



**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y *E. COLI* EN MUESTRAS
DE LECHUGA EXPENDIDAS EN CUATRO MERCADOS DE LA CIUDAD DE
CUENCA”**

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORAS:

ANDREA PAOLA VÉLEZ BRAVO

JOHANNA ELIZABETH ORTEGA GONZÁLEZ

DIRECTORA DE TESIS:

BIOQ. FARM. SILVIA JOHANA ORTIZ ULLOA

ASESORA DE TESIS:

DRA. SANDRA PAOLA CABRERA FAICAN MST.

CUENCA-ECUADOR

2013

RESUMEN

A nivel mundial, existe una tendencia hacia el mayor consumo de frutas y hortalizas, motivada por una creciente preocupación de adoptar una dieta más equilibrada. Sin embargo su imagen de alimentos sanos las excluyen de toda sospecha cuando existen problemas de salud debido a la ingestión de alimentos.

El objetivo de la presente tesis fue determinar la presencia de coliformes totales y *E. coli* en lechugas variedad *Iceberg* que se expenden en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca. Los resultados obtenidos sirvieron como aporte al Departamento de Higiene y Control de Mercados del Ilustre Municipio de Cuenca.

Este estudio fue de tipo descriptivo longitudinal. Se analizó un total de 96 muestras por duplicado y se realizó la determinación de coliformes totales y *Escherichia coli*, mediante la técnica de placas Petrifilm™.

El grado de contaminación de las lechugas fue tolerable ya que solo el 1% de las muestras estuvo contaminada con niveles no aceptables de coliformes totales y el 6,25% con niveles no aceptables de *E. coli*, según la Recopilación Internacional de Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados de Pablo Moragas y col. Además, no se encontró ninguna relación significativa entre el mercado y el lugar de producción con el grado de contaminación de las lechugas.

A pesar de la baja prevalencia de contaminación encontrada, la presencia de indicadores de contaminación fecal sugiere que las lechugas podrían tener una inadecuada calidad microbiológica, representando una fuente de ETAs, si la contaminación no es controlada mediante buenas prácticas de higiene.

Palabras claves:

Lechugas, Mercados, Coliformes totales, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Worldwide, there is a trend towards an increment of consumption of fruits and vegetables, motivated by a growing concern of adopting more equilibrated diet. However their image healthy food excludes them from of all suspicion when health problems occur due to food ingestion

The objective of this thesis was to determine the presence of total coliforms and *E. coli* in lettuce var. Iceberg that is expended in four markets of Cuenca city. The obtained results were an useful contribution to the Department of Hygiene and Control of Markets of the Illustrious Municipality of Cuenca.

This was a longitudinal descriptive study. In total, 96 samples in duplicate were analyzed. and the determination of total coliforms (CT) and *Escherichia coli* (EC) was performed by the technique Petrifilm™.

The degree of contamination of the lettuces was tolerable because only 1% of the samples were contaminated with no acceptable levels of total coliforms ($>10^4$ UFC/g) and 6,25% with no acceptable level of *E. coli* ($>10^2$ UFC/g), according to International Standards Collection Microbiological Food and Allied Moragas Paul et al. In addition, no significant relationship was observed between the sale place (market) and the place of production with the grade of contamination of lettuces.

Although a low prevalence of contamination found, , the presences of indicators of fecal contamination suggests that the lettuces might have an inadequate microbiological quality, representing a source of ETAs, if the contamination is not controlled through good practices of hygiene.

Keywords:

Lettuces, Markets, Total coliforms, *Escherichia coli*

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS	12
HIPÓTESIS	12
CAPÍTULO 1: GENERALIDADES DE LA LECHUGA	
1.1. Inocuidad De Hortalizas Frescas	13
1.1.1. Fuentes de contaminación de frutas y hortalizas frescas.....	13
1.1.1.1. Vía fecal o urinaria	14
1.1.1.2. Estiércol o residuos cloacales	14
1.1.1.3. Horticultor	14
1.1.1.4. Tipo de producto	15
1.1.1.5. Otras fuentes de contaminación.....	15
1.1.2. Presencia de sustancias, agentes tóxicos y microbiológicos en frutas y hortalizas.....	15
1.1.2.1. Agentes Químicos.....	15
1.1.2.2. Agentes Físicos	16
1.1.2.3. Agentes Microbiológicos	16
1.2. Lechuga Iceberg (“criolla”)	17
1.2.1. Descripción	17
1.2.2. Taxonomía	18
1.2.3. Composición nutricional	18
1.2.4. Actividad Acuosa.....	20
1.2.5. Aspectos relacionados con el cultivo de la lechuga.....	20
1.2.5.1. Abonos.....	21
1.2.5.2. Siembra	21
1.2.5.3. Riego	22

1.2.5.3.1.	Riego por goteo	22
1.2.5.3.2.	Riego por surcos	23
1.2.5.3.3.	Riego por aspersión	23
1.2.5.3.4.	Riego manual	24
1.2.5.4.	Cosecha.....	24
1.2.5.5.	Empaque y almacenamiento.....	25
1.2.5.6.	Distribución	26

CAPÍTULO 2: MICROORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE

2.1.	Microorganismos Indicadores De Higiene.....	27
2.1.1.	Coliformes Totales	27
2.1.2.	Coliformes Fecales.....	28
2.1.2.1.	<i>Escherichia coli</i> (EC).....	28
2.1.2.1.1.	Enfermedades transmitidas por <i>Escherichia coli</i>	29
2.1.2.1.1.1.	<i>E. coli</i> enteropatógena (EPEC)	30
2.1.2.1.1.2.	<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC)	30
2.1.2.1.1.3.	<i>E. coli</i> enteroinvasiva (EIEC).....	31
2.1.2.1.1.4.	<i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC)	31
2.1.2.1.1.5.	<i>E. coli</i> enteroagregante (EAEC)	32
2.1.2.1.1.6.	<i>E. coli</i> difusamente adherente (DAEC).....	32
2.2.	Normativa para la contaminación microbiológica de las lechugas	32

CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.	Diseño de la investigación	33
3.2.	Población de estudio	33
3.3.	Muestreo y tamaño de la muestra	33
3.4.	Toma de muestra y procedimientos	34
3.5.	Métodos y técnicas de análisis microbiológico.....	35
3.5.1.	Recuento de <i>E. coli</i> y coliformes en placas Petrifilm™	35

3.5.2. Materiales y medios de cultivo.....	36
3.5.3. Preparación de la muestra	36
3.5.4. Inoculación e incubación	38
3.6. Flujograma de trabajo.....	41
3.7. Interpretación de los resultados	42
3.8. Cálculos.....	43
3.9. Análisis estadístico	44

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis microbiológico de las lechugas.....	45
4.1.1. Contaminación microbiológica de las lechugas	47
4.1.2. Correlación entre frecuencia de contaminación por coliformes totales y <i>E. coli</i> de las lechugas con punto de expendio (mercado) y su procedencia (lugar de producción)	54

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones.....	57
Recomendaciones.....	58
BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXOS	63
GLOSARIO	79

Yo, Andrea Paola Vélez Bravo, autora de la tesis "Determinación de coliformes totales y *E. coli* en muestras de lechuga expendidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 13 de septiembre de 2013



Andrea Paola Vélez Bravo
0104808019

Yo, Andrea Paola Vélez Bravo, autora de la tesis "Determinación de coliformes totales y *E. coli* en muestras de lechuga expendidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 13 de septiembre de 2013



Andrea Paola Vélez Bravo
0104808019

Yo, Johana Elizabeth Ortega González, autora de la tesis "Determinación de coliformes totales y *E. coli* en muestras de lechuga expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 13 de septiembre de 2013



Johana Elizabeth Ortega González

0105627459

Yo, Johana Elizabeth Ortega González, autora de la tesis "Determinación de coliformes totales y *E. coli* en muestras de lechuga expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 13 de septiembre de 2013



Johana Elizabeth Ortega González

0105627459

INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de alimentos de buena calidad es un requerimiento generalizado, cuya demanda aumenta a medida que la población gana conciencia sobre la importancia para la salud de consumir alimentos no contaminados por agentes patógenos.

La lechuga es una hortaliza ampliamente conocida y cultivada casi en todo el mundo, siendo la más importante entre los vegetales tipo hoja que se consumen crudos. Existen numerosos tipos y variedades de lechugas. Está constituida principalmente por agua y en menor proporción por proteínas, vitaminas, minerales y fibra, tiene sabor agradable y bajo contenido calórico, por lo que su popularidad ha aumentado en forma progresiva y existe una mayor tendencia de su consumo ⁽¹⁾.

Debido a sus características físicas y de cultivo, las lechugas están expuestas a contaminación de tipo biológica y química, constituyendo un riesgo para la salud por la adquisición de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) especialmente porque se consumen frescas y crudas.

Según estadísticas del INEC, en Ecuador las enfermedades gastrointestinales representan la segunda causa de morbilidad de la población total, y es una de las principales causas de mortalidad infantil ⁽²⁾.

Por lo expuesto se ha visto la necesidad de estudiar la calidad microbiológica de la lechuga, variedad Iceberg (“criolla”) por medio de la determinación de los indicadores de contaminación fecal; coliformes totales y *E. coli*, contribuyendo así con información sobre la presencia de microorganismos patógenos en las hortalizas frescas en la ciudad de Cuenca.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinación de coliformes totales y *E. coli* en lechugas de la variedad Iceberg (“criolla”) expendidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca.

Objetivos Específicos:

- Determinar el grado y frecuencia de coliformes totales y *E. coli* como indicadores de contaminación fecal en la lechuga.
- Determinar la relación entre el punto de expendio (mercado) y el lugar de procedencia con la contaminación por coliformes totales y *E. coli* en lechugas.

HIPÓTESIS

Las lechugas variedad Iceberg (“criolla”) que se expenden en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca no cumplen con los requisitos microbiológicos para coliformes totales y *E. coli* establecidos en la normativa de la “Recopilación Internacional de Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados de Pablo Moragas y col; basados en los estudios de “Microbiología Alimentaria” de Pascual y col.

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES DE LA LECHUGA

1.1. Inocuidad de frutas y hortalizas frescas

Desde el punto de vista microbiológico, la inocuidad alimentaria se refiere a la producción de alimentos sanos y limpios, sin dejar de lado los aspectos de contaminación química y física. ⁽³⁾

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) es el principal organismo especializado y encargado de los aspectos relacionados con la calidad e inocuidad de los alimentos. Esta organización plantea un enfoque preventivo basado en la cadena alimentaria, es decir producción, cosecha, almacenamiento, transporte y comercialización, reconociendo de tal manera que todos los individuos que intervienen en la misma comparten la responsabilidad de abastecer alimentos inocuos, sanos y nutritivos. ⁽⁴⁾

Sin embargo, aunque internacionalmente se acepta el sistema de análisis de peligros como el más eficaz para garantizar la inocuidad de los alimentos en general, en el caso de frutas y hortalizas frescas los mecanismos de control se complican considerablemente, especialmente en la eliminación de patógenos, ya que se trata de productos que se consumen generalmente crudos y presentan un riesgo más elevado para la salud de los consumidores por su contacto directo con agentes contaminantes durante toda su cadena de producción. ⁽³⁾

1.1.1. Fuentes de contaminación de frutas y hortalizas frescas

Las distintas etapas por las que un producto debe pasar desde la cosecha hasta el consumo, proveen innumerables oportunidades para incrementar el nivel de contaminación que naturalmente trae desde el campo. ⁽⁵⁾

1.1.1.1. Vía fecal o urinaria

Esta vía es la principal fuente de contaminación de frutas y hortalizas y llega fundamentalmente a través del agua de riego y lavado.

La presencia de microorganismos en el agua de superficie (ríos, arroyos, lagos) puede provenir del volcado de aguas servidas por parte de las poblaciones ribereñas ubicadas aguas arriba. ⁽⁵⁾

1.1.1.2. Estiércol o residuos cloacales

Esta fuente de contaminación se debe a la presencia de animales en el lote de producción y la utilización de estiércol como fertilizante orgánico por su contenido rico en materia orgánica, energía y microorganismos que posibilitan la degradación de los nutrientes del suelo y permiten que las plantas los asimilen de mejor manera ayudando a un óptimo desarrollo de los cultivos. ^(5, 6)

Por lo tanto, los estiércoles deben ser compostados aeróbicamente permitiendo que la temperatura se eleve a 60-80°C por al menos 15 días, generando suficiente temperatura para matar semillas y bacterias patógenas y así obtener un producto beneficioso y seguro desde una perspectiva de seguridad microbiana. ⁽⁵⁾

1.1.1.3. Horticultor

Esta fuente de contaminación se debe a que la producción fructihortícola es altamente demandante de mano de obra y normalmente las condiciones higiénicas de los operarios y trabajadores rurales no son las más adecuadas pues los lotes de producción están alejados de los baños o instalaciones para el aseo personal. ⁽⁵⁾

1.1.1.4. Tipo de producto

En general, las hortalizas tienen un pH entre 5 y 6, lo que favorece el crecimiento de las bacterias; mientras que las frutas por ser más ácidas tienden a ser colonizadas por hongos que crecen a un pH comprendido entre 4,5 y 5,5. ⁽⁷⁾



Las plantas bajas o rastreras, están más expuestas a la contaminación por el suelo, agua de riego y animales, constituyendo así, las de más alto riesgo para la salud de los consumidores. ⁽⁵⁾

1.1.1.5. Otras fuentes de contaminación

Herramientas de cosecha, envases o transporte inadecuado pueden provocar lesiones que exponen los tejidos internos a la contaminación por microorganismos. Por otro lado, la contaminación se exagera por un inadecuado manejo de las condiciones, particularmente la temperatura, a la que el producto es expuesto hasta el consumo. ⁽⁵⁾

1.1.2. Presencia de sustancias, agentes tóxicos y agentes microbiológicos en frutas y hortalizas

Los alimentos pueden estar expuestos a tres tipos de contaminación directa o indirecta, siendo agentes químicos, físicos y microbiológicos.

1.1.2.1. Agentes Químicos

Los vegetales pueden acumular agentes químicos procedentes de tratamientos agrícolas como pesticidas o fertilizantes utilizados para su cultivo y conservación. ⁽⁸⁾

Entre los contaminantes tóxicos destacan los nitratos, que se utilizan como fertilizantes empleados comúnmente en la agricultura como nutriente esencial, por ser fuente de nitrógeno. Los nitratos por sí mismos no son tóxicos, sino que el problema principal se asocia a su transformación en nitritos, en algunos casos durante el metabolismo humano. Los nitritos pueden reaccionar en el medio ácido del estómago con las aminas secundarias, obtenidas por el metabolismo de los alimentos proteicos (carne, pescado, huevos), originando nitrosaminas, que son agentes cancerígenos. Estudios epidemiológicos han correlacionado positivamente



zonas agrícolas de alto uso de fertilizantes nitrogenados con incidencia de cáncer nasofaríngeo, esofágico y gástrico. (8, 9)

La cantidad de nitratos en hortalizas varía en función de numerosos factores agronómicos, pero el factor más decisivo es la especie de hortalizas, así las lechugas, espinacas, acelgas, presentan una elevada capacidad para acumular nitratos, según un estudio llevado a cabo por la Organización de Consumidores y Usuarios (OCU) en España. (9)

1.1.2.2. Agentes físicos

Dentro de los agentes físicos se puede considerar: la tierra, deposiciones animales, grasas o aceites de maquinarias, cabellos humanos, larvas y pupas de insectos vivos o muertos, restos vegetales y materiales de empaque, que pueden contaminar el producto o lesionar el tejido vegetal, constituyendo una vía de entrada para los microorganismos contaminantes. (5)

1.1.2.3. Agentes microbiológicos

La producción de alimentos frescos, sin aplicar adecuados procesos de saneamiento presenta una alta probabilidad de contaminación por microorganismos. (10)

Los productos vegetales tienen una flora microbiana propia, que resulta porcentualmente baja frente a la flora adquirida procedente de la contaminación del ambiente (agua, suelo, desechos animales y humanos). (8)

Entre los microorganismos que pueden estar presentes están: Bacterias (coliformes, *Salmonella*), Parásitos (*Giardia spp.*), Virus (hepatitis A) y algunos hongos capaces de producir toxinas. (5)

La mayoría de estos microorganismos tienen la capacidad de captar los nutrientes y metabolizarlos para formar un gran número de productos finales y con frecuencia



reaccionan a los cambios del medio ambiente y se adaptan a nuevos ambientes, siendo potencialmente peligrosos para la salud. ⁽¹⁰⁾

1.2. Lechuga Iceberg (“criolla”)

1.2.1. Descripción

La lechuga es la planta más importante del grupo de las hortalizas de hoja, se consume en ensaladas, es ampliamente conocida y se cultiva casi en todos los países del mundo. ⁽¹¹⁾

Durante los últimos años la producción de hortalizas ha experimentado un significativo progreso en cuanto a rendimiento y calidad. Es así que la superficie cultivada de lechuga ha ido incrementándose, debido en parte a la introducción de nuevos cultivares y al aumento de su consumo. ⁽¹¹⁾

Entre las variedades que se pueden encontrar en la ciudad de Cuenca están la lechuga Iceberg (“criolla”), la lechuga crespa y la lechuga romana.

El presente trabajo de tesis se centró en la variedad Iceberg (“criolla”), que según datos obtenidos es la variedad de mayor producción y consumo en la ciudad de Cuenca.

La lechuga Iceberg (“criolla”) es similar a una col (Figura 1); se caracteriza por ser crujiente, tener un sabor dulce y refrescante y su ventaja es que sus hojas externas por ser gruesas permanecen firmes durante al menos 5 días, después de haber sido recolectada. ⁽¹²⁾



Figura 1. *Lactuca sativa* var. Iceberg

(Fuente: Fotografía tomada por las autoras)

1.2.2. Taxonomía

Nombre Común: Lechuga Criolla

Nombre científico: *Lactuca sativa* var. Iceberg

Familia: Compositae

Género: *Lactuca*

Especie: *Sativa*

Origen: Regiones templadas de Europa, Asia y América del Norte. ⁽¹³⁾

1.2.3. Composición nutricional

La lechuga es una hortaliza pobre en calorías y una importante fuente de proteínas, vitaminas y minerales. ⁽¹³⁾

La composición nutricional de la lechuga Iceberg (“criolla”) se presenta en la Figura 2.

Nutriente	Contenido / 100 g
Energía (Kcal)	12
Energía (KJ)	50
Agua (g)	95,7

Proteínas (g)	1,3
Grasa Total (g)	0,2
Carbohidratos totales (g)	2,1
Carbohidratos disponibles (g)	0,8
Fibra Cruda (g)	0,8
Fibra dietaria	1,3
Cenizas (g)	0,7
Calcio (mg)	47
Fósforo (mg)	49
Zinc (mg)	0,18
Hierro (mg)	1,00
Retinol (µg)	63,00
Vitamina A equivalentes totales	370,0
Tiamina (mg)	0,06
Riboflavina (mg)	0,05
Niacina (mg)	0,48
Vitamina C (mg)	7,40

Figura 2. Contenido nutricional de la lechuga por 100 g de la porción comestible.

(Fuente: Centro Nacional de Alimentación y Nutrición Instituto Nacional de Salud. Tablas peruanas de composición de alimentos. Recuperado el 21 de junio, 2013, de

<http://www.ins.gob.p/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>)

El contenido nutricional de la lechuga puede variar con el aumento de temperatura y periodo y lugar de almacenamiento. Algunos de sus nutrientes como los carbohidratos y el agua principalmente, contribuyen a la descomposición de la lechuga y por lo tanto a la proliferación de microorganismos. ⁽¹³⁾

1.2.4. Actividad acuosa

La actividad acuosa (A_w) es la cantidad de agua libre en el alimento es decir, el agua disponible para que los microorganismos puedan crecer y llevar a cabo sus



funciones metabólicas; el resto de agua que permanece en el alimento es el agua ligada, la cual está combinada con otros elementos y no está disponible para los microorganismos, por tanto no favorece al crecimiento microbiano. (14, 15)

Tiene un valor máximo de 1 y un valor mínimo de 0. Cuánto más cantidad de agua disponible tenga un alimento para el crecimiento de microorganismos, menor será su vida útil. Así en niveles inferiores a 0,85 la alteración microbiana no se produce o lo hace muy lentamente y por debajo de un valor de actividad de acuosa de 0,60 no tiene lugar la multiplicación bacteriana. (16)

En las hortalizas la A_w presenta valores entre 0.97 y 0.99. Este nivel de agua permite el crecimiento de casi todos los microorganismos patógenos, que dan lugar a alteraciones del producto, tales como, cambio de color o sabor, llevando incluso a la putrefacción y a la producción de toxiinfecciones alimentarias, lo cual constituye una fuente de ETAs, principalmente de tipo intestinal. (16)

1.2.5. Aspectos relacionados con el cultivo de la lechuga

El proceso de producción de la lechuga tiene un impacto muy importante sobre el producto final. La producción incluye abonado, siembra, riego, cosecha, distribución, entre otros, cuya influencia se describe a continuación.

1.2.5.1. Abonos

Debido al arraigamiento superficial y el breve período vegetativo de la lechuga, se suele suministrar abundante estiércol descompuesto, complementado con abonos químicos solubles, tales como el salitre, que consiste en una mezcla de nitrato de sodio (NaNO_3) y nitrato de potasio (KNO_3), constituyendo el abono nitrogenado de más alta absorción por las plantas, dando como resultado lechugas de gran tamaño, con hojas finas y tiernas. Sin embargo su exceso resulta en plantas que crecen muy rápido, con hojas quebradizas y cabezas que no se arpeollan debidamente. (17, 18)

1.2.5.2. Siembra

Antes de la siembra es importante tomar en cuenta aspectos como: temperatura, humedad relativa y suelo. Los rangos de temperatura para el crecimiento óptimo de la planta están entre los 15 °C y 18° C, con temperatura máximas de 24 °C y mínima de 7 °C. La humedad relativa conveniente para la lechuga es del 60 al 80% ya que es muy sensible a la falta de humedad y soporta mal un periodo de sequía, aunque éste sea muy breve. ⁽¹⁹⁾

La lechuga se produce en una amplia variedad de suelos, pero el mejor producto se obtiene en los de consistencia media, fértiles, bien drenados, con pH neutro y abundante materia orgánica. ⁽²⁰⁾

Las formas de siembra más frecuentes en las zonas agrícolas de la ciudad de Cuenca (San Joaquín, Balzay y Sayausí) son hacer semillero o siembra por trasplante para las pequeñas plantaciones y la siembra directa en los cultivos comerciales. ⁽¹⁵⁾

1.2.5.3. Riego

La frecuencia de riego varía según el tipo de suelo, el tamaño de la planta y el clima. Los mejores sistemas de riego, que actualmente se utiliza para el cultivo de la lechuga se describen a continuación. ⁽²⁰⁾

1.2.5.3.1. Riego por goteo

Mantiene los niveles de humedad equilibrados. Se lo denomina también riego localizado, el cual consiste en aplicar agua a una zona determinada del suelo, no en su totalidad. El agua circula a presión por un sistema de tuberías desplegadas sobre la superficie del suelo o enterrado en éste, saliendo finalmente por los emisores de riego (goteros). ^(20, 21)



Figura 3. Riego por goteo

(Fuente: Fotografía tomada de http://es.123rf.com/photo_11513719_lechuga-siembra-lactuca-sativa-riego-por-goteo.html)

1.2.5.3.2. Riego por surcos

Es el más común en las áreas de cultivo grande, aquí la superficie del terreno se utiliza como un conducto para el agua. (10)



Figura 4. Riego por surcos

(Fuente: <http://agropirque.blogspot.com/2009/04/riego-por-surcos.html>)

1.2.5.3.3. Riego por aspersión

El agua llega a las plantas en forma de "lluvia" localizada. (22)



Figura 5. Riego por aspersión

(Fuente:www.com/2012/03/riego-cultivos_1.jpghttps://bioagricultura.files.wordpress.com/2012/03/riego-cultivos_1.jpg)

1.2.5.3.4. Riego manual

Se realiza con regaderas, cubetas y mangueras. Es útil para extensiones pequeñas que necesitan riego puntual. (23)



Figura 6. Riego Manual

(Fuente:http://es.123rf.com/photo_18802814_riego-de-lechuga-fresca-en-un-invernadero.html)

1.2.5.4. Cosecha

El estado para la cosecha es aquel cuando la cabeza de la lechuga ya es compacta. La lechuga se cosecha cortando toda la planta a ras del suelo quitando las hojas bajas en mal estado y dejando algunas en buen estado que van a proteger la parte comestible. La operación se hace a mano, planta por planta, haciendo un recorte limpio y final en el mismo campo, para no llevar hojarasca innecesaria. (24, 25)

Entre la siembra y la recolección, son necesarios entre dos meses y medio o tres en la mayoría de variedades. Las lechugas, cuando forman el cogollo, deben ser cosechadas rápidamente, pues tienen tendencia a subirse a flor, sobre todo durante el verano. (26)



Figura 7. Cosecha de lechuga

(Fuente: Fotografía tomada por las autoras)

1.2.5.5. Empaque y almacenamiento

El empaque común de lechuga se realiza en canastos grandes que llevan hasta 50 cabezas desde el predio hasta el mercado, en la mayoría de zonas agrícolas de Cuenca.

Otra modalidad de empaque es hacerlo en cajas de cartón o plástico, como sucede con los agricultores grandes que entregan sus productos a diferentes centros de expendio.



La vida post-recolección de las lechugas depende estrechamente de la temperatura, para prolongar sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales. (19)

La lechuga se conserva mejor a temperaturas de 1 a 4°C y condiciones de alta humedad relativa entre 60 y 80% en almacenamiento. (24)

El tiempo de conservación disminuye al aumentar el número de horas que transcurre entre la recolección y el descenso de la temperatura, por lo tanto el pre-enfriamiento es muy importante para el mantenimiento de una calidad óptima si se quiere llegar con un buen producto a los mercados. (19)

1.2.5.6. Distribución

El principal destino de los productos agrícolas de la ciudad de Cuenca según las encuestas realizadas, son los mercados, aunque el porcentaje de agricultores que entregan sus productos a centros de expendio va en aumento, debido a los beneficios que obtienen.

Un pequeño porcentaje de productos son enviados a zonas costeras del país, siendo la principal Machala por su cercanía.

CAPÍTULO 2

2. MICROORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE

2.1. Microorganismos indicadores de higiene

Son aquellos microorganismos cuya presencia en un alimento pone de manifiesto, desde un punto de vista general, que existe algún defecto en su calidad higiénica. (27)

Dentro de estos tenemos a los microorganismos de contaminación fecal que viven normalmente en el intestino del hombre y de los animales y su presencia en un alimento representa un riesgo muy grande para la salud. (28)

Los más comunes son: coliformes totales y coliformes fecales y dentro de estos el principal es *Escherichia coli* como indicador directo de contaminación fecal. (27)

2.1.1. Coliformes totales

La denominación de coliformes se le otorga a todo aquel grupo de bacterias que tienen ciertas características bioquímicas en común y son de mucha importancia como indicadores de contaminación del agua y de los alimentos, sin embargo el nombre de coliformes totales comprenden la totalidad del grupo. (29)

Son bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados capaces de crecer en medios que contienen sales biliares, como Mc Conkey y Bilis rojo violeta entre otros. (30)

Pertencen a la familia *Enterobacteriaceae* y se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, en un período de 24 a 48 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30-37 °C. (30)

Los coliformes totales se encuentran en el intestino del hombre y los animales, pero también en otros ambientes como suelo, plantas, cáscara de huevo, etc. (30)

Las bacterias coliformes son capaces de proliferar en los alimentos, incrementando su número rápidamente, sin necesidad de que haya habido una alta contaminación.

(31)

La presencia y abundancia de coliformes en alimentos generalmente es considerada con un triple significado en microbiología sanitaria:

- a) Como indicadores de contaminación fecal o de malas prácticas de trabajo en el manejo de los alimentos.
- b) Como causa de alteración de los alimentos.
- c) Como agentes etiológicos de enteritis. (31)

2.1.2. Coliformes fecales

Las bacterias coliformes fecales forman parte del total del grupo coliformes, por lo tanto presentan las mismas características anteriores, pero son capaces de reproducirse a temperaturas entre 44 y 44,5 °C. Su termotolerancia se debe a una superior estabilidad de las proteínas al calor y es así que normalmente se encuentran en el tracto entérico de los animales.

En este grupo la principal bacteria que representa la meta de identificación es *Escherichia coli*. (27)

2.1.2.1. *Escherichia coli* (EC)

Es un bacilo corto, Gram negativo, con una sola cadena espiral de ADN, anaerobio facultativo, móvil con flagelos peritricos, tiene información genética en los plásmidos, que son responsables de la producción de toxinas y de la resistencia a los antimicrobianos. (32)

La mayoría de las bacterias pertenecientes a la especie *E. coli*, forman parte de la microflora normal del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente, encontrándose habitualmente en sus heces. (32)



La mayor parte de las cepas son inocuas, pero existen algunas que son patógenas para el hombre. (30)

Tiene el inconveniente de vivir poco tiempo en el ambiente extraentérico, por lo que su presencia en los alimentos indica contaminación fecal reciente. (33)

Se destruye a temperatura de pasteurización y también durante su almacenamiento en frío, sobre todo a temperatura de congelación. (30)

2.1.2.1.1. Enfermedades transmitidas por *Escherichia coli*

Ciertas cepas de *E. coli* pueden producir enteritis o gastroenteritis y se agrupan en seis categorías de acuerdo a su mecanismo patogénico. (34)

Entre estas cepas están: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregante (EAEC) y *E. coli* difusamente adherente (DAEC). (34)

Aunque hay pruebas de laboratorio para identificar casi todas las categorías de *E. coli* productoras de diarrea, en varias situaciones no es necesario ya que muchos de los cuadros son autolimitados y solo se requiere su identificación definitiva en ciertas circunstancias particulares como por ejemplo, diarrea persistente, pacientes inmunodeprimidos o cuando existen brotes. (32)

Pueden ser aisladas de muestras de heces, en agar MacConkey o en agar EMB. Forman colonias circulares, convexas y lisas en bordes bien definidos. Producen de manera típica pruebas positivas de indol (en el 99% de las cepas), son catalasa positiva, oxidasa negativo, rojo metilo positivo y Voges-Proskauer negativa. (32)

2.1.2.1.1.1. *E. coli* enteropatógena (EPEC)

Las cepas EPEC se adhieren a las células epiteliales intestinales en microcolonias localizadas y producen lesiones histopatológicas sin invadir los tejidos. Se



caracteriza por diarrea aguda, acuosa con moco, fiebre de baja intensidad y vómito. Habitualmente ocurre en lactantes y se cree que los adultos según pasa el tiempo van adquiriendo inmunidad frente a este microorganismo, de modo que lo portan sin sufrir enfermedad. La enfermedad por EPEC es más frecuente en países tropicales con medios de vida y prácticas de higiene deficientes. (32, 33, 34)

2.1.2.1.1.2. *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)

Origina el daño mediante su adhesión, colonización y proliferación en el intestino delgado proximal, en donde produce una enterotoxina termolábil que se inactiva a 60°C en 30 min y otra termoestable que resiste los 100°C por 15min. (32)

La enfermedad por ETEC produce la denominada diarrea del viajero y es la causa principal de casos de diarrea en países subdesarrollados, especialmente en niños. (33)

Existen algunas cepas que elaboran solamente toxina termolábil y provocan un síndrome similar al cólera en adultos, en cuanto a que ambos dan lugar a una diarrea profusa y acuosa sin moco ni sangre. (33)

2.1.2.1.1.3. *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)

Tiene predilección por la mucosa colónica, por lo cual coloniza el epitelio de la mucosa y produce necrosis focal con desprendimiento de mucosa y lesiones sangrantes dando lugar a ulceraciones. (32)

La patogenia es casi idéntica a la de las especies de *Shigella*, se presenta principalmente con fiebre, malestar general, tenesmo y dolor tipo cólico, en ocasiones cefalea, evacuaciones inicialmente acuosas y posteriormente con moco, sangre y muchos leucocitos en las heces. (34)

Afecta más a escolares, adolescentes y adultos, raramente a lactantes y su distribución es mundial. (32)

2.1.2.1.1.4. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)

Conocido también como *E. coli* 0157:H7, es considerado como el patógeno más importante dentro de los tipos de *E. coli* enterovirulentos de origen alimentario. ⁽³²⁾

El factor de virulencia es una citotoxina denominada verotoxina, que inhibe la síntesis de proteínas y conduce a la muerte de las células endoteliales, intestinales y renales. Tiene como sitio predilecto el ciego y colon. ⁽³²⁾

El principal reservorio de EHEC es el tracto intestinal del ganado vacuno y la carne contaminada. ⁽³²⁾

La enfermedad por EHEC produce diarrea sanguinolenta con dolor abdominal frecuente. Puede progresar hasta el síndrome urémico hemolítico. ⁽³⁴⁾

2.1.2.1.1.5. *E. coli* enteroagregante (EAEC)

Son bacterias que se adhieren a las células con fimbrias y adhesinas proteicas presentes en la pared bacteriana, en un patrón que se asemeja a una pila de ladrillos, dañando la superficie intestinal. ⁽³²⁾

Entre los síntomas que presenta la enfermedad por EAEC están diarrea acuosa, mucoide, con fiebre leve, poco o ningún vómito y deposiciones sin sangre ni leucocitos fecales. ⁽³⁴⁾

2.1.2.1.1.6. *E. coli* difusamente adherente (DAEC)

Se adhieren a células epiteliales en un patrón difuso. La mayoría de los pacientes tienen diarrea acuosa sin sangre ni leucocitos fecales. Se presenta en niños de edades entre uno y cinco años. ⁽³⁴⁾



2.2. Normativa para la contaminación microbiológica de las lechugas

En Ecuador las normas INEN no establecen criterios microbiológicos para verduras y hortalizas, por lo que para el presente estudio se consideró como normativa a la Recopilación Internacional de Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados de Moragas y col, que dicta entre otros, los parámetros para coliformes totales y *E. coli*. (Anexo 1).

Según esta normativa, los parámetros establecidos de los niveles de aceptabilidad para coliformes y *E. coli* en verduras y hortalizas son de $10^2 - 10^4$ y $10 - 10^2$ UFC/g respectivamente.

Por lo tanto, todos los valores que estén por debajo de estos límites y dentro de los mismos se les consideran aceptables y los que exceden el límite superior, como no aceptables.

CAPÍTULO 3

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño de investigación

Para determinar la presencia de coliformes totales y *E. coli* en muestras de lechuga que se expenden en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca se empleó un estudio de tipo descriptivo longitudinal (prospectivo).

El método de investigación fue el científico y la técnica fue la observacional directa. El instrumento utilizado fue un formulario de recolección de datos (Anexo 2). Las determinaciones se efectuaron mediante estudios microbiológicos realizados en el laboratorio de Microbiología e Higiene de Alimentos de la Universidad de Cuenca.

3.2. Población de estudio

El universo estuvo constituido por los sitios en donde se expende lechuga variedad Iceberg (“criolla”) de cuatro mercados de la ciudad de Cuenca: Mercado 10 de Agosto, Mercado 9 de Octubre, Mercado 3 de Noviembre y Mercado Feria Libre “El Arenal”. Estos mercados se escogieron siguiendo las sugerencias dadas por el Departamento de Higiene y Control de Mercado del Ilustre Municipio de Cuenca.

El mercado Feria Libre “El Arenal” se refiere únicamente a las naves internas, lo cual fue sugerido para el muestreo por el Departamento antes mencionado.

3.3. Muestreo y tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se definió por conveniencia. El muestreo fue de tipo probabilístico aleatorio por estratos.

Se realizaron 3 determinaciones, recolectando 32 muestras por determinación, trabajando con un total de 96 muestras por duplicado (Tabla 1).

El número de muestras en cada mercado fue equivalente a la mitad del número de puestos de expendio de lechuga.

El muestreo se llevó a cabo durante el periodo noviembre 2012 - enero 2013. Se eligieron solamente lechugas de la variedad Iceberg (“criolla”) porque según las encuestas realizadas en las principales zonas de producción y expendio, esta variedad es la más cultivada y consumida, y su identificación se realizó visualmente por el tipo de hoja.

Tabla 1. Muestras analizadas por Mercado.

Mercados	Número total de puestos de expendio de lechuga	Número de muestras por determinación	Número total de muestras en 3 determinaciones
Mercado 10 de Agosto	30	15	45
Mercado 9 de Octubre	20	10	30
Mercado 3 de Noviembre	6	3	9
Mercado Feria Libre “El Arenal” (pabellón interno)	8	4	12
TOTAL	64	32	96

3.4. Toma de muestras

La toma de muestra se realizó en fundas estériles de cierre hermético en el lugar de expendio de la lechuga de cada mercado. Se tomó como unidad primaria de muestreo a una unidad de lechuga. Las muestras fueron etiquetadas y transportadas inmediatamente al laboratorio para su respectivo análisis microbiológico.

3.5. Métodos y técnicas de análisis microbiológico



3.5.1. Recuento de *E. coli* y coliformes en placas Petrifilm™

Las placas Petrifilm™ permiten reducir el tiempo de cultivo, cuentan con un sistema de doble película, con un medio deshidratado y un film superior y además con indicadores impregnados en ambos lados, haciéndolas un medio listo para usar. (35)

Las Placas Petrifilm™ para el recuento de *E. coli*/coliformes contienen Bilis rojo violeta (VRB), un agente gelificante soluble en frío, al igual que un indicador de la actividad de la glucuronidasa y un indicador de tetrazolio en el film superior que se asocia con la enzima presente en la membrana de las bacterias, haciendo más fácil la identificación de colonias. (36)

La mayoría de *E. coli* (aprox. el 97%) producen beta-glucuronidasa, enzima que reacciona con el indicador 5-bromo-4-cloro-3-indol- β -glucurónico (BCIG) presente en la placa Petrifilm™ haciendo que la colonia se torne de color azul a rojo-azul. Mientras que los coliformes que crecen en la placa Petrifilm™ se asocian al indicador de tetrazolio, el cual reacciona con la enzima presente en la membrana bacteriana, liberando iones hidrógeno y reduciéndose a formazan, dando lugar a colonias de color rojo. (36)

El gas atrapado alrededor de las colonias de *E. coli*/coliformes (dentro de aproximadamente el diámetro de una colonia), se da por la fermentación de la lactosa es decir por la producción de ácido y gas, oscureciendo el color del gel por un cambio de pH e indicando colonias confirmadas. (36)

El rango de conteo óptimo para *E. coli*/coliformes es entre 15 y 150 colonias. (36)

3.5.2. Materiales y medios de cultivo (Tabla 2). (35)

Tabla 2. Materiales y medios de cultivo.

Materiales	Medios de Cultivo
<ul style="list-style-type: none"> • Pipetas • Frascos homogeneizadores • Incubadora • Balanza • Alcohol • Algodón • Agua destilada • Cajas Petri • Bolsas estériles plásticas de cierre hermético • Espátula • Lámparas de Alcohol • Cuchillos 	<ul style="list-style-type: none"> • Placas Petrifilm™ para E. coli/coliformes (EEUU; proveedor: 3M Ecuador; Lote:2014-04 KD) • Agua de peptona al 0.1%

3.5.3. Preparación de la muestra (36)

1. Se procedió al trozado de la muestra con un cuchillo estéril, con eliminación previa de las hojas externas.



2. Se pesó 25g de muestra en cajas petri estériles previamente etiquetadas.



3. Se adicionó la muestra pesada, a 225 ml de agua de peptona al 0.1%.



4. Finalmente se procedió al homogenizado de la muestra con el agua de peptona al 0.1% utilizando una licuadora.



3.5.4. Inoculación e incubación

1. Colocar la placa Petrifilm™ en una superficie plana y nivelada, previamente etiquetada.



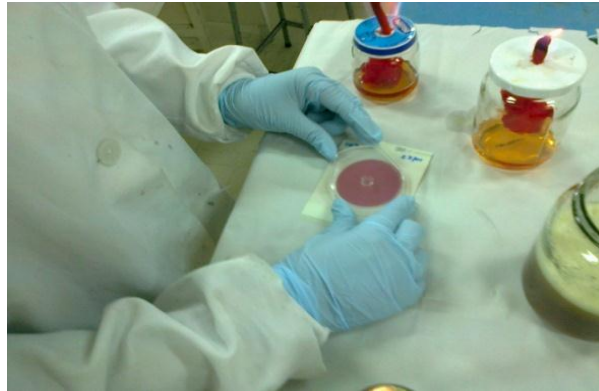
2. Levantar la lámina semitransparente superior de la placa Petrifilm™ y colocar 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior con una pipeta estéril.



3. Tapar cuidadosamente la placa sin presionar hacia abajo.



4. Colocar el dispersor o esparcidor cubriendo totalmente la muestra y presionar suavemente para distribuir el inóculo sobre el área.



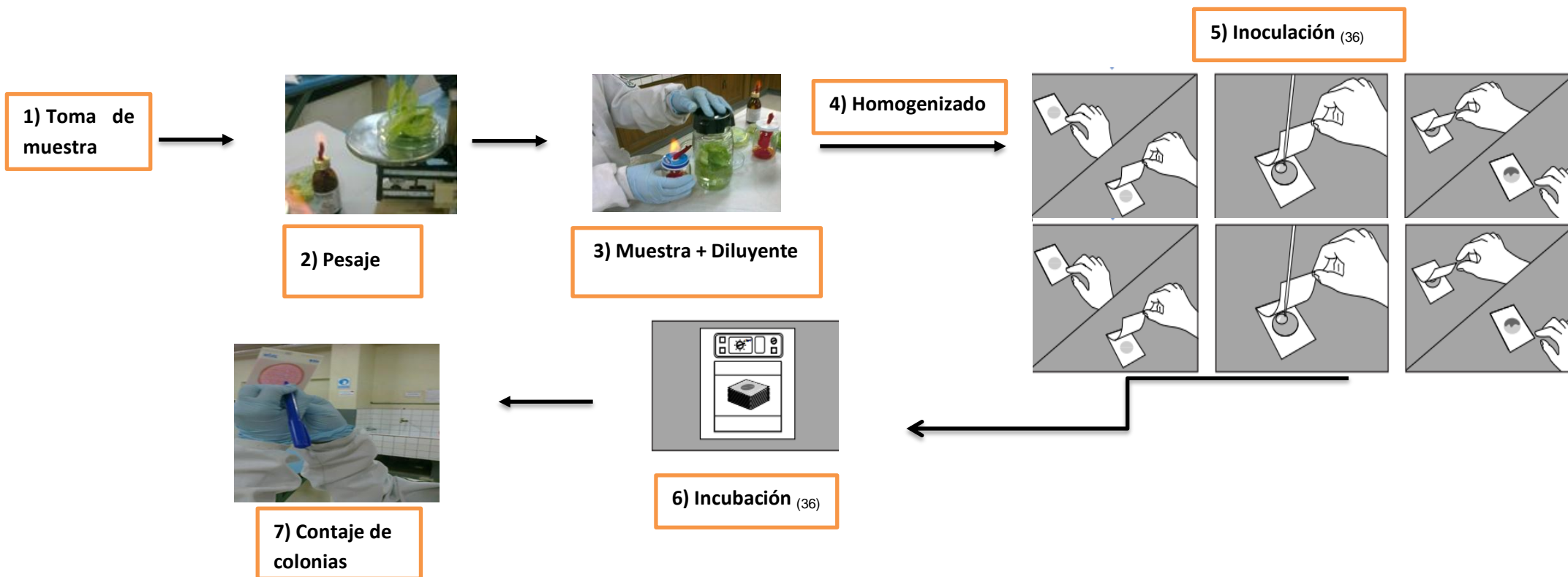
5. Esperar por lo menos 1 minuto para permitir que se solidifique el gel y proceder a la incubación a 37°C por 24 a 48 horas.



6. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, contar las colonias y realizar los cálculos necesarios. (36)



3.6. Flujograma de trabajo

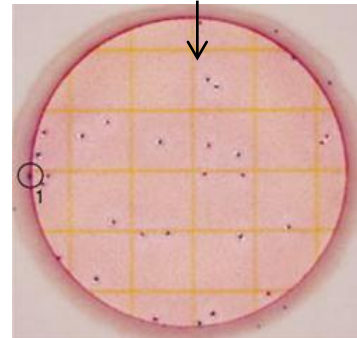
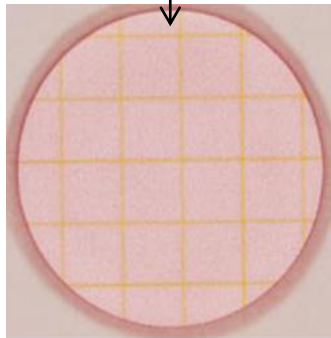
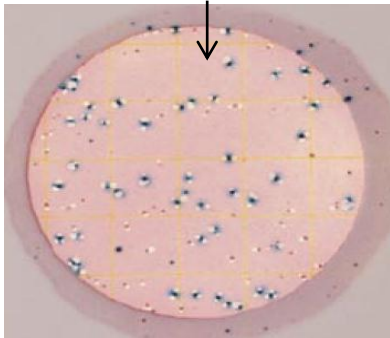


3.7. Interpretación de los Resultados ⁽³⁶⁾

E. coli= colonias azules con gas
Coliformes totales= colonias rojas y azules con gas

No crecimiento= 0

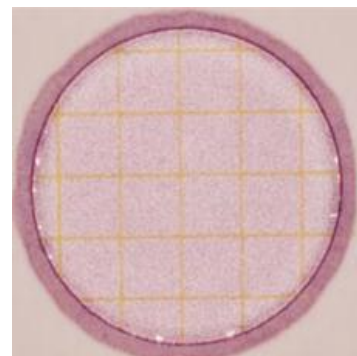
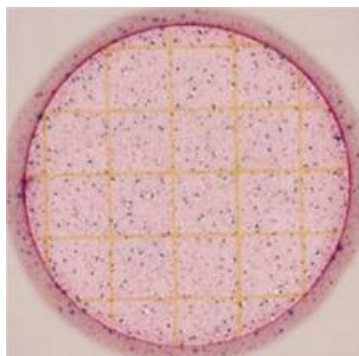
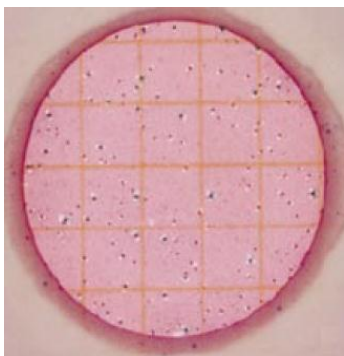
Las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma no se cuentan



En las placas con más de 150 colonias se puede hacer un recuento estimado al contar las colonias de uno o más cuadrados representativas, obtener el promedio y multiplicar por 20 (área circular)

Placas con colonias MNPC presentan muchas colonias pequeñas, burbujas de gas y oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura (recuento aprox. 10^6)

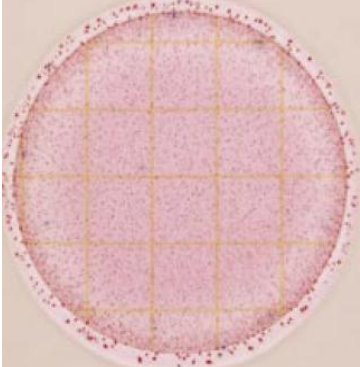
Una alta concentración de *E. coli* puede producir el oscurecimiento del gel a azul púrpura (recuento aprox. 10^8)

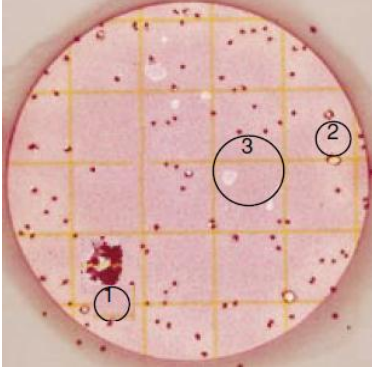


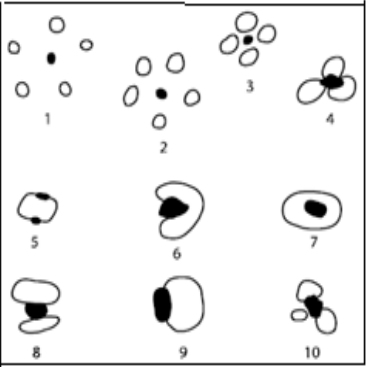
En cifras altas de coliformes, algunos tipos de *E. coli* pueden producir colonias azules menos definitivas sin gas, contar las colonias o zonas azules sin gas como *E. coli*.

La partícula de alimento es de forma irregular sin burbuja de gas (1). El gas puede romper la colonia y ésta delinea la burbuja (2). La inoculación impropia o aire atrapado forman una burbuja (3). Por lo tanto en el caso 1 y 3 no deben ser

Patrones de burbujas asociados con colonias que producen gas. Todas deben ser numeradas.







3.8. Cálculos

Para calcular el número de UFC/g se aplica la siguiente fórmula. (36)

$$N = \sum C \times f = \text{UFC/g}$$

Dónde:

N: Número de UFC por gramo.

\sum **Colonias:** Suma de las colonias contadas en las placas.

f: factor de dilución utilizado.

$$f = 10$$

$$N = \sum C \times 10 = \text{UFC/g}$$



3.9. Análisis estadístico

Se realizaron análisis descriptivos para presentar la información general de los resultados obtenidos. Para establecer la correlación entre la frecuencia de contaminación microbiológica, los mercados y la procedencia de la muestra se utilizó la prueba de χ^2 con un nivel de significancia de $P < 0,05$. El análisis estadístico de los datos se realizó en el programa Stata 10.0 (Stata Corporation, College Station, TX).



CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis microbiológico de las lechugas

Se analizó un total de 96 muestras provenientes de cuatro mercados de la ciudad de Cuenca, distribuidas en 3 determinaciones consecutivas (Tabla 3). En cada mercado, el lugar de procedencia (producción) de las lechugas fue distinto, pudiendo provenir del sector de Sayausí, Balzay o San Joaquín (Tabla 4). El mercado con mayor número de muestras tomadas fue el mercado 10 de Agosto, por tener mayor número de puestos de expendio de lechugas. Los datos de recolección de cada una de las muestras fueron recopilados a través de formularios (Anexo 2).

Además se realizaron encuestas en los sitios de expendio y en las principales zonas de cultivo de lechugas de Cuenca (Anexo 3). A partir de estas encuestas se conoció que existen 3 principales tipos de lechuga que se venden y cultivan, siendo la más demandante en cuanto a producción y consumo la Iceberg (“criolla”). Los principales productores de lechuga de la zona son Sayausí, Balzay y San Joaquín. El principal abono utilizado es el orgánico (abono de gallina), el tipo principal de siembra es el directo y el riego se lo realiza con agua del río Tomebamba en el caso de Balzay y San Joaquín, y con agua proveniente de lagunas del Cajas en la parroquia Sayausí. Los productos suelen ser entregados a los mercados para su expendio pasando uno o dos días. Por otro lado el número estimado de lechugas vendidas en cada puesto de expendio al día es de 3 a 5.

Tabla 3. Número total de muestras de lechuga analizadas de cuatro mercados de Cuenca.

NÚMERO TOTAL DE MUESTRAS ANALIZADAS POR MERCADO		
MERCADO	MUESTRAS	PORCENTAJE
10 de Agosto	45	46.9%
9 de Octubre	30	31.2%
3 de Noviembre	9	9.4%
Mercado Feria Libre "El Arenal" (pabellón interno)	12	12.5%
TOTAL	96	100.0%

Tabla 4. Número total de muestras de lechuga según el lugar de procedencia y el mercado.

Mercados	Lugar de procedencia			Total
	San Joaquín	Balzay	Sayausí	
10 de Agosto	27	9	9	45
9 de Octubre	18	6	6	30
3 de Noviembre	3	0	6	9
Mercado Feria Libre "El Arenal" (pabellón interno)	9	0	3	12
TOTAL	57	15	24	96



4.1.1. Contaminación microbiológica de las lechugas

Los resultados obtenidos del crecimiento de microorganismos indicadores de contaminación fecal en muestras de lechuga se presentan en la Tabla 5 y 6.

Tabla 5. Resultados de la contaminación microbiológica por coliformes totales en las muestras de lechuga recolectadas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca, expresados en UFC/g.

Código de la muestra	Procedencia	Primera determinación			Segunda determinación			Tercera determinación		
		Recuento de coliformes totales en placa 1	Recuento de coliformes totales en placa 2	Promedio de recuento de coliformes totales (UFC/g)	Recuento de coliformes totales en placa 1	Recuento de coliformes totales en placa 2	Promedio de recuento de coliformes totales (UFC/g)	Recuento de coliformes totales en placa 1	Recuento de coliformes totales en placa 2	Promedio de recuento de coliformes totales (UFC/g)
A1	10 de Agosto	601	623	6.1×10^3	301	319	3.1×10^3	374	377	3.8×10^3
A2	10 de Agosto	377	310	3.4×10^3	31	26	2.9×10^2	17	19	1.8×10^2
A3	10 de Agosto	512	333	4.2×10^3	308	291	3.0×10^3	369	368	3.7×10^3
A4	10 de Agosto	924	979	9.5×10^3	208	194	2.0×10^3	554	569	5.6×10^3
A5	10 de Agosto	193	193	1.9×10^3	181	174	1.8×10^3	935	954	9.4×10^3



A6	10 de Agosto	335	342	3.4×10^3	MNPC	MNPC	MNPC	300	298	3.0×10^3
A7	10 de Agosto	140	133	1.4×10^3	247	248	2.5×10^3	287	292	2.9×10^3
A8	10 de Agosto	422	368	3.9×10^3	24	21	2.3×10^2	209	199	2.0×10^3
A9	10 de Agosto	316	401	3.6×10^3	301	293	3.0×10^3	460	435	4.5×10^3
A10	10 de Agosto	501	507	5.0×10^3	574	569	5.7×10^3	673	681	6.8×10^3
A11	10 de Agosto	477	410	4.4×10^3	28	32	3.0×10^2	464	465	4.6×10^3
A12	10 de Agosto	120	153	1.4×10^3	447	459	4.5×10^3	360	349	3.5×10^3
A13	10 de Agosto	314	340	3.3×10^3	146	153	1.5×10^3	640	641	6.4×10^3
A14	10 de Agosto	1	4	2.5×10^1	452	467	4.6×10^3	207	206	2.1×10^3
A15	10 de Agosto	241	355	3.0×10^3	255	261	2.6×10^3	417	406	4.1×10^3
O1	9 de Octubre	400	440	4.2×10^3	284	275	2.8×10^3	283	304	2.9×10^3
O2	9 de Octubre	384	387	3.9×10^3	220	227	2.2×10^3	220	223	2.2×10^3



O3	9 de Octubre	282	369	3.3 x 10 ³	348	344	3.5 x 10 ³	348	351	3.5 x 10 ³
O4	9 de Octubre	240	253	2.5 x 10 ³	207	211	2.1 x 10 ³	207	208	2.1 x 10 ³
O5	9 de Octubre	468	521	4.9 x 10 ³	149	150	1.5 x 10 ³	149	151	1.5 x 10 ³
O6	9 de Octubre	434	387	4.1 x 10 ³	333	329	3.3 x 10 ³	333	336	3.3 x 10 ³
O7	9 de Octubre	500	507	5.0 x 10 ³	276	276	2.8 x 10 ³	276	280	2.8 x 10 ³
O8	9 de Octubre	427	400	4.1 x 10 ³	747	740	7.4 x 10 ³	747	748	7.5 x 10 ³
O9	9 de Octubre	514	527	5.2 x 10 ³	301	291	3.0 x 10 ³	301	302	3.0 x 10 ³
O10	9 de Octubre	413	367	3.9 x 10 ³	321	329	3.3 x 10 ³	321	324	3.2 x 10 ³
N1	3 de Noviembre	568	540	5.5 x 10 ³	220	222	2.2 x 10 ³	33	34	3.4 x 10 ²
N2	3 de Noviembre	293	353	3.2 x 10 ³	128	131	1.3 x 10 ³	495	497	5.0 x 10 ³
N3	3 de Noviembre	233	227	2.3 x 10 ³	800	819	8.1 x 10 ³	609	607	6.1 x 10 ³
F1	Mercado Feria Libre "El Arenal"	436	355	4 x 10 ³	301	298	3.0 x 10 ³	485	484	4.8 x 10 ³



	(pabellón interno)									
F2	Mercado Feria Libre "El Arenal" (pabellón interno)	167	173	1.7 x 10 ³	427	415	4.2 x 10 ³	128	125	1.3 x 10 ³
F3	Mercado Feria Libre "El Arenal" (pabellón interno)	671	603	6.4 x 10 ³	9	13	1.1 x 10 ²	425	426	4.3 x 10 ³
F4	Mercado Feria Libre "El Arenal" (pabellón interno)	260	208	2.3 x 10 ³	422	432	4.3 x 10 ³	578	583	5.8 x 10 ³

MNPC: Muy numeroso para contar

Tabla 6. Resultados de la contaminación microbiológica por *E. coli* en las muestras de lechuga recolectadas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca, expresados en UFC/g.

Código de la muestra	Procedencia	Primera determinación			Segunda determinación			Tercera determinación		
		Recuento de <i>E. coli</i> en placa 1	Recuento de <i>E. coli</i> en placa 2	Promedio de recuento de <i>E. coli</i> (UFC/g)	Recuento de <i>E. coli</i> en placa 1	Recuento de <i>E. coli</i> en placa 2 (UFC/g)	Promedio de recuento de <i>E. coli</i>	Recuento de <i>E. coli</i> en placa 1	Recuento de <i>E. coli</i> en placa 2	Promedio de recuento de <i>E. coli</i> (UFC/g)



A1	10 de Agosto	1	3	2.0×10^1	1	1	1.0×10^1	1	3	2.0×10^1
A2	10 de Agosto	4	3	3.5×10^1	31	26	2.9×10^2	0	0	$<1.0 \times 10^1$
A3	10 de Agosto	6	6	6.0×10^1	1	2	1.5×10^1	2	1	1.5×10^1
A4	10 de Agosto	4	6	5.0×10^1	1	1	1.0×10^1	1	1	1.0×10^1
A5	10 de Agosto	0	0	$<1.0 \times 10^1$	1	1	1.0×10^1	2	4	3.0×10^1
A6	10 de Agosto	8	9	8.5×10^1	MNPC	MNPC	MNPC	0	0	$<1.0 \times 10^1$
A7	10 de Agosto	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	1	0.5×10^1
A8	10 de Agosto	2	1	1.5×10^1	0	0	$<1.0 \times 10^1$	2	0	1.0×10^1
A9	10 de Agosto	3	1	2.0×10^1	1	0	0.5×10^1	13	12	1.3×10^2
A10	10 de Agosto	1	0	0.5×10^1	0	0	$<1.0 \times 10^1$	1	2	1.5×10^1
A11	10 de Agosto	4	3	3.5×10^1	0	0	$<1.0 \times 10^1$	24	27	2.6×10^2
A12	10 de Agosto	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	0	$<1.0 \times 10^1$
A13	10 de Agosto	1	0	0.5×10^1	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	0	$<1.0 \times 10^1$
A14	10 de Agosto	0	0	$<1.0 \times 10^1$	7	5	6.0×10^1	0	0	$<1.0 \times 10^1$
A15	10 de Agosto	1	2	1.5×10^1	2	1	1.5×10^1	4	5	4.5×10^1
O1	9 de Octubre	0	0	$<1.0 \times 10^1$	4	3	3.5×10^1	3	4	3.5×10^1



O2	9 de Octubre	4	2	3.0×10^1	7	8	7.5×10^1	7	8	7.5×10^1
O3	9 de Octubre	2	2	2.0×10^1	1	1	1×10^1	1	2	1.5×10^1
O4	9 de Octubre	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	0	$<1.0 \times 10^1$
O5	9 de Octubre	1	1	1.0×10^1	1	0	0.5×10^1	1	1	1.0×10^1
O6	9 de Octubre	1	0	0.5×10^1	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	1	0.5×10^1
O7	9 de Octubre	0	0	$<1.0 \times 10^1$	9	8	8.5×10^1	9	11	1.0×10^2
O8	9 de Octubre	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	1	0.5×10^1	0	0	$<1.0 \times 10^1$
O9	9 de Octubre	1	0	0.5×10^1	1	1	1×10^1	1	0	0.5×10^1
O10	9 de Octubre	0	0	$<1.0 \times 10^1$	1	1	1×10^1	1	0	0.5×10^1
N1	3 de Noviembre	1	0	0.5×10^1	0	0	$<1.0 \times 10^1$	1	0	0.5×10^1
N2	3 de Noviembre	0	0	$<1.0 \times 10^1$	1	1	1×10^1	2	2	2.0×10^1
N3	3 de Noviembre	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	0	$<1.0 \times 10^1$	2	1	1.5×10^1
F1	Mercado Feria Libre "El Arenal" (pabellón interno)	3	2	2.5×10^1	1	1	1×10^1	92	88	9.0×10^2
F2	Mercado Feria Libre "El	0	0	$<1.0 \times 10^1$	0	0	$<1.0 \times 10^1$	86	85	8.6×10^2



	Arenal” (pabellón interno)									
F3	Mercado Feria Libre “El Arenal” (pabellón interno)	4	3	3.5 x 10 ¹	3	4	3.5 x 10 ¹	5	3	4.0 x 10 ¹
F4	Mercado Feria Libre “El Arenal” (pabellón interno)	1	0	0.5 x 10 ¹	2	1	1.5 x 10 ¹	5	2	3.5 x 10 ¹

MNPC: Muy numeroso para contar



Según las normativas de la Recopilación Internacional de Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados de Pablo Moragas y col, los parámetros establecidos de los niveles de aceptabilidad para coliformes y *E. coli* en verduras y hortalizas son de $10^2 - 10^4$ y $10 - 10^2$ UFC/g respectivamente.

Siguiendo los parámetros de aceptación de los niveles de contaminación microbiológica de las lechugas, en los cuatro mercados de la ciudad de Cuenca, se observó que el 100% de las muestras analizadas presentaron algún grado de contaminación por coliformes totales; sin embargo el 99% estuvo dentro de los límites aceptables y el 1% sobrepasó tales límites.

Para el caso de *E. coli*, el 31,25% no presentó crecimiento y solo el 6,25% de las muestras presentó crecimiento sobre los límites establecidos, considerándose como un grado de contaminación no aceptable.

4.1.2. Correlación entre frecuencia de contaminación por coliformes totales y *E. coli* de las lechugas con punto de expendio (mercado) y su procedencia (lugar de producción).

La frecuencia de contaminación de coliformes totales y *E. coli* según el mercado se presentan en la Tabla 7. La frecuencia de contaminación de coliformes totales y *E. coli* según el lugar de procedencia o producción se presentan en la Tabla 8. Además el grado de contaminación se categorizó según las normativas de la Recopilación Internacional de Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados de Pablo Moragas y col, en el cual los parámetros establecidos de los niveles de aceptabilidad para coliformes y *E. coli* en verduras y hortalizas son de $10^2 - 10^4$ y $10 - 10^2$ UFC/g respectivamente.

Tabla 7. Grado y frecuencia de contaminación de coliformes totales y *E. coli* según el punto de expendio (mercado), expresado en porcentaje (%).

Indicadores	Grado de contaminación (UFC/g)	Frecuencia de contaminación (%)	Mercado			
			10 de Agosto	9 de Octubre	3 de Noviembre	Feria Libre "El Arenal"
Coliformes totales	Negativo	0	0	0	0	0
	$< 10^4$	99	97.8	100	100	100
	$> 10^4$	1	2.2	0	0	0
<i>E. coli</i>	Negativo	31.25	33.3	30	44.4	16.7
	$< 10^2$	62.5	57.8	70	55.6	66.7
	$> 10^2$	6.25	8.9	0	0	16.7

Tabla 8. Grado y frecuencia de contaminación de coliformes totales y *E. coli* según procedencia (lugar de producción) expresado en porcentaje (%).

	Grado de contaminación (UFC/g)	Frecuencia de contaminación (%)	Procedencia		
			San Joaquín	Balzay	Sayausí
Coliformes totales	Negativo	0	0	0	0
	$< 10^4$	99	98.3	100	100
	$> 10^4$	1	1.7	0	0
<i>E. coli</i>	Negativo	31.25	29.8	40	29.2
	$< 10^2$	62.5	63.2	46.7	70.8
	$> 10^2$	6.25	7	13.3	0

La correlación entre la frecuencia de contaminación, el tipo de mercado y lugar de procedencia se evaluó a través de la prueba de χ^2 . No se encontró ninguna relación



significativa entre la contaminación por CT y el mercado ($P=0.162$) ni el lugar de producción ($P=0.329$). De manera similar, no se encontró ninguna relación significativa entre la contaminación por EC y el mercado ($P=0.467$) ni el lugar de producción ($P=0.708$).

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. A partir de los análisis realizados se encontró que mayoritariamente el grado de contaminación de las lechugas fue tolerable, pues solo el 1% de las muestras estuvo contaminada con niveles no aceptables de coliformes totales ($>10^4$ UFC/g) y el 6,25% con niveles no aceptables de *E. coli* ($>10^2$ UFC/g).
2. De acuerdo al análisis estadístico no se encontró ninguna relación significativa entre el punto de expendio (mercado) y el lugar de producción con el grado de contaminación de las lechugas.
3. A pesar de la baja prevalencia de contaminación no aceptable, es necesario recalcar la alta prevalencia de contaminación considerada como “aceptable” de coliformes totales (99%) y *E. coli* (93.75%), contaminación que si no es controlada a través de buenas prácticas de higiene durante toda su cadena alimentaria, estos microorganismos podrían proliferar rápidamente hacia niveles no tolerables.



Recomendaciones

1. Realizar los estudios bacteriológicos y parasitológicos de la lechuga para junto con el presente estudio, evaluar integralmente la calidad microbiológica de esta hortaliza de consumo directo, en la ciudad de Cuenca.
2. Aplicar este estudio a otros vegetales frescos especialmente porque las normas INEN no contemplan criterios microbiológicos para este tipo de alimentos.
3. Al Departamento de Higiene y Control de Mercados del Ilustre Municipio de Cuenca se recomienda llevar a cabo una vigilancia estricta de las prácticas agrícolas, así como de productores y expendedores para prevenir y controlar posibles brotes de enfermedad por consumo de alimentos frescos contaminados.



BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Vallejo Cabrera, F., & Estrada Salazar, E. (2004). *Producción de hortalizas de clima cálido*. Colombia.
- 2.- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC). (2011). *Diez principales causas de mortalidad y morbilidad en el Ecuador*. Recuperado el 08 de Marzo, 2013, de http://www.inec.gob.ec/estadisticas_sociales/.
- 3.- Rodríguez Jerez, J. (2013). *La inocuidad de las frutas y hortalizas frescas*. Recuperado el 22 de Febrero, 2013, de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y consumo/2004/07/07/13250.php>.
- 4.- FAO. (2004). *Mejoramiento de la calidad e inocuidad de las frutas y Hortalizas*. Roma-Italia. Recuperado el 26 de Febrero, 2013, de http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/launch.html.
- 5.- López Camelo, A. (2003). *Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas: del campo al mercado* (pp. 82-93). Roma.
- 6.- FONAG. (2010). *Manual para elaborar y aplicar abonos y plaguicidas orgánicos*. Ecuador. Recuperado el 20 de Junio, 2013, de http://www.fonag.org.ec/doc_pdf/abonos_organicos.pdf.
- 7.- Bejarano, N.V., & Carrillo, L. *Manual de Microbiología de los Alimentos: Frutas y Hortalizas*. Recuperado el 20 de Junio, 2013, de <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/7%20frutas%20y%20hortalizas.pdf>.
- 8.- Hernández Rodríguez, M., & Sastre Gallego, A. (1999). *Tratado de Nutrición*. España: Edición Díaz de Santos.
- 9.- Gil Hernández, A. (2010). *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos* (2ª ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- 10.- University of Maryland. (2002). *Mejorando La Seguridad Y Calidad De Frutas Y Hortalizas Frescas: Manual De Formación Para Instructores*. Recuperado el 22 de

Junio, 2013, de

http://www.fao.org/ag/agn/cdfruits_es/others/docs/maryland_manual.pdf.

11.- Angulo Muñoz, C. (2008). *Producción de lechuga* (1ªed., pp. 25-32). Lima: Editorial Satea.

12.- Agrotierra. (2011). *Lechuga Iceberg*. Recuperado el 21 de Junio, 2013, de <http://www.agrotierra.com/blog/actualidad/la-crujiente-lechuga-iceberg/61571/>

13.- Molina Pineda, N. (2011). *Características de la Lechuga: Composición Nutricional*. Recuperado el 03 de Marzo, 2013, de <http://www.emagister.com/curso-comportamiento-agronomico-lechuga-intibuca/caracteristicas-lechuga>

14.- Gimferrer Morató, N. (2012). *El agua en los alimentos*. Recuperado el 21 de Junio, 2013, de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2008/03/26/175613.php>

15.- Iberfluid Instruments. *Medición de la actividad del agua: concepto de la actividad del agua*. Recuperado el 21 de Junio, 2013, de www.iberfluid.com/.../1458_articles_786_Actividad%20del%20agua.pdf

16.- Acosta, R.S. (2008). *Saneamiento ambiental e higiene de los alimentos* (1ª ed.). Argentina: Editorial Brujas.

17.- Giacconi, V., & Escaff, M. (1998). *Cultivo de Hortalizas*. Chile: Editorial Universitaria.

18.- Biblioteca Digital de la Universidad de Chile. *Ventajas del Salitre*. Recuperado el 22 de Junio, 2013, de http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/gonzalez01/capitulo6/12a.html

19.- FAO. (2006). *Lechuga*. Recuperado el 21 de Junio, 2013, de

http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/LECHUGA.HTM



- 20.- Infoagro. *El cultivo de la lechuga*. Recuperado el 27 de Febrero, 2013, de <http://www.infoagro.com/hortalizas/lechuga.htm>.
- 21.- *Riego por Goteo*. Recuperado el 21 de Junio, 2013, de [http://www.ecured.cu/index.php/Riego por Goteo](http://www.ecured.cu/index.php/Riego_por_Goteo)
- 22.- Wikipedia. (2013). *Riego por aspersión*. Recuperado el 21 de Junio, 2013, de [http://es.wikipedia.org/wiki/Riego por aspersi%C3%B3n](http://es.wikipedia.org/wiki/Riego_por_aspersi%C3%B3n)
- 23.- *Riego Manual*. Recuperado el 21 de Junio, 2013, de <http://vivienda.ine.gob.mx/index.php/agua/usos-en-el-hogar/en-el-jardin-y-areas-verdes>
- 24.- Martínez, A., Lee, R., Chaparro, D., & Páramo, S. (2003). *Postcosecha y Mercadeo de hortalizas de clima frío bajo prácticas de producción sostenible* (1ª ed.). Colombia.
- 25.- Casseres, E. (1981). *Producción de Hortalizas* (3ªed., pp. 189-192). Costa Rica: Editorial IICA.
- 26.- Noguera García, V. (2004). *Huerto en el jardín*.
- 27.- Hernández Chavarría, F. (2002). *Fundamentos de Epidemiología: El Arte Detectivesco de la Investigación Epidemiológica* (1ª ed.). Costa Rica.
- 28.- García, M., Colom, M., & Jaramillo, Juan. (2003). *Manual Del Auxiliar de Laboratorio* (2ª ed.). España: MAD.
- 29.- Micro de los Alimentos (2008). *Coliformes Totales y Fecales* .Recuperado el 22 de Junio, 2013, de <http://mikroalimentos.blogspot.com/2008/10/coliformes-totales-y-fecales.html>
- 30.- Pascual, M., & Calderón, V. (1999). *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas* (2ª ed., pp. 17-21). España: Ediciones Díaz de Santos.
- 31.- Alarcón, L. (2001). *Manual de prácticas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos* (1ª ed.). México.



- 32.- Romero Cabello, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias* (3ª ed., pp. 753-766). México: Editorial Médica Panamericana.
- 33.- Pascual, M. (2005). *Enfermedades de origen alimentario: Su prevención*. España: Ediciones Díaz Santos.
- 34.- Koneman, E., & Allen, S. (2008). *Diagnostico Microbiológico* (6ª ed., pp.227-238). Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- 35.- Astudillo Machuca, A. (2007). *Microbiología e Higiene de los Alimentos*. Ecuador.
- 36.- 3M. *Guía de Interpretación de Placas Petrifilm™*. México. Recuperado el 05 de Marzo, 2013, de http://www.distribucionesbiotecnologicas.com.mx/files/guia_petrifilm_ecoli_coliformes.pdf



Anexo 1: Recopilación Internacional de Normas Microbiológicas de los Alimentos de Pablo Moragas y col, basados en los estudios de “Microbiología Alimentaria” de Pascual y col.

RECOPIACIÓN

NORMAS MICROBIOLÓGICAS DE LOS ALIMENTOS Y ASIMILADOS (superficies, aguas diferentes de consumo, aire, subproductos)

OTROS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE INTERÉS SANITARIO

Actualizada a 1 enero de 2013

MORAGAS ENCUESTRA, MANUEL (SUBAREA DE SANIDAD ALIMENTARIA Y CONSUMO. DEL AYUNTAMIENTO DE BILBAO. C/ Ugalde 7. 1ª Planta 48012 BILBAO

DE PABLO BUSTO, Mª BEGOÑA (SUBDIRECCIÓN DE SALUD PÚBLICA, DIRECCIÓN TERRITORIAL DE BIZKAIA. DPTO. DE SANIDAD. GOBIERNO VASCO. C/ A. Rekalde 39 A. 48008 BILBAO

B. De Pablo M. Moragas

Recopilación normas microbiológicas y parámetros físico-químicos relacionados

Enero 2013 Página 2 de 50



INTRODUCCION

Si bien el Real Decreto 135/2010 B.O.E. 25/02/2010 ha derogado gran parte de la reglamentaciones que establecían criterios microbiológicos a nivel nacional, hemos creído conveniente mantenerlos en esta recopilación con el valor de servir únicamente "como referencia".
 Deseamos que esta recopilación siga siguiendo de utilidad para los técnicos que desarrollamos nuestro trabajo en el ámbito de la Higiene Alimentaria.

Ediciones:

Enero	1998	Enero	2003	Enero	2005	Enero	2007	Mayo	2010
Noviembre	2000	Marzo	2003	Enero	2006	Enero	2008	Enero	2012
Enero	2002	Enero	2004	Octubre	2006	Marzo	2010	Enero	2013

Ultimas modificaciones

Alimento	Fecha publicación		Legislación o recomendación
Canales y carnes frescas de aves de corral (pollos y pavos)	Octubre	2011	Reglamento (UE) 1086/2011, D.O.U.E 28/10/2011
Aguas preparadas	Enero	2011	Real Decreto 1799/2010 B.O.E 20 enero 2011, por el que regula el proceso de elaboración y comercialización de aguas preparadas envasadas para el consumo humano.
Aguas minerales naturales y aguas de manantial envasadas.	Enero	2011	Real Decreto 1798/2010 B.O.E. 19 enero 2011 que regula la explotación y comercialización de aguas minerales naturales y aguas de manantial envasadas.
Modifica los criterios microbiológicos de enterobacteriaceas en la leche pasteurizada y otros productos lácteos líquidos pasteurizados (recuento de enterobacterias <5 es sustituido por recuento de enterobacterias <10). Incluye la "sal de cocina" en la lista alimentos en los que no es útil realizar pruebas regulares de Listeria monocytogenes. Carne picada, preparados de carne y productos cárnicos a base de carne de ave consumidos cocinados (ausencia de Salmonella en 10 g es sustituido por ausencia de Salmonella 25 g). Enterobacter sakazakii pasa a denominarse taxonómicamente Cronobacter spp.	Abril	2010	Reglamento (UE) 365/2010, D.O.U.E 28 de abril de 2010, por el que se modifica el Reglamento (CE) 2073/2005.
Deroga 25 criterios microbiológicos regulados por disposiciones de carácter nacional.	Febrero	2010	Real Decreto 135/2010 B.O.E. 25/02/2010
Superficies manipulación de alimentos, criterios microbiológicos de verificación después de la limpieza.		2010	Criterios recogidos en la publicación del "Plan genérico de autocontrol de Hostelería" del Departamento de Sanidad y Consumo del Gobierno Vasco 2010
Aguas de piscina de uso colectivo	Julio	2009	Reglamento Sanitario Piscinas de uso colectivo Cantabria Decreto 56/2009 BOC 10/07/2009 que modifica el anterior Decreto 72/2008



INDICE DE MATERIAS
(Fecha revisión: Enero 2013)

Normas microbiológicas

	<i>Página</i>		<i>Página</i>
ALIMENTOS: CRITERIOS LISTERIA MONOCYTOGENES.....	5	HORCHATAS.....	25
ACEITES.....	6	JARABES.....	25
ACEITUNAS DE MESA.....	6	LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS.....	26
AGUAS DE BEBIDAS ENVASADAS Y DE CONSUMO HUMANO.....	6	MAYONESA elaborada en establecimientos de hostelería.....	31
AZUCAR.....	8	MIEL.....	31
BEBIDAS REFRESCANTES.....	8	OVOPRODUCTOS.....	31
BEBIDAS ALCOHOLICAS.....	8	PAN Y PANES ESPECIALES.....	32
CACAO, CHOCOLATE Y DERIVADOS.....	8	PASTAS ALIMENTICIAS.....	32
CAFÉ.....	8	PASTELERIA bollería, confitería y repostería.....	32
CALDOS, CONSOMES, SOPAS Y CREMAS.....	9	PATATAS FRITAS Y PRODUCTOS DE APERITIVO.....	33
CARAMELOS CHICLES CONFITES Y GOLOSINAS.....	9	PESCADO, PRODUCTOS DE LA PESCA, MOLUSCOS, ETC.....	33
CARNES, CANALES Y PRODUCTOS CARNICOS.....	10	SAL ENVASADA Y SALMUERA.....	37
CEREALES, cereales en copos y expandidos.....	15	SALSAS DE MESA.....	37
CERVEZA.....	15	SEMILLAS GERMINADAS.....	37
COMIDAS PREPARADAS.....	15	TE Y DERIVADOS.....	38
CONDIMENTOS Y ESPECIAS.....	17	TURRONES Y MAZAPANES.....	38
CONFITURAS Y MERMELADAS.....	17	VINAGRES.....	38
CONSERVAS EN GENERAL Y SEMICONSERVAS.....	17	<i>SUPERFICIES DE TRABAJO Y DE MANIPULACIÓN DE</i>	
CUAJO Y ENZIMAS COAGULANTES DE LA LECHE.....	18	<i>ALIMENTOS. REFERENCIAS DE CONTROL EN MATADEROS.....</i>	39
DIETETICOS Y PREPARADOS PARA LACTANTES Y DE CONTINUACIÓN.....	19	<i>AIRE EN ESTABLECIMIENTOS ALIMENTARIOS.....</i>	39
ESPECIES VEGETALES, INFUSIONES Y ESPECIAS.....	20	<i>MICOTOXINAS.....</i>	40
FRUTAS, VERDURAS, HORTALIZAS Y ZUMOS DE FRUTAS Y HORTALIZAS....	20	<i>AGUAS DE BAÑO (PLAYAS)</i>	45
GALLETAS SIMPLES Y RELLENAS.....	21	<i>AGUAS DE PISCINAS.....</i>	45
GELATINAS COMESTIBLES Y COLÁGENO.....	21, 22	<i>AGUAS DE TORRES DE REFRIGERACION.....</i>	45
GRASAS COMESTIBLES (MARGARINAS, MINARINAS, ETC).....	22	<i>AGUAS CONTINENTALES Y COSTERAS Y DE TRANSICION.....</i>	46
HARINAS Y SEMOLAS.....	22	<i>SUBPRODUCTOS ANIMALES NO DESTINADOS AL CONSUMO</i>	
HIELO ALIMENTICIO.....	22	<i>HUMANO.....</i>	47
HELADOS Y MEZCLAS CONGELADAS PARA ENVASAR.....	23	<i>ACLARACIONES Y DEFINICIONES.....</i>	48
		<i>COMENTARIOS A LAS PRUEBAS DISPUESTAS EN EL</i>	
		<i>REGLAMENTO CE 1441/2007.....</i>	49



Alimentos	Legislación o Recomendación	Aerobios Mesófilos	Enterobacterias Coliformes	E. coli	S. aureus	Salmonella Shigella Mohos Listeria m. y otros	Otros límites. Comentarios.
Preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de seis meses.	Reglamento 2073/2005 D.O.U.E. 22/12/2005 modificado por el Reglamento CE 1441/2007 D.O.U.E. 07/12/2007 y Reglamento 365/2010 D.O.U.E. 29/04/2010		Enterobacterias n=10 c=0 Ausencia /10 g Cronobacter spp. (Enterobacter sakazakii) n=30 c=0 Ausencia /10 g			Salmonella n=30 c=0 Ausencia /25g Listeria monocytogenes n=10 c=0 Ausencia/25 g Presunto Bacillus cereus n=5 c=1 m=50ufc/g M=500 ufc/g	Enterobacterias. Fase de aplicación del criterio final del proceso de fabricación. Si se detectan enterobacterias en cualquiera de las muestras de tal planta, entonces se realizarán análisis en busca de <i>E. Sakazakii</i> . Salmonella. Fase de aplicación del criterio: productos comercializados durante su vida útil. Enterobacter sakazakii: Fase de aplicación del criterio: productos comercializados durante su vida útil. Presunto Bacillus cereus. Fase de aplicación del criterio final del proceso de fabricación. Listeria monocytogenes: Fase de aplicación del criterio: productos comercializados durante su vida útil. En circunstancias normales no es útil realizar pruebas regulares sobre Listeria a productos con tratamiento térmico sin posibilidad de recontaminación. Véase la página 5.
Especies vegetales e infusiones uso alimentario	RD 3176/83 BOE 28/12/83						El Real Decreto no recoge normas microbiológicas.
	Reglamentos CE 2073/2005 y 1441/2007					Listeria monocytogenes n=5 c=0 100 ufc/g	Fase de aplicación del criterio, durante su vida útil. Se ha estimado que no pueden favorecer el crecimiento de Listeria por su aw ≤0.92. Véase la página 5.
Espicias (Capsicum spp, Nuez moscada, otras especias y hierbas)	Recomendación Comisión UE 2004/24/CE		Enterobacterias n=5 c= 1 m=10 M=100			Salmonella n=5 c=0 Ausencia / 25 g.	Clostridium perfringens n=5 c=1 m=100 M=1.000 Bacillus cereus n=5 c=1 m= 1.000 M= 10.000 Criterios de control del programa de Control Oficial de productos alimenticios para el 2004 (Recomendación de la Comisión 2004/24/C; D.O.U.E. 10/1/04).
Frutas y hortalizas troceadas (listas para el consumo).	Reglamento CE 2073/2005 modificado por el Reglamento 1441/2007 D.O.U.E. 07/12/2007			n=5, c=2 m=100 M=10 ³		Salmonella n=5 c=0 Aus./ 25 g	E.coli se aplica en los productos durante su proceso de elaboración. Salmonella se aplica en los productos comercializados durante su vida útil.
						Listeria monocytogenes n=5 c=0 Aus/25 g	Fase de aplicación del criterio: antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido. Véase la página 5.
						Listeria monocytogenes n=5 c=0 100 ufc/g	Fase de aplicación del criterio: Productos comercializados durante su vida útil. Véase criterio en la página 5.
Zumos de frutas y hortalizas no pasteurizados (listos para el consumo).	Reglamento 2073/2005 D.O.U.E. 22/12/2005 modificado por el Reglamento CE 1441/2007 D.O.U.E. 07/12/2007			n=5, c=2 m=100 M=10 ³		Salmonella n=5 c=0 Aus. / 25 g	El Real Decreto sobre zumos de frutas R.D .1650/91 B.O.E 8/11/91 no recoge normas microbiológicas. E.coli: fase de aplicación del criterio en el proceso de elaboración.
						Listeria monocytogenes n=5 c=0 Aus/25 g	De aplicación sólo si puede favorecer el crecimiento de Listeria monocytogenes:y en la fase anterior a la que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido. Considerar que no puede favorecer el crecimiento si el pH ≤ 4,4 o vida útil < 5 días. Véase la página 5.
						Listeria monocytogenes n=5 c=0 100 u.f.c/g	Fase de aplicación del criterio: productos comercializados durante su vida útil. Véase criterio en la página 5.



Alimentos	Legislación o Recomendación	Aerobios mesófilos	Enterobacterias Coliformes	E. coli	S. aureus	Salmonella Shigella Mohos Listeria monocytogenes	Otros límites. Comentarios.
Frutas, verduras y hortalizas congeladas	Rivas Palas y cols. <i>Alimentaria</i> 1984, n° 149	5x10 ⁵ ufc/ g	Coliformes: 10 ² - 3 x10 ² u.f.c./ g;	10 ufc/ g	10 ² ufc/ g	Salmonella: Aus. /25 g Mohos /Levaduras 10 ⁷ u.f.c./ g	Sulfito reductores: 10 u.f.c/ g Aerobios psicrófilos: 5x10 ⁵ u.f.c./ g
Verduras y hortalizas	Rosario Pascual "Microbiología Alimentaria", 92	10 ² -10 ⁵ ufc/g	Coliformes: 10 ² -10 ⁴ ufc/g	10-10 ² ufc/g		Salmonella Aus. /25 g Mohos /Levaduras 10-10 ⁴ ufc/g Mohos: cepas no toxigénicas	La autora recomienda aplicar el mismo criterio que para cereales, con fin orientativo. Nota: El programa de control oficial de productos alimenticios 2002/C 216/05 (D.O.C.E. 12/09/02) señala como microorganismos de interés a Salmonella spp., E coli O157: H7 y Listeria monocytogenes.
Galletas simples (véase pasteles en página 32)	Como referencia RD 1124/82 BOE 4/6/82	10 ³ ufc/ g	Enterobacterias: Aus. / g	Aus. / g	Aus. / g	Salmonella: Aus. /25 g Mohos / Levaduras: 2x10 ² ufc/g.	Bacillus cereus: ausencia/ g. Además las galletas estarán libres de parásitos en cualquiera de sus formas, de microorganismos patógenos o sus toxinas. Humedad máxima galletas simples 6 %, Bizcochos máx. 10%. Los criterios microbiológicos han sido derogados por R.D. 135/2010 B.O.E. 25/02/2010
	Reglamentos CE 2073/2005 y 1441/2007					<i>Listeria monocytogenes</i> n=5 c=0 100 u.f.c/g	Fase aplicación del criterio: productos comercializados durante su vida útil.. El reglamento las incluye en la relación de alimentos listos para el consumo cuya búsqueda regular no es de utilidad. Véase la página 5.
Galletas rellenas o cubiertas (véase pasteles en página 32)	Como referencia RD 1124/82 BOE 4/6/82	10 ⁴ ufc/ g	Enterobacterias: 10 ufc/g	Aus. / g	Aus. / g	Salmonella Aus. /25 g Mohos / Levaduras 2x10 ² ufc/ g.	<i>Bacillus cereus</i> : ausencia / g. Además las galletas estarán libres de parásitos en cualquiera de sus formas, de microorganismos patógenos o sus toxinas. Humedad máxima galletas rellenas o cubiertas 10 %, Bizcochos: máx. 10% Los criterios microbiológicos han sido derogados por R.D. 135/2010 B.O.E. 25/02/2010
	Reglamento 2073/2005 modificado por el 1441/2007 D.O.U.E. 07/12/2007					<i>Listeria monocytogenes</i> n=5 c=0 Aus/25 g	De aplicación sólo si pueden favorecer el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> y en la fase anterior a la que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido. Considerar que no puede favorecer el crecimiento los alimentos con a _w ≤ 0.92. Véase la página 5.
						<i>Listeria monocytogenes</i> n=5 c=0 100 ufc/g	Fase de aplicación del criterio: productos comercializados durante su vida útil. Véase página 5.
Gelatinas comestibles	Como referencia O.12/3/84 BOE 17/3/84	5x10 ³ ufc/ g	Enterobacterias: Aus./ g				<i>Clostridium perfringens</i> : ausencia en gramo. Humedad entre el 8-13% y pH: 4-9 Los criterios microbiológicos de la Orden del 12/03/1984 han sido derogados por R.D. 135/2010 B.O.E. 25/02/2010.
	Decisión Comisión DOCE 12/11/99	10 ³ ufc / g	Coliformes: a 30° C: 0 ufc/ g a 45° C: 0 ufc/10 g		0 ufc/ g		Anaerobios sulfito reductores (sin gas): 10 u.f.c/g <i>Clostridium perfringens</i> : 0 u.f.c./g
	Reglamento 2073/2005 modificado por Reglamento CE 1441/2007 D.O.U.E. 07/12/2007					Salmonella n=5 c=0 Ausencia en 25 g.	Salmonella de aplicación en la fase de productos comercializados durante su vida útil.
						<i>Listeria monocytogenes</i> n=5 c=0 Aus./ 25 g	De aplicación si es lista para el consumo y que puede favorecer el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> se aplica en la fase anterior a la que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido. Véase la página 5.
					<i>Listeria monocytogenes</i> n=5 c=0 100 u.f.c/g	Fase de aplicación del criterio: productos comercializados durante su vida útil. Véase criterio en la página 5.	



Anexo 2: Datos de recolección de las tres determinaciones de coliformes totales y *E. coli* en las muestras de lechuga, expendidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca.

#	Mercado	Fecha de toma de muestra	Hora de toma de muestra	Código de puesto del mercado	Peso muestra (g)	Hora siembra	Fecha de lectura de coliformes	Fecha de lectura <i>E. coli</i>
PRIMERA DETERMINACIÓN								
1	10 de Agosto	26/11/2012	10h00	410	136	11h30	27/11/2012	28/11/2012
2	10 de Agosto	26/11/2012	10h00	433	>200	11h30	27/11/2012	28/11/2012
3	10 de Agosto	26/11/2012	10h00	449	>200	11h30	27/11/2012	28/11/2012
4	10 de Agosto	26/11/2012	10h00	505	>200	11h30	27/11/2012	28/11/2012
5	10 de Agosto	28/11/2012	10h30	457	130	12h00	29/11/2012	30/11/2012
6	10 de Agosto	28/11/2012	10h30	448	198	12h00	29/11/2012	30/11/2012
7	10 de Agosto	28/11/2012	10h30	450	>200	12h00	29/11/2012	30/11/2012
8	10 de Agosto	28/11/2012	10h30	473	>200	12h00	29/11/2012	30/11/2012
9	10 de Agosto	29/11/2012	10h00	484	>200	11h30	30/11/2012	01/12/2012
10	10 de Agosto	29/11/2012	10h00	412	>200	11h30	30/11/2012	01/12/2012



11	10 de Agosto	29/11/2012	10h00	411	>200	11h30	30/11/2012	01/12/2012
12	10 de Agosto	29/11/2012	10h00	398	>200	11h30	30/11/2012	01/12/2012
13	10 de Agosto	03/12/2012	10h30	399	>200	11h30	04/12/2012	05/12/2012
14	10 de Agosto	03/12/2012	10h30	445	>200	11h30	04/12/2012	05/12/2012
15	10 de Agosto	03/12/2012	10h30	491	136	11h30	04/12/2012	05/12/2012
16	9 de Octubre	04/12/2012	10h00	101	>200	11h30	05/12/2012	06/12/2012
17	9 de Octubre	04/12/2012	10h00	107	>200	11h30	05/12/2012	06/12/2012
18	9 de Octubre	04/12/2012	10h00	125	>200	11h30	05/12/2012	06/12/2012
19	9 de Octubre	04/12/2012	10h00	112	>200	11h30	05/12/2012	06/12/2012
20	9 de Octubre	05/12/2012	9h30	94	>200	12h00	06/12/2012	07/12/2012
21	9 de Octubre	05/12/2012	9h30	88	>200	12h00	06/12/2012	07/12/2012
22	9 de Octubre	05/12/2012	9h30	95	>200	12h00	06/12/2012	07/12/2012
23	9 de Octubre	05/12/2012	9h30	172	>200	12h00	06/12/2012	07/12/2012
24	9 de Octubre	06/12/2012	9h30	174	>200	11h30	07/12/2012	08/12/2012



25	9 de Octubre	06/12/2012	9h30	165	>200	11h30	07/12/2012	08/12/2012
26	3 de Noviembre	06/12/2012	10h00	2	>200	11h30	07/12/2012	08/12/2012
27	3 de Noviembre	06/12/2012	10h00	44	185	11h30	07/12/2012	08/12/2012
28	3 de Noviembre	06/12/2012	10h00	12	>200	11h30	07/12/2012	08/12/2012
29	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	10/12/2012	10h00	4	>200	11h30	11/12/2012	12/12/2012
30	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	10/12/2012	10h00	7	170	11h30	11/12/2012	12/12/2012
31	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	10/12/2012	10h00	22	180	11h30	11/12/2012	12/12/2012
32	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	10/12/2012	10h00	17	>200	11h30	11/12/2012	12/12/2012
SEGUNDA DETERMINACIÓN								
33	10 de Agosto	11/12/2012	9h30	457	> 200	11h30	12/12/2012	13/12/2012
34	10 de Agosto	11/12/2012	9h30	484	> 200	11h30	12/12/2012	13/12/2012



35	10 de Agosto	11/12/2012	9h30	491	> 200	11h30	12/12/2012	13/12/2012
36	10 de Agosto	11/12/2012	9h30	505	> 200	11h30	12/12/2012	13/12/2012
37	10 de Agosto	02/01/2013	9h30	473	> 200	11h30	03/01/2013	04/01/2013
38	10 de Agosto	02/01/2013	9h30	411	> 200	11h30	03/01/2013	04/01/2013
39	10 de Agosto	02/01/2013	9h30	445	> 200	11h30	03/01/2013	04/01/2013
40	10 de Agosto	02/01/2013	9h30	449	> 200	11h30	03/01/2013	04/01/2013
41	10 de Agosto	03/01/2013	9h30	450	> 200	11h30	04/01/2013	05/01/2013
42	10 de Agosto	03/01/2013	9h30	433	> 200	11h30	04/01/2013	05/01/2013
43	10 de Agosto	03/01/2013	9h30	410	> 200	11h30	04/01/2013	05/01/2013
44	10 de Agosto	03/01/2013	9h30	448	> 200	11h30	04/01/2013	05/01/2013
45	10 de Agosto	07/01/2013	9h30	398	> 200	11h30	08/01/2013	09/01/2013
46	10 de Agosto	07/01/2013	9h30	399	> 200	11h30	08/01/2013	09/01/2013
47	10 de Agosto	07/01/2013	9h30	412	> 200	11h30	08/01/2013	09/01/2013
48	9 de Octubre	09/01/2013	9h30	101	> 200	11h30	10/01/2013	11/01/2013



49	9 de Octubre	09/01/2013	9h30	107	> 200	11h30	10/01/2013	11/01/2013
50	9 de Octubre	09/01/2013	9h30	125	> 200	11h30	10/01/2013	11/01/2013
51	9 de Octubre	09/01/2013	9h30	112	> 200	11h30	10/01/2013	11/01/2013
52	9 de Octubre	10/01/2013	9h30	94	> 200	11h30	11/01/2013	12/01/2013
53	9 de Octubre	10/01/2013	9h30	88	> 200	11h30	11/01/2013	12/01/2013
54	9 de Octubre	10/01/2013	9h30	95	> 200	11h30	11/01/2013	12/01/2013
55	9 de Octubre	10/01/2013	9h30	172	> 200	11h30	11/01/2013	12/01/2013
56	9 de Octubre	14/01/2013	9h30	174	> 200	11h30	15/01/2013	16/01/2013
57	9 de Octubre	14/01/2013	9h30	165	> 200	11h30	15/01/2013	16/01/2013
58	3 de Noviembre	08/01/2013	9h30	2	> 200	11h30	09/01/2013	10/01/2013
59	3 de Noviembre	08/01/2013	9h30	44	> 200	11h30	09/01/2013	10/01/2013
60	3 de Noviembre	08/01/2013	9h30	12	> 200	11h30	09/01/2013	10/01/2013
61	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	14/01/2013	9h30	4	> 200	11h30	15/01/2013	16/01/2013



62	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	14/01/2013	9h30	7	> 200	11h30	15/01/2013	16/01/2013
63	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	14/01/2013	9h30	22	> 200	11h30	15/01/2013	16/01/2013
64	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	14/01/2013	9h30	17	> 200	11h30	15/01/2013	16/01/2013
TERCERA DETERMINACIÓN								
65	10 de Agosto	15/01/2013	10h00	505	>200	11h30	16/01/2013	17/01/2013
66	10 de Agosto	15/01/2013	10h00	484	>200	11h30	16/01/2013	17/01/2013
67	10 de Agosto	15/01/2013	10h00	457	>200	11h30	16/01/2013	17/01/2013
68	10 de Agosto	15/01/2013	10h00	491	>200	11h30	16/01/2013	17/01/2013
69	10 de Agosto	16/01/2013	10h30	473	>200	11h30	17/01/2013	18/01/2013
70	10 de Agosto	16/01/2013	10h30	411	>200	11h30	17/01/2013	18/01/2013
71	10 de Agosto	16/01/2013	10h30	445	>200	11h30	17/01/2013	18/01/2013
72	10 de Agosto	16/01/2013	10h30	449	>200	11h30	17/01/2013	18/01/2013



73	10 de Agosto	17/01/2013	10h30	450	>200	11h30	18/01/2013	19/01/2013
74	10 de Agosto	17/01/2013	10h30	433	>200	11h30	18/01/2013	19/01/2013
75	10 de Agosto	17/01/2013	10h30	410	>200	11h30	18/01/2013	19/01/2013
76	10 de Agosto	17/01/2013	10h30	448	>200	11h30	18/01/2013	19/01/2013
77	10 de Agosto	21/01/2013	10h00	398	>200	11h30	22/01/2013	23/01/2013
78	10 de Agosto	21/01/2013	10h00	399	>200	11h30	22/01/2013	23/01/2013
79	10 de Agosto	21/01/2013	10h00	412	>200	11h30	22/01/2013	23/01/2013
80	9 de Octubre	23/01/2013	10h00	101	>200	11h30	24/01/2013	25/01/2013
81	9 de Octubre	23/01/2013	10h00	107	>200	11h30	24/01/2013	25/01/2013
82	9 de Octubre	23/01/2013	10h00	125	>200	11h30	24/01/2013	25/01/2013
83	9 de Octubre	23/01/2013	10h00	112	>200	11h30	24/01/2013	25/01/2013
84	9 de Octubre	24/01/2013	10h00	94	>200	12h00	25/01/2013	26/01/2013
85	9 de Octubre	24/01/2013	10h00	88	>200	12h00	25/01/2013	26/01/2013
86	9 de Octubre	24/01/2013	10h00	95	>200	12h00	25/01/2013	26/01/2013



87	9 de Octubre	24/01/2013	10h00	172	>200	12h00	25/01/2013	26/01/2013
88	9 de Octubre	28/01/2013	10h00	174	>200	11h30	29/01/2013	30/01/2013
89	9 de Octubre	28/01/2013	10h00	165	>200	11h30	29/01/2013	30/01/2013
90	3 de Noviembre	22/01/2013	10h00	2	>200	11h30	23/01/2013	24/01/2013
91	3 de Noviembre	22/01/2013	10h00	44	185	11h30	23/01/2013	24/01/2013
92	3 de Noviembre	22/01/2013	10h00	12	>200	11h30	23/01/2013	24/01/2013
93	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	28/01/2013	10h00	4	>200	11h30	29/01/2013	30/01/2013
94	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	28/01/2013	10h00	7	>200	11h30	29/01/2013	30/01/2013
95	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	28/01/2013	10h00	22	>200	11h30	29/01/2013	30/01/2013
96	Feria Libre Arenal (pabellón interno)	28/01/2013	10h00	17	>200	11h30	29/01/2013	30/01/2013



Anexo 3: Encuesta aplicada a los expendedores en los mercados y productores.

Encuesta en Mercados

Código

¿Qué tipos de lechuga vende?

¿Qué lechuga se vende más?

¿Cuáles son sus proveedores?

¿Cada qué tiempo le entregan las lechugas?

¿Cuántas lechugas vende al día?

Encuesta en lotes de producción

Código

¿Qué tipos de lechuga cultiva?

¿Qué lechuga es la más cultivada?

¿Qué abono utiliza para su cultivo?

¿Qué forma de riego emplea?

¿De dónde proviene el agua para el riego?

¿Cuál es el tipo de siembra que realiza?



UNIVERSIDAD DE CUENCA

¿A quién entrega o su producto?

¿Cada qué tiempo entrega su producto?

GLOSARIO

AEROBIOS: Organismos que pueden vivir o desarrollarse en presencia de oxígeno diatómico, mientras que si lo necesitan se denominan aerobios estrictos.

ANAEROBIOS FACULTATIVOS: Pueden desarrollar un metabolismo tanto respiratorio usando el oxígeno como fermentativo, en ausencia de oxígeno.

AGUAS SERVIDAS: Desechos líquidos provenientes del uso doméstico, comercial e industrial, llevan disueltas o en suspensión una serie de materias orgánicas e inorgánicas que provienen de la descarga de sumideros, fregaderos, inodoros, cocinas, lavanderías, residuos de origen industrial.

CITOTOXINA: Sustancia que tiene efectos tóxicos sobre ciertas células.

COGOLLO: Parte interior, tierna y más apretada de la lechuga, berza y otras hortalizas

CULTIVAR: Variedad cultivada, término empleado en botánica y agronomía para aquellas poblaciones de plantas cultivadas que son genéticamente homogéneas y comparten características de relevancia agrícola que permiten distinguir claramente a la población de las demás poblaciones de la especie.

ESTUDIO PROSPECTIVO: Cuyo inicio es anterior a los hechos estudiados de forma que los datos se recogen a medida que van sucediendo.

FIMBRIAS: Apéndice proteínico presente en muchas bacterias, más delgado y corto que un flagelo y no poseen movilidad, son utilizadas por las bacterias para adherirse a las superficies, unas a otras, o a las células animales.

FLAGELOS PERITRICOS: Estructuras presentes en células procariotas y eucariotas que funcionan como propulsores de movimiento, que se encuentran rodeando el perímetro de la célula.

HOJARASCA: Demasiada e inútil frondosidad de algunos árboles o plantas.

MUESTREO PROBABILÍSTICO: Procedimiento por el cual se da a cada persona o elemento del universo una posibilidad igual de ser seleccionado en la muestra.



PLÁSMIDO: Moléculas circulares de ADN que se replican de manera independiente al cromosoma de la célula hospedera, están presentes prácticamente en todas las células bacterianas.

RASTRERA: Planta que se extiende acompañando la conformación del suelo.

RESIDUOS CLOACALES.- También se les llama aguas servidas, fecales o cloacales.

SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO: Es un trastorno que ocurre generalmente cuando una infección en el aparato digestivo produce sustancias tóxicas que destruyen los glóbulos rojos, causando lesión a los riñones.

SURCO: Hendidura que se hace en la tierra con el arado.