

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León**  
**Facultad de Ciencias Médicas**  
**Carrera Bioanálisis Clínico.**



**Tesis Para Optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis  
Clínico.**

Detección de parásitos y bacterias coliformes en verduras de los diferentes mercados públicos de la ciudad de León.

**Autoras:**

- **Bra. Neddy Consuelo Duarte Martínez.**
- **Bra. Marcia Lissette Escalante Gómez.**

**Tutora:**

- **MSc. Margarita Paniagua**  
**Profesora Titular.**

**Departamento de Microbiología y Parasitología.**  
**Facultad de Ciencias Médicas.**

**León, mayo 2013**

---

## **DEDICATORIA**

A Dios Nuestro Padre Celestial

Nuestros Padres por darnos su apoyo incondicional

A nuestros maestros que estuvieron a cada instante brindarnos su apoyo académico como moral.

---

---

## **AGRADECIMIENTO**

A nuestro Padre Celestial: por haber iluminado nuestra mente y llenarnos de entendimiento para lograr este gran triunfo que es el mejor de nuestras vidas.

A nuestros padres: por ser afortunadas de tenerlos y ser acreedoras de ese amor incondicional que nos fortaleció y nos ayudó a salir adelante con dignidad y grandeza.

A nuestra tutora: por haber dedicado parte de su tiempo y habernos brindado sus conocimientos que de no haber sido por su esmero y dedicación no habiéramos concluido un momento tan importante de nuestras vidas.

Al personal del departamento de Microbiología: por cooperar de manera incondicional en todo lo que necesitamos.

A Dr. Haroldo Argeñal: por ayudarnos y darnos parte de su tiempo para realizar nuestros datos estadísticos.

A nuestros amigos: quienes estuvieron atentos de cada una de las necesidades y dificultades que se nos presentaban.

---

---

## RESUMEN

Las frutas y las verduras poseen mucha importancia en la alimentación y en la variedad de las dietas a nivel mundial, a pesar de la existencia de recomendaciones para la producción de alimentos con la calidad microbiológica posible, la contaminación biológica sigue siendo elevada en los puestos de ventas en diversos expendios de mercados. El presente estudio pretende determinar la presencia de parásitos, bacterias coliformes y enteropatógenas, así como también caracterizar la procedencia y condiciones higiénicas en verduras crudas de los diferentes mercados públicos de la ciudad de León. Se recolectó un total de 150 muestras al azar y por conveniencia de todos los expendios que había en los mercados. Las muestras analizadas fueron sometidas al método de sedimentación de Álvarez y colaboradores para la identificación parasitaria donde sobresalió con un 30 % y un 23% para los mercados de La Estación y de la Terminal respectivamente *Entamoeba coli*, así como se identificó en el mercado de Sutiava un 20 % de *Endolimax nana*.

La identificación bacteriológica se determinó mediante el Método Europeo (Buttiaux y col., 1956) encontrándose la presencia la presencia de *E. coli*. con 25%, 8% y 9% en los mercados La Terminal, La Estación y Sutiava respectivamente, seguidas de *Klebsiella spp.* con 19%, 19% y 15% en La Terminal, La Estación y Sutiava, *Proteus spp.* 3% en La Terminal y *Enterobacter spp.* 3% en el mercado Sutiava. Se recomienda hacer vigilancia por parte de autoridades correspondientes, a los cultivos antes y durante su producción, así como su transporte y almacenamiento con el fin de disminuir el riesgo de contaminación y beneficiar al consumidor con verduras de mejor calidad.

**Palabras Claves:** Bacterias coliformes, Parásitos, Contaminación, Verduras crudas, León.

---

---

## ÍNDICE

<b>CONTENIDO</b>	<b>PAGINA</b>
Introducción.....	1
Justificación.....	4
Planteamiento del problema.....	5
Objetivos.....	6
Marco Teórico.....	7
Diseño metodológico.....	16
Operacionalización de variables.....	19
Resultados.....	21
Discusión.....	29
Conclusión.....	31
Recomendaciones.....	32
Referencias bibliográficas.....	33
Anexos.....	35

---

## INTRODUCCION

Las frutas y las verduras poseen mucha importancia en la alimentación y en la variedad de las dietas a nivel mundial. A pesar de la existencia de recomendaciones para la producción de alimentos con la calidad microbiológica posible, la contaminación biológica sigue siendo elevada en los puestos de ventas en diversas estaciones de mercados.<sup>(1)</sup>

Se han descrito la aparición de brotes de enfermedad en la especie humana como consecuencia del consumo de verduras frescas crudas. En diversos estudios se han encontrado con frecuencia brotes por salmonelosis, disentería bacilar, cólera leptospirosis, hepatitis infecciosa, gastroenteritis víricas y disentería producidas por amebas.<sup>(2)</sup> También se han descrito otras enfermedades menos frecuentes, asociadas a verduras procedentes de tierras de regadío tal como brucelosis, tuberculosis, coccidiosis, ascariasis, cisticercosis, faciolirosis, esquistosomiasis e infestaciones por vermes y tenias.<sup>(2)</sup>

Los parásitos que se transmiten a través de los alimentos que con mayor frecuencia causan enfermedad en el hombre son: *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Giardia lamblia*, *Toxoplasma gondii*, *Isospora belli*, Nematodos como: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Trichinella spiralis*.<sup>(3,4)</sup>

Todos estos brotes de enfermedades relacionados con el consumo de verduras están asociadas con la contaminación superficial de estos vegetales por el agente etiológico como consecuencia de los sistemas utilizados en el cultivo de los mismos o en su tratamiento en balaje y transporte al mercado.<sup>(4)</sup>

Los trastornos gastrointestinales debido a la ingestión de alimentos pueden obedecer a diversas causas, por ejemplo: la ingestión de excesiva cantidad alimentos, alergias carencias nutritivas verdaderos envenenamientos químicos por plantas o animales, toxinas bacterianas e infecciones por microorganismos. Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) de origen bacteriano son las que con mayor frecuencia se reportan a nivel mundial.<sup>(5)</sup>

---

---

El perfil de las causas microbianas de las ETA muestra en la actualidad matices muy singulares. La lista de patógenos se ha incrementado notablemente. <sup>(5)</sup>

En algunos casos se trata de microorganismos recientemente descubiertos, en otros, son microorganismos que perdieron vigencia de acuerdo con los reportes epidemiológicos, pero han resurgido y se informa cada vez con mayor frecuencia, denominados microorganismos emergentes y reemergentes. <sup>(5)</sup>

Algunas enfermedades transmitidas por alimentos, si bien son conocidas, se consideran emergentes porque están ocurriendo con mayor frecuencia y han ocasionado brotes epidemiológicos en varios países poniendo en evidencia la fragilidad de los programas de prevención y control de las ETA. <sup>(5)</sup>

La contaminación por parásitos y bacterias en vegetales está teniendo un gran impacto en todo el mundo, ocasionando brotes epidemiológicos, como los ocurridos en Alemania en el año 2011 producido por *Escherichia coli* (0104:H4) causando grandes números de casos de diarrea. Otro caso se dio en 1994 en España a causa de *Shigella sonnei* por la ingesta de lechugas contaminadas, se confirmaron más del 73 % de casos de infección, los casos de pacientes predominó en adultos. <sup>(12,13)</sup>

Un estudio realizado en Bogotá en el año 2006 demostró la presencia de parásitos intestinales en un 48%. De este resultado el 80% de positividad se encontró en las hortalizas y el 20% restante se halló en las frutas. En cuanto a la inocuidad de los productos en los mercados públicos y privados se demostró que el 52% de los parásitos se encontró en los establecimientos privados y el 48% restante se obtuvo de los establecimientos públicos. <sup>(7)</sup>

La mayoría de los establecimientos de procesamiento de alimentos y los mercados y los lugares de venta en la vía pública de Nicaragua raramente cumplen con las exigencias sanitarias exigidas por las autoridades del MINSA. La incidencia de infecciones gastrointestinales e intoxicaciones alimenticias ocurren como consecuencia de la falta de higiene en la manipulación y procesamiento de los alimentos y después de la preparación de los mismos. <sup>(10)</sup>

---

---

Un estudio reciente realizado en el año 2008 en la ciudad de León reveló un índice de contaminación parasitaria de un 48 % y un índice del 100 % de presencia de bacterias en verduras expendidas en los diferentes mercados de esta ciudad. <sup>(11)</sup>

Tomando en consideración que la contaminación de verduras por parásitos y enteropatógenos bacterianos constituye a posibles causas que tienen un impacto en la salud y que se reconoce cada vez más la importancia del control de seguridad de estas, se propone realizar esta investigación con el objetivo de detectar parásitos, bacterias coliformes y enteropatógenas, a través de análisis convencionales.



## **JUSTIFICACION**

El consumo de frutas y hortalizas es vital para la salud humana puesto que poseen innumerables propiedades alimenticias, son fuente inagotable de vitaminas, minerales, fibra y energía. Sin embargo, por sus características físicas, algunos de estos productos están expuestos a contaminación de tipo biológico y químico, situación que genera un riesgo para la salud humana. Por tales razones, el estudio a realizar es con el propósito de brindar información acerca de la contaminación por parásitos y bacterias coliformes fecales en verduras crudas expandidas en los diferentes mercados públicos (Terminal, Estación y Sutiava de la ciudad de León).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El hallazgo de parásitos y bacterias en verduras es de importancia debido a que puede tener una incidencia negativa en la salud de la población que consumen dichos alimentos, presentándose los síntomas de cada agente parasitario y bacteria en casos graves o crónicos; muchas veces se presentan de manera asintomática, por lo que el huésped o individuo desconoce estar infectados por estos agentes.

Por tales razones se ha planteado:

¿Cuáles son los parásitos y bacterias coliformes fecales más frecuentes en verduras crudas de los diferentes mercados de la ciudad de León?

## **OBJETIVOS:**

### **Objetivo General:**

- ❖ Determinar la frecuencia de parásitos y bacterias coliformes fecales en verduras crudas de los diferentes mercados públicos de La Ciudad de León.

### **Objetivos Específicos:**

- ❖ Identificar los parásitos y bacterias coliformes fecales más frecuentes en las verduras crudas.
  - ❖ Caracterizar la procedencia y las condiciones higiénicas en las que se almacenan las verduras crudas relacionados con los parásitos, bacterias coliformes fecales.
- 
-

## MARCO TEORICO

Los alimentos que consumimos casi nunca se encuentran estériles, sino que contienen asociaciones microbianas cuya composición depende de qué organismo llegan a él y de cómo se multiplican sobreviven e interaccionan en el alimento durante el transcurso del tiempo. <sup>(4)</sup>

Las bacterias requieren determinadas condiciones para multiplicarse rápidamente lo que causa problemas relacionados con la seguridad del alimento. <sup>(4)</sup>

Los factores que influyen en el crecimiento microbiano en los alimentos:

1. Propiedades fisicoquímicas del propio alimento (factores intrínsecos)

- **Nutrientes.** Del mismo modo que los seres humanos los microorganismos son capaces de utilizar los alimentos como fuente de nutrientes y de energía, para multiplicarse y desarrollar su fisiologismo normal. <sup>(5)</sup>
  - **pH.** En general las bacterias crecen con mayor rapidez a pH comprendido entre 6 y 8, las levaduras entre 4.5 y 6, así como los hongos filamentosos entre 3.5 y 4; aunque hay bacterias capaces de crecer a pH bajos como consecuencia de su metabolismo productor de energía, por ej.: lactobacilos y bacterias acéticas. La mayoría de los alimentos cuando menos son ligeramente ácidos. La acidez de un producto puede tener importantes implicaciones tanto en su ecología microbiana como en la rapidez y naturaleza de alteración. <sup>(5)</sup>
  - **Potencial redox.** El potencial redox indica el potencial de oxígeno entre los organismos y es utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es capaz de generar energía y sintetizar nuevas células. Los microorganismos anaerobios requieren valores redox negativos mientras los aerobios necesitan valores positivos. <sup>(5)</sup>
  - **Actividad de agua.** Los microorganismos necesitan de agua libre o disponible para su crecimiento, por lo que los solutos como sal y azúcar así como mecanismos de deshidratación disminuyen el agua disponible y reducen el rango de crecimiento microbiano.
- 
-

- Constituyentes antimicrobianos.
  - Estructuras biológicas. <sup>(5)</sup>
2. Condiciones del ambiente del almacenamiento (factores extrínsecos)
- **Humedad relativa.** El almacenamiento de frutas y hortalizas frescas requiere un control muy cuidadoso de la humedad relativa. Si esta es excesivamente baja en algunas hortalizas disminuirá el contenido de agua y se mustiarán, si excesivamente elevada puede haber condensación y es posible que se inicie su alteración microbiana. <sup>(5)</sup>
  - **Temperatura.** Las bacterias normalmente se limitan a crecer a temperaturas entorno a los 35°C mientras que los mohos los hacen a temperaturas inferiores a 30°C. Cada microorganismo exhibe temperaturas mínimas, máximas y óptimas de crecimiento que van a estar influidas por el pH, la actividad acuosa y la disponibilidad de nutrientes. <sup>(5)</sup>
  - Atmósfera gaseosa

### **Recuento de Coliformes: Técnica del Número Más Probable (NMP)**

Existen dos métodos para la determinación de coliformes fecales. El primero utiliza caldo E.C. Broth con incubación a  $45^{\circ} \pm 0.2^{\circ} \text{C}$  y las siembras se hacen a partir de los tubos de caldo lauril sulfato triptosa gas positivo. El segundo método, ampliamente extendido en Europa (Buttiaux y col., 1956; Guinée y Mossel, 1963), utiliza caldo lactosa bilis(2%) verde brillante con incubación a  $44^{\circ} \pm 0.1^{\circ} \text{C}$ , haciéndose la siembra a partir de los tubos caldo MacConkey gas positivo. Es el método de E.F.W. Mackenzie y col (1948).

---

---

Según los criterios de la comisión internacional de especificaciones microbiológicas (ICMSF) para alimentos se establecieron dos niveles de calidad sanitaria para las hortalizas: Aceptable (apto para el consumo humano), cuando los niveles de coliformes fecales y *Escherichia coli*. (*E. coli*) son inferiores o iguales a  $10^{-3}$  /gr, inaceptable (no apto para consumo humano), cuando los niveles son superiores a  $10^{-3}$ /gr. <sup>(15)</sup>

Los trastornos gastrointestinales debido a la ingestión de los alimentos contaminados pueden obedecer a diversas causas por ej.: la ingestión de excesiva cantidad de alimentos, alergias, carencias nutritiva, verdaderos envenenamiento químicos, por plantas o animales tóxicos, toxinas bacterianas e infecciones por microorganismos. <sup>(6)</sup>

### **Características generales de las bacterias patógenas que con mayor frecuencia se aíslan de los alimentos.** <sup>(4)</sup>

Las ETA de origen bacteriano son las que con mayor frecuencia se reportan a nivel mundial. Dentro de la lista de patógenos que con mayor frecuencia están relacionados con las ETA son:

***Salmonella spp.***: Es una bacteria patógena para el hombre y para muchos animales, siendo la causa más común de ETA en diversos países. <sup>(5)</sup>

Los integrantes de este género son bacilos gram negativos no esporulados oxidasa negativa, pertenecientes a la familia enterobacteriaceae. La mayoría no fermentan la lactosa y son móviles, aerobios o anaerobios facultativos, contiene endotoxinas generalmente son termolábiles, resisten la congelación y alguno agentes químicos. El periodo de incubación de 6 a 72 horas, por lo regular de 12 a 36. Su principal forma de contagio es la vía oral ya sea de manera directa a través de contacto con la heces fecales de personas enfermas o por medio de alimentos (leches y sus derivados, verduras frutas, carnes, huevo o agua contaminada. <sup>(5)</sup>

***Shigella spp.***: Es un microorganismo de distribución mundial patógeno e invasivo para el hombre cuyo genero comprende cuatro especies: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, de las cuales la más frecuentes son S.

---

---

*dysenteriae* y *S. flexneri*. La transmisión es fecal oral directa o indirecta de un paciente o de un portador o por alimentos contaminados ya sea por los portadores o por las moscas las cuales pueden transportar microorganismos a alimentos no refrigerados. <sup>(5)</sup>

***Escherichia coli***: Forma parte importante de la microbiota intestinal del hombre, sin embargo algunas cepas han desarrollado la capacidad de provocar enfermedades por factores de virulencia que poseen tales como; la producción de adhesinas, enterotoxinas, citotoxinas y otras proteínas que le permiten sobrevivir en condiciones ambientales adversas. <sup>(5)</sup>

Existen seis tipos de cepas patógenas de *E. coli*: Enteropatógena(ECEP), Enterotoxigenica(ECET), Enteroinvasiva(ECEI), Enterohemorrágica(ECEH), Enteroadherente(ECEA) y Enteroagregativa(ECEG), siendo considerada una de las bacterias emergentes transmitidas por alimentos más importantes en los últimos años el serotipo el más importante el serotipo *E. coli* 0157:H7 que fermenta la lactosa pero no el sorbitol dentro de 48 horas. No produce glucuronidasas y no se desarrolla a temperaturas superiores a 42°. <sup>(4)</sup>

***Yersinia enterocolitica***: Es una bacteria enteroinvasiva tiene forma de bastón que presenta pleomorfismo significativo. Es un microorganismo gramnegativo no esporulado móvil a 25°C y temperaturas inferiores a 29°C favorecen su crecimiento, es destruida por el proceso de pasteurización, comprende más de 50 serotipos y 5 biotipos de los cuales no todos son patógenos. Factores de virulencia: invasividad, reducción de enterotoxinas, producción de proteínas relacionadas con la captura de hierro, adherencia, resistencia al factor germicida del suero, producción de antígenos. <sup>(5)</sup>

***Vibrio cholerae***: Es un patógeno exclusivo del hombre que pertenece a la familia Vibrionaceae, consiste en bacilos gram negativos, rectos y curvos móviles no esporulados, termolábiles aerobios y anaerobios facultativos como metabolismo oxidativo y fermentativo. Licua la gelatina, descarboxila ornitina no hidroliza la arginina, no utiliza citrato, no fermenta la lactosa o lo hace con retardo de 2 a 8 días es ureasa y sulfhídrico negativo, su crecimiento se favorece por reacciones alcalinas y es halotolerante. <sup>(5)</sup>

---

---

Transmisión: ingestión de agua contaminada con heces de portadores, ingestión de alimentos no refrigerados contaminados por aguas sucias, heces, manos sucias o moscas. <sup>(5)</sup>

***Aeromonas hydrophila***: Bacteria patógena importante participante en la ETA por su capacidad de producir toxinas (endotoxinas, citotoxinas, entotoxinas extracelulares, hemolisinas, y proteasas), no es halófila es ubicua del ambiente acuático, resistente al bióxido de carbono, es móvil, y la producción de gas es dependiente de la temperatura con gran prevalencia de todos los alimentos crudos tanto de origen animal como vegetal. <sup>(5)</sup>

***Staphylococcus aureus***: Es una bacteria perteneciente a la familia microcaceae, consiste en células esféricas (cocos) gram positivas, termolábiles coagulasa positiva, aerobio facultativo inmóvil, no esporulado, resistente a concentraciones relativamente altas de sal producen hemolisis y fermentan el manitol. <sup>(5)</sup>

El hombre es principal reservorio y la intoxicación comienza por la ingestión de un producto alimentario que contiene enterotoxina estaphylococica. <sup>(5)</sup>

***Bacillus cereus***: Es un bacilo gram positivo corto con extremos cuadrados o redondeados forman cadenas cortas, aerobios esporulados con esporas elipsoidales, centrales o subterminales que no distienden el esporangio, es móvil, capaz de hidrolizar el almidón la caseína y la gelatina, no muestran resistencia especial al calor, pero si a la radiación y a los desinfectantes, se aíslan con facilidad en el suelo, polvo, cosechas de cereales, vegetales, pelos de animales, aguas dulces y sedimentos. Se encuentran con mayor frecuencia en cremas, postres, productos cárnicos y vegetales. <sup>(5)</sup>

***Clostridium perfringens***: Es un bacilo recto gram positivo, corto, esporulado, grueso con extremos terminales redondeados, rodeado por una capsula, es inmóvil, es anaerobio, susceptible a temperaturas bajas. Se encuentra entre las bacterias patógenas más ampliamente distribuidas en la naturaleza ya que se encuentra en el suelo, en el intestino del hombre y animales. Puede estar presente en productos lácteos sin pasteurizar, en verduras y cultivos que entran en contacto con la tierra. <sup>(5)</sup>

---

---



### **Parásitos más frecuentes en los alimentos:**

Los parásitos han desarrollado maneras diversas de vivir en el huésped, que los proveen de manera nutricional, pero paradójicamente muy hostiles desde el punto de vista inmunológico, mostrando gran combinación de adaptaciones bioquímicas, fisiológicas y nutricionales, así como en la forma de evadir la respuesta inmune y sus consecuencias.<sup>(5)</sup>

Una vez dentro del huésped, los parásitos superan las defensas del huésped y se establece un equilibrio que provoca un estado de comensalismo, provocando las infecciones mudas o asintomáticas que con el tiempo se hacen aparentes o clínicas.<sup>(5)</sup>

Los parásitos que se transmiten a través de los alimentos y que con mayor frecuencia producen enfermedad en el hombre son: *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, *Isospora belli*, Helmintos: Nematodos como *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiuria*, *Trichinella spiralis*, *Anisakis* spp; Trematodos como *Fasciola hepática*; Cestodos *Taenia saginata*, *Taenia solium*.<sup>(5)</sup>

### **Forma de transmisión de los parásitos en los alimentos:**

En los alimentos la transmisión puede ocurrir por la ingestión de los estados inefectivos de los parásitos que están atrapados en las carnes crudas o pocos cocidos. En muchas ocasiones el parásito puede pasar al alimento por la inadecuada manipulación de portadores asintomáticos que contaminan los alimentos por no cumplir las normas higiénicas personales.<sup>(5)</sup>

En el caso de la contaminación de productos vegetales ocurre a gran escala en países en los que las condiciones higiénicas de depuración de las aguas residuales son deficientes y se utilizan en la irrigación de cultivos hortícolas y frutícolas.<sup>(5)</sup>

Los alimentos implicados con mayor frecuencia en la transmisión de parásitos son: las frutas y verduras contaminadas por ejemplo: lechugas, tomates, pepinos, frambuesa o zumos de frutas sin pasteurizar o cualquier otro alimento que no haya recibido tratamiento adecuado.<sup>(5)</sup>

---

---

A diferencia de las bacterias transmitidas por alimentos, los parásitos no se multiplican en estos y su presencia debe ser detectada por métodos directos, ya que todos no crecen in vitro y es difícil su crecimiento en los medios de cultivo, basta con utilizar técnicas de concentración y tinción apropiadas. <sup>(5)</sup>

***Entamoeba histolytica***: es un parásito cosmopolita sumamente sensible a los cambios de temperatura capaz de colonizar el intestino grueso, con un periodo de incubación de 2 a 4 semanas. La forma de transmisión puede ser directa (a través del contacto con heces infectadas) o indirecta (más frecuentes en zonas con malas condiciones sanitarias), las frutas y verduras pueden contaminarse cuando crecen en tierra fertilizada con excretas humanas, se lavan con agua contaminada o las prepara alguien que este infectada y no cumple las normas de higiene. <sup>(5,14)</sup>

***Giardia lamblia***: se encuentra principalmente en el intestino delgado de sus hospederos, tiene un periodo de incubación de 7 a 13 días, sus quistes son resistentes a la cloración habitual del agua y conservan su viabilidad a 8°C por más de 2 meses, a 21°C hasta un mes y a 37°C cerca de 4 días la congelación y descongelación disminuyen el número de quistes viables pero no los inactiva totalmente, son sensibles a la ebullición, la luz UV y el ozono. Los alimentos crudos como las hortalizas son con frecuencia fuente de contaminantes. <sup>(5)</sup>

***Toxoplasma gondii***: los oocitos pueden sobrevivir en el medio ambiente durante varios meses son muy estables a la desecación, sobreviven en agua de 20 a 22°C más de un año, conservan su vitalidad y patogenicidad a 3 semanas en carnes a más de 4°C y 3 días a -15°C y son sumamente resistentes a los desinfectantes comunes, congelamiento y deshidratación, pero son destruidos por el calor a 70°C durante diez minutos, la humedad de 18 a 22 % los mantiene infectantes durante 14 a 18 días. Las personas pueden infectarse por: ingestión de carne infestada mal cocida o curada, manos o alimentos contaminados por heces de gato. Las deyecciones de gatos sobre verdura y pastos constituyen una importante fuente de enfermedad para los seres humanos con hábitos vegetarianos y animales herbívoros. <sup>(5)</sup>

---

---

***Isospora belli***: es un protozoo coccidio taxonómicamente relacionado con los géneros, *Cryptosporium parvum* y *Cyclospora cayetanensis*, los oocistos extremadamente resistentes al medio ambiente y se mantienen viables durante más de una año, dependiendo de la temperatura y la humedad. <sup>(5,14)</sup>

***Cryptosporidium parvum***: se desarrolla y multiplica en el intestino delgado, puede estar presente en cualquier alimento que haya sido tocado por un manipulador contaminado, agua contaminada, las verduras para ensaladas fertilizadas con estiércol son otra fuente de infección para el hombre. La infectividad del microorganismo se pierde por calentamiento a más de 65°C durante 30 minutos o exposición en buffer salino por 100 días, la congelación de -15 a -20°C por 14 días a -27°C por 5 días inactiva los oocistos, la cloración a niveles normales no los inactiva. <sup>(5,14)</sup>

**Geohelminos**: Los geohelminos *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura* son infecciones intestinales de elevada prevalencia en ciertas regiones subdesarrolladas del mundo, que afectan no sólo el crecimiento sino también el desarrollo cognitivo en los niños afectados. En nuestro medio tienen una baja prevalencia excepto de escolares con necesidades básicas insatisfechas donde las cifras son realmente alarmantes y denuncian la existencia de focos en relación con los cordones de hacinamiento periurbanos con carencias de agua potable y saneamiento deficiente. La contaminación ocurre directamente por geofagia o a través de la ingestión de frutas o verduras que contienen restos de tierra contaminada con materias fecales humanas en las que se eliminan huevos de estos nemátodos, cuyo potencial infectante se desarrolla luego de permanecer en el exterior un tiempo variable con las condiciones del suelo, humedad y temperatura ambiental. <sup>(7,14)</sup>

***Fasciola hepática***: La fascioliasis o distomatosis por *Fasciola hepática* es una zoonosis de alta prevalencia en ganado ovino y bovino con una distribución fundamentalmente focalizada en áreas reducidas de los establecimientos agropecuarios. Tiene discreta relevancia en medicina humana, ya que los casos humanos son esporádicos o accidentales a través de la ingestión de berros silvestres presentándose con eosinofilia masiva acompañada o no de sintomatología digestiva. Este parásito posee un ciclo biológico indirecto que requiere la presencia de caracoles huéspedes intermediarios del

---

---

género *Lymnaea* que viven y se reproducen en zonas permanentemente húmedas como ríos, arroyos, lagos, lagunas, embalses y canales, por lo tanto los periodos lluviosos y cálidos con inundaciones son los más adecuados para generar gran contaminación con metacercarias que se enquistan sobre vegetales, siendo los más riesgosos para la infección humana y animal. <sup>(7)</sup>

## **DISEÑO METODOLOGICO**

**Tipo de Estudio:** Descriptivo de corte transversal.

**Área de Estudio:** Mercados públicos (La Terminal, La Estación y Sutiava de la ciudad de León)

**Período de Estudio:** Julio-Septiembre de 2012.

**Tipo de Muestreo:** No probabilístico por conveniencia.

**Muestra de Estudio:** Al momento del estudio el total de puestos de verdura entre los tres mercados es de aproximadamente 75. Considerando la disponibilidad de material y reactivos de laboratorio a emplear se decidió estudiar los siguientes números de verduras por sitios:

	La terminal	La Estación	Sutiava
<b>Lechugas</b>	14	8	8
<b>Repollos</b>	14	8	8
<b>Tomates</b>	14	8	8
<b>Pepinos</b>	14	8	8
<b>Zanahorias</b>	14	8	8

Para un total de 150 verduras en los tres mercados.

**Método para la recolección de la muestra:** Las muestras (verduras) fueron recolectadas en bolsas plásticas estériles etiquetadas con los datos del tipo de verdura y procedencia de la misma; de tal forma que él o la expendedora deposito directamente en la bolsa que fue abierta y sellada inmediatamente por las autoras, las cuáles fueron trasladadas sin ningún preservante y a temperatura ambiente en un periodo no mayor de dos horas al Campus Medico, Departamento de Microbiología y Parasitología para ser procesadas. Los días de recolección de muestras fueron de lunes a miércoles en el periodo correspondiente del estudio.

---

---

## **Procesamiento de la muestra:**

### **Procedimiento parasitológico:** Método de sedimentación.

Para el análisis parasitológico las verduras fueron sometidas a la metodología de Álvarez y cols. <sup>(1)</sup>

Las verduras se sumergieron en su totalidad en agua estéril contenida en vasos de vidrios previamente esterilizados. Cada producto se introdujo en un vaso precipitado limpio con capacidad para 500 a 1000 ml dependiendo del tamaño de la verdura. Este material se dejó en reposo por 24 horas, para luego de este tiempo retirar las verduras y dejar el agua de nuevo en reposo por una hora. Finalmente se descartó con cuidado las  $\frac{3}{4}$  partes de la solución, luego se tomó 50 ml de la solución restante que se colocaron en un tubo de ensayo cónico para ser centrifugados por diez minutos a 2500 - 3000 r.p.m. posterior a la centrifugación el sobrenadante se decantó y el sedimento fue analizado directamente entre lámina y laminilla sobre una gota de lugol, previamente colocadas en un porta objetos, cuidando que no queden burbujas de aire. Luego fueron examinados al microscopio en 10X y 40X para la identificación de las formas parasitarias. Se hizo la identificación parasitaria (huevos y quistes) de acuerdo las características morfológicas. <sup>(1,14)</sup>

### **Procedimiento bacteriológico:** Método de análisis.

Se dejaron las verduras por una hora en agua esterilizada (mismo recipiente utilizado en el procedimiento parasitológico). Se colocaron 10 ml de muestra a analizar en 90 ml de agua estéril ( $10^{-1}$ ), mezclando el contenido para su homogenización. Se tomó 1 ml de esta primera dilución y se vertió en un tubo que contenía 9 ml de la solución diluyente ( $10^{-2}$ ), mezclando cuidadosamente. Posteriormente se tomó 1 ml de la segunda dilución y se vertió en un segundo tubo que contenía 9 ml de la solución diluyente ( $10^{-3}$ ). <sup>(6,8)</sup>Ver anexo.

Se transfirió 1 ml de la diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  a cada uno de los tres tubos (de 150 x 20 mm), conteniendo tubos de fermentación de Durham invertidos (75 x 10 mm) con 10 ml de Caldo Mac Conkey concentrado Difco N° 2315710 Concentrado. Resultando

---

---

las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ . Se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Se eligió la dilución más alta en la que fueron positivos a la formación de gas los tres tubos, y las dos diluciones superiores más próximas. Si no hubiere ninguna dilución que presentase los tres tubos positivos, se seleccionaron las tres diluciones más altas con algún tubo positivo. <sup>(6,8)</sup>

Para obtener el NMP, se procedió de la siguiente manera. Se seleccionó el número de tubos en los que se confirmó la presencia de coliformes en cada una de las tres diluciones últimas. Se anotó el NMP que correspondía al número de tubos positivos de cada dilución. Por ejemplo. Si los tubos seleccionados corresponden a las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , multiplicar por 10; si las diluciones son  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  multiplicar por 100. Para calcular el NMP de organismos coliformes por gramo de alimento se multiplico el valor que figura en la tabla por 10(ver anexo) <sup>(6)</sup>

De cada tubo positivo de Caldo Mac Conkey concentrado se sembraron dos tubos de verde bilis brillante Oxoid N° 497050 luego se incubaron uno a  $37^{\circ}\text{C}$  (bacterias totales) y otro a  $42^{\circ}\text{C}$  (bacterias fecales). De cada uno de los tubos donde hubo crecimiento se tomó una asada para sembrar en un plato petri con Mac Conkey Oxoid N° 1277955 se incubo por 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . Se escogió una colonia representativa de cada tipo de crecimiento las que se identificaron mediante pruebas bioquímicas convencionales. <sup>(1, 6,9)</sup>

En caso de crecimiento de lactosas negativas se realizara un subcultivo en Agar SS y subsecuente se determinó siguiendo la identificación de enterobacterias. <sup>(9)</sup>

**TSI Oxoid N° 1010407:** Agar hierro tres azúcares o triple azúcares y hierro

**LIA Oxoid N° 781253:** Lisina Hierro Agar

**CITRATO DE SIMONS Merck N° 1.02501.**

**UREA. Oxoid N° 848399**

**MIO Difco N° 273520:** Movilidad, Indol, Ornitina. <sup>(1, 6,9)</sup>

---

---

**PLAN DE ANALISIS:** las muestras obtenidas fueron procesadas en el programa estadístico SPSS versión 15.0 en el que se realizó estadística descriptiva.

### **Operacionalización de variables**

<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Indicador</b>	<b>Escala</b>
Verduras Crudas Seleccionada.	Se refiere a aquellas hortalizas, compuestas por hojas verdes, sin ningún procesamiento de cocción o tratamiento químico, utilizadas e indicadas muchas veces para dietas y alimentaciones saludables por los nutricionistas.	Recolección de muestra.	Lechuga Repollo Pepino Tomate Zanahoria
Procedencia	Origen geográfico de la verdura	Pregunta a expendedores. Reflejada en Ficha	Norte del país. Occidente. Oriente.
Lugar de almacenamiento	Espacio en el cual se encuentran guardadas las verduras.	Observación. Reflejada en Ficha	Canastos Piso Suelo Refrigeración
Periodo de almacenamiento	Tiempo en que han estado guardadas las verduras.	Observación. Reflejada en Ficha	1-3 días 4-6 días 7 a mas
Condiciones de la verdura.	Estado en el que se encuentran.	Apariencia macroscópica	Buena Regular Mala
Parásito.	Seres eucariontes que viven a expensa de otros. Se caracteriza por desarrollar ciclos evolutivos simples y complejos.	Observación microscópica	Presencia Ausencia
Bacterias coliformes.	Las bacterias de los géneros Escherichia, Aerobacter(Klebsiella, Enterobacter) y Paracolobactrum se incluyen en el grupo coliformes o colo-aerogenes que en conjunto se les denomina	Técnica de análisis bacteriológica.	Presencia Ausencia

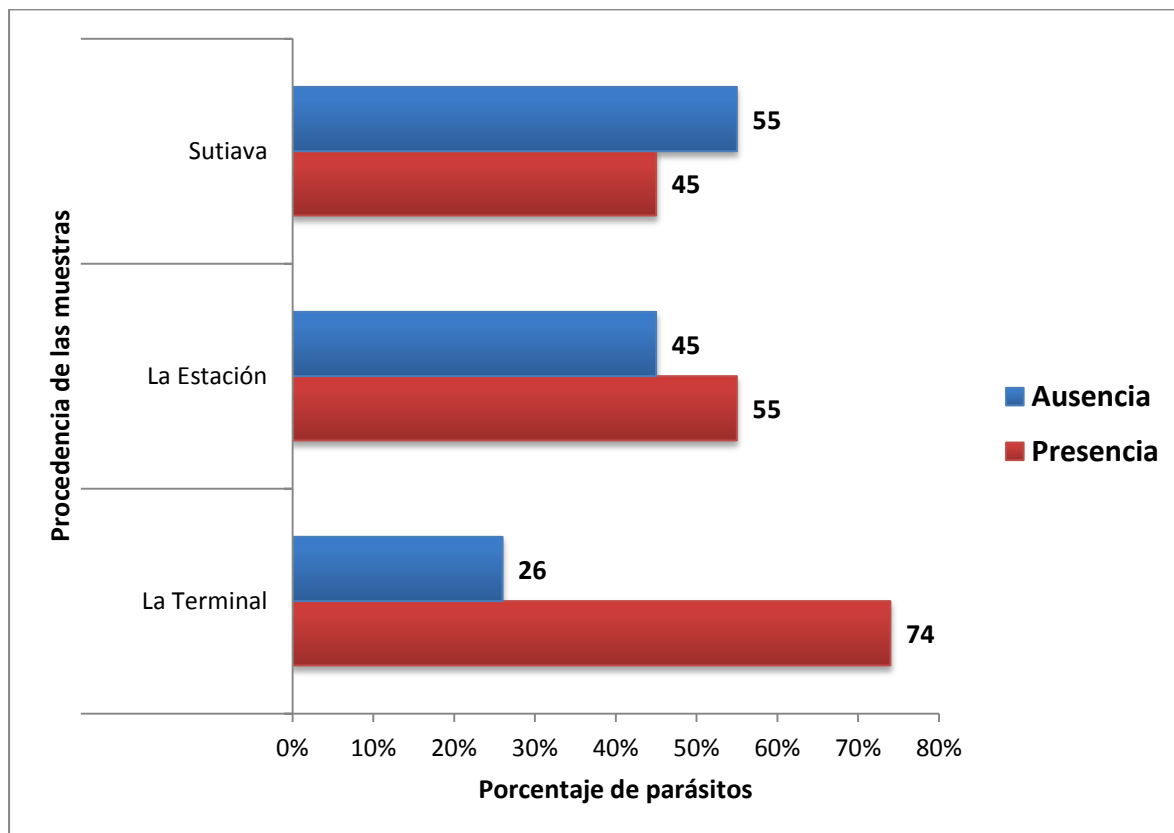


	bacterias coliformes.		
Bacterias Enteropatógenas	En materia de alimentación, las bacterias <b>patógenas</b> son las que, si se encuentran presentes en los alimentos, pueden provocar daño al hospedador.	Técnica de análisis bacteriológica	<i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella spp.</i>
Número Más Probable de Bacteria por cc. (NMP)	Este se realiza para determinar la presencia de coliformes por gramo de alimento	Tabla del NMP	11000 500 200, etc.

## **RESULTADOS**

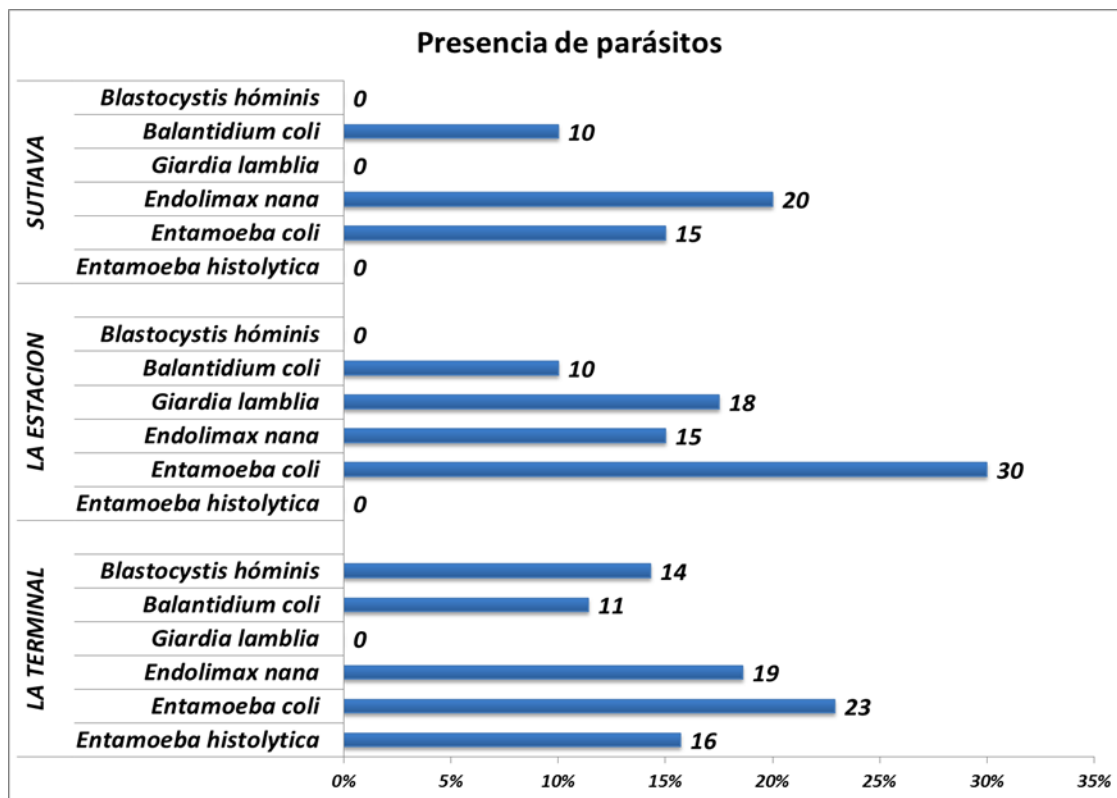
De los tres sitios incluidos para análisis de parásitos en 150 muestras; se encontró la presencia de parásitos en un 74% en La Terminal, 55 % en la Estación, y un 45% en Sutiava.

**Gráfico 1:** Porcentaje presencia y ausencia de los parásitos encontrados por cada uno de los mercados. León. Julio-Septiembre de 2012.



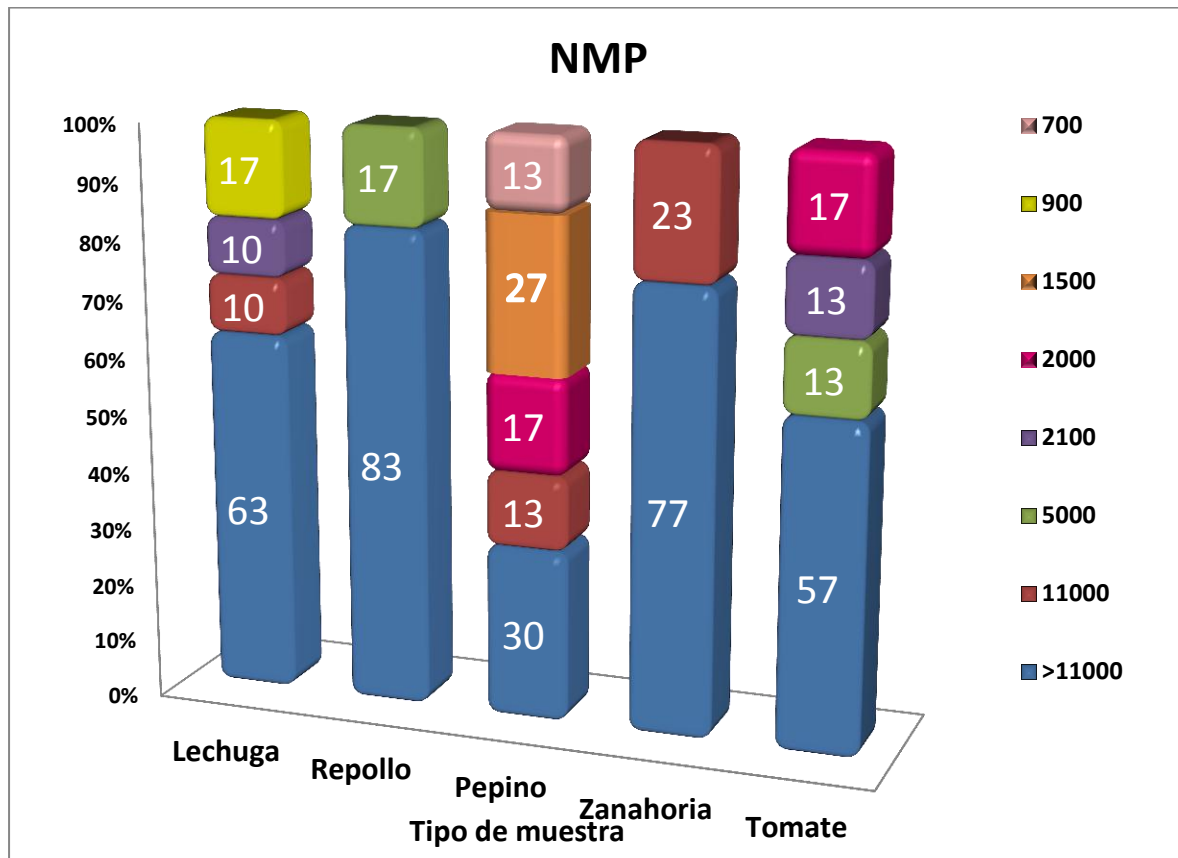
Con respecto al tipo de parásito se encontró *Entamoeba histolytica* con 16% para La Terminal, *Entamoeba coli* con 30 %, 23% y 15% para los mercados de La Estación, La Terminal y Sutiava respectivamente, así como se identificó *Endolimax nana* con 20%, 19% y 15% para Sutiava, La Terminal y La Estación. Se encontró *Giardia lamblia* con 18% para La Estación, seguido de *Balantidium coli* con 11% para La Terminal y 10% para La Estación y Sutiava respectivamente. Se encontró únicamente *Blastocystis hominis* con 14% para la Terminal.

**Gráfico 2:** Porcentaje de parásitos en verduras crudas en los mercados del municipio de León. Julio-Septiembre de 2012.



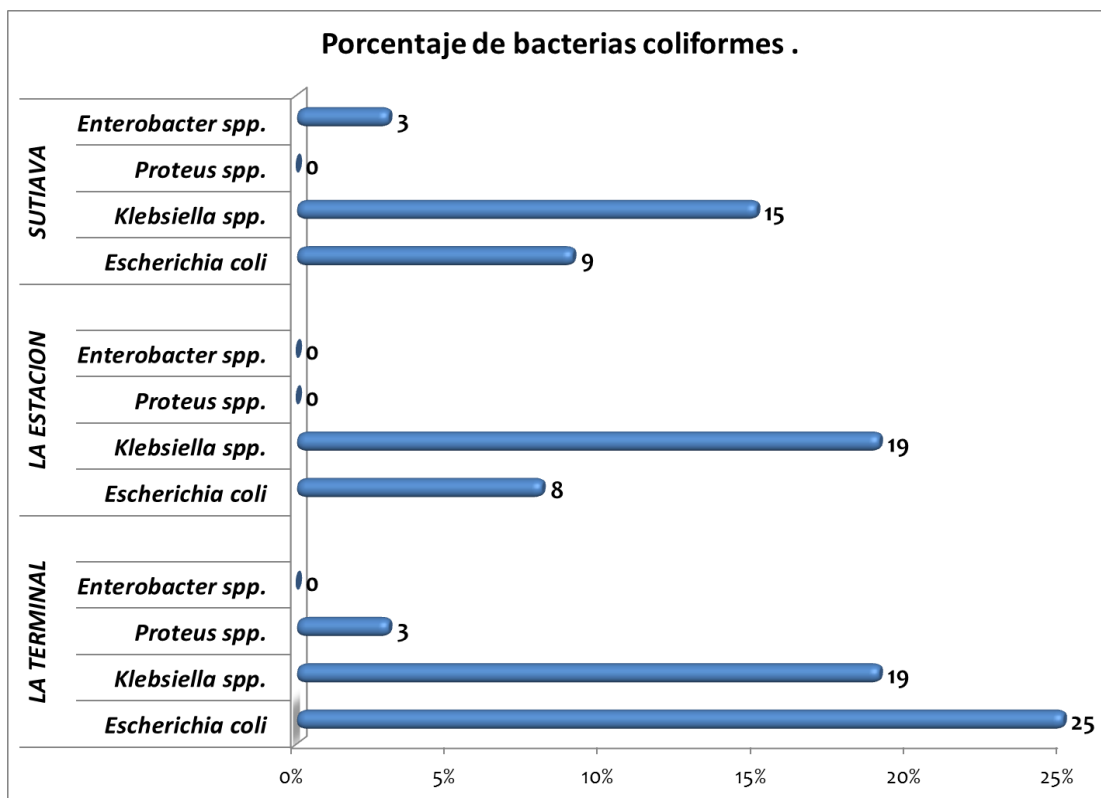
En general el recuento de bacterias resulto con un 100% al analizar las 150 muestras de verduras. En repollos el 83% de las muestras presento el NMP de coliformes fecales con los recuentos mas elevados mayor a (11,000) seguido con 77%, 63%, 57% y 30% en zanahorias, lechugas, tomates y pepinos respectivamente.

**Gráfico 3:** Porcentaje del NMP en verduras crudas expendidas en los mercados del municipio de León. Julio-Septiembre de 2012.



De las bacterias coliformes fecales identificadas la más frecuente fue *E. coli*. con 25%, 8% y 9% en los mercados La Terminal, La Estación y Sutiava respectivamente, seguidas de *Klebsiella spp.* con 19%, 19% y 15% en La Terminal, La Estación y Sutiava . Se encontró *Proteus spp.* 3% en La Terminal y *Enterobacter spp.* 3% en el mercado Sutiava.

**Gráfico 4:** Porcentaje de bacterias coliformes fecales en verduras crudas en los mercados del municipio de León. Julio-Septiembre de 2012.



De las muestras de verduras analizadas en los diferentes sitios de expendio se encontró *Klebsiella* spp. 39 (26%), las cuales correspondían a 18(45%), 12(30%) y 9(12.9%) en los mercados de Sutiava, La Estación y La terminal. También se encontró la presencia de *Entamoeba coli* + *E. coli* spp 21(14%), las cuales correspondían 6(15.0%), 10(14.3%) y 5(12.5%) en los diferentes mercados antes descritos.

**Tabla 1** Distribución porcentual de microorganismos concomitantes en los diferentes sitios de estudio en la ciudad de León. Julio-Septiembre de 2012.

Microorganismos concomitantes	Mercado							
	La Terminal (n=70)		La Estación (n=40)		Sutiava (n=40)		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<i>E. coli</i> spp.	9	(12.9)	6	(15.0)			15	(10.0)
<i>Klebsiella</i> spp.	<b>9</b>	<b>(12.9)</b>	<b>12</b>	<b>(30.0)</b>	<b>18</b>	<b>(45.0)</b>	<b>39</b>	<b>(26.0)</b>
<i>Enterobacter</i> spp.					<b>4</b>	<b>(10.0)</b>	<b>4</b>	<b>(2.7)</b>
<i>Blastocystis</i> <i>hóminis</i> + <i>E. coli</i> spp.	4	(5.7)					4	(2.7)
<i>Blastocystis</i> <i>hóminis</i> + <i>Klebsiella</i> spp.	6	(8.6)					6	(4.0)
<i>Balantidium coli</i> + <i>E. coli</i> spp.	7	(10.0)			4	(10.0)	11	(7.3)
<i>Blantidium coli</i> + <i>Klebsiella</i> spp.	1	(1.4)	4	(10.0)			5	(3.3)
<i>Endolimax nana</i> + <i>E. coli</i> spp	4	(5.7)			4	(10.0)	8	(5.3)
<i>Endolimax nana</i> + <i>Klebsiella</i> spp.	9	(12.9)	3	(7.5)	4	(10.0)	16	(10.7)
<i>Entamoeba coli</i> + <i>E. coli</i> spp.	<b>10</b>	<b>(14.3)</b>	<b>5</b>	<b>(12.5)</b>	<b>6</b>	<b>(15.0)</b>	<b>21</b>	<b>(14.0)</b>
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Klebsiella</i> spp.			3	(7.5)			3	(2.0)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Proteus</i> spp.	5	(7.1)					5	(3.3)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>E. coli</i>	4	(5.7)					4	(2.7)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Entamoeba coli</i> +	2	(2.9)					2	(1.3)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> + <i>Giardia lamblia</i> +			4	(10.0)			4	(2.7)
<i>Endolimax nana</i> + <i>Giardia lamblia</i> + <i>Klebsiella</i> spp.			3	(7.5)			3	(2.0)
							150	(100.0)

Del total de las 150 muestras de verduras analizadas en el estudio se encontró la presencia de *E coli spp.* 15(10%) las cuales corresponden a los pepinos 8(26.7%) y a las lechugas 7(23.3%). También se identificó la frecuencia de *Klebsiella spp* 39(26%) principalmente en Zanahorias 16 (53.3%) y la presencia de *Enterobacter spp.* 4(2.7%) únicamente en tomates con 4(13.3%).

**Tabla 2** Distribución de microorganismos concomitantes respecto a las muestras de verduras crudas expandidas en los mercados del municipio de León. Julio-Septiembre de 2012.

Microorganismos concomitantes	Verdura (n=30)											
	Lechuga		Repollo		Pepino		Zanahoria		Tomate		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<i>E. coli spp.</i>	7	(23.3)			8	(26.7)					15	(10.0)
<i>Klebsiella spp.</i>	6	(20.0)	9	(30.0)	8	(26.7)	16	(53.3)			39	(26.0)
<i>Enterobacter spp.</i>									4	(13.3)	4	(2.7)
<i>Blastocystis hómínis + E. coli spp.</i>					4	(13.3)					4	(2.7)
<i>Blastocystis hómínis + Klebsiella spp.</i>			4	(13.3)	2	(6.7)					6	(4.0)
<i>Balantidium coli + E coli spp.</i>									11	(36.7)	11	(7.3)
<i>Blantidium coli+ Klebsiella spp.</i>									5	(16.7)	5	(3.3)
<i>Endolimax nana + E. coli spp.</i>	4	(13.3)			4	(13.3)					8	(5.3)
<i>Endolimax nana + Klebsiella spp.</i>	1	(3.3)	6	(20.0)			3	(10.0)	6	(20.0)	16	(10.7)
<i>Entamoeba coli + E. coli spp.</i>	9	(30.0)	8	(26.7)					4	(13.3)	21	(14.0)
<i>Entamoeba coli + Klebsiella spp.</i>	3	(10.0)									3	(2.0)
<i>Entamoeba histolytica/ dispar + Proteus spp.</i>							5	(16.7)			5	(3.3)
<i>Entamoeba histolytica /dispar + Entamoeba</i>							4	(13.3)			4	(2.7)
<i>Entamoeba histolytica/dispar + Entamoeba</i>							2	(6.7)			2	(1.3)
<i>Entamoeba histolytica/dispar + Giardia</i>					4	(13.3)					4	(2.7)
<i>Endolimax nana + Giardia lamblia + Klebsiella</i>			3	(10.0)							3	(2.0)
											150	(100.0)

Los parásitos se encuentran en mayor porcentaje en tomates (87%), respecto a la procedencia el occidente y oriente del país presenta un (100 %) de presencia de parásitos en las verduras. Un (64%) de las verduras con presencia de parásitos se encontraban almacenadas en canastos, de acuerdo a las condiciones de las verduras en regular estado un 73% revela presencia de parásitos.

**Tabla 3** Frecuencia de parásitos respecto a las condiciones higiénicas y de procedencia de las verduras crudas expendidas en los mercados del municipio de León. Julio-Septiembre de 2012.

		PARÁSITOS (n=150)			
		PRESENCIA		AUSENCIA	
		N	(%)	N	(%)
<b>Verdura</b>	Lechuga	17	(57)	13	(43)
	Repollo	21	(70)	9	(30)
	Pepino	14	(47)	16	(53)
	Zanahoria	14	(47)	16	(53)
	Tomate	26	(87)	4	(13)
<b>Procedencia</b>	Norte del país	70	(55)	58	(45)
	Occidente	8	(100)	0	(0)
	Oriente	14	(100)	0	(0)
<b>Lugar de almacenamiento</b>	Canastos	84	(64)	48	(36)
	Piso	4	(44)	5	(56)
	Suelo	4	(44)	5	(56)
<b>Período de almacenamiento</b>	1-3 días	92	(61)	58	(39)
<b>Condiciones de la verdura</b>	Regular	69	(73)	26	(27)
	Mala	23	(42)	32	(58)



Se encontró un 73 % de *Klebsiella spp* en repollos, un 67% de *Escherichia coli* en lechuga, *Proteus spp.* con 17% en zanahorias y *Enterobacter spp.* con 13 % en tomates . Respecto a la procedencia un 54% de *Klebsiella spp* en las verduras con procedencia del norte del país, un 50% de *E. coli* en verduras del occidente del país, 35% *Proteus spp.* procedentes del oriente y 3% *Enterobacter spp.* procedentes del norte. Un 89% presento *Klebsiella spp* en verduras almacenadas en el piso, un 56% presento *E. coli* en verduras almacenadas en el suelo, 4% de *Proteus spp.* y 3% de *Enterobacter spp.* en verduras almacenadas en canastos. Se encontró un 52% de *Klebsiella spp.* en verduras con periodo de almacenamiento de 1-3 días. Un 56% representa *Klebsiella spp.* en verduras que se hallaban en malas condiciones.

**Tabla 4** Frecuencia de bacterias fecales respecto a las condiciones higiénicas y de procedencia de las verduras crudas expendidas en los mercados del municipio de León. Julio-Septiembre de 2012.

		Bacterias Fecales (n=150)							
		<i>Klebsiella spp.</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Proteus spp.</i>		<i>Enterobacter spp.</i>	
		n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<b>Verdura</b>	Lechuga	10	(33)	20	(67)	0	(0)	0	(0)
	Repollo	22	(73)	8	(27)	0	(0)	0	(0)
	Pepino	14	(47)	16	(53)	0	(0)	0	(0)
	Zanahoria	21	(70)	4	(13)	5	(17)	0	(0)
	Tomate	11	(37)	15	(50)	0	(0)	4	(13)
<b>Procedencia</b>	Norte del país	69	(54)	55	(43)	0	(0)	4	(3)
	Occidente	4	(50)	4	(50)	0	(0)	0	(0)
	Oriente	5	(36)	4	(29)	5	(35)	0	(0)
<b>Lugar de almacenamiento</b>	Canastos	66	(50)	57	(43)	5	(4)	4	(3)
	Piso	8	(89)	1	(11)	0	(0)	0	(0)
	Suelo	4	(44)	5	(56)	0	(0)	0	(0)
<b>Período de almacenamiento</b>	1-3 días	78	(52)	63	(42)	5	(3)	4	(3)
<b>Condiciones de la verdura.</b>	Regular	47	(49)	43	(46)	5	(5)	0	(0)
	Mala	31	(56)	20	(36)	0	(0)	4	(8)

## DISCUSIÓN

La evidente presencia de parásitos intestinales en los alimentos analizados pudiera deberse al hecho que las muestras fueron procesadas en época lluviosa, así como también en que nuestro país utilizan abonos no aptos y aguas residuales en los cultivos. Es importante resaltar que la presencia de protozoarios no patógenos, tiene importancia epidemiológica, pues demuestra que las verduras crudas no están en óptimas condiciones para el consumo de la población, exponiendo a padecer enfermedades, además de la posibilidad de adquirir potencialmente un parásito patógeno, como *Entamoeba histolytica/dispar*. Estos hallazgos son similares con en el estudio realizado en este mismo municipio por Juana Violeta Ochoa y José Alejandro Selva en el año 2007 quienes revelan un 15% para *Endolimax nana*. Los porcentajes encontrados en nuestro trabajo son similares cuando son comparados con los reportados en otros países<sup>(1)</sup>. Sin embargo no hubo hallazgo de helmintos contrastando con algunos de los estudios realizados en vegetales y hortalizas que muestran un gran número de casos de contaminación por diferentes helmintos, una de las razones que se podría considerar es que en las áreas de cultivo la prevalencia de estos no es elevada debida, posiblemente, a que no existen las condiciones ecológicas para su desarrollo.

Nuestro estudio demuestra que las bacterias encontradas con mayor frecuencia fueron *E. coli.* y *Klebsiella spp* hallazgos que discrepan de los resultados obtenidos por el estudio realizado en este mismo municipio por Juana Violeta Ochoa y José Alejandro Selva en el año 2007 quienes revelan *Enterobacter spp.* con 55% sin hallazgo en su estudio de *Klebsiella spp.*

Un hallazgo significativo en este estudio es el haber encontrado el NMP más alto (>11,000) en repollos que equivale a un 83%, estos datos son similares a los obtenidos en un estudio realizado por Luis López V, José Romero R y Francisco Duarte F en Chile donde revela que los repollos obtuvieron los niveles de contaminación más elevados, considerando que los recuentos fueron entre  $10^{-7}$  y mayor que  $10^{-9}$  ufc/g.

---

---

Según nuestro trabajo refleja que los tomates se encuentran con un 87% de presencia parasitaria, siendo esta la verdura más afectada. Estos hallazgos discrepan de los obtenidos en un estudio realizado por R Monge, M Chinchilla, L Reyes en Costa Rica, donde revela menos de 3% de contaminación por *Cryptosporidium sp.*

Respecto a las bacterias se encontró que un 100% de las verduras están contaminadas con alguna concentración. Esta cifra concuerda con algunos datos del estudio realizado por Luis López V, José Romero R y Francisco Duarte F en Chile que señalan niveles altos para el recuento de enterobacterias y NMP. Detectándose en el 100% de muestras un NMP de coliformes > 1100/g, de ellos un 50% correspondía a coliformes fecales en un rango de 3 a 100/g.

Cuando se estudió la relación entre microorganismos concomitantes, sitios de estudio y muestras de verduras, se encontró una elevada prevalencia de *Klebsiella spp.* 18(45%) en las 40 muestras analizadas en el mercado Sutiava y la presencia de *Entamoeba coli* + *E. coli spp* 6(15%) en este mismo mercado. De las 30 muestras de zanahorias se determinó la presencia de *Klebsiella spp.* en 16(53.3%) y hubo un hallazgo de *Enterobacter spp.* 4(13.3%) únicamente en las muestras de tomates. No se encontró *Giardia lamblia* en ninguna de las muestras analizadas en el mercado La Terminal. La presencia de estos microorganismos en las muestras de estudio evidencia un potencial riesgo que representan las verduras crudas causando enfermedades diarreicas.

En relación a la procedencia, lugar y período de almacenamiento, se encontró con mayor frecuencia *Klebsiella spp.* (54%) en verduras procedentes del norte del país, *Klebsiella spp.* (89%) verduras almacenadas en piso y *Klebsiella spp* (52%) en verduras con un período de almacenamiento de 1 a 3 días, estos hallazgos se debe probablemente a muchos factores como; al empleo de aguas residuales en los cultivos, la mala manipulación y almacenamiento no adecuado en que se encuentran las verduras.

---

---

## **CONCLUSIONES**

- ❖ Las especies parasitarias más frecuentes fueron *Entamoeba coli* (68%) principalmente un (30%) en La Estación y *Giardia lamblia* (18%) en este mismo mercado. *Entamoeba coli* (23) *Endolimax nana* (19) *Entamoeba histolytica/dispar* (16%), *Blastocystis hominis* (14%) y *Balantidium coli* (11%) en el mercado La Terminal. *Endolimax nana* (20%) en el mercado de Sutiava.
  
  - ❖ El NMP de coliformes fecales con el recuento más alto se encontró en repollos (>11,000) (83%).
  
  - ❖ Las bacterias más frecuentes fueron *E. coli*. con (25%), seguida de *Klebsiella spp.* con (19%), *Proteus spp.* y *Enterobacter spp.* con (3%) respectivamente.
  
  - ❖ Los parásitos se encontraron con mayor frecuencia en tomates con (87%).
- 
-

## **RECOMENDACIONES**

- ❖ Dar a conocer los resultados de estudios realizados a las autoridades correspondientes para que se haga vigilancia los cultivos antes y durante su producción así como su transporte y almacenamiento.
  
  - ❖ Es necesario concientizar a la población con medidas profilácticas. Tales como: Higiene en la manipulación de los alimentos, lavar bien las verduras y asegurarse que los alimentos estén en óptimas condiciones, no estén dañadas.
  
  - ❖ Es aconsejable diseñar estudios en los que se evalúen los dos métodos el europeo y el norte americano, para de esta manera poder comparar resultados obtenidos entre cada uno de ellos y a la vez establecer las ventajas entre ellos.
- 
-

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Andrea N., Castillo C., Campuzano S. Estudio piloto de detección de parásitos en frutas y hortalizas expendidas en los mercados públicos y privados de la ciudad de Bogotá D.C. 2006; 77 [Internet] Disponible: [Http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/NOVA/ARTORIG7\\_5.pdf](Http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTORIG7_5.pdf) [Consulta 27 de enero 2012]
  2. W.C.Frazier. Microbiología de los alimentos, Editorial Acribia Zaragoza (España). 2ª edición; 1982. Cap. 9 p.: 103.
  3. Thatcher F. S. y Lark D. S. (ICMSF) Análisis microbiológico de los alimentos, Editorial Acribia, Zaragoza (España). 2ª edición; 1973. p: 47-56
  4. Thatcher F. S. Microorganismos de los Alimentos II. Método de muestreo para análisis microbiológico: principios y aplicaciones específicos, Editorial Acribia, Zaragoza (España); 1981. p: 83-90
  5. Caballero Torres, Ángel E. Temas de higiene de los alimentos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2008. p.: 28-54
  6. B. Moreno, V. Díez y colaboradores. Microorganismos de los alimentos. Técnica de análisis microbiológica volumen I ICMSF. 2ª edición. -Editorial Acribia Zaragoza (España); 1983. p: 128-133
  7. Enfermedades Parasitarias Transmitidas por Alimentos. [Internet] Disponible: <Http://www.bvsops.org.uy/pdf/parasitos.pdf> [Consulta 27 de enero 2012]
- 
-

8. Pascual M., Calderón A. Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. 2ª Edición-Editorial Madrid (España); 2000. P: 13-20.
  9. Manual de procedimientos de Bacteriología Medica. Elaborado por el Equipo Técnico Científico del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) del Ministerio de Salud de Nicaragua. Edición 2004.
  10. Estudio de caso – Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Nicaragua. [Internet] Disponible: <Http://www.bvsde.paho.org/texcom/colera/Nicaragua.pdf> [Consulta 27 de enero 2012]
  11. Ochoa Juana Violeta, Selva José Alejandro. Detección de parásitos en humanos y enterobacterias en verduras distribuidas en los mercados Santos Barcenás (La estación) y mercado la terminal. [Trabajo para optar por el título de Lic. en Bioanálisis Clínico]. 2008 UNAN-León.
  12. Mora A, Herrera A, López C. *Escherichia coli* enteroagregativa O104:H4-ST678 productora de Stx2a. Publicado en *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012; 30:84-9. - vol.30 núm 02.
  13. Kapperud G, Rovix LM, Hasseltvedt V. Outbreak of *Shigella sonnei* infection traced to imported iceberg lettuce. Publicado en *J. Clin. Microbiology* March 1995. Vol. 33 nº3 609-614.
  14. Botero D, Restrepo M. Parasitosis Humana 4ª edición. Editorial CIB.; Medellín, Colombia 2005. p: 15-151.
  15. Monge<sup>1</sup> R., Chinchilla<sup>2</sup> M. y Reyes<sup>2</sup> L. Estacionalidad de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 44(2): 369-375, 1996.
- 
-

**ANEXOS**



**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León**

**Facultad de CC-MM**

**Carrera de Bioanálisis Clínico**

**Ficha de recolección de datos**

Ficha N° \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Mercado \_\_\_\_\_

Puesto del mercado \_\_\_\_\_

Verdura seleccionada \_\_\_\_\_

**I. Procedencia de la verdura:**

Norte  Occidente  Oriente

**II. ¿En qué lugar almacena las verduras?**

Canastos \_\_\_\_\_ Piso \_\_\_\_\_ Suelo \_\_\_\_\_ Refrigeración \_\_\_\_\_

**III. ¿Cuánto tiempo tiene de estar almacenada la verdura?**

De 1 a 3 días \_\_\_\_\_ de 4 a 6 días \_\_\_\_\_ de 7 a mas \_\_\_\_\_

**IV. Condición en la que se encuentra la verdura**

Buena \_\_\_\_\_ Regular \_\_\_\_\_ Mala \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Marcia Escalante

\_\_\_\_\_  
Neddy Duarte

Estudiantes investigadoras de la carrera de Bioanálisis clínico.

## Resultados

Diluciones:	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$

NMP: \_\_\_\_\_

Verde bilis brillante	Positivo	Negativo
A 37°C para bacterias totales.		
A 42°C para bacterias fecales.		

## Pruebas Bioquímicas Realizadas

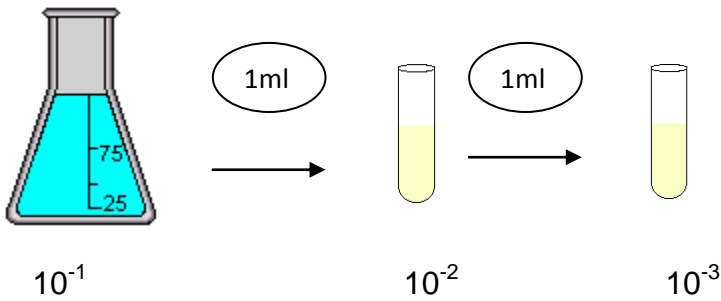
Nombre de la bacteria identificada.	TSI	LIA	CITRATO	UREA	MIO

Bacterias identificadas: \_\_\_\_\_

---

---

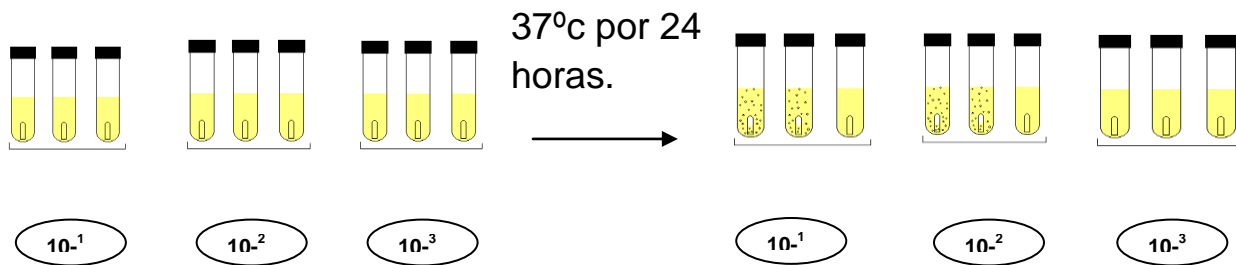
## DETERMINACIÓN DEL NMP DE COLIFORMES EN ALIMENTOS.



Homogenizar la muestra 10 ml con 90.0 ml de solución diluyente

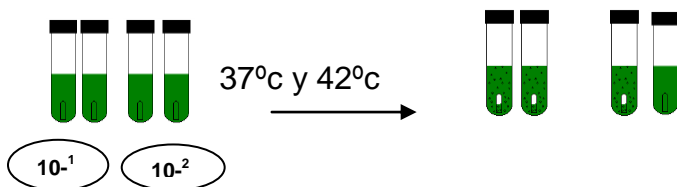
Realizar dos diluciones más en tubos con 9.0 ml solución de

Sembrar por triplicado cada dilución en tubos de caldo Mac Conkey.

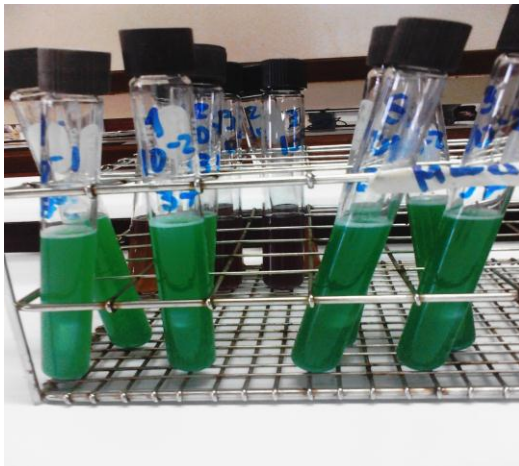


Tubos con 10 ml de Caldo Mac Conkey Concentrado más **1.0 ml** de la muestra.

De cada tubo positivo de Caldo Mac Conkey Concentrado se sembraron dos tubos de verde bilis brillante luego se incubará uno a 37°C (bacterias totales) y otro a 42°C (bacterias fecales)



De cada uno de los tubos donde hubo crecimiento se tomó una asada para sembrar en un plato petri con Agar MacConkey se incubo por 24 horas a 37°C. Posteriormente se realizaron pruebas bioquímicas.



BACTERIAS COLIFORMES

por gramo de alimento, se multiplica el valor que figura en la tabla por 10 (en este ejemplo  $40 \times 10 = 400$  por gramo).

TABLA 6<sup>a</sup>  
Número más probable (NMP) de bacterias; tres tubos por cada dilución<sup>b</sup>

Número de tubos positivos en cada dilución			NMP por gramo	Límites de confianza			
Dilución $10^{-1}$	Dilución $10^{-2}$	Dilución $10^{-3}$		99%		95%	
0	1	0	3	<1	23	<1	17
1	0	0	4	<1	28	1	21
1	0	1	7	1	35	2	27
1	1	0	7	1	36	2	28
1	2	0	11	2	44	4	35
2	0	0	9	1	50	2	38
2	0	1	14	3	62	5	48
2	1	0	15	3	65	5	50
2	1	1	20	5	77	8	61
2	2	0	21	5	80	8	63
3	0	0	23	4	177	7	129
3	0	1	40	10	230	10	180
3	1	0	40	10	290	20	210
3	1	1	70	20	370	20	280
3	2	0	90	20	520	30	390
3	2	1	150	30	660	50	510
3	2	2	210	50	820	80	640
3	3	0	200	<100	1900	100	1400
3	3	1	500	100	3200	200	2400
3	3	2	1100	200	6400	300	4800

a Calculada a partir de los datos de MAN (1975).

b De cada dilución se inoculan tres tubos de medio, cada uno con 1 ml. Para calcular el NMP de diluciones mayores que las que figuran en la Tabla, multiplicar el NMP por el factor adecuado: 10, 100, 1000, etc. Por ejemplo, si los tubos seleccionados corresponden a las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , multiplicar por 10; si las diluciones son  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ , multiplicar por 100.