en el sistema Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control - Gerencia con Calidad Total (HACCP-TQM) (49); encontrándose que un 90% de las muestras de cilantro y las muestras de lechuga, clasifican en el nivel medio de calidad y el 10.0% de las muestras de cilantro clasifican en el nivel pobre de calidad en comparación, aunque hay que considerar que estos criterios son asumidos para alimentos de consumo crudos, que deben ser sometidos a un previo lavado.

Los resultados hallados en este estudio están dentro de la carga microbial propia de las frutas y vegetales frescos que puede ir de 4 log a 6 log UFC/g, de igual forma se han reportado conteos hasta 9 log UFC/g (51, 52, 53) Este amplio rango se atribuye a las condiciones específicas de producción como las prácticas de agricultura y cosecha, calidad del agua, higiene de los empleados, clima y presencia de animales entre otros (54).

Tabla 11. Recuentos de aerobios en cilantro y lechuga clasificados según el sistema Gerencia con Calidad Total – HACCP para alimentos crudos.

HACCP-TQM		LECHUGA	CILANTRO
Aerobios (APC) UFC/g	Nivel de Calidad	Número de muestras	
$< 10^4$	Bueno	1/10	--
$10^4 - 5 \times 10^6$	Medio	9/10	9/10
$5 \times 10^6 - 5 \times 10^7$	Pobre	--	1/10
$> 5 \times 10^7$	En descomposición	--	--

Los coliformes para ambos productos, cilantro y lechuga están dentro del límite máximo definido por la Comisión Internacional para Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF): menor o igual a 10^5 UFC/100g para coliformes fecales en vegetales de consumo crudo (55) Figuras 12 y 13. En cuanto a *E. coli*, las muestras analizadas cumplen

con el criterio de calidad sugerido para comercializar alimentos crudos: 10 UFC/g (49) y así. Esto compara con recientes estudios en vegetales enteros cortados en donde *E. coli* no fue detectado en ninguno de estos (48, 56).

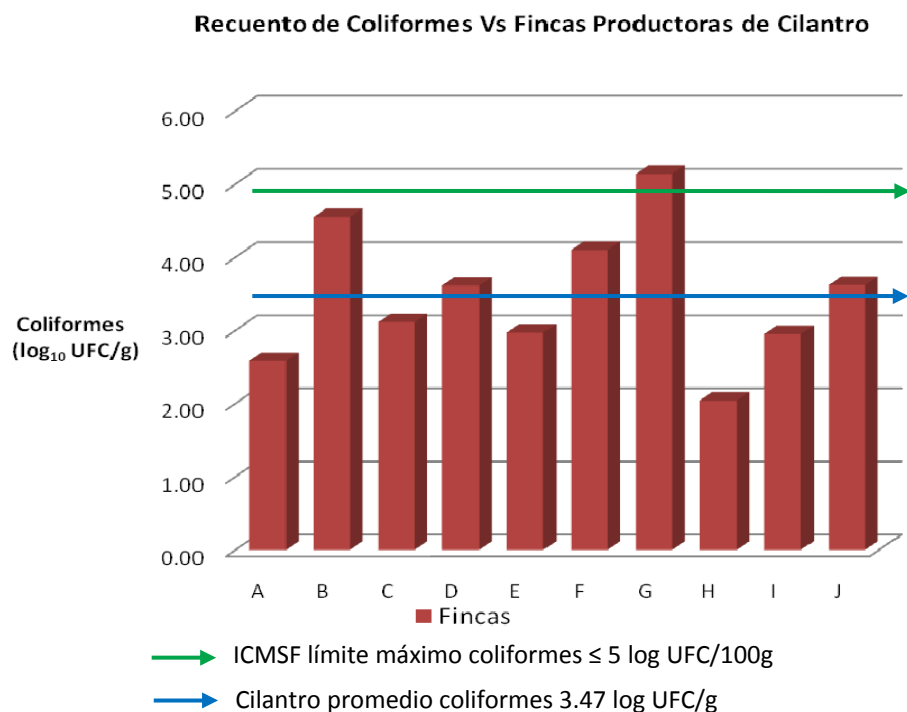


Figura 12. Promedios del recuento de coliformes en fincas productoras de cilantro

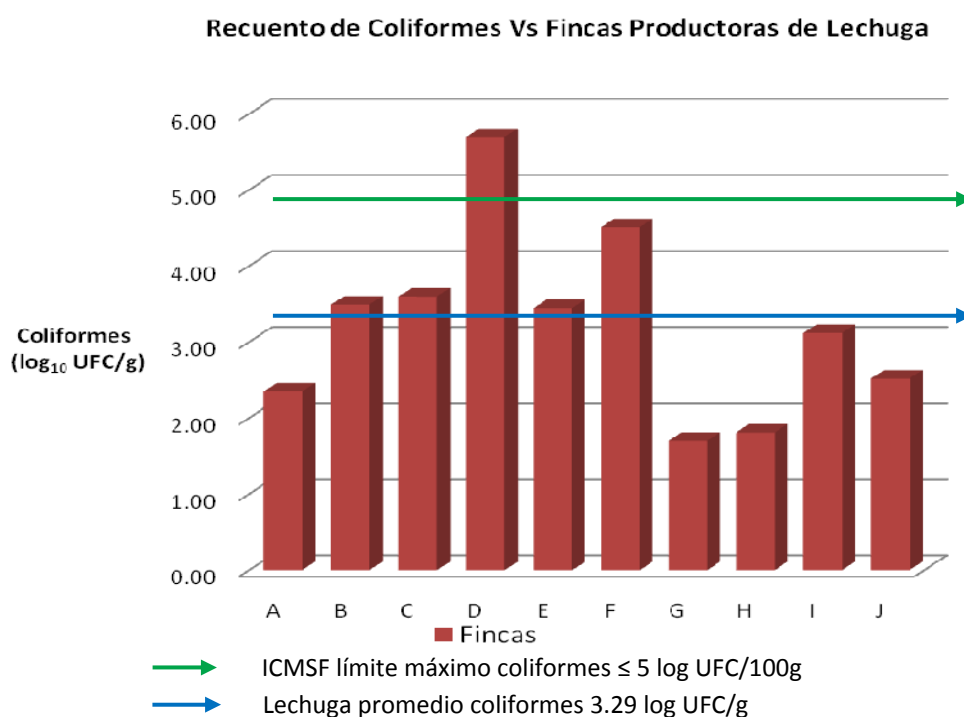


Figura 13. Promedios del recuento de coliformes en fincas productoras de lechuga

Los patógenos *Shigella*, analizada en cilantro, y *E. coli* O157:H7, en lechuga no estuvieron presente en ninguna de las muestras evaluadas. El departamento de Drogas y Alimentos en el año 1999 y 2000, realizó estudios de frutas y vegetales frescos importados y nacionales que incluyen, entre otros, cilantro y lechuga. En estos estudios fue analizada la presencia de varios microorganismos como *E. coli* O157:H7 y *Shiguella*. Los resultados indican que ninguna de las muestras importadas o nacionales ba contaminada con *E. coli* O157:H7, el 4% de las muestras importadas y el 1% de las muestras nacionales presentaron contaminación con *Shigella* o *Salmonella* (57, 58). Resultados similares han sido reportados en cilantro y lechuga, negativo para ambos microorganismos, por otros autores (52).

Respecto a la actividad de agua (a_w) y pH, *Shigella spp.* necesita un mínimo de a_w cercano a 0.96 para crecer aunque se dice que puede sobrevivir en alimentos con baja humedad. bacteria puede crecer en pH en un rango entre 4.8 y 9.3 y sobrevive en rangos de temperatura entre 43 °F hasta 117 °F (59, 32). Por lo tanto, las muestras de cilantro analizadas se encuentran dentro de estos rangos de pH y a_w capaces de sostener el crecimiento de bacteria. (Tabla 9, Figura 14 y Figura 15).

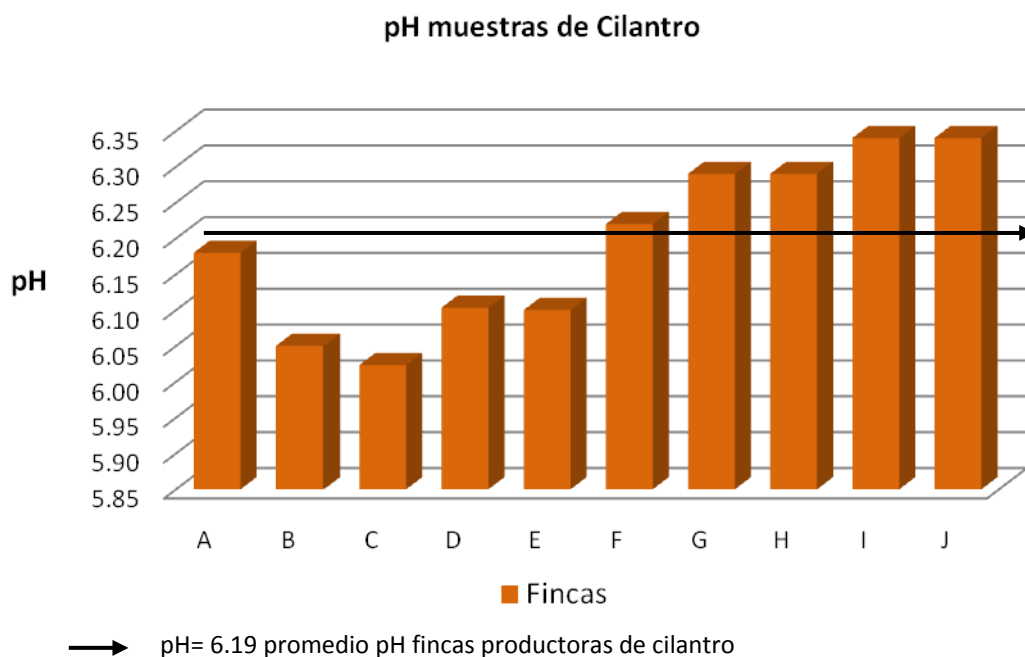
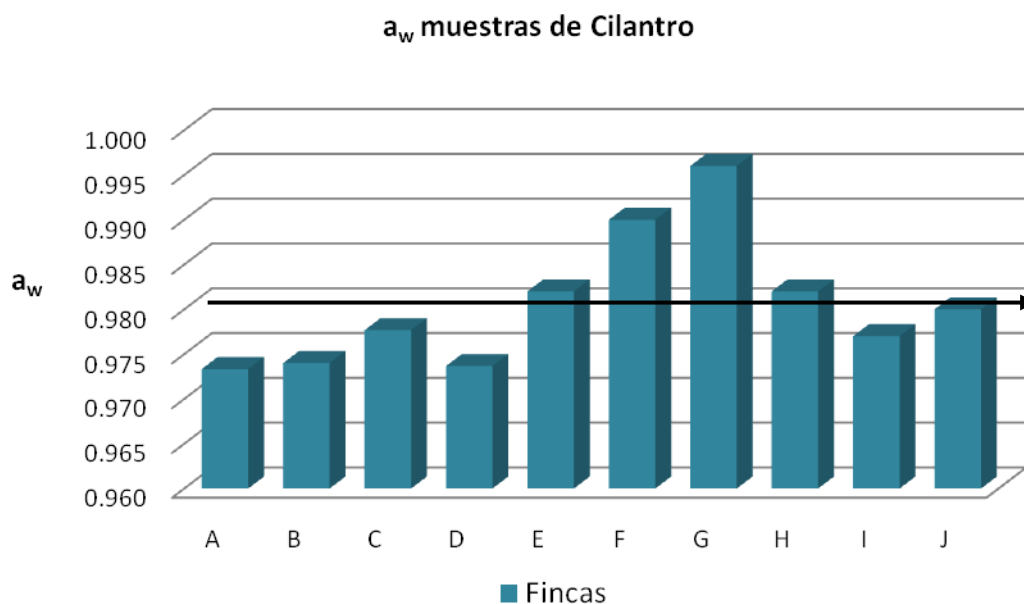
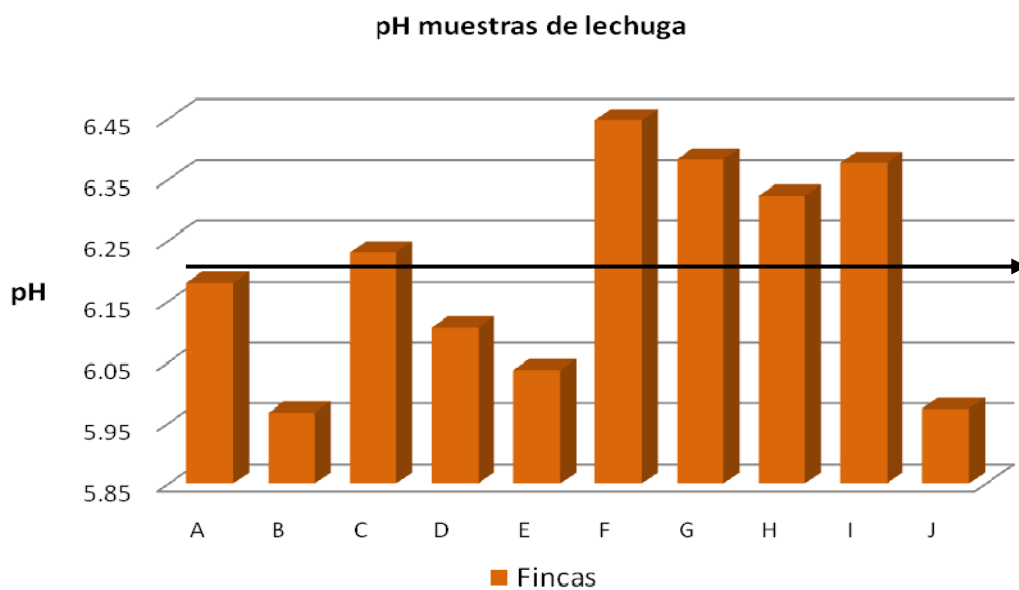


Figura 14. Promedios de medida de pH de muestras en fincas productoras de cilantro



→ $a_w = 0.98$ promedio de a_w de fincas productoras cilantro

Figura 15. Promedios de medida de a_w de muestras en fincas de cilantro



→ pH= 6.20 promedio de fincas productoras de lechuga

Figura 16. Promedios de medida de pH de muestras en fincas productoras de lechuga

Los requerimientos ambientales de crecimiento *E. coli* O157:H7 en pH van desde 4.0 hasta 9.0, con un a_w mínimo de 0.95 y temperaturas entre 45°F y 121°F (59). La lechuga evaluada en este estudio presentó un rango de 0.96 a 1.004 en a_w y en pH de 5.97 a 6.45.

Estos valores se encuentran dentro de los parámetros típicos de crecimiento para este patógeno. (Tabla 2, Figura 16 y Figura 17).

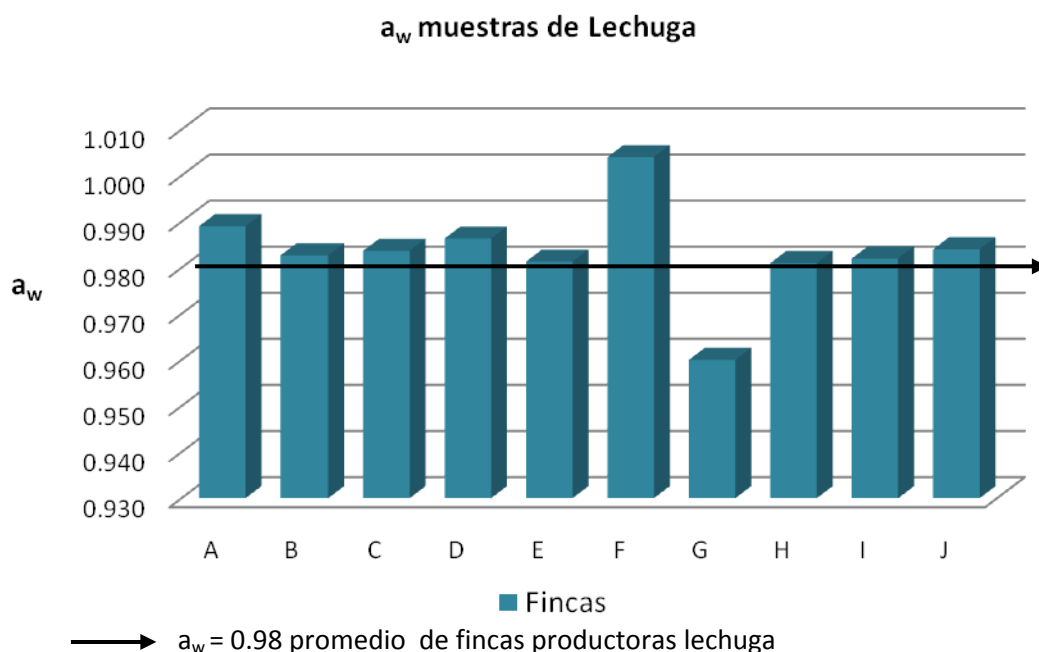


Figura 17. Promedios de medida a_w de muestras en fincas productoras de lechuga

2. Resultados de la Evaluación de Buenas Prácticas Agrícolas en la Finca (BPA).

De las diecisiete fincas visitadas, doce están asociadas a un núcleo o grupo de producción que se encarga de la comercialización de los productos. El resto, lo hace de forma independiente y directa con los supermercados (Figura 18). Las fincas son relativamente principiantes en la obtención de hortalizas bajo la técnica de hidropónicos. La más antigua tiene 5 años de funcionamiento y la capacidad de producción varía de una finca a otra. En su mayoría se caracterizan por ser pequeñas, es así como no más de tres personas están encargadas de los procesos, pudiendo aumentar este número en la etapa de cosecha a cinco empleados. Solo dos fincas requieren de más empleados por su mayor tamaño y una de ellas posee tecnología de empaque automatizada. Respecto a la capacitación en buenas prácticas agrícolas (BPA), del total visitado, diez agricultores correspondientes al 58,82% del

total, han tomado adiestramiento sobre BPA de forma independiente o a través de los núcleos de producción.

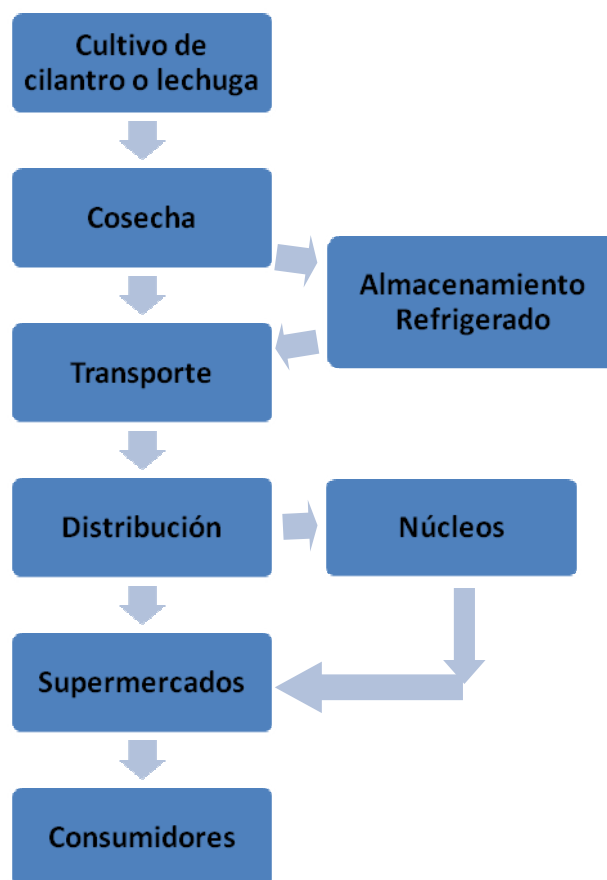


Figura 18. Diagrama de cadena de suplidores de cilantro y lechuga hidropónicos.

Aquí se presenta el análisis de las categorías evaluadas a través de las tablas incluidas en el manual de evaluación de BPA utilizado (40).

- a. Mantenimiento de registros.** Los resultados de las entrevistas y observación durante las visitas a las fincas indican que, 16 fincas correspondiente a un 94.1% no mantienen registros que demuestren todas las operaciones que en ellas se llevan a cabo. Solo una finca (5.9%) mantiene registro de las prácticas de algunas de la áreas de la misma. Los agricultores encargados realizan escritos sencillos de los ciclos de producción, como lo son: la fecha de siembra, número de plantas, fechas de

recolección, si fueron usados o no plaguicidas y nutrientes adicionados durante el crecimiento de los cultivos. Todo esto explica la necesidad de elaborar un programa para que cada finca diseñe, implemente y mantenga los procedimientos estándares y registros de todas las actividades que involucran el producto desde la preparación para la siembra hasta que sale de la finca y es transportado al centro de comercialización y / o llega al consumidor (Ver Tabla 12).

- b. Adiestramiento a trabajadores en Higiene Personal.** El 64.7% de las fincas encuestadas necesita mejorar en este punto debido a que los agricultores han recibido instrucciones generales relacionadas con la higiene al menos cuando fueron contratados. El 23.5% son instruidos esporádicamente, cuando los encargados de las fincas lo consideran necesario. Así mismo el 11.8% necesita ajustes menores ya que los empleados han recibido un adiestramiento en buenas prácticas de higiene y lavado de manos. En todas las fincas es necesario hacer énfasis y reafirmar periódicamente el lavado correcto de manos y la frecuencia con que se debe realizar este procedimiento. En el caso de uso de guantes desechables, hay que hacer tomar conciencia a los empleados de cuál es el objetivo de su uso, el manejo seguro y cuando deben ser cambiados por otros nuevos (ver Tabla 13).

Tabla 12. Plan de acción para el mantenimiento de registros.

MANTENIMIENTO DE REGISTROS					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas Evaluadas
Mantenimiento de registros.	0.0%	5.9%	0.0%	94.1%	17
Identificación de producto.	0.0%	35.3%	0.0%	64.7%	17
Documentos de la auto- evaluación anual de inocuidad Alimentaria.	0.0%	0.0%	5.9%	94.1%	17
Plan de retiro escrito.	0.0%	0.0%	5.9%	94.1%	17
Contenido del plan de retiro.	0.0%	0.0%	5.9%	94.1%	17
Contactos a ser notificados en caso de un retiro.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Verificación de rastreo y simulación de retiro.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Registros de las quejas de los clientes relacionados a calidad e inocuidad.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17

Tabla 13. Plan de acción para el adiestramiento de trabajadores en higiene personal. Porcentaje de fincas por nivel de evaluación.

ADiestRAMIENTO DE TRABAJADORES EN HIGIENE PERSONAL					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas
Adiestramiento de los trabajadores en higiene personal y lavado de manos para la inocuidad de los alimentos.	0.0%	11.8%	23.5%	64.7%	17
Manejo de los programas de adiestramiento de los trabajadores en inocuidad de alimentos e higiene personal.	0.0%	5.9%	0.0%	94.1%	17
Letrero localizado en la finca con las instrucciones sobre las prácticas de higiene personal.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Letreros en lenguaje apropiado para los trabajadores analfabetas o que no hablan español.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Hoja de reporte de trabajadores enfermos.	0.0%	0.0%	5.9%	94.1%	17
Registros del adiestramiento de los trabajadores.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Material utilizado, fecha, persona que lo ofreció, trabajadores que asistieron.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17

- c. Instalaciones de servicio sanitario y lavado de manos.** Respecto a la proporción de sanitarios en relación al número obreros, una sola finca, (5.9%) no provee servicio de baño dentro de su área, pero si tiene disponible este servicio a 500 metros en el edificio vecino, y una fuente de agua para lavado de manos dentro del umbráculo de producción. El resto de las fincas, sí disponen de este servicio. En cuanto a la localización de los baños en relación a los empleados y al cultivo, el 29.4% necesita mejoras porque el uso de los servicios sanitarios debe ser para uso exclusivo de las personas que realizan actividad y no sea compartido con el uso doméstico, visitantes o clientes. El 23.5% necesita ajustes menores y el 47% cumplen con la mejor práctica. En cuanto a la limpieza de las instalaciones sanitarias el 5.9%, es decir una finca ejecuta las buenas prácticas. Estos están limpios, disponibles a los empleados en todas las áreas y son monitoreadas diariamente. Sin embargo, no se llevan registros que documenten s actividades (ver tabla 14).
- d. Calidad del agua de aspersión e irrigación.** El 35.3% de las fincas utiliza agua potable para la producción en el sistema hidropónico, así como para las aspersiones foliares. El 52.9% usa agua que proviene de pozos profundos construidos para el uso agrícola y el 11.8% tiene como fuente de este recurso, el agua lluvia. Es indispensable realizar el análisis de agua periódicamente e ilustrar a los agricultores de la importancia de esto (Tabla 15). Los tanques donde se almacena el agua que se recircula en el sistema hidropónico durante el tiempo de producción son lavados e higienizados al iniciar y al terminar cada ciclo, según lo afirma cada agricultor encudo. Este punto es crítico por r en contacto permanente con las plantas en crecimiento, y a través de las raíces hasta los tejidos siendo parte de los principales factores que influyen en la microflora propia del producto final.
- e. Pozos profundos de la finca.** Un total de 7 fincas obtienen el agua de pozo profundo, de las cuales 6 fincas (85.7%) han realizado análisis de la calidad del agua al menos una vez desde su construcción y /o una vez al año, pero no se mantiene expediente o archivo de los mismos como evidencia de actividad (ver tabla 16).

Tabla 14. Plan de acción para la instalación de inodoros y lavamanos.

INSTALACIONES DE INODOROS Y LAVAMANOS					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas
Instalaciones limpias de servicio sanitario para obreros, visitantes y clientes	5.9%	82.4%	0.0%	11.8%	17
Mantenimiento de las instalaciones de servicio sanitario, lava manos y suministro de los materiales	47.1%	41.2%	0.0%	11.8%	17
Localización de los servicios sanitarios en relación a los obreros	47.1%	23.5%	0.0%	29.4%	17
Localización de los servicios sanitarios en relación al cultivo	47.1%	23.5%	0.0%	29.4%	17
Recogido de aguas usadas de las instalaciones de lavado de manos.	41.2%	0.0%	0.0%	58.8%	17
Proporción de servicios sanitarios en relación al número de obreros	94.1%	0.0%	0.0%	5.9%	17
Registro limpieza de instalaciones de lavado de manos y servicios sanitarios y su mantenimiento	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17

Tabla 15. Plan de acción para la calidad del agua de aspersión e irrigación.

CALIDAD DEL AGUA DE ASPERSION E IRRIGACIÓN					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas
Origen del agua de regadío para los cultivos	100%	0.0%	0.0%	0.0%	17
Origen del agua para aplicaciones foliares	100%	0.0%	0.0%	0.0%	17
Análisis del agua	0.0%	41.2%	0.0%	58.8%	17
Conocimiento de la importancia de las cuencas hidrográficas	35.3%	0.0%	52.9%	11.8%	17
Monitoreo de los niveles de sedimento del agua superficial utilizada para irrigación.	0.0%	100%	0.0%	0.0%	7

Tabla 16. Plan de acción para los pozos profundos de la finca.

POZOS PROFUNDOS DE LA FINCA					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas
Condición del tubo o camisa de cubierta del pozo y la cubierta del mismo.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	7
Profundidad del Pozo (verificar si cumple con las regulaciones del departamento de salud).	100%	0.0%	0.0%	0.0%	7
Localización y mantenimiento del sistema de pozos sépticos de la finca.	5.9%	94.1%	0.0%	0.0%	17
Posición del pozo con relación a las posibles fuentes de contaminación.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	7
Prevención de Retroflujo	100%	0.0%	0.0%	0.0%	7
Análisis de la calidad del agua de los pozos de la finca.	14.3%	85.7%	0.0%	0.0%	7
Distancia entre los pozos y las posibles fuentes de contaminación.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	7

- f. Uso y almacenamiento de plaguicidas.** Uno de los agricultores de las fincas entrevistadas, que en ese momento solo llevaba dos meses de haber iniciado producción, señaló que no utiliza plaguicidas. En las demás fincas que corresponde al 94.1%, los agricultores indicaron que aplican los plaguicidas según las instrucciones de la etiqueta de los envases y su uso se limita a la dosis mínima efectiva cuando hay necesidad de la aplicación de los mismos. El 18.75% de los aplicadores poseen certificación para realizar actividad, el 81.25% están en proceso de trámite de este o no están certificados (ver tabla 17).
- g. Animales salvajes.** El 82.4% de las fincas evaluadas poseen un sistema que restringe el acceso de animales al umbráculo y en su mayoría usa malla y techos para cerrar el área de producción, el manejo adecuado de este factor es importante porque se debe ajustar las técnicas de producción de cada agricultor, en lo que individualmente consideran propicio para obtener resultados efectivos. Respecto al manejo de desechos estos tienen cuidado en mantener limpias las instalaciones especialmente durante la cosecha. Solo una finca que representa un 5.9% en el momento de la visita se observó acumulación de basuras y desechos de la producción como hojas eliminadas durante el empaque. (ver tabla 18).
- h. Saneamiento de la cosecha y el campo.** Es necesario el adiestramiento en la limpieza y almacenamiento de los utensilios y equipos y el lavado de manos adecuado. Los empleados reciben instrucciones al respecto de los encargados de la producción, sin embargo es indispensable llevar un plan de adiestramiento que incluya la higiene personal así como todos los procedimientos operacionales estándares de limpieza y el mantenimiento de registros (ver tabla 19).
- i. Saneamiento y seguridad en la empacadora.** Solo tres de las diecisiete fincas evaluadas posee un área designada exclusivamente para el empaque de los productos, las quince fincas antes realizan este proceso en el momento de la cosecha dentro del umbráculo de producción, por tanto los criterios aquí evaluados están relacionados con realidad (ver tabla 20).

Tabla 17. Plan de acción para el uso y almacenamiento de plaguicidas.

PLAN DE ACCIÓN PARA EL USO Y ALMACENAMIENTO DE PLAGUICIDAS					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas Evaluadas
Aplicación de la dosis correcta de plaguicidas.	0.0%	100%	0.0%	0.0%	16
Tienen materiales para cuando ocurran derrames.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	16
Protocolo para el derrame de productos.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	16
Mantenimiento del equipo de Fumigación.	0.0%	0.0%	100%	0.0%	16
Consideración de las condiciones climatológicas y el manejo del acarreo de las aspersiones por el viento.	0.0%	0.0%	100%	0.0%	16
Mantenimiento de registro de las aplicaciones de plaguicidas según los requisitos legales.	6.3%	87.5%	6.3%	0.0%	16
Monitoreo de plagas.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	17
Fuente de agua usada para las aspersiones.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	17
Certificación de los aplicadores de plaguicidas.	18.8%	0.0%	0.0%	81.3%	16
Uso apropiado del equipo de seguridad para aplicaciones de plaguicidas.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	16
Disposición de los envases de plaguicidas.	18.8%	75.0%	0.0%	6.3%	16

Tabla 18. Plan de acción para el manejo de animales salvajes en la finca.

PLAN DE ACCIÓN PARA ANIMALES SALVAJES					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas Evaluadas
Restricción de los animales salvajes a los campos de producción y charcas de riego.	82.4%	17.6%	0.0%	0.0%	17
Roedores, aves e insectos son excluidos de las áreas de almacenaje y empaques.	11.8%	88.2%	0.0%	0.0%	17
Manejo de los montículos de desechos.	94.1%	5.9%	0.0%	0.0%	17

Tabla 19. Plan de acción para el Saneamiento de la Cosecha y el Campo.

SANEAMIENTO DE LA COSECHA Y EL CAMPO					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas Evaluadas
Clasificación y calidad durante la cosecha de los cultivos.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	17
Lavado y saneamiento de utensilios de cosecha (e j cuchillos, delantales y cajas)	100%	0.0%	0.0%	0.0%	17
Lavado y saneamiento de las maquinas y los equipos para empacar en el campo.	23.5%	0.0%	0.0%	76.5%	17
Prácticas de lavado de manos por los trabajadores de campo.	17.6%	11.8%	5.9%	64.7%	17
Calidad de los guantes usados en el campo.	11.8%	0.0%	0.0%	88.2%	17
Se limpian y desinfectan las cajas usadas para la cosecha, empaque y envío.	17.6%	82.4%	0.0%	0.0%	17
Almacenamiento de las cajas usadas para el empaque.	35.3%	64.7%	0.0%	100%	17
Mantener Registros.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17

Tabla 20. Plan de acción para el Saneamiento y seguridad en la empacadora.

SANEAMIENTO Y SEGURIDAD EN LA EMPACADORA					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas Evaluadas
Exclusión de roedores, aves e insectos del área de empaque.	11.8%	88.2%	0.0%	0.0%	17
Se remueve el sucio de cosechas y cajones en el campo para prevenir contaminación del agua de lavado y otras cosechas.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	17
Se cubren o coloca tela metálica en las luces del techo.	11.8%	0.0%	0.0%	88.2%	17
Saneamiento de las líneas de empaque.	11.8%	88.2%	0.0%	0.0%	17
Inspección de las líneas de empaque.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	3
Uso de aceites y lubricantes con permiso para áreas de alimentos.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	1
Almacenaje de las cajas que se usan en empaque y envío de productos.	17.6%	82.4%	0.0%	0.0%	17
Manejo de los montículos de desechos.	82.4%	17.6%	0.0%	0.0%	17
Prácticas de lavado de las manos de los trabajadores.	17.6%	11.8%	5.9%	64.7%	17
Calidad de los guantes usados en las líneas de empaque.	11.8%	0.0%	0.0%	88.2%	17
Ropa de los trabajadores.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	17
Saneamiento de los camiones para el transporte.	11.8%	88.2%	0.0%	0.0%	17
Procedimientos estándares de operación (SOP's), se mantiene registro.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17

- j. Plan de Acción para el manejo post-cosecha de los productos.** El 82.4% de las fincas, no poseen sistema de transportación refrigerado para el producto final. Las plantas son cosechadas y llevadas al lugar de distribución durante las primeras horas de la mañana. El 17.6% posee cuarto de refrigeración para almacenar el producto luego de ser cosechado. Así mismo, ninguna de las fincas posee un sistema de trazabilidad completo que garantice la debida identificación de la procedencia del producto en caso de ser requerido (Ver Tabla 21).
- k. Bioseguridad de la finca.** Todas las fincas evaluadas deben aplicar un sistema de bioseguridad teniendo en cuenta los aspectos presentados en el acta del 2002 sobre la salud pública y respu a los ataques terroristas. Actualmente ninguna de las fincas visitadas posee este sistema (Ver Tabla 22).
- l. Manejo de emergencias.** El 100% de las fincas requieren entrenamiento y planificación para el manejo de emergencias. En solo una los empleados han recibido adiestramiento por parte de OSHA. (Ver tabla 23).

Tabla 21. Plan de Acción para el manejo pos-cosecha de los productos.

MANEJO POSCOSECHA DE LOS PRODUCTOS					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas Evaluadas
Mantenimiento de la cadena de enfriamiento para minimizar el desarrollo de patógenos.	17.6%	0.0%	0.0%	82.4%	17
Limpieza de los almacenes de productos.	0.0%	100%	0.0%	0.0%	3
Manejo y capacidad de los cuartos fríos o de refrigeración.	100%	0.0%	0.0%	0.0%	3
Transportación de los productos.	17.6%	0.0%	0.0%	82.4%	17
Saneamiento de los furgones y camiones de envío.	0.0%	0.0%	100%	0.0%	17
Trazabilidad y mantener registros.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Procedimientos estándares de operación (SOP's), se mantiene registro.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17

Tabla 22. Plan de acción para la bioseguridad de la finca.

BIOSEGURIDAD DE LA FINCA					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas Evaluadas
Seguridad de los edificios.	0.0%	58.8%	0.0%	41.2%	17
Protocolo para visitantes.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Contratación de personal.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Vigilancia de la finca.	0.0%	58.8%	0.0%	41.2%	17
Acta del 2002 sobre la salud pública, seguridad y respu a ataques terroristas.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Registro de la facilidad.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17

Tabla 23. Plan de acción para el manejo de emergencias.

MANEJO DE EMERGENCIAS.					
Área de Manejo / % Fincas	Mejor Práctica	Necesita Ajustes Menores	Existe Preocupación	Necesita Mejoras	Total Fincas Evaluadas
Entrenamiento y planificación para el manejo de emergencias.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Entrenamiento para interaccionar con los medios de comunicación y la prensa.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Equipo de trabajo del plan de contingencia.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Entrenamiento de Empleados.	0.0%	11.8%	0.0%	88.2%	17
Lista de las operaciones de la finca de mayor prioridad	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Lista de contactos de alta prioridad.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17
Verificación del plan de contingencia.	0.0%	0.0%	0.0%	100%	17

CONCLUSIONES

El consumo de frutas y hortalizas es cada vez más aceptado como un hábito que debe incorporarse en la dieta diaria de todos los grupos de consumidores. Desde los niños que están en la etapa de crecimiento, hasta los ancianos, se reconocen todos los beneficios nutricionales que aporta este grupo de alimentos; especialmente en estos tiempos donde se reconoce que una dieta sana reduce el riesgo de enfermedades. Debido al consumo crudo de las frutas y hortalizas es de gran importancia implementar Buenas Prácticas Agrícolas que reduzcan al mínimo la carga microbiológica propia de estos al momento de llevarlos a la mesa y de esa forma disminuir el riesgo de contaminación con patógenos causantes de brotes y muertes a través del consumo de frutas y hortalizas contaminadas.

La calidad microbiológica del cilantro y la lechuga producidos bajo el sistema hidropónico en Puerto Rico comparado con estos mismos cultivos producidos bajo el sistema convencional es similar. El resultado de coliformes fecales es muy bueno teniendo en cuenta que *Escherichia coli*, organismo indicador de este grupo de microorganismos no tuvo presencia significativa. Por lo tanto, la producción de s hortalizas por medio del sistema hidropónico en Puerto Rico tiene un nivel microbiológico bueno y puede mejorar aplicando las recomendaciones de las BPA; tales como el mantenimiento de registros, limpieza y desinfección de todos los equipos, instrumentos y materiales de trabajo antes y después de cada ciclo de producción, tanques de almacenamiento de agua, tubos de cultivo, bandejas de cosecha. Además se debe capacitar al personal en el uso adecuado de lavamanos y servicios sanitarios. No se debe olvidar llevar a cabo una evaluación periódica de la calidad de las fuentes de agua. Las operaciones de almacenaje y transporte deben ser evaluadas para asegurar una cadena de frío después desde la cosecha, durante el transporte, hasta que llegue al consumidor.

Las Buenas Prácticas Agrícolas no son un tema del todo desconocido en Puerto Rico por las personas dedicadas a la siembra de productos hortícolas. Sin embargo aún falta por adiestrar una gran parte estos en la Isla y sobre todo implementar lo aprendido en las áreas de trabajo. El número de fincas evaluadas representan el 12.4% del total de fincas productoras de cilantro hidropónico en Puerto Rico y para la lechuga representa el 19.2%. Un poco más de la mitad del total de agricultores encudados, un 58.8%, han sido capacitados en Buenas Prácticas Agrícolas. Los agricultores conocen las normas básicas de producción

de alimentos seguros pero durante la producción no aplican estos lineamientos. Por esto es importante buscar mecanismos que permitan el cumplimiento de s prácticas que garanticen la obtención de productos inocuos, que apoyen y conduzcan a lograr un cambio positivo, real y efectivo además de los esfuerzos por aumentar el número de productores capacitados en s prácticas.

RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta que a través de la evaluación de peligros y calidad microbiológica de los alimentos se puede medir y obtener información de los microorganismos presentes que caracterizan a los productos estudiados, se puede concluir que la evaluación de peligros es una herramienta útil para la toma de acciones que conlleven a la obtención de un nivel de confianza en la calidad de las frutas y hortalizas que se ofrecen al consumidor. Por lo tanto, se recomienda continuar con la recolección de datos con otros productos hortícolas para generar una base de datos microbiológica en frutas y hortalizas de Puerto Rico que apoye a otras investigaciones, entidades reguladoras, académicos, educadores y a la comunidad en general. Información puede servir para la creación de mecanismos eficientes de vigilancia y rastreo que disminuyan el riesgo de enfermedades transmitidas a través de las frutas y hortalizas frescas. Además se puede incentivar la agricultura local al ofrecer productos competentes y confiables que aumenten el consumo local y cumplan las exigencias de los mercados externos atendiendo a la tendencia de globalización de los mercados.

Así mismo, como parte del conjunto de acciones que conforman el esfuerzo por mejorar las buenas prácticas de agricultura, es necesario elaborar documentos orientados a que los agricultores puedan implementar los conocimientos que adquieren en inocuidad de alimentos y sistema de mantenimiento de registros. Estos documentos deben ser diseñados según las actividades realizadas en las fincas. Este es uno de los requerimientos menos cumplido por los agricultores debido a que encuentran dificultad en elaborar los formatos para llevar los registros.

REFERENCIAS

1. Matthew Jenny. Las frutas y hortalizas son beneficiosas para la salud. Guía de las Mejores frutas y Hortalizas.
http://www.frutas-hortalizas.com/articulos/fh_beneficiosas.pdf
2. Bihn, E. A., A. Rangarajan, R. B. Gravani, D. L. Scott, M. P. Pritts, y J. R. Vidal. 2004. La Seguridad de los Alimentos Empieza en el Campo: Una Guía para el Productor. Programa de Buenas prácticas Agrícolas de la Universidad de Cornell.
3. U. S. Department of Health and human Services and U.S. Department of Agriculture. Dietary Guidelines for Americans 2005.
<http://www.health.gov/dietaryguidelines/dga2005/document/>
4. U. S. Department of Agriculture and Centers for Disease Control and Prevention. "MyPyramid".
<http://www.mypyramid.gov/>
5. Biing-Hwan Lin. 2004. Fruit and Vegetable Consumption Looking Ahead to 2020. Information Bulletin 792-7. U. S. Department of agriculture, Economic Research Service.
<http://www.ers.usda.gov/publications/aib792/aib792-7/aib792-7.pdf>
6. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. 1998. Direcciones para la Industria. Guía para Reducir al Mínimo el Riesgo Microbiano en los Alimentos, en el Caso de Frutas y Vegetales Frescos.
7. Center for Science in the Public Interest. A look at the produce outbreak numbers.
http://www.cspinet.org/foodsafety/produce_data.pdf
8. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Recalls, Market Withdrawals and Safety Alerts.
<http://www.fda.gov/opacom/7alerts.html>
9. Gorny, J. M. 2005. Contamination and State of Microflora on Fruits and Vegetables, in: Sapers, Gorny and Yousef. Microbiology of Fruits and Vegetables. CRC.Press Taylor & Francis.
10. Froder, H., C. G. Martins, K. L. O. de Souza, M. Landgraf, B. D. G. M. Franco, y M. T. Destro. 2007. Minimally Processed Vegetable Salads: Microbial Quality Evaluation. J. Food. Prot. 70:1277-1280.
11. Beuchat, L. R. 1996. Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce. J. Food. Prot. 59:204-216.
12. Doyle M.P., L. R. Beuchat, T. J. Montville. 2005. Microbiología de los alimentos. Acribia Zaragoza.
13. Martínez S. L. Informe Anual de la Empresa de Hortalizas del Colegio de Ciencias Agrícolas Año Fiscal 2004-2005. Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez, Colegio de Ciencias Agrícolas, ción Experimental Agrícola.

14. Jensen, M. H., 1997. Hydroponics. Department of Plant Sciences, University of Arizona, Tucson. HORTSCIENCE 32:(6)
15. Marulanda, C., J. Izquierdo. 2003. La huerta hidropónica popular. Oficina Regional de la FAO para América latina y el Caribe. Tercera Edición.
<http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/pdf/10046.pdf>
16. Manual de Hidroponía. 2005. Proyecto Mundo Granja. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
http://www.veterinaria.uchile.cl/mundogranja2005/proyectos/integrando_ciencias/archivos/MA NUAL_HIDROPONIA.pdf
17. Diccionario de la Lengua Española. Vigésima segunda edición. Real Academia Española.
18. Irizarry, J. M. Cilantrillo. Servicio de Extensión Agrícola. Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez.
19. Everhart, E., C. Haynes y Richard J. 2003. Cilantro. El Huerto Doméstico. Guía de Horticultura de Iowa State University. Cooperative Extension Service, Iowa State University of Science and Technology, Ames, Iowa. <http://www.extension.iastate.edu/Publications/PM1893S.pdf>
20. Mangan, F., C. Kozower y R. Bonanno. Cultivo y mercadeo del cilantro en Massachusetts. Vegetable Program. Department of Plant and Soil Sciences. University of Massachusetts Amherst.
http://www.umassvegetable.org/growers_services/pdf_files/cultivo_mercadeo_del_cilantro_m ass.pdf
21. Universidad Internacional de Florida. 2006 El mercado de la lechuga para dos unidos. Programa Farmer to Farmer. Miami's Public Research University.
22. Riofrio, M. Growing Lettuce in the Home Garden. Ohio State University Extension Fact Sheet. Horticulture and Crop Science
<http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/1000/1610.html>
23. Lettuce. 2009. University of Illinois Extension. Urban Programs.
<http://urbanext.illinois.edu/veggies/lettuce1.html>
24. Cornell University Extension. Controlled Environment Agriculture.CEA. 2004. Lettuce Handbook. 2004.
http://aben.cals.cornell.edu/extension/CEA/Lettuce_Handbook/introduction.htm
25. Crespo, R. M., Parés M. J. 2008. Situación de Hidropónicos en Puerto Rico. Oficina de Reglamentación y Promoción de la Industria de Hortalizas de Puerto Rico.
<http://eea.uprm.edu/formularios/EmpHot2006/Presentaci%C3%B3n%20situaci%C3%B3n%20 en%20Hodrop%C3%B3nicos.pdf>
26. United States Department of Agriculture. National Agricultural Statistics Service. 2009. Table #15. 2007 Census of Agriculture Puerto Rico.
http://www.agcensus.usda.gov/Publications/2007/Full_Report/Outlying_Areas/prv1.pdf
27. Martínez S. L. 2007. Reunión anual empresas de hortalizas ción Experimental Agrícola Juana Díaz. Oficina de Estadísticas Agrícolas Departamento de Agricultura de Puerto Rico.
<http://eea.uprm.edu/formularios/Empresas/2007/Hortaliza/Informe%20Lider%20Empresa%20H ortalizas%202006-07.pdf>

28. Jay James M., Loessner Martin J., Golden David A. (2005). Modern Food Microbiology. Seventh edition.
29. United States Department of Agriculture. Agricultural Marketing Service. Science & Technology Programs. Microbial Data program. Progress Update and 2004 summary.
<http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=MDPSUMM04>
30. United States Department of Agriculture. Agricultural Marketing Service. Science & Technology Programs. Microbial Data program. Progress Update and 2007 summary.
<http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=STELPRDC5067866>
31. Bhunia Arun K. 2008. Foodborne microbial pathogens. Mechanisms and pathogenesis. Edit. Springer science
32. Smith, J.L. 1987. Shigella as a foodborne pathogen. J. Food Prot. 50: 788-801. Citado en: Microbial pathogen data Sheets: *Shigella*.
<http://www.nzfsa.govt.nz/science/data-sheets/shigella.pdf>
33. Aislamiento e identificación de *Shigella spp*. Laboratorio de tecnología Educativa. Departamento de Microbiología y genética. Universidad de salamanca.
34. U.S. Food and Drug Administration. Enfermedades alimentarias, microorganismos patogénicos y toxinas naturales. Bad Bug Book.
<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap19.html>
35. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2001. Bacteriological Analytical Manual online.
<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>
36. Lettuce/Leafy greens Industry from Farm to Table. "Commodity specific food safety guidelines for the lettuce and leafy greens supply chain". 2006. 1st edition
37. 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plate. Manual de instrucciones. Página 24.
38. 3M™ Petrifilm™ E. coli/ Coliforms Count Plate. Manual de instrucciones. Página 25
39. RIM™ *Escherichia coli* O157:H7 Latex Test REMEL. Manual de instrucciones.
40. Rangarajan, A., E. A. Bihn, M. P. Pritts, y Robert B. Gravani. 2003. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas: "La inocuidad de los alimentos comienza en la Finca". Autoevaluación del Agricultor sobre los Riesgos en la Inocuidad de los Alimentos. Departamento de Ciencia de Alimentos y Departamento de Horticultura, Universidad de Cornell. Traducido y Adaptado por: Irizarry, M., E. Negrón, L. Orellana, C. Rosario, M. Velázquez, A. Wszelaki y J. Zamora. Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Puerto Rico. Recinto Universitario de Mayagüez.
41. Tauxe, R., H. Kruse, C. Hedberg, M. Potter, J. Madden, and K. Wachsmuth. 1997. Microbial hazard and emerging issues associated with produce. A preliminary report to the National Advisory Committee on Microbiologic Criteria for Foods. J. Food. Prot. 60(11):1400 - 1408.

42. Johnston, L. M., L. Jaykus, D. Moll, M. C. Martinez, J. Anciso, B. Mora and C. L Moe. 2005. A Field Study of the Microbiological Quality of Fresh Produce. *J. Food. Prot.* 68:1840-1847.
43. Arthur, L., S. Jones, M. Fabri and J. Odumeru. 2007. Microbial survey of selected Ontario-Grown fresh fruits and vegetables. *J. Food. Prot.* 70(12):2864 - 2867.
44. Aycicek, H., U. Oguz, K. Karci. 2006. Determination of total aerobic an indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *Int. J. Hyg. Environ. – Health* 209:197-201.
45. Allende, A., E. Aguayo and F. Artés. 2004. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce through the production chain and shelf life. *International Journal of Food Microbiology.* 91(2):109-117.
46. Fröder, H., C. G. Martins, K. L. Oliveira, M. Landraf, B. D. G. M. Franco, and M. T. Destro. 2007. *J. Food Prot.* 70(5):1277-1280.
47. Abadias, M., J. Usall, M. Anguera, C. Solsona, and I. Viñas. 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail blishments. *Int. J. Food Microbiol.* 123 (1.2): 121-129.
48. Nguyen-the, C., and F. Carlin. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34(4):371-401.
49. Anonymous. 1998. HACCP-TQM Technical Guidelines. Section IV Contamination Levels and Microbiological Control.
<http://www.hi-tm.com/PDG/Tech-Sect-4.html>
50. Mattheus Karl R. 2006. Microbiology of fresh produce. Karl R. Matthews. ASM Press, 2006. Pages 128 – 129
51. Soriano, J.M., H. Rico, J.C. Moltó and J. Mañes. 200. Assessment of microbiological quality and wash treatments of lettuce served in University rurants. *Int. J. Food Microbiol.* 58(1-2): 123-128
52. Viswanathan, P., Kaur, R., 2001. Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 203:105-213.
53. Castro-Rosas, J., M. Rojas- Olvera, Y. Noguera-Ugalde, E. M. Santos-López, A. Zúñiga-Estrada, y C. A. Gómez-Aldapa. 2006. Calidad sanitaria de ensaladas, de verduras crudas, listas para su consumo. *Industria Alimentaria. Alfa Editores Técnicos*, páginas: 9-21.
<http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-04-2005/orales/07.htm>
54. Brackett R. E., and D. F. Splittstoesser. 1992. Fruits and vegetables. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, APHA, Washington, D.C., pages: 919–927.
55. ICMSF. 1974. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in Food 2-Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications. University of Toronto Press, Toronto. Citado en Aycicek, H., *et all.* 2006.

56. Abdias, M., J. Usall, M. Anguera, C. Solsona and I. Viñas. 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int. J. Food Microbiol.* 123(1-2): 121-129.
57. FDA Survey of Imported Fresh Produce. FY 1999 Field Assignment.
<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/prodsur6.html>.
58. FDA Survey of Domestic Fresh Produce. FY 2000/2001 Field Assignment.
<http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/prodsu10.html>.
59. Food and Drug Administration, Food Microbiological control Manual, Division of Human Resource Development. 1998.

APÉNDICES

Apéndice A. Fotografías entregando y discutiendo con agricultor los resultados microbiológicos y buenas prácticas de agricultura de su finca.



Apéndice B. Estadística descriptiva de cilantro y lechuga

Estadística descriptiva cilantro

Variable	n	Media	Mediana	D.E.	Var(n-1)	Cvar.	% Cvar.	Mín.	Máx.
APC	10	5.88	6.20	0.92	0.85	0.156	16	3.76	6.83
Coliformes	10	3.47	3.36	0.94	0.88	0.270	27	2.04	5.14
pH	10	6.19	6.20	0.12	0.01	0.019	2	6.02	6.34
Aw	10	0.98	0.98	0.01	5.50E ⁻⁰⁵	0.010	1	0.97	1.00

Estadística descriptiva lechuga

Variable	n	Media	Mediana	D.E.	Var(n-1)	Cvar.	% Cvar	Mín.	Máx.
APC	10	5.15	5.22	1.03	1.05	0.20	20	3.48	6.5
Coliformes	10	3.22	3.29	1.23	1.51	0.38	38	1.70	5.69
pH	10	6.20	6.21	0.18	0.03	0.29	3	5.97	6.45
Aw	10	0.98	0.98	0.01	1.10E ⁻⁰⁴	0.010	1	0.97	1.00

D. E.= Desviación Estándar.

Var(n-1) = Varianza.

Cvar.= Coeficiente de variación.