

Artículo original

Indicadores entéricos en vegetales frescos que se comercializan en mercados populares de Maracaibo

Messaria Ginestre Pérez^{a,*}, Sonia Romero Añez^a, Gresleida Rincón Villalobos^b, Maribel Castellano González^a, Yeiny Ávila Roo^a, Gladis Colina López^a, Armino Perozo Mena^c

^a Cátedra Bacteriología General; ^b Cátedra Bacteriología Clínica; ^c Cátedra Práctica Profesional de Bacteriología
Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina Universidad del Zulia
Maracaibo - Venezuela

Recibido 27 de enero de 2009; aceptado 11 de junio de 2009

Resumen: Se analizó la calidad microbiológica de 300 vegetales (100 lechugas, 100 cilantros y 100 perejiles) en dos mercados de la ciudad de Maracaibo. Se determinó coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *Escherichia coli* por la técnica del número más probable. Los CT oscilaron entre 10^3 - 10^9 NMP/gr en más del 80% de las lechugas adquiridas en ambos mercados; mientras que los CF se ubicaron entre 10^1 - 10^7 NMP/gr en 90% de las muestras del mercado 2. Para 96% de los cilantros los CT estuvieron entre 10^4 - 10^9 NMP/gr. Los CF se ubicaron entre 10^4 - 10^9 NMP/gr en 88% y 84% de las muestras del mercado 1 y 2. Los CT oscilaron entre 10^4 - 10^9 NMP/gr en 90% o más de los perejiles. Se obtuvieron valores de CF entre 10^3 - 10^9 NMP/gr en 82% y 60% de los especímenes recolectados en el mercado 1 y 2, respectivamente. 52% de las muestras de perejil adquiridas en el mercado 1 presentaron recuentos elevados para *E. coli* (10^4 - 10^7 NMP/gr). Según los criterios microbiológicos para *E. coli*, 84,7% de los vegetales fueron satisfactorios y 15,3% insatisfactorios. Debido a la variabilidad de los niveles de coliformes y *E. coli* en los vegetales frescos, es recomendable establecer normas locales para evaluar la calidad microbiológica de estos alimentos.

Palabras clave: *Escherichia coli*, calidad microbiológica, coliformes fecales, vegetales frescos

Enteric indicators in fresh vegetables sold at popular food markets in Maracaibo

Abstract: The microbiological status of 300 vegetables (100 lettuces, 100 corianders, and 100 parsley) from two food markets in Maracaibo city was analyzed. Total coliforms (TC), fecal coliforms (FC) and *Escherichia coli* were determined by the most probable number technique. TC oscillated between 10^3 - 10^9 MPN/gr in over 80% of the lettuces bought at both markets, while FC oscillated between 10 - 10^7 MPN/gr in 90% of the samples from Market 2. In 96% of the corianders, TC varied between 10^4 - 10^9 MPN/gr, and FC varied between 10^4 - 10^9 in 86% and 84% of the samples from Markets 1 and 2 respectively. In parsley, TC oscillated between 10^4 - 10^9 in 90% or more of the total samples, and FC varied between 10^3 - 10^9 in 82% and 60% of the samples from Market 1 and 2 respectively. In 52% of the parsley samples obtained from Market 1 there were high *E. coli* counts (10^4 - 10^7 MPN/gr). According to the microbiological criteria for *E. coli*, 84.7% of the vegetables were satisfactory and 15.3% non satisfactory. Due to the variability of the coliform levels in fresh vegetables, it is advisable to establish local norms to evaluate the microbiological quality of this food.

Keywords: *Escherichia coli*, microbiological quality, fecal coliforms, fresh vegetables

* Correspondencia:
E-mail: messaria@hotmail.com

Introducción

Los considerables beneficios para la salud humana relacionados con la ingesta de frutas y vegetales frescos ha favorecido la demanda mundial de estos productos. Sin embargo, en las últimas décadas, el aumento de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) asociadas con el consumo de alimentos frescos, ha conducido a las auto-

ridades sanitarias a considerar estas patologías como un problema de salud pública [1].

Los reportes de brotes de ETA asociados a productos agrícolas en países industrializados constituyen un porcentaje relativamente bajo, aunque en los últimos años, el número de casos ha aumentado [1]. No obstante, en países subdesarrollados las ETA causadas por contaminación de frutas y vegetales son frecuentes y en algunas áreas pueden

causar una gran proporción de enfermedad, pero debido a la falta de registros sanitarios, la mayoría de estas epidemias no se detectan y la literatura científica reporta muy pocos brotes [2].

Entre los factores relacionados con la epidemiología y ocurrencia de ETA asociadas con el consumo de este grupo de alimentos se incluyen: globalización de los suministros de alimentos, introducción inadvertida de patógenos en nuevas áreas geográficas, desarrollo de nuevos factores de virulencia microbiana y cambios en los hábitos alimenticios. Otros agentes de importancia en países subdesarrollados son el uso de aguas residuales y estiércol como fertilizantes en la producción de frutas y vegetales [3-5].

Diversos autores han reportado el aislamiento de microorganismos patógenos en vegetales como espárrago, apio, brotes de soja, alfalfa, brócoli, lechuga, coliflor, cilantro, repollo, coles de Bruselas, perejil, zanahoria y rábano. Los patógenos aislados a partir de productos frescos incluyen bacterias, helmintos, protozoarios y virus como Hepatitis A, Norwalk y Rotavirus [3,6-15].

En vista de que la microflora de los vegetales frescos varía ampliamente y refleja las condiciones de cultivo, así como, las condiciones sanitarias durante el procesamiento y comercialización; es necesaria la evaluación de la calidad microbiológica de estos productos, a fin de asegurar la ausencia de microorganismos patógenos y la inocuidad de los mismos. Para esto se hace uso de microorganismos indicadores los cuales son fácilmente enumerados y su presencia en los alimentos indica exposición a condiciones que pueden introducir microorganismos patógenos y/o permitir su crecimiento [16,17].

Debido a la importancia de los vegetales frescos como fuente de ETA y la utilidad de las bacterias entéricas indicadoras para evaluar la seguridad sanitaria de los alimentos, el presente trabajo tiene como finalidad analizar la calidad microbiológica de vegetales frescos que se expenden en mercados de la localidad, a través de la determinación de indicadores entéricos (coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*).

Materiales y Métodos

Población y muestras: La población objeto de estudio estuvo conformada por tres vegetales tipo hoja: 100 lechugas (*Lactuca sativa*), 100 cilantros (*Coriandrum sativum*) y 100 perejiles (*Petroselinum sativum*), provenientes de dos mercados populares ubicados en el casco central de la ciudad de Maracaibo. Se tomaron 150 muestras de vegetales frescos en cada uno de los mercados 1 y 2 distribuidos de la siguiente manera: 50 muestras de lechuga, 50 de cilantro y 50 de perejil en cada uno de ellos. Los especímenes fueron recolectados en bolsas plásticas estériles, de manera aleatoria, en un puesto de venta ubicado en cada mercado, los días lunes con intervalo de 15 días durante el periodo comprendido entre septiembre de 2007 – marzo de 2008.

Procesamiento de las muestras: Las muestras de vegetales fueron preparadas según el protocolo establecido por la

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) en la normativa N°1126-89 [18].

Para analizar la calidad microbiológica se determinaron los siguientes parámetros: coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *Escherichia coli* (*E. coli*), utilizando el método del número más probable (NMP), los resultados se expresaron por 100 ml ó por 100 gr de muestra, y se estimaron mediante la tabla del NMP, siguiendo las recomendaciones de la norma COVENIN N° 1104-77 [19].

Análisis estadístico: El análisis estadístico de los datos de este estudio se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 10.0 (Chicago, Estados Unidos). Para evaluar las relaciones entre los sitios de muestreo y los recuentos bacterianos se utilizó la prueba no paramétrica de U Mann-Whitney para 2 muestras independientes.

El estudio de la relación de independencia entre el tipo de vegetal y los recuentos bacterianos se realizó aplicando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para K muestras independientes.

El análisis de asociación entre calidad microbiológica, sitio de muestreo y tipo de vegetal se ejecutó mediante tablas de contingencia y cálculo del estadístico ji-cuadrado. Se fijó un nivel de significación de 0,05.

Resultados y Discusión

Los recuentos de coliformes obtenidos a partir de los vegetales frescos analizados indican la elevada carga bacteriana presente en estos productos. Así, 84% de las muestras de lechuga provenientes del mercado 1, presentaron rangos de CT entre 10^4 - 10^9 NMP/gr y en 98% de los especímenes adquiridos en el mercado 2 se obtuvo recuentos entre 10^3 - 10^7 NMP/gr. Los niveles de CF en 60% (mercado 1) y en 90% (mercado 2) de las muestras de lechuga oscilaron entre 10^3 - 10^9 NMP/gr y entre 10^1 - 10^7 , respectivamente.

El análisis de los resultados de los cilantros indica que 96% de las muestras presentaron contajes de CT entre 10^4 - 10^9 NMP/gr. El recuento de CF en 88% de los especímenes comercializadas en el mercado 1 se ubicó entre 10^4 - 10^9 NMP/gr; mientras que 84% de las muestras del mercado 2 arrojaron valores entre 10^4 - 10^7 NMP/gr.

En 92% de las muestras de perejil adquiridas en el mercado 1 se obtuvo recuentos de CT entre 10^4 - 10^9 NMP/gr. De igual forma, 98% de los especímenes comprados en el mercado 2 presentaron rangos elevados para CT (10^4 - 10^7 NMP/gr). El contaje de CF en 82% de los especímenes del mercado 1 se ubicó entre 10^3 - 10^9 NMP/gr, para 60% las muestras compradas en el mercado 2 los CF variaron entre 10^4 - 10^7 NMP/gr.

Los resultados de este estudio son comparables con los reportes de varios autores quienes han evaluado la calidad microbiológica de diversos productos de consumo fresco. Así, Monge y col [12], analizaron la calidad sanitaria de hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica y reportaron en lechuga y cilantro recuentos de CF entre 10^4 - 10^7 NMP/gr. Acevedo y col [20] evaluaron la carga microbiana

de ensaladas de vegetales frescos y encontraron un recuento de coliformes totales de 10^5 NMP/gr.

Diversos autores han comunicado diferentes niveles de indicadores entéricos. Mukherjee y col. [21] analizaron la calidad sanitaria de frutas y vegetales frescos y comunicaron un recuento promedio de CT de 10^2 NMP/gr. De igual forma, en un estudio realizado por Arias y Antillón [7], se evaluaron parámetros de calidad microbiológica en ensaladas, donde el 71% de las muestras presentaban recuentos de coliformes fecales mayores de 10^2 NMP/gr. Pingulkar y col. [22] evaluaron la calidad microbiológica de vegetales frescos y ensaladas listas para consumir, encontrando índices de CT en los vegetales frescos entre 3-1100 NMP/gr y niveles significativos de CF en un 65,60% de las muestras. En las ensaladas listas para consumir, el rango de CT estuvo entre 11-460 NMP/g; no así para CF los cuales no fueron recuperados en este grupo de alimentos.

Otros autores han comunicado diferencias en los recuentos de indicadores entéricos en diversos vegetales, de

acuerdo con el sitio de muestreo. Así, en un estudio llevado a cabo en la ciudad de México por el centro de Estudios y Control de Contaminación (CESCO) [10], se evaluaron productos hortícolas en dos supermercados y un mercado público, el rango de CT en el mercado popular osciló entre 10^3 - 2400 NMP/gr y los CF entre 5-1100 NMP/gr; en contraste, el muestreo en los supermercados arrojó recuentos significativamente menores.

La tabla 1 muestra los recuentos de *E. coli* en las muestras de vegetales analizadas. Como puede apreciarse, a pesar de los altos niveles de CT y CF, existe una notable variabilidad en la recuperación de *E. coli* de acuerdo con el tipo de vegetal y el sitio de muestreo. Un 52% de los especímenes de perejil adquiridos en el mercado 1 presentaron recuentos elevados (10^3 - 10^6 NMP/gr); mientras que sólo 14% y 12% de los especímenes de lechuga y cilantro, adquiridos en el mercado 2, arrojaron valores significativos para este microorganismo.

Tabla 1. Rango de número más probable (nmp/gr) de *E. coli* en muestras de vegetales frescos.

Vegetal	Mercado 1		Mercado 2	
	NMP/gr	N(%)	NMP/gr	N(%)
	<3	48(96)	<3	43(86)
Lechuga	$3,00 \times 10^4$	2(4)	$1,20 \times 10^3$ - $2,80 \times 10^5$	7(14)
	Total	50(100)	Total	50(100)
	<3	47(94)	<3	44(88)
Cilantro	$4,00 \times 10^4$ - $3,00 \times 10^6$	3(6)	$3,00 \times 10^4$ - $7,00 \times 10^4$	6(12)
	Total	50(100)	Total	50(100)
	<3	24(48)	<3	48(96)
Perejil	$4,00 \times 10^3$ - $9,00 \times 10^4$	16(32)	$3,00 \times 10^4$ - $1,10 \times 10^7$	2(4)
	$1,10 \times 10^5$ - $3,00 \times 10^6$	10(20)		
	Total	50(100)	Total	50(100)

Publicaciones a nivel nacional e internacional señalan un amplio rango de recuperación de *E. coli* a partir de una diversidad de productos vegetales de consumo fresco. Así, Monge y col. [12] comunicaron recuentos de *E. coli* entre 10^4 - 10^7 NMP/gr en 42% de muestras de lechuga y cilantro. Por otra parte, Curtis y col. [23], analizaron muestras de ensaladas de vegetales encontrando un alto porcentaje de recuperación de *E. coli* (76,22%), lo que indica la baja calidad microbiológica de estos productos. Mukherjee y col. [21] publicaron una frecuencia de aislamiento de 22,40% en muestras de lechuga. Sagoo y col. [14] analizaron vegetales frescos listos para consumir y comunicaron una baja frecuencia de *E. coli* (1,5%), además indicaron que sólo 0,3% de éstas presentaron niveles de 10^2 UFC/gr o más, considerados como inaceptables desde el punto de vista sanitario.

Al evaluar la independencia entre recuentos de indicadores de calidad microbiológica y sitios de muestreo, se observó que los niveles de significancia (α) asociados al

estadístico U Mann-Whitney, para las variables en estudio (CT $\alpha=0,025$; CF $\alpha=0,025$ y *E. coli* $\alpha=0,025$); indican que los sitios de muestreo no son independientes de los recuentos bacterianos en los vegetales.

Al analizar los resultados de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para K muestras independientes, aplicada para estudiar la relación entre el tipo de vegetal y los recuentos bacterianos, se observó que el nivel de significancia ($\alpha=0,000$) asociado a las variables CT, CF y *E. coli*; indica que existe alguna interacción entre el vegetal y los recuentos de indicadores entéricos de calidad microbiológica.

En Venezuela no existen normas microbiológicas que señalen los criterios para considerar los vegetales frescos aptos o no para el consumo. En otros países, utilizan como indicador entérico los recuentos de *E. coli*.

Tomando como referencia los criterios establecidos para *E. coli* en la guía publicada por el PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products [24], en la cual se

establecen 3 categorías: satisfactorio (<20 UFC/gr), aceptable (20<100 UFC/gr) e insatisfactorio (\geq 100 UFC/gr), los resultados de este estudio reflejan que 84,7% (254/300) de los vegetales analizados fueron satisfactorios y 15,3% (46/300) insatisfactorios.

En la tabla 2 se considera la relación entre la calidad microbiológica de los vegetales analizados y el sitio de muestreo. Como puede apreciarse, de los 46 vegetales que

no cumplieron con los criterios de aceptabilidad y fueron consideradas como insatisfactorias, 31 fueron adquiridos en el mercado 1 y 15 en el mercado 2. De los 31 vegetales del mercado 1, 6,5%, 9,7% y 83,8% correspondieron a lechuga, cilantro y perejil, respectivamente. Los 15 vegetales del mercado 2 se distribuyeron de la siguiente manera: 46,6% lechuga, 40% cilantro y 13,4% perejil.

Tabla 2. Relación entre la calidad microbiológica de los vegetales frescos analizados y el sitio de muestreo.

Sitio de muestreo	Calidad Microbiológica								Total	
	Satisfactorio				Sub-total	Insatisfactorio				Sub-total
	Lechuga N(%)	Cilantro N(%)	Perejil N(%)	Lechuga N(%)		Cilantro N(%)	Perejil N(%)			
Mercado 1	48(40,3)	47(35,5)	24(20,2)	119(100)	2(6,5)	3(9,7)	26(83,8)	31(100)	150	
Mercado 2	43(31,8)	44(32,6)	48(35,6)	135(100)	7(46,6)	6(40,0)	2(13,4)	15(100)	150	
Sub-total	91(35,8)	91(35,8)	72(28,4)	254(100)	9(19,6)	9(19,6)	28(60,8)	46(100)	300	

Para analizar el grado de relación entre sitio de muestreo y calidad microbiológica de los vegetales en estudio se utilizó la prueba estadística ji-cuadrado; el valor de X^2 (44,9729) y el nivel de significancia asociado (0,000), indican que entre el mercado y la calidad microbiológica de los vegetales existe una asociación estadísticamente significativa. Es posible asumir que ciertos factores como las condiciones sanitarias del mercado, la manipulación por los expendedores entre otros, influyen en la calidad microbiológica de los vegetales.

En la tabla 3 se analiza la calidad microbiológica de acuerdo al tipo de vegetal. Los 46 vegetales considerados insatisfactorios según los criterios de calidad establecidos, correspondieron 9 a lechuga, 9 a cilantro y 28 a perejil. Las 9 muestras de lechuga insatisfactorias correspondieron 22,2% al mercado 1 y 77,8% al mercado 2. Los 9 cilantros catalogados como insatisfactorios se distribuyeron de la siguiente manera: 33,3% para el mercado 1 y 66,7% para el mercado 2. Con respecto a los 28 especímenes de perejil considerados no aptos, 92,9% fueron adquiridos en el mercado 1 y 7,1% en el mercado 2.

Tabla 3. Relación entre la calidad microbiológica y el tipo de vegetal analizado.

Tipo de vegetal	Calidad Microbiológica						Total	
	Satisfactorio			Sub-total N(%)	Insatisfactorio			Sub-total N(%)
	Mercado 1 N(%)	Mercado 2 N(%)	Mercado 1 N(%)		Mercado 2 N(%)			
Lechuga	48(52,7)	43(47,3)	91(100)	2(22,2)	7(77,8)	9(100)	100	
Cilantro	47(51,6)	44(48,4)	91(100)	3(33,3)	6(66,7)	9(100)	100	
Perejil	24(33,3)	48(66,7)	72(100)	26(92,9)	2(7,1)	28(100)	100	
Sub-total	119(46,9)	135(53,1)	254(100)	31(67,4)	15(32,6)	46(100)	300	

El grado de relación entre calidad microbiológica y tipo de vegetal se analizó mediante la prueba estadística ji-cuadrado; el valor de X^2 obtenido (28,571) y el nivel de significancia asociado (0,000) indican que existe una relación estadísticamente significativa entre perejil y calidad microbiológica. En vista que las características de los vegetales analizados son similares, es posible presumir que las fuentes de contaminación de este vegetal se relacionan con las condiciones de poscosecha.

Los resultados de este estudio y las publicaciones de otros autores señalan que la microflora contaminante de productos frescos como frutas y vegetales, puede tener

una amplia variedad de orígenes y reflejar tanto las condiciones de cultivo y cosecha, así como, la calidad sanitaria de los procesos de transporte y comercialización. Por lo tanto, es difícil la implementación de criterios uniformes de estándares microbiológicos que puedan aplicarse a nivel mundial. Por tal motivo, es necesario el desarrollo de estándares microbiológicos locales que establezcan criterios de aceptabilidad para estos productos, tomando en cuenta las condiciones regionales específicas que afecten en menor o mayor grado la calidad microbiológica de estos productos alimenticios.

Conclusiones y Recomendaciones

Aunque las muestras de vegetales analizadas presentaron una elevada carga de coliformes totales y fecales, los rangos de *E. coli* obtenidos permitieron catalogar a la mayoría de las muestras de lechuga y cilantro, dentro de los niveles de calidad microbiológica considerados como satisfactorias. Sin embargo, una elevada proporción de las muestras de perejil analizadas fueron ubicadas en la categoría de insatisfactorias, desde el punto de vista microbiológico.

En los vegetales analizados, el sitio de muestreo y el tipo de vegetal constituyeron una fuente de variación para los recuentos de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli*.

Debido a la alta variabilidad de los niveles de coliformes y *E. coli* en las muestras de vegetales analizadas, es recomendable establecer normas de regulación local de indicadores de calidad microbiológica, que aseguren la inocuidad de los vegetales frescos de consumo masivo.

Referencias

- University of Maryland. Mejorando la seguridad y calidad de frutas y hortalizas frescas: Manual de Formación para Instructores. 2002. En: http://www.jifsan.umd.edu/pdfs/gaps_español/secci-n-v.pdf. Acceso: el 22 de octubre de 2008.
- PAHO/INPPAZ. Foodborne disease outbreaks and cases reported in 1996 to the Regional Information System for the Epidemiological Surveillance of Foodborne Diseases. 1996.
- Beuchat L. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Food Safety Unit, World Health Organization. Series: Report WHO/FSF/FOS/98.2 1998. En: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/surface.decon.pdf. Acceso: el 28 de octubre de 2008.
- Hedberg CW, MacDonald KI, Osterholm MT. Changing epidemiology of food-borne disease: a Minnesota perspective. Clin Infect Dis. 1994; 18: 671-82.
- Potter ME, Motarjemi Y, Käferstein FK. Emerging food-borne disease. World Health, January-February. 1997: 16-7.
- Arce G, Ávalos M., Giusti S, Miranda G, Tuhay N, Merino L. Consumo de vegetales crudos en la ciudad de Corrientes en relación con las enfermedades transmitidas por alimentos. Rev de Postgrado de la VI Cátedra de Medicina. 2002; 115: 10-1.
- Arias M, Antillón F. Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. Rev Biomed. 2000; 11(2): 113-22.
- Beuchat LR, Ryu JH. Produce handling and processing practices. Emerg Infect Dis. 1997; 3(4): 1-13.
- Buck J, Walcott R, Beuchat L. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. Online. Plant Health Progress. En: <http://www.plantmanagementnetwork.org/php/public.asp>. Acceso: 5 de mayo de 2008.
- Centro de estudios y control de contaminantes (CESCCO). Calidad microbiológica en productos hortícolas. 2000. En: <http://www.cescco.gob.hk/informes/calidad%20microbiologica%20de%20productos%20horticolas.pdf>. Acceso: el 27 de septiembre de 2008.
- Giese J. Microbial testing of produce-laboratory. Food Technol. 2003; 57: 70-3.
- Monge R, Chinchilla M, Reyes L. Estacionalidad de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica. Rev Biol Trop. 1996; 44: 369-75.
- European Commission. Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw. En: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.htm. Acceso: el 20 de Octubre de 2008.
- Sagoo SK, Little CL, Mitchell RT. The microbiological examinations of ready-to eat organic vegetables from retail establishments. LACOTS/PHIS Coordinated Liaison group studies. PHLS environmental surveillance unit. Junio 2001.
- The World of food Science. Resumen de la situación científica. Enfermedades transmitidas por alimentos. En: <http://www.worldfoodscience.org/cms/?pid=1001315>. Acceso: el 5 de noviembre de 2008.
- Busta FF, Suslow ME, Parish LR, Farber JN, Garrett EH, Harris LJ. The use of indicators and surrogate microorganisms for the evaluation of pathogens in fresh and fresh-cut produce. Compr Rev Food Sci F. 2003; 2(suppl): 179-85.
- García R, Chavez J, Mejía A, Durán C. Microbiological determination of some vegetables from the Xochimilco zone in México City, México. Rev Latinoam Microbiol. 2002; 44(1): 24-30.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. 1ª Revisión. 1989. 1126-89.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Alimentos. Determinación del Número Más Probable de Coliformes, de Coliformes Fecales y de *Escherichia coli*. N° 1104-77.
- Acevedo L, Mendoza C, Oyón R. Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, *Staphylococcus sp.* y hongos en ensaladas para perros calientes expandidas en la ciudad de Maracay, Venezuela. ALAN. 2001; 51(4): 12-22.
- Mukherjee A, Speh D, Dyck E, Diez F. Preharvest Evaluation of Coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in Organic and Conventional Produce grown by Minnesota Farmers. J Food Protect. 2004; 67(5): 894-900.
- Pingulkar K, Kamat A, Bongirwar D. Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salad: an evidence of inhibition of *Listeria monocytogenes* in tomatoes. Int J Food Sci Nutr. 2001; 52(1): 15-23.
- Curtis M, Franceschi O, Castro N. Determinación de la calidad microbiológica de los alimentos servidos en comedores de empresas privadas. ALAN. 2000; 50(2): 1-10.
- Gilbert RJ, Louvois J, Donovan T, Little C, Nye K, Ribeiro C *et al.* Guidelines for the Microbiological quality of some ready- to- eat foods sampled at the point of sale. PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. Commun Dis Public Health. 2000; 3: 163-7.
- Castro J, Rojas M, Noguera Y, Santos E, Zuñiga A, Gómez C. Calidad Sanitaria de Ensaladas de Verduras crudas listas para su consumo. Alfa Editores Técnicos. 2006; Julio-Agosto: 9-21.