



Microbiología de zanahoria, tomate y repollo de agricultura orgánica y convencional en Costa Rica¹

Microbiology of carrot, tomato and cabbage from organic and conventional agriculture in Costa Rica

Fiorella Castro-Urbina², Viviana Wittmann-Vega², Gabriela Davidovich-Young², Eric Wong-González²

¹ Recepción: 14 de octubre, 2022. Aceptación: 30 de noviembre, 2022. Este proyecto fue parte de la tesis de Licenciatura de las dos primeras autoras, realizadas en la Escuela de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, así como del Proyecto de Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica #735B8040.

² Universidad de Costa Rica, Escuela de Tecnología de Alimentos y Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. San José, Costa Rica. fiorellac76@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0002-1532-6228>); viviana.vittmann@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0001-8096-3824>); gabriela.davidovich@ucr.ac.cr (autor para la correspondencia; <https://orcid.org/0000-0001-6221-4141>); eric.wong@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0001-9054-130X>).

Resumen

Introducción. El interés de la población por el consumo de productos frescos como las hortalizas ha ido en aumento a través de los años. Existen diferentes métodos de cultivo para producir hortalizas como zanahoria, tomate y repollo. Los sistemas de cultivo convencional y orgánico son los más comunes. **Objetivo.** Comparar la microbiología de zanahoria, tomate y repollo, provenientes de fincas con sistemas productivos de agricultura orgánica o convencional en Costa Rica. **Materiales y métodos.** El trabajo se realizó en Cartago, Heredia y Alajuela, Costa Rica, de setiembre 2020 a noviembre 2021, durante la época lluviosa en todos los casos. Se muestrearon hortalizas de fincas modelo de producción de zanahoria, tomate y repollo, una de producción orgánica y tres de producción convencional. Se determinaron recuentos totales de aerobios mesófilos, coliformes totales, *Escherichia coli*, mohos y levaduras, y la ausencia/presencia de *Listeria monocytogenes*. **Resultados.** Los recuentos totales aerobios, de mohos y levaduras y de coliformes totales de la zanahoria, el repollo y el tomate de cultivo convencional y orgánico no difirieron entre sí. En las hortalizas estudiadas los recuentos de *E. coli* fueron de <1 log UFC/g y hubo ausencia de *Listeria monocytogenes*. Se encontró presencia de *Listeria* sp. en las muestras de zanahoria de cultivo convencional, en contraste con su ausencia en la zanahoria de cultivo orgánico. **Conclusiones.** *L. monocytogenes* estuvo ausente en las hortalizas estudiadas, que en general, tuvieron cargas microbianas aceptables según la normativa y similares a estudios reportados a nivel mundial. Bajo condiciones controladas, si se comparan con aquellas obtenidas de sistemas de producción convencional, es posible obtener hortalizas con la técnica de cultivo orgánico sin detrimento en su calidad microbiológica y con los beneficios derivados para la salud del consumidor y el ambiente.

Palabras claves: hortalizas, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, bacterias, hongos.

Abstract

Introduction. Interest in consuming fresh products such as vegetables has been increasing over the years. Different cultivation methods to produce vegetables such as carrots, tomatoes, and cabbages are available. Conventional



and organic farming systems are the most common. **Objective.** To compare the microbiology of carrot, tomato and cabbage from farms with organic or conventional agricultural production systems in Costa Rica. **Materials and methods.** Sampling was carried out in Cartago, Heredia and Alajuela, Costa Rica, from September 2020 to November 2021, during the rainy season in all cases. Vegetables from model farms of carrot, tomato and cabbage, one of organic production and three of conventional production, were sampled. Microbial counts of total aerobic mesophilic, total coliforms, *Escherichia coli*, yeasts and molds, and the absence/presence of *Listeria monocytogenes* were determined. **Results.** Total aerobic, yeast and mold and total coliform counts for conventionally and organically grown carrots, cabbages, and tomatoes did not differ from each other. In the vegetables studied, *E. coli* counts were $<1 \log$ CFU/g and *Listeria monocytogenes* was absent. Presence of *Listeria* sp. in carrot samples from conventional cultivation was found in contrast to its absence in carrots from organic cultivation. **Conclusions.** *L. monocytogenes* was absent in the vegetables studied, which in general had acceptable microbial loads according to regulations and similar to studies reported worldwide. Under controlled conditions, when compared to those obtained from conventional production systems, it is possible to obtain vegetables from organic farming without detriment to their microbiological quality and with the derived benefits for the health of the consumer and the environment.

Keywords: vegetables, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, bacteria, moulds.

Introducción

El interés de la población por el consumo de productos frescos y mínimamente procesados, los cuales son alimentos naturales que han sido alterados sin que se les agregue o introduzca ninguna sustancia externa y a los que se les sustrae partes mínimas del alimento sin cambiar significativamente su naturaleza o su uso, ha ido en aumento a través de los años. Esto se debe a la búsqueda de alimentos que contribuyan con la salud de las personas y a la incorporación de alimentos con un alto valor nutricional (Dávila-Aviña et al., 2020; do Prado Vilarin et al., 2020).

Según las estadísticas publicadas por el Programa Integral de Mercadeo Agropecuario (PIMA por sus siglas) en Costa Rica, para el año 2015, las hortalizas de mayor consumo en el país fueron, en orden de mayor a menor, el tomate, la papa, el repollo, la zanahoria y la lechuga. Estas cinco hortalizas representan el 55,1 % del total de hortalizas consumidas para ese año, comportamiento que se ha mantenido desde años anteriores (Programa Integral de Mercadeo Agropecuario [PIMA], 2016), lo que demuestra la importancia de estudiar aspectos microbiológicos relacionados, dado que estas hortalizas se consumen todas las semanas frescas y se comercializan como vegetales mínimamente procesados (García-Barquero, 2015; López Marín, 2012; Sánchez López, 2017).

En cuanto a producción, en Costa Rica se cultiva zanahoria en su mayoría en las provincias de Cartago y Alajuela, con 637 400 y 205 700 m² sembrados, respectivamente (Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC], 2015). El tomate se produce en Alajuela, Heredia, Región Brunca, Cartago, Puriscal, Santa Ana, San Antonio de Escazú y Región Chorotega (Consejo Nacional de Producción, 2016; López Marín, 2012). Además, si se considera que para el cultivo del repollo se requieren temperaturas entre 15 °C y 20 °C, las zonas apropiadas en Costa Rica por su cultivo son Zarcero y Cartago (INEC, 2018).

Para llevar a cabo la producción de hortalizas existen diferentes métodos de cultivo, como por ejemplo el sistema de agricultura convencional y la agricultura orgánica (El-Hage Scialabba & Hattam, 2003).

El sistema de agricultura convencional provee el 98,9 % del total de alimentos en el mundo. Este tipo de agricultura permite el uso de agentes químicos, obtiene mejores rendimientos al compararlos con la orgánica y conlleva a un menor uso de tierra (Tal, 2018). El uso de estos agroquímicos ayuda a obtener productos sin deficiencia de nitrógeno y fósforo que mejoran el rendimiento y calidad de los alimentos producidos bajo este sistema (Lotter, 2015).

La agricultura convencional utiliza y aplica procesos de fertilización con insumos sintéticos que, si bien generan altas producciones, los residuos creados por el uso de fertilizantes y otros compuestos químicos afectan el suelo, el agua subterránea y superficial, la salud humana y animal e incluso la productividad en ciclos posteriores de los cultivos (Marín Céspedes, 2015).

En el año 2011, Costa Rica presentó el mayor consumo de plaguicidas por hectárea en el mundo con 51 200 kg m⁻². Según un informe del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo del año 2022, Costa Rica usa entre cuatro y ocho veces más plaguicidas por hectárea que los demás países de América que integran la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, con cantidades superiores a los 9 kg de ingrediente activo por hectárea (Pomareda, 2022). Ante esta situación, toma relevancia la necesidad de utilizar sistemas de producción orgánica que buscan la disminución del impacto ambiental y social que generan las actividades agropecuarias (Bosona & Gebresenbet, 2018).

La producción orgánica se basa en disminuir la huella de carbono y producir alimentos de una manera más sostenible, así como en la reducción al mínimo del empleo de insumos externos y evitar el uso de fertilizantes y abonos sintéticos (Ronga et al., 2019). Su meta principal es lograr un nivel óptimo de salud y productividad de las comunidades interdependientes de organismos del suelo, plantas, animales y seres humanos (Jaramillo et al., 2007). Es así como este tipo de agricultura plantea soluciones a los problemas que afectan a la actual producción mundial, tales como, altos costos de energía, contaminación de aguas subterráneas, erosión del suelo, agotamiento de recursos fósiles, bajos ingresos agrícolas y peligro a la salud humana y hábitats silvestres (Reganold & Wachter, 2020).

El gobierno de Costa Rica ha establecido las pautas básicas a seguir en cuanto a buenas prácticas de agricultura para minimizar los riesgos de degradación del ambiente y de contaminación, de manera que los productos como las hortalizas tengan las características requeridas en cuanto a calidad e inocuidad para el consumidor. Estas incluyen el uso, manejo y conservación del suelo y el agua, el manejo de agroquímicos, bioinsumos, material propagativo y fertilizantes, el control de animales y los requerimientos postcosecha (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2008). Las prácticas antes mencionadas aplican para los cultivos convencionales y orgánicos, además de que la agricultura orgánica se encuentra normada por un reglamento para este fin (Presidencia de la República & Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2001). En general, las fincas de cultivo convencional y orgánico de Costa Rica son reguladas por el Ministerio de Agricultura y Ganadería del país, siguen las buenas prácticas agrícolas y se asemejan a los cultivos convencionales y orgánicos estándares alrededor del mundo.

Los microorganismos presentes en el alimento orgánico difieren del cultivado de una forma convencional o tradicional, debido a las diferencias de cultivo. De acuerdo con El-Hage Scialabba & Hattam (2003), en los cultivos orgánicos, en comparación con un cultivo convencional, se ha podido encontrar una mayor cantidad de microorganismos que, por un lado, inhiben el crecimiento de plagas para la planta o, por otro, pueden causar su enfermedad. Estos microorganismos pueden actuar como antagonistas de plagas y malas hierbas y algunos proveen un aumento en la tasa de crecimiento del cultivo o reducción de requerimientos nutricionales (Zarb et al., 2005).

Hay estudios que indican que los biofertilizantes utilizados en los cultivos orgánicos son obtenidos a partir de excretas y de residuos orgánicos que son compostados y pueden ser fuente de microorganismos patógenos. Si estos no son tratados de forma adecuada, pueden comprometer la inocuidad del alimento cultivado (Aftab Uddin et al., 2012; Hasibur et al., 2016). De acuerdo con el Reglamento de Agricultura Orgánica del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), en Costa Rica se permite el uso de excretas animales como abono en estos cultivos, pero estos deben de haber pasado por un proceso de fermentación controlada o compostaje que evite su contaminación con microorganismos patógenos para el ser humano (Presidencia de la República & Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2001).

Debido a que por lo general, no se pueden realizar pruebas de detección para todos los microorganismos patógenos o grupos de microorganismos de deterioro, la calidad microbiológica e inocuidad de las hortalizas puede analizarse por medio del monitoreo de indicadores microbiológicos. La metodología de detección y cuantificación

de estos utiliza técnicas de laboratorio sencillas que proveen resultados más rápidos y que son menos costosas que el análisis de los microorganismos patógenos (Hirotni et al., 2006; León et al., 2009; Smoot & Pierson, 2001).

Algunos grupos de microorganismos indicadores son: los mesófilos aerobios, los coliformes totales y los mohos y levaduras. Dentro de los mesófilos aerobios se encuentran todas las bacterias capaces de desarrollarse a 35 ± 2 °C en atmósfera aerobia. Este recuento estima la microbiota total presente en el alimento (Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos, 2014). Este total refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima (Campuzano et al., 2015). Según la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, las ensaladas verdes y vegetales frescos no pueden tener recuentos totales aerobios mesófilos (RTA) mayores a 5 log UFC/g (Poder Ejecutivo Federal, 1995).

En cuanto a los mohos y levaduras, la mayoría son microorganismos aerobios, se pueden encontrar distribuidos en la naturaleza y forman parte de la microbiota normal de un alimento (Adams et al., 2016). Sin embargo, también pueden ser agentes contaminantes y producir deterioro en frutas y hortalizas. Un 25 % de las levaduras pueden causar la degradación de los alimentos, debido al uso de carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos que originan mal olor. Esto altera el sabor y el color en la superficie de los productos contaminados y favorece el crecimiento de bacterias patógenas (Erkmen & Bozoglu, 2016).

Las especies de mohos asociadas con el deterioro post cosecha de frutas y hortalizas, pertenecen a los géneros *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Aspergillus*, de ahí la importancia de analizar mohos y levaduras en este tipo de alimento (Kyanko et al., 2010).

Los coliformes totales se consideran importantes indicadores de contaminación del agua y los alimentos (Madigan et al., 2009). Dentro de este grupo se encuentran los géneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella* y *Enterobacter* (Salfinger & Tortorello, 2015). Las bacterias de este grupo se encuentran en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente; sin embargo, también habitan en la naturaleza, en suelos, semillas y hortalizas. Estos microorganismos son empleados como indicadores microbiológicos de la higiene de los alimentos (da Silva et al., 2019; Erkmen & Bozoglu, 2016).

E. coli es un coliforme termotolerante que se emplea como indicador de contaminación fecal en alimentos y que determina si el producto alimenticio ha sido manipulado durante todo el proceso en condiciones que aseguren su higiene, en virtud de que dicha bacteria es un componente natural de la microbiota intestinal de los animales de sangre caliente (Adams et al., 2016; da Silva et al., 2019). Además, debido a que comparten un mismo origen, su presencia puede relacionarse de forma indirecta con la existencia de patógenos entéricos, tales como *Salmonella* sp., *E. coli* O157:H7 y *Shigella* sp. (Adams et al., 2016).

L. monocytogenes es un patógeno asociado con brotes en hortalizas, sin embargo, este no es de origen entérico. Esta bacteria se encuentra distribuida en el ambiente (Adams et al., 2016). Es un patógeno oportunista causante de la listeriosis humana, enfermedad que afecta a personas de avanzada edad, con un sistema inmune comprometido o mujeres embarazadas. Es común encontrar *L. monocytogenes* en tierras de cultivo y ambientes de siembra, por lo que se considera importante determinar su presencia en productos frescos como tomate (*Solanum lycopersicum*), zanahoria (*Daucus carota*) y repollo (*Brassica oleracea*) (Smith et al., 2018).

En algunos países se han realizado estudios en los que se compara la calidad microbiológica e inocuidad de hortalizas cultivadas en agricultura convencional y orgánica (Abadias et al., 2008; Kuan et al., 2017), sin embargo, estos resultados no se pueden extrapolar a las hortalizas producidas en Costa Rica, donde las condiciones de producción locales pueden determinar variaciones importantes.

El objetivo de este trabajo fue comparar la microbiología de zanahoria, tomate y repollo, provenientes de fincas con sistemas productivos de agricultura orgánica o convencional en Costa Rica.

Materiales y métodos

Toma de muestras

Se tomaron muestras de zanahoria, tomate y repollo en fincas modelo de agricultura orgánica y convencional de Costa Rica. Las fincas de cultivo convencional se ubican en Capellades de Cartago (zanahoria), Barva de Heredia (tomate) y Pacayas de Cartago (repollo). La finca de cultivo orgánico se localiza en Zarcero de Alajuela (zanahoria, tomate y repollo). La elección de las fincas se realizó con base en los cantones y provincias de mayor producción de cada una de las hortalizas estudiadas (INEC, 2015; 2018). La producción de tomate, zanahoria y repollo en agricultura convencional así como la de zanahoria y repollo en agricultura orgánica, se cultivan a campo abierto, mientras que el cultivo orgánico de tomate se realiza en invernadero.

Se realizaron tres visitas (tres repeticiones independientes) a cada una de las fincas, para cada uno de los muestreos, los cuales se realizaron durante la época lluviosa en los meses de noviembre 2020 para zanahoria, de setiembre a octubre 2020 para tomate y de octubre a noviembre 2021 para repollo.

En cada visita se tomaron, de forma manual, tres hortalizas al azar de los cultivos, al igual que se realiza con la cosecha comercial de tomate, zanahoria y repollo, y sin el uso de equipos. Estas hortalizas fueron manipuladas con guantes de látex limpios y desinfectados para evitar agregar microorganismos externos. Luego, se colocaron en bolsas plásticas para alimentos y se transportaron al laboratorio y almacenaron en refrigeración (5 °C). Las tres unidades de cada hortaliza y de cada finca formaron una muestra compuesta. Los análisis se realizaron antes de cumplir 48 h a partir del muestreo.

Análisis microbiológicos

Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de microbiología del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), Universidad de Costa Rica (UCR), sede Rodrigo Facio, San Pedro, Montes de Oca.

Para los recuentos, cada una de las tres unidades de cada hortaliza fue troceada en una tabla de pizarra estéril y se seleccionaron al azar y pesaron 25 g (unidad experimental) para colocarlos en una bolsa estéril. Se agregó 225 mL de agua peptonada estéril 0,1 % y se homogenizó (Bag Mixer CC400, Interscience) durante un minuto. A partir de esta bolsa, se realizaron diluciones decimales en el mismo diluyente para transferir 1 mL a tubos con 9 mL (Salfinger & Tortorello, 2015). Para el análisis de *L. monocytogenes*, la unidad experimental también consistió en 25 g obtenidos de mezclar las tres unidades de cada hortaliza y al azar obtener esa masa para proceder con el enriquecimiento (United States Food and Drug Administration [FDA], 2022).

Se analizaron las muestras para determinar las siguientes variables respuesta: recuento total aerobio mesófilo (FDA, 2022), recuento de mohos y levaduras (Salfinger & Tortorello, 2015), recuento de coliformes totales y de *E. coli* (Association of Official Agricultural Chemists [AOAC], 2005) y presencia/ausencia de *L. monocytogenes* por el método de cultivo con confirmación bioquímica e identificación de especie con API Listeria (FDA, 2022), todos sin modificaciones.

Análisis estadísticos

Con los recuentos determinados, es decir, variables cuantitativas continuas, se aplicó una prueba de t-student para cada hortaliza, con el fin de comparar los promedios obtenidos para cada tipo de producción analizada (orgánica y convencional). Para las variables cualitativas de presencia/ausencia de *L. monocytogenes* o *Listeria* sp. (si se detectó durante el análisis de *L. monocytogenes*), se aplicó una regresión logística para determinar si la proporción de muestras positivas difería para cada tipo de producción. En todos los análisis de esta investigación se trabajó con el paquete estadístico JMP 5.0.1.2. (SAS Institute, NC, Estados Unidos) a un nivel de significancia del 5 %. Cuando no se encontraron diferencias significativas se reportó la potencia de la prueba (1- β).

Resultados

En las muestras de zanahoria obtenidas de cultivos convencional y orgánico, no se encontró diferencia significativa ($p>0,05$) en el recuento total aerobio mesófilo ($1-\beta>0,9786$), recuento de mohos y levaduras ($1-\beta>0,8478$) y recuento de coliformes totales ($1-\beta>1,0000$). Tampoco se encontró presencia del patógeno *L. monocytogenes* en ninguno de los dos sistemas productivos. Sin embargo, en las muestras de zanahoria de cultivo convencional, se detectó el género *Listeria* sp., no así en las de cultivo orgánico ($p= 0,0039$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Recuentos microbiológicos y análisis de *L. monocytogenes* en zanahoria (*Daucus carota*) en muestras tomadas de sistemas de producción orgánico y convencional. Alajuela y Cartago, Costa Rica. 2020.

Table 1. Microbial counts and determination of *L. monocytogenes* in carrot (*Daucus carota*) in samples taken from organic and conventional production systems. Alajuela and Cartago, Costa Rica. 2020.

| Tipo de producción | Recuento total aerobio mesófilo (log UFC/g) | Recuento de mohos y levaduras (log UFC/g) | Recuento de coliformes totales (log UFC/g) | Recuento de <i>Escherichia coli</i> (log UFC/g) | <i>L. monocytogenes</i> (presencia / ausencia en 25 g) |
|--------------------|---|---|--|---|--|
| Orgánica | 3,9 \pm 0,5 ^a | 3,0 \pm 0,7 ^a | 2,7 \pm 0,1 ^a | <1 | Ausencia |
| Convencional | 3,4 \pm 0,5 ^a | 2,6 \pm 0,6 ^a | 2,5 \pm 0,4 ^a | <1 | Ausencia |

Recuentos con letras diferentes en cada columna son diferentes entre sí ($p<0,05$). / Counts with different letters in each column are different from each other ($p<0,05$).

Se muestran los promedios ($n=3$) con el respectivo intervalo de confianza ($\alpha=0,05$). / Values shown are means ($n=3$) with the corresponding confidence interval ($\alpha=0,05$).

En las muestras analizadas de tomate de los cultivos convencional y orgánico, no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) en el recuento total aerobio mesófilo ($1-\beta>0,8807$), recuento de mohos y levaduras ($1-\beta>0,9237$) y recuento de coliformes totales ($1-\beta>0,9427$). Además, *L. monocytogenes* estuvo ausente en todas las muestras (Cuadro 2).

Cuadro 2. Recuentos microbiológicos y análisis de *L. monocytogenes* en tomate (*Solanum lycopersicum*) en muestras tomadas de sistemas de producción orgánico y convencional. Alajuela y Heredia, Costa Rica. 2020.

Table 2. Microbiological counts and analysis of *L. monocytogenes* in tomato (*Solanum lycopersicum*) in samples taken from organic and conventional production systems. Alajuela and Heredia, Costa Rica. 2020.

| Tipo de producción | Recuento total aerobio mesófilo (log UFC/g) | Recuento de mohos y levaduras (log UFC/g) | Recuento de coliformes totales (log UFC/g) | Recuento de <i>Escherichia coli</i> (log UFC/g) | <i>L. monocytogenes</i> (presencia / ausencia en 25 g) |
|--------------------|---|---|--|---|--|
| Orgánica | 4,4±0,4 ^a | 3,5±0,4 ^a | <1 ^a | <1 | Ausencia |
| Convencional | 3,7±0,8 ^a | 3,4±0,7 ^a | 1,5±0,8 ^a | <1 | Ausencia |

Recuentos con letras diferentes en cada columna presentan diferencias significativas entre sí ($p<0,05$). / Counts with different letters in each column are significantly different among themselves ($p<0,05$).

Se muestran los promedios ($n=3$) con el respectivo intervalo de confianza ($\alpha=0,05$). / Values shown are means ($n=3$) with corresponding confidence interval ($\alpha=0,05$).

En cuanto a las muestras de repollo analizadas, en el Cuadro 3 se puede observar que el recuento total aerobio mesófilo ($1-\beta>0,9272$), el recuento de mohos y levaduras ($1-\beta>0,6278$) y el recuento de coliformes totales ($1-\beta>0,6510$) provenientes de producción orgánica o convencional no presentaron diferencias significativas ($p>0,05$). Además, no se observó presencia de *L. monocytogenes* en las muestras analizadas.

Cuadro 3. Recuentos microbiológicos y análisis de *L. monocytogenes* en repollo (*Brassica oleracea*) en muestras tomadas de sistemas de producción orgánico y convencional. Alajuela y Cartago, Costa Rica. 2021.

Table 3. Microbiological counts and analysis of *L. monocytogenes* in cabbage (*Brassica oleracea*) in samples taken from organic and conventional production systems. Alajuela and Cartago, Costa Rica. 2021.

| Tipo de producción | Recuento total aerobio mesófilo (log UFC/g) | Recuento de mohos y levaduras (log UFC/g) | Recuento de coliformes totales (log UFC/g) | Recuento de <i>Escherichia coli</i> (log UFC/g) | Análisis de <i>L. monocytogenes</i> (presencia / ausencia en 25 g) |
|--------------------|---|---|--|---|--|
| Orgánica | 5,6±0,5 ^a | 2,4±0,2 ^a | 1,9±0,9 ^a | <1 | Ausencia |
| Convencional | 5,1±0,7 ^a | 2,3±0,3 ^a | 2,5±0,9 ^a | <1 | Ausencia |

Recuentos con letras diferentes en cada columna presentan diferencias significativas entre sí ($p<0,05$). / Counts with different letters in each column are significantly different among themselves ($p<0,05$).

Se muestran los promedios ($n=3$) con el respectivo intervalo de confianza ($\alpha=0,05$). / Values shown are means ($n=3$) with corresponding confidence interval ($\alpha=0,05$).

Discusión

Con base en lo observado durante las visitas, se esperaba que el tomate de la finca de cultivo convencional presentara recuentos microbiológicos más elevados que la finca orgánica, debido a que, en agricultura a campo abierto, existe una mayor exposición de los cultivos al ambiente, respecto a la producción dentro de un invernadero. El cultivo a campo abierto podría implicar mayores recuentos microbiológicos, ya que las bacterias aerobias mesófilas y los mohos y levaduras evaluados, se encuentran distribuidos en el ambiente (Ramírez Vargas & Nienhuis, 2012). Al no darse estas diferencias, se evidencia el impacto que podrían tener las prácticas de cultivo

sobre la carga microbiana de los alimentos. Estudios similares han obtenido recuentos totales aerobios mesófilos para tomate de cultivo convencional de 4 log UFC/g (Ocaña-de Jesús et al., 2015), 2,9 log UFC/g (Hernández Yépez, 2013), 2 log UFC/g (AL-Zenki et al., 2008) y 3,89 log UFC/g (Khadka et al., 2017). Al comparar dichos valores con los encontrados en la presente investigación, los tomates analizados presentaron recuentos similares a los reportados en la literatura (AL-Zenki et al., 2008; Hernández Yépez, 2013; Ocaña-de Jesús et al., 2015).

En repollo, el recuento de mesófilos aerobios fue el resultado de mayor magnitud en un rango de 5-6 log UFC/g y 3-7 log UFC/g para el cultivo orgánico y convencional, respectivamente, lo cual es esperado para productos que son cultivados cerca del suelo (Chaturvedi et al., 2013). En productos frescos se han reportado recuentos aerobios mesófilos de hasta 7 log UFC/g en matrices enteras de repollo y lechuga en un estudio realizado en Pakistán (Sair et al., 2017). Se han reportado recuentos de 6 log UFC/g en repollo muestreado de nueve diferentes ubicaciones en fincas rurales de Bangladesh (Hasibur et al., 2016), lo cual coincide con lo obtenido en el presente estudio.

Para la zanahoria, se obtuvieron recuentos de mesófilos aerobios de 2,9-4,4 log UFC/g, los cuales son menores a los reportados en la literatura. Un estudio de India reportó valores de 4-7 log UFC/g en zanahorias en la cadena de distribución (Gosh et al., 2004) y otros autores encontraron 7,8 log UFC/g en zanahorias en España (Abadias et al., 2008). Por otro lado, un estudio que comparó zanahoria de cultivo convencional con zanahoria de cultivo orgánico reportó resultados de 5,57 log UFC/g y 6,29 log UFC/g, respectivamente. En este último, el RTA de la zanahoria convencional fue significativamente menor al de la zanahoria orgánica (Kuan et al., 2017), lo cual no sucedió en la zanahoria de las fincas analizadas en Costa Rica.

Las muestras de zanahoria y tomate de las fincas obtuvieron valores promedios de RTA menores a los 5 log UFC/g establecidos en la NOM-093-SSA1-1994 para frutas y hortalizas frescas, lo que indica que cumplen con dicho parámetro de calidad microbiológica (Poder Ejecutivo Federal, 1995). Por el contrario, las muestras de repollo superaron este valor, lo que puede comprometer su calidad microbiológica y vida útil (da Silva et al., 2019).

Los recuentos de mohos y levaduras obtenidos en este estudio variaron entre 2 y 4 log UFC/g. En la literatura se han encontrado recuentos de mohos y levaduras en repollo de 2 a 6 log UFC/g (Hasibur et al., 2016; Kim & Cheigh, 2022; Sair et al., 2017) y para zanahoria de 5 a 6 log UFC/g (Abadias et al., 2008; Kuan et al., 2017), al analizar zanahoria tanto convencional como orgánica. Estudios relacionados con tomate convencional han indicado valores de 2,9 log UFC/g (Hernández Yépez, 2013), 2 log UFC/g (AL-Zenki et al., 2008) y 5,65 log UFC/g (Khadka et al., 2017). De acuerdo con estos datos, los recuentos obtenidos en las fincas analizadas en Costa Rica se asemejan a los de otros autores alrededor del mundo.

El bajo recuento de dichos microorganismos de deterioro en las muestras analizadas, indica que la vida útil es aceptable y que estas hortalizas son de buena calidad microbiológica (Campuzano et al., 2015).

En el invernadero de la finca orgánica, las plantas de tomate se encuentran cerca de la puerta y alrededor de la estructura hay un terreno con otros cultivos, así como animales de ganadería. Tanto los cultivos como los animales presentes contribuyen con la carga microbiológica detectada en el ambiente de este invernadero. En contraste, la finca de cultivo convencional cultiva el tomate a campo abierto y protegido durante la época lluviosa con una cubierta plástica. La zanahoria y el repollo también se cultivan a campo abierto. Es así como el diseño del espacio de siembra podría afectar la carga microbiana de las hortalizas, por el movimiento aéreo de las esporas de mohos y de las levaduras (Okushima et al., 2004).

Existen otros factores que podrían afectar la carga de mohos y levaduras presentes en los cultivos como, por ejemplo, el tipo de abono empleado. Si se usan abonos orgánicos que no hayan sido compostados de acuerdo con las buenas prácticas de agricultura orgánica, estos podrían introducir microorganismos no deseados a los cultivos (Garro Alfaro, 2016). En el caso de la finca orgánica, se utiliza estiércol como abono, mientras que en las fincas convencionales, se utilizan abonos químicos, con la excepción de la de repollo, que utiliza abono orgánico compostado y procedimientos estandarizados que cumplen con las buenas prácticas de agricultura orgánica en lo que se refiere a producción de este abono. Por lo tanto, con base en los recuentos de mohos y levaduras obtenidos

para estas fincas, se presume que el uso de los abonos químico y orgánico no aportan una carga importante de mohos y levaduras a las hortalizas analizadas.

Para coliformes totales, los resultados obtenidos para las fincas de cultivo convencional y orgánico concuerdan con los estudios de otros autores, los cuales se describen a continuación. Se han reportado 3,5 log UFC/g (Ocaña-de Jesús et al., 2015) y 3,89 log UFC/g (Khadka et al., 2017) de coliformes totales en tomate de cultivo convencional; así como entre 5 y 6 log UFC/g en repollo (Sair et al., 2017) y entre 3 y 6 log UFC/g en zanahoria, tanto convencional como orgánica (Kuan et al., 2017). Se obtuvieron resultados similares al analizar las hojas externas e internas del repollo, con recuentos entre 1,5 y 2 log UFC/g (Song et al., 2019), mientras que otro estudio determinó que los recuentos de coliformes totales eran de menos de 1 hasta 4,5 log UFC/g (Johnston et al., 2006). Además, para frutas y hortalizas mínimamente procesadas, es usual encontrar recuentos de coliformes totales de 0,7 a 6 log UFC/g y si este valor es menor a los 4 log UFC/g, se considera de calidad microbiológica óptima (Khadka et al., 2017), valor que corresponde con los resultados obtenidos en esta investigación. Los resultados de coliformes totales del presente estudio son un indicador de buenas condiciones higiénicas durante el cultivo de las hortalizas convencionales y orgánicas analizadas (Bolaños Alfaro, 2002).

En ninguna de las muestras se detectó *E. coli*, cuya presencia indica contaminación fecal y potencial presencia de patógenos de origen entérico, tales como *Salmonella* sp. (Bolaños Alfaro, 2002). Al estar ausente *E. coli* genérica, hay una baja probabilidad de que las hortalizas estudiadas tengan presencia de *Salmonella* sp. o de *E. coli* O157:H7, las cuales, de acuerdo con el RTCA 67.04.50:17 (Presidencia de la República et al., 2018), deben estar ausentes. Bajo condiciones adecuadas de cultivo los resultados para el recuento de *E. coli* son menos de 10 log UFC/g, tal y como se evidencia en el estudio de Johnston et al. (2006).

Ninguna de las muestras de zanahoria, tomate y repollo de las fincas de cultivo convencional y orgánico evaluadas presentaron *L. monocytogenes*. Al ser esta bacteria un microorganismo ubicuo y ligado a brotes de origen alimentario por contaminación de hortalizas mínimamente procesadas (Zarkani et al., 2019), la ausencia de dicho patógeno en las muestras analizadas, evidencia una adecuada manipulación de estos cultivos y un control eficaz de las condiciones agrícolas por parte de estas fincas. En contraste con lo anterior, otros estudios de diferentes países reportaron presencia de *L. monocytogenes* en muestras de tomate, repollo y zanahoria (Ajayeoba et al., 2015; Kayode & Oko, 2022; Martín Alva, 2007; Pérez Rodríguez & Chávez Castillo, 2012; Prazak et al., 2002; Ramírez Mérida et al., 2009).

La detección de *Listeria* sp. en las muestras de zanahoria de cultivo convencional indica que en el terreno existen todas las condiciones ambientales necesarias para que *L. monocytogenes* también pueda desarrollarse, dada la similitud entre especies del mismo género en cuanto a requerimientos de crecimiento. *Listeria* sp. está distribuida en la naturaleza y puede sobrevivir períodos prolongados en los suelos de cultivo (Townsend et al., 2021). Ciertas intervenciones como el minimizar el potencial de contaminación precosecha y un mejor entendimiento de la ecología de los patógenos puede minimizar la aparición de brotes asociados con *L. monocytogenes* (Erickson, 2010).

Un estudio demostró que la frecuencia de las lluvias afecta la presencia de *L. monocytogenes* en los campos, ya que se obtuvo un mayor recuento 24 h después de la lluvia o la irrigación, por lo que se puede disminuir la incidencia de esta al evitar el riego antes de la cosecha y cosechar posterior a fuertes lluvias (Pang et al., 2017). Además, se encontró mayor prevalencia de *Listeria* sp. en hortalizas en época lluviosa (Ajayeoba et al., 2015). En el presente estudio las muestras fueron tomadas en época lluviosa, lo que podría contribuir con este resultado; sin embargo, esto no explica la presencia de *Listeria* sp. en la finca de cultivo convencional y la ausencia en la finca de cultivo orgánico.

Las herramientas y las cajas no desinfectadas de forma correcta o incluso los trabajadores que pudieron estar en contacto con un área contaminada y que después estuvieron presentes en la finca, pueden ser una de las causas de la contaminación con *Listeria* sp., si se considera que la bacteria puede persistir en superficies hasta por 100 días, contrario a otras bacterias como las cepas patógenas de *E. coli* (Olaimat & Holley, 2012).

Otra de las razones que explica la presencia de *Listeria* sp. en la finca de cultivo convencional de zanahoria, es que los animales salvajes y domésticos, mamíferos, aves, reptiles e insectos, son fuentes directas de bacterias patógenas en ambientes agrícolas. Por ejemplo, se ha detectado que aves que beben de alcantarillas son capaces de introducir *Listeria* sp. y bacterias entéricas a otros terrenos (Miceli & Settanni, 2019). También, estudios evaluaron la prevalencia, persistencia y/o diversidad de *Listeria* sp. en el entorno natural y/o de producción al aire libre (fincas). Los resultados demostraron que la prevalencia de *Listeria* sp. varió entre no detectado y 46,81 % (Townsend et al., 2021). Por lo tanto, es necesario reforzar las buenas prácticas de agricultura en la finca de cultivo convencional para evitar la propagación de *Listeria* sp. en la zanahoria (FDA, 2017).

Conclusiones

Luego de analizar muestras de tomate, zanahoria y repollo de fincas modelo (tres de producción convencional y una de producción orgánica), durante la época lluviosa, se concluye que los recuentos que caracterizan la calidad microbiológica, en general, fueron similares para ambos sistemas de producción.

Los resultados evidenciaron que las fincas estudiadas cultivan sus hortalizas en condiciones adecuadas e higiénicas, ya que, si no existiera el control apropiado, se detectaría contaminación fecal y recuentos elevados en las muestras. Además, con base en los resultados obtenidos, se puede concluir que las hortalizas estudiadas no presentaron peligro por presencia de *L. monocytogenes* y que, en general, tuvieron cargas microbianas afines a los lineamientos de la normativa y a los demás estudios reportados a nivel mundial.

Los resultados permitieron obtener información que hasta ahora no estaba disponible sobre la microbiología de zanahoria, tomate y repollo, producidos en agricultura convencional y orgánica en Costa Rica. Por lo tanto, se considera que la información recopilada es de valor, tanto para los productores nacionales (como insumo para orientar sus procesos), como para los consumidores.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Susana Méndez Morales por su participación en la ejecución de los experimentos relacionados con zanahoria. Este estudio fue financiado con fondos del Proyecto 735-B8-040 “Evaluación del efecto de las prácticas de cultivo, cosecha y poscosecha en Costa Rica sobre la calidad microbiológica de hortalizas” inscrito en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

Referencias

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., & Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1–2), 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013>
- Adams, M. R., Moss, M. O., & McClure, P. (2016). *Food microbiology* (4th ed.). The Royal Society of Chemistry.
- Aftab Uddin, M., Wali Ullah, M., & Noor, R. (2012). Prevalence of *Vibrio cholerae* in human-, poultry-, animal excreta and compost samples. *Stamford Journal of Microbiology*, 2(1), 38–41. <https://doi.org/10.3329/sjm.v2i1.15213>
- Ajayeoba, T. A., Atanda, O. O., Obadina, A. O., Bankole, M. O., & Adelowo, O. O. (2015). The incidence and distribution of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat vegetables in South-Western Nigeria. *Food Science & Nutrition*, 4(1), 59–66. <https://doi.org/10.1002/fsn3.263>

- AL-Zenki, S. F., AL-Mazeedi, H. M., AL-Hooti, S. N., AL-Ati, T., AL-Matawah, Q., Alomirah, H. F., & Sidhu, J. (2008). Characterization of quality and safety of tomatoes sold in the state of Kuwait. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 1(3), 298–311. <https://doi.org/10.1504/IJPTI.2008.021464>
- Association of Official Agricultural Chemists. (2005). Microbiological methods. Coliforms. *Escherichia coli*. In W. Horwitz, & G. W. Latimer (Eds.), *Official Methods of Analysis of AOAC International* (AOAC official method 991.14, 18th ed.). AOAC International.
- Bolaños Alfaro, S. E. (2002). *Recuento microbiológico y presencia de enteropatógenos en vegetales cultivados y comercializados en el Área Metropolitana* [Tesis de licenciatura, Universidad de Costa Rica]. Repositorio Kerwa. <https://hdl.handle.net/10669/16783>
- Bosona, T., & Gebresenbet, G. (2018). Life cycle analysis of organic tomato production and supply in Sweden. *Journal of Cleaner Production*, 196, 635–643. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.087>
- Campuzano, F. S., Mejía Flórez, D., Madero Ibarra, C., & Pabón Sánchez, P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá DC. *Nova*, 13(23), 81–92. <https://doi.org/10.22490/24629448.1708>
- Consejo Nacional de Producción. (2016). *Análisis y monitoreo de mercados: Tomate*. https://www.cnp.go.cr/sim/sector_agricola/Hortalizas/tomate/Analisis_de_Mercado/2016/M_tomate_01_08-11-16.pdf
- Chaturvedi, M., Kumar, V., Singh, D., & Kumar, S. (2013). Assessment of microbial load of some common vegetables among two different socioeconomic groups. *International Food Research Journal*, 20(5), 2927–2931. [http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20\(05\)%202013/52%20IFRJ%2020%20\(05\)%202013%20Chaturvedi%20131.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20(05)%202013/52%20IFRJ%2020%20(05)%202013%20Chaturvedi%20131.pdf)
- da Silva, N., Taniwaki, M., Junqueira, V., Silveira, N., Okazaki, M., & Gomes, R. (2019). *Microbiological examination methods of food and water* (2nd ed.). CRC Press.
- Dávila-Aviña, J. E., Ríos-López, A., Aguayo-Acosta, A., & Solís-Soto, L. Y. (2020). Probiotics in fresh-cut produce. In M. Wasim Siddiqui (Ed.), *Fresh-cut fruits and vegetables* (pp. 205–223). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816184-5.00010-0>
- do Prado Vilarin, S., Rocha Teixeira, T. M., Gonçalves Lima, C. M., Pamplona Pagnossa, J., Mendoça de Figueiredo, R., Cardoso Medeiros, U. B., & Ferreira Santana, R. (2020). Effect of sanitization on minimally processed cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Research, Society and Development*, 9(6), Article e59963467. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i6.3467>
- El-Hage Scialabba, N., & Hattam, C. (Eds.) (2003). *Agricultura Orgánica, Ambiente y Seguridad Alimentaria*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. <https://www.fao.org/3/y4137s/y4137s00.htm#Contents>
- Erickson, M. C. (2010). Microbial risks associated with cabbage, carrots, celery, onions, and deli salads made with these produce items. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 602–619. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00129.x>
- Erkmen, O., & T. F. Bozoglu. (Eds.). (2016). *Food microbiology: Principles into practice*. John Wiley & Sons, Ltd.
- García-Barquero, M. E. (2015). Análisis del comportamiento de mercado en las ferias del agricultor de la Gran Área Metropolitana. *Tecnología en Marcha*, 29(1), 83–95. <https://doi.org/10.18845/tm.v29i1.2541>
- Garro Alfaro, J. E. (2016). *El suelo y los abonos orgánicos*. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F04-10872.pdf>

- Gosh, M., Ganguli, A., & Mudgil, S. (2004). Microbiological quality of carrots used for preparation of fresh squeezed street vended carrot juices in India. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 2(2), 143–145. <https://www.wfpublisher.com/Abstract/181>
- Hasibur, R., Farahnaaz, F., Md. Sajjad, A., Kamal, K. D., & Rashed, N. (2016). Demonstration of the source of microbial contamination of freshly cultivated cabbage, cauliflower, potato and squash collected from rural farms of Bangladesh. *International Food Research Journal*, 23(3), 1289–1295. [http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20\(03\)%202016/\(52\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20(03)%202016/(52).pdf)
- Hernández Yépez, J. N. (2013). *Caracterización físico-química y microbiológica del tomate margariteño (Lycopersicon esculentum var. España) y evaluación de la efectividad de tratamientos de pre-ensado para el incremento de su vida comercial a temperatura ambiente* [Tesis de doctorado, Universidad de Córdoba]. Helvia: repositorio institucional de la Universidad de Córdoba. <http://hdl.handle.net/10396/9925>
- Hirotnani, H., Naranjo, J., Moroyoqui, P. G., & Gerba, C. P. (2006). Demonstration of indicator microorganisms on the surface of vegetables on the market in the United States and Mexico. *Journal of Food Science*, 67(5), 1847–1850. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08733.x>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2015). *Resultados generales. VI Censo Nacional Agropecuario*. <https://www.inec.cr/censos/censo-agropecuario-2014>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2018). *Encuesta Nacional Agropecuaria 2018*. <http://sistemas.inec.cr/pad5/index.php/catalog/243>
- Jaramillo, J., Rodríguez, V. P. Guzmán, M., Zapata, M., & Rengifo, T. (2007). *Producción de tomate bajos condiciones protegidas* (Manual Técnico). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. <http://www.fao.org/3/a1374s/a1374s00.htm>
- Johnston, L. M., Jaykus, L. -A., Moll, D., Anciso, J., Mora, B., & Moe, C. L. (2006). A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. *International Journal of Food Microbiology*, 112(2), 83–95. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.05.002>
- Khadka, R. B., Marasini, M., Rawal, R., Gautam, D. M., & Acedo, A. L. (2017). Effects of variety and postharvest handling practices on microbial population at different stages of the value chain of fresh tomato (*Solanum lycopersicum*) in Western Terai of Nepal. *BioMed Research International*, 2017, Article 7148076. <https://doi.org/10.1155/2017/7148076>
- Kayode, A. J., & Okoh, A. I. (2022). Incidence and genetic diversity of multi-drug resistant *Listeria monocytogenes* isolates recovered from fruits and vegetables in the Eastern Cape Province, South Africa. *International Journal of Food Microbiology*, 363, Article 109513. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109513>
- Kim, M. -J., & Cheigh, C. -I. (2022). Microbiological contamination of fresh-cut produce in Korea. *Food Science Biotechnology*, 31, 79–87. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-01014-7>
- Kuan, C. -H., Rukayadi, Y., Ahmad, S. H., Wan Mohamed Radzi, C. W. J., Thung, T. -Y., Premarathne, J. M. K. J. K., Chang, W. -S., Loo, Y. -Y., Tan, C. -W., Ramzi, O. B., Mohd Fadzil, S. N., Kuan, C. -S., Yeo, S. -K., Nishibuchi, M., & Radu, S. (2017). Comparison of the microbiological quality and safety between conventional and organic vegetables sold in Malaysia. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 1433. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01433>
- Kyanko, M. V., Russo, M. L., Fernández, M., & Pose, G. (2010). Efectividad del ácido peracético sobre la reducción de la carga de esporas de mohos causantes de pudrición poscosecha de frutas y hortalizas. *Información Tecnológica*, 21(4), 125–130. <http://doi.org/10.4067/S0718-07642010000400016>

- León, J. S., Jaykus, L. -A., & Moe, C. L. (2009). Food safety issues and the microbiology of fruits and vegetables. In N. Heredia, I. Wesley, & S. García (Eds.), *Microbiologically safe foods* (pp. 255–290). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470439074.ch12>
- López Marín, L. M. (2012, setiembre 14-16). *Actualidad de la agrocadena del cultivo de tomate (Solanum lycopersicum)* [Presentación en congreso]. Segundo Congreso Nacional del Cultivo de Tomate, Pérez Zeledón, Costa Rica. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/A50-5910.pdf>
- Lotter, D. (2015). Facing food insecurity in Africa: why, after 30 years of work in organic agriculture, I am promoting the use of synthetic fertilizers and herbicides in small-scale staple crop production. *Agriculture and Human Values*, 32, 111–118. <https://doi.org/10.1007/s10460-014-9547-x>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., & Clark, D. P. (2009). *Brock. Biología de los microorganismos* (12th ed.). Pearson.
- Marín Céspedes, S. (2015). *Comparación de un Andisol manejado convencional y orgánicamente mediante la respuesta de la papa en invernadero a prácticas de fertilización convencional, orgánica y de aplicación de solubilizadores de fósforo* [Tesis de licenciatura, Universidad de Costa Rica]. Repositorio Kerwa. <https://hdl.handle.net/10669/76801>
- Martín Alva, E. A. (2007). *Listeria monocytogenes en repollo y lechuga como vehículos de transmisión de listeriosis humana. Mercados La Hermelinda, Central y Palermo de Trujillo, Perú* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio de la Universidad Nacional de Trujillo. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/5786>
- Miceli, A., & Settanni, L. (2019). Influence of agronomic practices and pre-harvest conditions on the attachment and development of *Listeria monocytogenes* in vegetables. *Annals of Microbiology*, 69, 185–199. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-1435-6>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2008). *Buenas prácticas agropecuarias*. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/P01-4955.PDF>
- Ocaña-de Jesús, R. L., Gutiérrez-Ibáñez, A. T., Sánchez-Pale, J. R., Mariezcurrena-Berasain, M. D., Velázquez-Garduño, G., Laguna Cerda, A., & Rojas Puebla, I. (2015). Calidad microbiológica del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) producido bajo condiciones de invernáculo en 5 municipios del Estado de México. *Phyton*, 84(1), 45–50. http://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar/vol84-1/Ocania_De_Jesus.pdf
- Okushima, L., Saito, M., Ikeguchi, A., Ishii, M., & Sase, S. (2004). An evaluation of floating dust particles and molds in commercial greenhouses. *Acta Horticulturae*, 639, 359–366. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.639.48>
- Olaimat A. N., & Holley R. A. (2012) Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbiology*, 32(1), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.04.016>
- Pang, H., McEgan, R., Mishra, A., Micallef, S. A., & Pradhan, A. K. (2017). Identifying and modeling meteorological risk factors associated with pre-harvest contamination of *Listeria* species in a mixed produce and dairy farm. *Food Research International*, 102, 355–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.029>
- Pérez Rodríguez, E. G., & Chávez Castillo, M. (2012). Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en tomate, zanahoria, espinaca, lechuga y rabanito, expendidos en mercados de Trujillo, Perú. *Revista Ciencia y Tecnología*, 8(22), 11–21. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/183>

- Poder Ejecutivo Federal. (1995, octubre 10). *Norma oficial mexicana NOM-093-SSA1-1994, bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos*. Secretaría de Gobernación. <https://bit.ly/3yH1xSH>
- Pomareda, F. (2022, mayo 18). *PNUD: Costa Rica usa hasta 8 veces más plaguicidas que los demás países OCDE de América*. Semanario Universidad. <https://semanariouniversidad.com/pais/pnud-costa-rica-usa-hasta-8-veces-mas-plaguicidas-que-los-demas-paises-ocde-de-america/>
- Presidencia de la República, & Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2001, octubre 9). *Reglamento sobre la agricultura orgánica* (N°25834-MAG). Sistema Costarricense de Información Jurídica. <https://bit.ly/3MIInoVy>
- Presidencia de la República, Ministerio de Comercio Exterior, Ministerio de Salud, Ministerio de Agricultura y Ganadería, & Ministerio de Economía Industria y Comercio. (2018, julio 16). *Reglamento técnico centroamericano Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos* (N° 41420 – COMEX – S – MAG – MEIC). Sistema Costarricense de Información Jurídica. <https://bit.ly/3epJqKe>
- Prazak, A. N., Murano, E. A., Mercado, I., & Acuff, G. R. (2002). Prevalence of *Listeria monocytogenes* during production and postharvest processing of cabbage. *Journal of Food Protection*, 65(11), 1728–1734. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.11.1728>
- Programa Integral de Mercadeo Agropecuario. (2016, noviembre). *Análisis del consumo de frutas, hortalizas, pescado y mariscos en los hogares costarricenses*. <http://www.pima.go.cr/wp-content/uploads/2017/07/Analisis-Consumo.pdf>
- Ramírez Mérida, L. G., Morón de Salim, A., Alfieri Graterol, A. Y., & Gamboa, O. (2009). Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de tomates (*Lycopersicon esculentum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) frescos en tres supermercados de Valencia. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(3), 318–324. <https://www.alanrevista.org/ediciones/2009/3/art-13/>
- Ramírez Vargas, C., & Nienhuis, J. (2012). Evaluación del crecimiento y productividad del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) bajo cultivo protegido en tres localidades de Costa Rica. *Revista Tecnología En Marcha*, 25(1), 3–15. <https://doi.org/10.18845/tm.v25i1.172>
- Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos. (2014). *Análisis microbiológico de los alimentos. Metodología analítica Oficial. Microorganismos indicadores* (Vol. 3). <https://bit.ly/3CCcCWe>
- Reganold, J., & Wachter, J. (2020). Agriculture. Organic. In Y. Wang (Ed.), *Terrestrial ecosystem and biodiversity* (2nd ed., Chapter 29, pp. 251–259). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429445651>
- Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2019). Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy*, 9(4), Article 192. <https://doi.org/10.3390/agronomy9040192>
- Sair, A.T., Masud, T., Sohail, A., & Rafique, A. (2017). Microbiological variation amongst fresh and minimally processed vegetables from retail establishments - a public health study in Pakistan. *Food Research*, 1(6), 249–255. <http://doi.org/10.26656/fr.2017.6.060>
- Salfinger, Y., & Tortorello, M. L. (2015). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association. <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222>
- Sánchez López, J. (2017). *Generación de líneas T-DNA de tomate (Solanum lycopersicum) para la identificación de mutantes de inserción alterados en la morfogénesis y el desarrollo vegetal* [Tesis de doctorado, Universitat Politècnica de València]. RiuNet. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/78617>

- Smith, A., Moorhouse, E., Monaghan, J., Taylor, C., & Singleton, I. (2018). Sources and survival of *Listeria monocytogenes* on fresh, leafy produce. *Journal of Applied Microbiology*, 125(4), 930–942. <https://doi.org/10.1111/jam.14025>
- Smoot, L. M., & Pierson, M. D. (2001). Microorganismos indicadores y criterios microbiológicos. In M. P. Doyle, L. R. Beuchat, & T. J. Montville, (Eds.), *Microbiología de los alimentos. Fundamentos y fronteras* (pp. 69–83). Acricbia.
- Song, W. -J., Chung, H. -Y., Kang, D. -H., & Ha, J. -W. (2019). Microbial quality of reduced-sodium napa cabbage kimchi and its processing. *Food Science and Nutrition*, 7(2), 628–635. <https://doi.org/10.1002/fsn3.898>
- Tal, A. (2018). Making conventional agriculture environmentally friendly: moving beyond the glorification of organic agriculture and the demonization of conventional agriculture. *Sustainability*, 10(4), Article 1078. <https://doi.org/10.3390/su10041078>
- Townsend, A., Strawn, L. K., Chapman, B. J., & Dunn, L. L. (2021). A systematic review of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* prevalence, persistence, and diversity throughout the fresh produce supply chain. *Foods*, 10(6), Article 1427. <https://doi.org/10.3390/foods10061427>
- United States Food and Drug Administration. (2017). *Draft guidance for industry: Control of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods* (Document FDA-2008-D-0096). <https://bit.ly/3exwCSa>
- United States Food and Drug Administration. (2022). *Bacteriological analytical manual (BAM)*. <https://bit.ly/3MwMgtq>
- Zarb, J., Ghorbani, R., Koocheki, A., & Leifert, C. (2005). The importance of microorganisms in organic agriculture. *Outlooks on Pest Management*, 16(2), 52–55. <https://doi.org/10.1564/16apl02>
- Zarkani, A. A., Schierstaedt, J., Becker, M., J Krumwiede, J., Grimm, M., Grosch, R., Jechalke, S., & Schikora, A. (2019). *Salmonella* adapts to plants and their environment during colonization of tomatoes. *FEMS Microbiology Ecology*, 95(11), Article fiz152. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz152>