

Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos

Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana

Microbiological quality of vegetables and factors associated with contamination in growing areas in Havana

Yamila Puig Peña^I, Virginia Leyva Castillo^{II}, Armando Rodríguez Suárez^{III}, José Carrera Vara^{IV}, Pedro L. Molejón^V, Yoldrey Pérez Muñoz^{VI}, Odeite Dueñas Moreira^{VII}

^I Doctora en Medicina. Especialista Primer Grado en Microbiología. *Master* en Nutrición en Salud Pública y Enfermedades Infecciosas. Asistente. Investigador Auxiliar. Departamento de Microbiología Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA). E.mail: yamilapuig@infomed.sld.cu

^{II} Licenciada en Bioquímica. Especialista en Microbiología. *Master* en Enfermedades Infecciosas. Asistente. Investigador Auxiliar. Jefa Dpto. de Microbiología de los Alimentos, INHA. E.mail: villy@sinha.sld.cu

^{III} Doctor en Ciencias de la Salud. Profesor Titular e Investigador Auxiliar, INHA. E.mail: ceres@sinha.sld.cu

^{IV} Doctor en Ciencias de la Salud. *Master* en Salud Ambiental. Profesor Titular e Investigador Auxiliar, INHA. E.mail: carrera@sinha.sld.cu

^V Licenciado en Biología. Asistente. Investigador Auxiliar, INHA. E.mail: pedro@sinha.sld.cu

^{VI} Licenciada en Microbiología, Dpto. de Microbiología, INHA. E.mail: yoldrey@sinha.sld.cu

^{VII} Doctor en Medicina. Especialista en Medicina General Integral, INHA. E.mail: moreira@sinha.sld.cu

RESUMEN

Introducción: en los últimos años se han incrementado las enfermedades transmitidas por frutas y hortalizas, por lo que es importante evaluar los factores que afectan la inocuidad de estos productos.

Objetivo: determinar la calidad microbiológica de hortalizas y los factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana.

Materiales y métodos: se estudiaron 100 muestras de vegetales de 26 áreas y el agua de riego de cada plantación, en el período de enero del 2009 a diciembre del 2011, en el Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. La determinación de parásitos se realizó según procedimiento descrito en el *Manual de Análisis Bacteriológico* FDA / CFSAN 2001, para el estudio bacteriológico de las hortalizas y el agua se emplearon las normas vigentes en el país.

Resultados: se determinó la presencia de parásitos en 6% de los vegetales y *Escherichia coli* en 18,0%, con mayor frecuencia en lechuga, berro y espinaca. Se aislaron bacterias patógenas, *Salmonella Weltevreden* en cebollino y potencialmente patógena *Listeria* spp. en acelga. El 53,8% de las muestras de agua no tuvo una calidad microbiológica aceptable. El no cercado de las áreas de cultivo, la presencia de animales en el campo y el uso de agua contaminada, fueron los factores que más se observaron, encontrándose asociación estadística entre estos y la contaminación las hortalizas.

Conclusiones: se detectó la presencia de parásitos, bacterias patógenas y potencialmente patógenas en las hortalizas estudiadas, lo que estuvo asociado principalmente al uso de agua de riego no tratada, la presencia de animales en el campo y el no cercado de las áreas de cultivo.

Palabras clave: vegetales, parásitos, bacterias, agua.

ABSTRACT

Introduction: over the last several years, there has been an increased a foodborne illness linked fruits and vegetables; therefore is important to evaluate factors affecting the safety of vegetal produce.

Objective: to determine the microbiological quality of vegetables and factors associated with contamination in growing areas in Havana.

Materials and Methods: 100 samples of vegetables from 26 areas were studied and irrigation water from each orchard, in the period January 2009 to December 2011 at the Institute of Nutrition and Food Hygiene. The determination of parasitic was performed according to the FDA Bacteriological Analytical Manual / CFSAN 2001, bacteriological study of vegetables and water was carried by the current standards in the country.

Results: parasites was observed in 6% of vegetables and *Escherichia coli* in 18.0%, more frequently in lettuce, watercress and spinach. Were isolated pathogenic bacteria, *Salmonella Weltevreden* in chives and potentially pathogenic *Listeria* spp. in chard. Water samples 53.8%, did not have an acceptable microbiological quality. The fencing is not growing areas, the presence of animals in the field and the use of contaminated water were most frequently factors to observed, statistical association was found between these factors and vegetables contamination.

Conclusions: it was detected the presence of the parasites, pathogen bacteria and potentially pathogen bacteria studied, and it was related to non-treated water for irrigation, the presence of animals in the soil, and the non-closed of the cultivate areas.

Key words: vegetable, parasitic, bacteria, water.

INTRODUCCIÓN

El consumo de frutas y hortalizas frescas es parte importante de una dieta saludable, desde el punto de vista microbiológico son alimentos comparativamente de menor riesgo que las carnes y los productos lácteos. Sin embargo, al ser consumidos sin ningún tipo de cocción, son potencialmente peligrosos en caso de que exista contaminación.^{1, 2}

En los últimos años se ha detectado un mayor número de enfermedades transmitidas por frutas y hortalizas, la información disponible muestra que es un problema que crece en importancia. Los riesgos biológicos asociados a los productos hortícolas están relacionados con las malas prácticas de producción, como el empleo de agua de riego contaminada, el uso de desechos biológicos sólidos como fertilizante sin tratamiento o con tratamiento inapropiado, la presencia de animales en las áreas de cultivo, la proximidad a zonas de acumulación de aguas albañales o sólidos orgánicos, una inadecuada higiene de las instalaciones, entre otros.^{3, 4, 5, 6}

Comprender la complejidad del problema de la contaminación microbiana de los vegetales y tener conciencia de su importancia es el primer paso para lograr una alta calidad en los productos hortícolas. Al nivel actual de la tecnología no es posible eliminar el riesgo en forma total, por lo que hay que establecer medidas para reducirlo. Es preferible, más efectivo y económico prevenir la contaminación microbiana en las frutas y hortalizas que eliminarla una vez que tiene lugar.^{2, 7, 8}

Teniendo en cuenta que los vegetales que se consumen crudos o mínimamente procesados se pueden contaminar durante la producción y constituir una vía de transmisión de parásitos y bacterias patógenas para el hombre, consideramos importante realizar el presente trabajo con el objetivo de determinar la calidad microbiológica de los productos hortícolas, la presencia de microorganismos patógenos y la relación con las principales fuentes de contaminación en las áreas de cultivo de La Habana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó el estudio de 100 muestras de hortalizas procedentes de 26 áreas de cultivos de La Habana, en el período de enero del 2009 a diciembre del 2011, en el Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA).

Las muestras se tomaron en el horario de la mañana, durante el proceso de regadío. Para el estudio bacteriológico se obtuvieron 250g de cada tipo de vegetal y para la determinación de parásito 1Kg de muestra, las cuales fueron trasladadas en bolsas de *nylon* de primer uso. El agua se colectó en frascos estériles, directamente del conducto de regadío.

Durante el muestreo se aplicó una guía de observación en la que se tuvo en cuenta los principales factores relacionados con la contaminación de las hortalizas según la bibliografía revisada: Tipo de agua empleada para el regadío, cercado del área de cultivo, presencia de animales en el área o próximos a las plantaciones, viviendas colindantes y otras fuentes de contaminación observadas.^{1, 2, 7, 8}

En el estudio microbiológico se determinó la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* mediante la técnica de inmunofluorescencia con el uso de *Kit* de anticuerpos

monoclonales (MERIFLUOR C/G), según procedimiento descrito en el *Manual de Análisis Bacteriológico* FDA / CFSAN, 2001.⁹

Como indicador de contaminación fecal se determinó *Escherichia coli*, teniendo en cuenta la norma: ISO16649-2:2001. Se estudiaron las bacterias patógenas *Salmonella* por la norma: NC-ISO 6579: 2008 y *Listeria monocytogene* según la norma: UNE- ISO 11290-1/2005. Se utilizaron los criterios microbiológicos establecidos en la norma: Contaminantes Microbiológicos en Alimentos- Requisitos Sanitarios, NC 585: 2011. Criterio aceptable para *E. coli*: = 10^2 UFC/g, para *Salmonella* y *Listeria monocytogene* ausencia en 25g.

La determinación de *Escherichia coli* en agua se realizó por la técnica de fermentación de tubos múltiples (Número Más Probable/100 mL), según la norma: NC 93-11/1986. La calidad microbiológica del agua se evaluó teniendo en cuenta el criterio: *Escherichia coli* = 10^3 .¹⁰

Se calcularon las frecuencias y porcentajes, se realizó la comparación de las medianas de los resultados microbiológicos y los factores contaminantes mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. En todos los casos se consideró como nivel de significación $\alpha=0.05$.

RESULTADOS

En esta investigación se determinó la presencia de parásitos en 6% de las muestras, el berro fue el vegetal más contaminado. *E. coli* se aisló en 18,0 % de las muestras, con mayor frecuencia en lechuga, berro, col y espinaca. En dos muestras se aislaron bacterias patógenas: *Salmonella* Weltevreden en cebollino y potencialmente patógena *Listeria* spp. en acelga. (Tabla 1).

Las fuentes de agua utilizadas para el regadío fueron de tres tipos: agua de pozo, superficiales de río o laguna y agua tratada procedente de la red de distribución urbana (Tabla 2). El tipo de agua más frecuente empleada fue la de pozos en 53,8% de los campos de cultivos, 71,4 % de este tipo de agua tuvo una calidad no aceptable. En las áreas que utilizaron agua tratada, 11,1% no fue aceptable. Se determinó en el total de 26 muestras de agua estudiadas que 53,8% no tenían calidad aceptable.

Respecto a la presencia de *E. coli* en los vegetales (Tabla 3), se observó asociación con la calidad no aceptable del agua de regadío ($p= 0,004$), así como el no cercado de los campos de cultivo ($p= 0,030$).

Al analizar la asociación entre la contaminación de los vegetales por parásitos y los factores contribuyentes en las áreas de cultivo (Tabla 4), se determinó asociación entre la presencia de parásitos y la contaminación fecal de las muestras ($p = 0,000$), el no cercado de las áreas de cultivo ($p = 0,036$), la calidad no aceptable del agua de regadío ($p = 0,034$) y la presencia de animales en el campo ($p = 0,030$).

Tabla 1. Aislamientos de microorganismos en las muestras de vegetales

Vegetal	No	Microorganismos					
		<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia/Cryptosporidium</i>	<i>Listeria</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i>
Acelga	14				1		1
Achicoria	1						
Ají	1						
Ajo	2						
Ajo porro	1						
Apio	3						
Berro	6		1	1			4
Cebollino	6					1	1
Col	8	1					2
Espinaca	12						3
Hierba buena	2						
Lechuga	21	1		1			4
Nabo	1						
Orégano	1						
Perejil	2						
Rábano	6						2
Remolacha	4						
Tomate	4						
Zanahoria	5	1					1
Total (%) ^a	100	3 (3,0)	1 (1,0)	2 (2,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	18 (18,0)

Tabla 2. Calidad del agua para el regadío según fuente de abasto

Fuente de agua de regadío	No	(%) ^a	Calidad del agua no aceptable	(%) ^b
Pozo	14	53,8	10	71,4
Superficiales	3	11,5	3	100
Red de abastecimiento	9	34,6	1	11,1
Total (%) ^a	26	100	14	53,8

Leyenda

^a: Porcentaje calculado en base al total de 26 muestras de agua analizadas;

^b: Porcentaje calculado en base al número de muestras de agua por fuentes de agua de regadío.

Tabla 3. Factores de contaminación y aislamiento de *E. coli* en los vegetales

Factores de contaminación		No. de vegetales sin aislamiento de <i>E. coli</i>	No. de vegetales con aislamiento de <i>E. coli</i>	Asociación estadística $\alpha=0.05$ (Valor de p)
Calidad del agua	Aceptable	53	5	0,004
	No Aceptable	29	13	
Área de cultivo	Cercadas	20	9	0,030
	No Cercadas	62	9	
Animales en el área	Presentes	22	6	0,578
	No Presentes	60	12	

Tabla 4. Factores de contaminación y determinación de parásitos en vegetales

Factores de contaminación		No. de vegetales sin parásitos	No. de vegetales con parásitos	Asociación estadística $\alpha=0.05$ (Valor de p)
Calidad del agua	Aceptable	57	1	0,034
	No Aceptable	37	5	
Área de cultivo	Cercadas	25	2	0,036
	No Cercadas	69	4	
Animales en el área	Presentes	24	4	0,030
	No Presentes	70	2	
Indicador de contaminación fecal	Aislamiento de <i>E. coli</i>	13	5	0,000
	No Aislamiento de <i>E. coli</i>	81	1	

DISCUSIÓN

Se ha descrito que los vegetales de superficies amplias y rugosas, como los de hojas y las plantas rastreras, son los que están más expuestos a la contaminación. En este estudio, 18% de las hortalizas tuvieron una calidad microbiológica no aceptable, la lechuga, el berro, la espinaca y la col fueron las hortalizas más contaminadas, resultados que están en correspondencia con otras investigaciones.^{2, 5, 6}

La información de bacterias patógenas en frutas y productos hortícolas es frecuente en diversas áreas geográficas. En esta investigación se aislaron *Salmonella* Weltevreden y *Listeria* spp., que se consideró potencialmente patógena debido a que además de *L. monocytogenes* se han detectado genes de virulencia en otras especies como *L. ivanovii* y *L. seeligeri*.^{3, 11, 12}

Es importante tener en cuenta que la determinación de *Salmonella* spp., *Listeria* spp y *E. coli*, se realizan por métodos específicos y que las no detección de estas

bacterias no indica que los vegetales estén libres de otros microorganismos que producen enfermedad en el Hombre, como los parásitos.

La contaminación de los vegetales estudiados por *Giardia* y *Cryptosporidium* fue baja, en un porcentaje menor que lo determinado en países de Centroamérica, América del Sur, Asia y África, donde se da a conocer una prevalencia entre 30% y 55%.^{13, 14,15, 16, 17}

Los parásitos han adquirido gran importancia como patógenos transmitidos por vegetales, dado que las formas quísticas son resistentes a los productos comúnmente empleados como desinfectantes, la dosis de infección es baja, y pueden sobrevivir por largos tiempo en el agua y en la superficie de productos agrícolas.^{2,3} Núñez y colaboradores en estudios realizados en niños hospitalizados en La Habana, determinaron que el consumo de vegetales no lavados constituye un riesgo de infección por *Giardia*.¹⁸

Diversas investigaciones indican que el uso de aguas no tratadas para la irrigación de hortalizas, es la práctica que más influye en la reducción de la calidad sanitaria de estos productos; en este estudio más de 50% de las aguas tuvieron calidad no aceptable, lo que estuvo asociado a la presencia de *E. coli* y parásitos en los vegetales. Resultado que consideramos de gran importancia por corresponder a un solo muestreo, lo recomendado es analizar al menos cinco muestras de agua a lo largo de un periodo de 30 días.¹⁰

El agua de pozo fue la principal fuente de regadío, la mayoría de las muestras tuvo una calidad microbiológica no aceptable; es de interés señalar que este tipo de agua está menos expuesta a la contaminación que las aguas superficiales; sin embargo, en ciertas condiciones los pozos poco profundos, afectados por el agua superficial o con grietas en su revestimiento, entre otras causas, pueden estar expuestos a contaminación.^{5, 6}

Otro factor de contaminación está dado por la presencia de animales domésticos y silvestres en el campo. En esta investigación, los perros, gatos y ganado bovino fueron los más frecuentes en las áreas de cultivo, la existencia de altas concentraciones de fauna silvestre no fue observada; sin embargo, esto no excluye el acceso de estos u otros animales en aquellas plantaciones que no estaban cercadas o el cercado no limitaba la entrada de animales. La presencia de ganado en los cultivos se observó en cuatro áreas rurales de las estudiadas, tres correspondientes a plantaciones de berro, en las que además se determinó la presencia de caracoles pertenecientes al género *Fossaria cubensis* hospedero intermediario de *Fasciola hepática*, lo cual incrementa el riesgo de transmisión de parásitos al Hombre. Es importante tener en cuenta que la presencia de heces fecales de animal próximo a las tierras de labranza constituye una fuente de contaminación directa, tanto por el arrastre durante la lluvia, como el traslado de los contaminantes por los animales y los propios trabajadores. En la literatura revisada, se da a conocer la prolongada supervivencia de bacterias en estiércol, *E. coli* O157 H7 durante 21 días, *Salmonella* entérica serovar *Typhimurium* seis días y entre dos días y cinco semanas en residuos líquidos de estiércol bovino.^{2, 6, 10}

Es de interés tener en cuenta que las plantaciones que se encuentran en zonas altamente pobladas pueden estar expuestas a la contaminación por aguas albañales o sólidos orgánicos si no hay un adecuado control de los mismos. En este estudio en las áreas de cultivo que se encontraron colindantes con viviendas se determinó un mayor número de muestras con calidad microbiológica no aceptables, así como los procedentes de plantaciones no cercadas.

CONCLUSIONES

Se detectó la presencia de parásitos, bacterias patógenas y potencialmente patógenas en las hortalizas estudiadas, lo que estuvo asociado principalmente al uso de agua de riego no tratada, la presencia de animales en el campo y el no cercado de las áreas de cultivo. Las plantaciones hortícolas no cercadas ubicadas en zonas rurales y los cultivos en zonas altamente pobladas fueron los que presentaron mayor número de muestras fuera de normas.

Se recomienda reducir al mínimo el riesgo de contaminación microbiológica en los vegetales, para lo cual se deben controlar en lo posible las fuentes de contaminación; los agricultores deben estar alertas para detectar la posible contaminación fecal que pueda introducirse durante el cultivo o la manipulación de las hortalizas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Depósito de documentos de la FAO. Departamento de Agricultura y Protección al consumidor. Capítulo 4: Aspectos higiénicos y sanitarios. En: López Camelo AF. Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas: Del campo al mercado. [Internet] Roma: FAO; 2003. [Citado: 15 de Abril 2011]. Disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4893S/y4893s07.htm#bm07>
2. Matthews KR. Los microorganismos asociados a las frutas y a las verduras. En: Microbiología de frutas y verduras. Zaragoza: Ed. Acribia, S.A; 2008.
3. Hernández Cruza PE. Bacterias patógenas emergentes transmisibles por los alimentos. [Internet] Universidad Complutense de Madrid; 2010. [Citado: 23 de Abril 2011]. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1111/1128>
4. Struelens MJ, Palm D, Takkinen J. Actualización del Brote de STEC O104:H4 de Alemania. Características de las cepas y propuesta diagnóstica. [Internet] Eurosurveillance. 2011; 16(24): 3. [Citado 16 June 2011]. Disponible en: http://www.anlis.gov.ar/brote-de-stec/ActualizacionBrote24_06_11.pdf
5. Mejorando la seguridad y la calidad de frutas y hortalizas frescas: Manual de formación para instructores [Internet] Maryland: University of Maryland; 2002. [Citado: 8 de Abril 2009]. Disponible en: http://groups.ucanr.org/UC_GAPs/documents/Other_Training_Resources2660.pdf
6. Salomón EB, Brandl MT, Mandrell RE. Papel de las buenas prácticas agrícolas en la inocuidad de las frutas y verduras. En: Matthews KR. Microbiología de frutas y verduras. Zaragoza : Ed. Acribia, S.A.; 2008.
7. CAC/RCP. Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas. Las técnicas para la manipulación y almacenamiento higiénicos. [Internet]. FAO; 2003. [Citado: 17 Ago 2010]. Disponible en: <http://www.ebookio.com/.../c%26Atilde%3Boigo-de-pr%26Atilde%3B...ticas-de-higiene-para-las-frutas-y-hortalizas-frescas>
8. FAO. Calidad de Alimentos y Estándares de la División de Alimentos y Nutrición. Información adicional sobre el trabajo de esta División en lo que concierne a calidad de alimentos y materias relacionadas a seguridad, incluyendo la producción de

frutas frescas y vegetales. [Internet] FAO; 2006. [Citado: 21 de octubre 2010]. Disponible en: <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/economic/ESN/nutri.htm>)

9. Bier JW, Jackson GJ, Adams AM, Rude RA. Parasitic animals in foods. Chapter 19. In: Bacteriological Analytical Manual [Internet]. Maryland: EE.UU. Department of Health and Human Services. FDA U.S Food and Drug Administration; 2009. [Consultado: 5 de junio de 2009]. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM071468>

10. González GMI, Chiroles RS. Uso seguro y riesgos microbiológicos del agua residual para la agricultura. Revista Cubana de Salud Pública. 2010; 37(1):61-73.

11. Gourabathini P, Brandl MT, Redding KS, Gundersson JH, Berk S. Interactions between food-borne pathogens and protozoa isolated from lettuce and spinach. Applied and Environmental Microbiology. 2008; 74: 2518-2525.

12. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. [Internet]. Atlanta: Investigation Announcement: Multistate outbreak of human *Salmonella* Agona infections linked to whole, fresh imported papayas. [Internet] 25 de Julio de 2011. [Consultado 29 de agosto de 2011]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/salmonella/agona/>

13. Gumbo JR, Malaka EM, Odiyo JO, Nare L. The health implications of wastewater reuse in vegetable irrigation: a case study from Malamulele, South Africa. Foodborne Pathog Dis. 2010 Sep; 7(9):1025-30.

14. Cazorla D, Morales P, Chirinos M, *et al.* Evaluación parasitológica de hortalizas comercializadas en Coro, Estado Falcón, Venezuela. Bol Mal Salud EAmb. [online]. Jul. 2009; 49(1): 117-125. [Citado 16 febrero 2012]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482009000100008&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1690-4648.

15. Canario ANC, Campuzano S. Estudio piloto de detección de parásitos en frutas y hortalizas expendidas en mercados públicos y privados de la ciudad de Bogotá D.C. Universidad colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. Red de Revistas Científicas de America Latina y el Caribe, España y Portugal [online]. 2006; 4(5): 1-116. [Citado 16 febrero 2012]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/411/41140508.pdf>

16. Pérez-Cordón G, Rosales MJ, Valdez RA, *et al.* Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. Rev. perú. med. exp. salud publica. [online]. ene./mar. 2008; 25(1): 144-148. [Citado 12 enero 2012]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000100018&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1726-4634.

17. Shahnazi M, Jafari-Sabet M. Prevalence of parasitic contamination of raw vegetables in villages of Qazvin Province, Iran. Parasit Vectors. 2011; 4: 102.

18. Bello J, Núñez FA, González OM, Fernández R, Almirall P, Escobedo AA. Risk factors for Giardia infection among hospitalized children in Cuba. Annals of Tropical Medicine & Parasitology. 2011; 105 (1): 57-64.

Recibido: 2 de julio de 2013

Aprobado: 22 de noviembre de 2013