

Comparación de la calidad bacteriológica de la lechuga (*Lactuca sativa*) producida en Costa Rica mediante cultivo tradicional, orgánico o hidropónico

Claudio Monge, Carolina Chaves, María Laura Arias

Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET),
Universidad de Costa Rica. Costa Rica

RESUMEN. El objetivo del presente estudio fue evaluar la calidad bacteriológica de lechugas comercializadas en el Área Metropolitana de San José, Costa Rica y cultivadas de diversas maneras, con el fin de discernir diferencias entre los métodos de cultivo y el riesgo a la Salud Pública que estos productos pueden representar. El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, durante los meses de marzo a julio, 2010. Se analizaron 30 muestras de lechuga (10 cultivadas por el método tradicional, tradicional, 10 de cultivo orgánico y 10 producidas mediante hidroponía). Cada muestra fue adquirida en supermercados donde se certifica el origen de las mismas. A cada muestra se le determinó el recuento total de aerobios mesófilos aerobio, recuento de coliformes totales, fecales y de *Escherichia coli*, así como la presencia/ausencia en 25 g de *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*. Los resultados obtenidos demuestran que no existe una diferencia, estadísticamente significativa ($p > 0,001$) entre los diferentes tipos de cultivo para ninguno de los parámetros evaluados. Un porcentaje importante de las muestras presentó coliformes, no obstante, únicamente se aisló una cepa de *Escherichia coli*, a partir de una lechuga cultivada de manera tradicional. Se logró aislar cuatro cepas de *Salmonella* spp así como una cepa de *Listeria monocytogenes*. Los datos obtenidos permiten evidenciar el hecho de que el consumo del producto crudo y sin una adecuada limpieza y desinfección representa un riesgo para la salud del consumidor, así como que no existe, desde el punto de vista bacteriológico, una diferencia significativa entre el cultivo tradicional, orgánico e hidropónico de la lechuga, lo que hace suponer que no se siguen los lineamientos específicos de cada tipo de cultivo, o se da un mal manejo y contaminación post cosecha en los productos. **Palabras clave:** Lechuga, hidroponía, cultivo orgánico, calidad microbiológica.

INTRODUCCION

Actualmente, existe una creciente demanda por vegetales frescos, listos para su consumo y en diversas presentaciones (1). Uno de estos productos es la lechuga, (*Lactuca sativa*), una planta anual, utilizada frecuentemente como alimento y característica de zonas semitempladas. Su cultivo tradicional se realiza a partir de semilleros trasplantados a suelos, no obstante, en los últimos años se ha dado la introducción de nuevas

SUMMARY. Bacteriological quality of traditional, organic and hydroponic cultured lettuce in Costa Rica. The main objective of this work was to evaluate the microbiological quality of lettuces commercialized in the Metropolitan Area of San José, Costa Rica, and cultured in different ways, in order to detect differences between the culturing methods and the risk that these products may represent for Public Health. The study was done at the Food Microbiology Laboratory, Universidad de Costa Rica, from March to July, 2010. 30 lettuce samples were analyzed (10 obtained by traditional culture, 10 by organic culture and 10 by hydropony). All samples were obtained from markets where their origin was certified. Total aerobic plate count, total and fecal coliforms count and *Escherichia coli* were determined to all samples, as well as the presence/absence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in 25 g. Results obtained show that there is no statistically significant difference ($p < 0,001$) between the different types of cultures analyzed for any of the parameters evaluated. An important percentage of the samples presented coliforms, nevertheless, just one *E. coli* strain was isolated from a traditionally cultured lettuce sample. Four different *Salmonella* spp. strains were isolated from the samples as well as one *Listeria monocytogenes* strain. Data obtained show that the consumption of this product, raw or without an adequate hygiene and disinfection may represent a risk for health. Also, from the bacteriological point of view, there is no significant difference between the culturing methods evaluated, suggesting that the specific directions for each type of culture are not followed or that there is an inadequate handling of the products or post harvest contamination.

Key words: Lettuce, hydroponic culture, organic culture, microbiological quality.

técnicas entre las que destacan el cultivo orgánico y el hidropónico.

La agricultura orgánica tiene como objetivo la producción de alimentos sanos y de buena calidad nutritiva, libres de sustancias químicas. A nivel mundial, existe una demanda creciente hacia estos productos, lo cual refleja la importancia que da actualmente el consumidor a la calidad e inocuidad de sus alimentos. Esta creciente demanda se traduce en aumentos anuales a nivel de producción, del 8% al 20% y de consumo,

del 20% al 30% (2). No obstante, y a pesar de lo anterior, varios autores exponen que, desde un punto de vista nutricional y toxicológico, los vegetales orgánicos no son mejores a los obtenidos por cultivo tradicional, y a nivel de contaminación microbiológica, son pocos los estudios que se han avocado a este tema (3).

La hidroponía es una técnica de producción de cultivos sin suelo, ya que éste es reemplazado por agua con nutrientes minerales disueltos (4). Es una metodología de uso creciente, pero su principal problema estriba en el uso de aguas residuales que pueden acarrear bacterias, virus y otros microorganismos patógenos.

Las hortalizas han sido asociadas, en repetidas ocasiones, con enfermedades transmitidas por alimentos (5,6). Bacterias como *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*, entre otras, han sido frecuentemente aisladas a partir de vegetales e identificadas como responsables de brotes de gastroenteritis o listeriosis (7). Lo anterior debido a diversas prácticas, incluyendo el uso de fertilizantes orgánicos, aguas de riego contaminadas, manejos deficientes de cosecha, poscosecha y comercialización, entre otros.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la calidad microbiológica de lechugas comercializadas en el Área Metropolitana de San José, Costa Rica y cultivadas de manera tradicional, cultivo orgánico e hidroponía con el fin de discernir diferencias entre los métodos de cultivo y el riesgo a la Salud Pública que estos productos pueden representar.

MATERIALES Y METODOS

Localización del proyecto

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, durante los meses de marzo a julio, 2010.

Origen de las muestras

Se analizaron 30 muestras de lechuga (10 producidas por cultivo tradicional, 10 orgánicas y 10 hidropónicas) obtenidas a partir de supermercados donde se certifica el origen de las mismas. Todas las muestras fueron transportadas en frío al laboratorio y analizadas en menos de 24 h.

Análisis bacteriológico

A cada muestra se le determinó el recuento total de aerobios mesófilos, recuento de coliformes totales, fecales y de *Escherichia coli*, así como la presencia/ausencia en 25 g de *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* según la metodología descrita en Pouch (2001).

Recuento total de aerobios mesófilos (8)

Se pesaron 10 g de cada muestra y se diluyeron en 90 mL de agua peptonada estéril 0.1 % (APE). Se realizaron diluciones decimales hasta 10^{-4} en APE 0.1 % y a partir de cada una se inocularon, por vaciado, platos de Agar Estándar + TTC (2,3,5 cloruro de trifeniltetrazolium) que se incubaron a 35°C por 48 h en atmósfera aerobia.

Recuento de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* (8)

A partir de las diluciones previamente preparadas se determinó el recuento en placa de coliformes utilizando agar bilis rojo violeta. Para la detección de coliformes totales, se incubaron las placas a 35°C por 48 h, para la detección de coliformes fecales, se incubaron a 44,5°C por 24 h. Para la determinación de *Escherichia coli*, se realizó, a partir de los coliformes fecales, una prueba de indol incubada a 44,5°C por 24 h.

Aislamiento de *Salmonella* spp. (8)

Se pre-enriquecieron 25 g de cada muestra en 225 mL de agua peptonada estéril (APE) 0,1%, incubando 24 h a 35°C. El enriquecimiento selectivo se realizó utilizando caldo tetratonato y caldo selenito, incubando 24 h a 43°C y 35°C respectivamente. El aislamiento selectivo se realizó en los agares XLD y Hecktoen, incubando 24 h a 35°C. La confirmación bioquímica de las colonias sospechosas se realizó utilizando el API 20E y la confirmación serológica usando anticuerpos monoclonales.

Aislamiento de *Listeria monocytogenes* (9)

Se siguió la metodología descrita en el Manual de Bacteriología, Food and Drug Administration, 1995 para determinar la presencia/ausencia de esta bacteria en 25 g. Brevemente, 25 g de cada muestra fueron enriquecidos en 225 ml de caldo de *Listeria* e incubados a 30 °C por 48 horas. Posteriormente, se inocularon placas de agar Oxford a partir del caldo del enriquecimiento, las cuales fueron incubadas por 48 horas a 35 °C. Las colonias típicas fueron confirmadas por la prueba de luz de Henry, morfología, motilidad, hemólisis, prueba de CAMP (Christie, Atkins and Much-Petersen) y utilización de xilosa y ramnosa.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico Statistix for Windows

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestra el resultado del recuento total de aerobios mesófilos, de coliformes totales y fecales obtenidos a partir de las muestras de lechuga según la técnica de cultivo utilizada (tradicional, orgánica, hidroponía).

TABLA 1
Promedio del recuento total de aerobios mesófilos, recuento de coliformes totales y de coliformes fecales en lechuga, según la técnica de cultivo utilizada

Tipo de cultivo	Promedio recuento de aerobios mesófilos (UFC/g)	Promedio recuento coniformes totales (UFC/g)	Promedio recuento coliformes fecales (UFC/g)
Tradicional	1,0 x 10 ⁷	4,7 x 10 ⁶	5,6 x 10 ³
Orgánico	6,4 x 10 ⁶	9,8 x 10 ⁵	1,5 x 10 ³
Hidropónico	4,3 x 10 ⁶	9,8 x 10 ⁵	4,8 x 10 ²

Al analizar los diferentes promedios de recuento, se encuentra que no existe una diferencia, estadísticamente significativa ($p > 0,001$) entre los diferentes tipos de cultivo para ninguno de los parámetros evaluados.

Es importante destacar que el 80% (8/10) de las lechugas cultivadas de manera tradicional presentaron coliformes fecales, al igual que el 70% (7/10) de las hidropónicas y el 90% de las orgánicas (9/10). No obstante, únicamente se aisló una *Escherichia coli*, a partir de una lechuga cultivada de manera tradicional.

Se logró aislar cuatro cepas de *Salmonella* spp., dos provenientes de lechugas orgánicas, una de lechuga cultivada de manera tradicional y una cultivada por hidroponía.

En cuanto a *Listeria monocytogenes*, únicamente se aisló una, a partir de lechuga cultivada de manera tradicional.

DISCUSION

En el presente trabajo, se determinó un recuento total de aerobios mesófilos promedio de 10⁵-10⁶ UFC/g para los tres tipos de lechuga analizados. Este mismo valor fue obtenido para el promedio del recuento de coliformes totales en los mismos productos. Estos hallazgos son totalmente acordes a la población bacteriana esperada en un producto vegetal crudo (8). No obstante, es importante destacar que estos valores son altos para el cultivo obtenido por hidroponía, donde es esperable tener productos con una menor concentración de microorganismos ya que el contacto con el suelo no existe (4).

Las lechugas analizadas presentaron recuentos de coliformes fecales con valores promedio entre 10² y 10³ UFC/g. Cabe destacar que los productos cultivados por hidroponía fueron los que presentaron los promedios más bajos (10² UFC/g). De la misma manera, fueron las lechugas de origen hidropónico las que resultaron negativas para este indicador mayor número de veces, seguidas por las lechugas cultivadas de manera tradicional. Al comparar estos resultados con los obtenidos por Calvo *et al.*, (10) en lechugas de origen costarricense, se puede deducir que, en los últimos años, se ha dado un mejor manejo del vegetal ya que ellos reportan una concentración de coliformes fecales promedio de 10⁵ UFC/

g para las dos estaciones evaluadas. De la misma manera, los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Martino y colaboradores (11) quienes reportan 6/17 (35%) de lechugas con promedios de coliformes fecales similares a los encontrados en este estudio.

En este estudio, únicamente se aisló una *Escherichia coli*, a partir de una lechuga cultivada de manera tradicional, ninguna a partir de lechuga orgánica. Este dato contrasta con los resultados de Loncarevic *et al.* en Noruega, quienes aíslan 16 cepas de esta bacteria a partir de 179 muestras de lechuga (8,9%) (12) y de Oliveira y colaboradores en España, quienes reportan un 22% de aislamiento de esta bacteria a partir de muestras orgánicas y un 12,5% a partir de lechugas cultivadas de manera tradicional (13).

En las muestras analizadas, se consideró de gran importancia determinar la potencial presencia de *Salmonella* spp., uno de los agentes causantes de diarrea más frecuentes en América Latina (14). Esta bacteria ha presentado un aumento en el número de brotes asociados a alimentos, especialmente al consumo de vegetales y frutas crudos o mínimamente procesados (15). Lo anterior debido a los cambios que se han suscitado a nivel de prácticas agrícolas y hábitos de consumo a nivel mundial (16) así como al uso de fertilizantes orgánicos de origen animal y a la irrigación de cosechas con aguas residuales, entre otros (17-18).

En el presente trabajo, el promedio de aislamiento de *Salmonella* a partir de lechugas fue de 13,3%, dato ligeramente superior a los porcentajes reportados en México (19), España y el estado de New Jersey, entre otros (20) y contrario a la ausencia de aislamiento reportada por Loncarevic *et al.*, en Noruega (12) y Oliveira en España (13). La presencia de *Salmonella* en lechugas de origen costarricense pone en evidencia el riesgo que representa este producto para la Salud Pública si se consume sin una previa y eficiente desinfección.

Es importante destacar el hecho que se aisló, a partir de una lechuga cultivada de manera hidropónica, una *Salmonella* spp. Una de las posibles causas de esta situación sería el uso de aguas de riego o aguas contaminadas para el desarrollo del cultivo

Las aguas de riego han sido fuertemente asociadas al origen de bacterias patógenas en lechuga. Al respecto, no existe un

consenso sobre el número máximo de coliformes fecales permisibles en éstas. Las normativas existentes son muy variables, desde la expuesta por la Organización Mundial de la Salud y adoptada por Costa Rica, la cual fija un límite de no más de 100 coliformes fecales/100mL para aguas de riego (21), hasta tolerancias estrictas como la de Israel (menos de 12 coliformes fecales/100 mL en al menos 80% de las muestras y menos de 2,2 en al menos 50% de las muestras) y California y Arizona (la media geométrica no puede ser superior a 2,2 coliformes fecales /100 mL y ninguna muestra puede tener más de 23-25 coliformes fecales /100 mL), entre otras (22).

L. monocytogenes es otra bacteria que ha sido implicada, en repetidas ocasiones y a nivel mundial, con brotes alimentarios (13,23). Este microorganismo ha sido aislado a partir de diversos alimentos incluyendo carnes, pollo, lácteos y vegetales entre otros, así como de áreas de procesamiento industrial (12,13,24-27). Su presencia en plantas y vegetales puede provenir de heces animales, la misma vegetación en estado de descomposición, suelo, agua y agua de riego, entre otras (6). En el presente trabajo, el porcentaje de aislamiento de *L. monocytogenes* fue bajo, únicamente se aisló una cepa. Los porcentajes de aislamiento de esta bacteria a partir de lechugas, a nivel mundial, son diversos, variando entre bajos, tal y como los reportados por Loncarevic en Noruega (1,1%) (12) hasta superiores al 22% reportados en Malasia por Arumagaswamy y colaboradores (27). El impacto principal de este aislamiento es su potencial sobrevivencia aún a procedimientos comerciales de desinfección tal y como lo describen Carrasco *et al.*, (26) y por ende, el riesgo que representa para la salud pública de poblaciones susceptibles.

Los datos obtenidos permiten evidenciar el hecho de que se ha dado una relativa mejoría en el cultivo de lechuga a nivel nacional, no obstante, el consumo del producto crudo y sin una adecuada limpieza y desinfección representa un riesgo para la salud del consumidor. También, se pone de manifiesto que no existe, desde el punto de vista bacteriológico, una diferencia significativa entre el cultivo tradicional, orgánico e hidropónico de la lechuga, por lo que se recomienda realizar más estudios, con mayor número de muestras provenientes tanto de fincas productoras como de puntos de venta, para establecer si realmente la forma de cultivo influye o no en la calidad bacteriológica final del producto.

REFERENCIAS

1. Regmi A, Ballenger N & Putman J. Globalization and income growth promote the Mediterranean diet. *Public Health Nutr* K. 2004. 7: 977-983.
2. Willer H & Yussefi M. The world of organic agriculture. Statistics and emerging trends. 6th ed. Bonn, Germany: IFOAM International Federation of Organic Agriculture Movements. 2004.
3. Hoefkens C, Vandekinderen I, B Meulenaer B, de Devlighere F, Baert K, Sioen I, Henauw S, Verbeke W & Camp. A literature-based comparison of nutrient and contaminant contents between organic and conventional vegetables and potatoes. *British Food J*. 2008. 111: 1078-1097.
4. Sanz de Galdeano J, Ulibarri A, Sádaba S, Aguado G y Castillo J. Aspectos a considerar en una instalación de cultivo hidropónico. *Navarra Agraria*. 2003. 3: 9-17.
5. Zink D. Opportunities for food CGMP modernization. *Food Safety Magazine*. 2006. August/September, 25-59.
6. IFT/FDA. Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards of fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2001.
7. Beuchat L. Pathogenic microorganism associated with fresh produce. *J Food Prot*. 1996. 59: 204-216.
8. Pouch F.. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4ed American Public Health Association 800 I St., Nw Washington, DC. 2001. 343-353.
9. FDA. Bacteriological and Analytical Manual. AOAC. 18th Ed. New York. 1995.
10. Calvo M, Carazo M, Arias ML, Chaves C, Monge R y Chinchilla M. Prevalencia de *Cyclospora* sp., microsporidios y determinación de coliformes fecales en frutas y vegetales frescos de consume crudo en Costa Rica. *ALAN*. 2004. 54: 433-438.
11. Martino T, Lemus D, Leyva V, Tejedor R, de los Reyes M y Soto P. Incidencia de *Listeria* spp. en hortalizas frescas. *Rev. Cubana de Salud Pública*. 2008. 34: 1-11.
12. Loncarevic S, Jhannessen G & Rervik L. Bacteriological quality of organically grown leaf lettuce in Norway. *Letters Appl Microbiol*. 2005. 41: 186-189.
13. Oliveira M, Usall J, Viñas I, Anguer aM, Gatiús F & Abadías M. Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. *Food Microbiol*. 2010. 27: 679-684.
14. Fuzihata T, Fernández S & Franco B. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouse. *J Food Prot*. 2000. 63: 1749-1753.
15. De Roever C. Microbiology and safety evaluation and recommendations on fresh produce. *Food Control*. 1998. 9: 321-347.
16. Collins JE. Impact of changing consumer lifestyles on the emergence/reemergence of foodborne pathogens. *Emerg Infect Dis*. 1997. 3: 471-479.
17. Islam M, Morgan J, Doyle M, Phatak S, Millner P & Jiang X. Persistence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on lettuce and parsley and in soils on which they were grown in fields treated with contaminated manure composts of irrigation water. *Foodborne Pathog Dis*. 2004. 1: 27-35.
18. Natvig E, Ingham E, Ingham B, Cooperband L & Roper T. *Salmonella enteric* serovar Typhimurium and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure. *Appl Environ Microbiol*. 2002. 68: 2737-2744.
19. Quiroz-Santiago C, Rodas-Suárez O, Vázquez C, Fernández F, Quiñones-Ramírez E & Vázquez-Salinas C. Prevalence of

- Salmonella* in vegetables from Mexico. J Food Prot. 2009. 72: 1279-1282.
20. García V & R Gálvez. 1987. Contamination of fresh vegetables during cultivation and marketing. Int J Food Microbiol 4: 285-289
 21. Pescod, M.M. Wastewater treatment and use in agriculture. FAO Irrig. & Drain. Paper No. 47, 1992. Roma.
 22. Bouwer, H. y Idelovitch E. Quality requirements for irrigation with sewage water. J. Irrig. & Drainage Eng. 1987. 113: 516-535
 23. Vitas A, Aguado V& García-Jalón I. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). Int J Food Microbiol. 2004. 90: 349-356.
 24. Gudbjornsdottir B, Suhiko M, Gustavsson P, Thorkelsson G, Salo S, Sjoberg A, Niclasen O & Bredhoff S. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. Food Microbiol. 2004. 21: 217-225.
 25. Thevenot D, ML Delignette-Muller, S Christeans, & C Vernozzy-Rozand. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products. Int J Food Microbiol. 2005. 102: 85-94.
 26. Carrasco E, Pérez-Rodríguez F, Valero A, García-Gimeno R & Zurera G. Risk assessment and management of *Listeria monocytogenes* in ready to eat lettuce salads. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2010. 9: 498-512.
 27. Arumugaswamy R, Ali G & Hamid S. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods in Malaysia. Int J Food Microbiol. 1994. 23: 117-121.

Recibido: 12-11-2010

Aceptado: 19-01-2011