



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE  
TECNOLOGÍA MÉDICA  
ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA  
PATOLÓGICA**

**“Detección de enteroparásitos en Hortalizas de  
consumo habitual y actividad antihelmíntica de  
*Annona montana* y *Piper aduncum* Julio 2015”**

ESPECIALIDAD

---

**LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

---

AUTOR

---

**LUYO BALCÁZAR, JOHNNY JESÚS**

---

ASESOR

---

**DR. CABELLO VILCHEZ, ALFONSO MARTIN**

---

LIMA – PERÚ

2016



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE  
TECNOLOGÍA MÉDICA  
ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA  
PATOLÓGICA**

**“Detección de enteroparásitos en hortalizas de consumo  
habitual y actividad antihelmíntica de *Annona montana* y  
*Piper aduncum* Julio 2015”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
TECNOLOGO MEDICO CON MENCIÓN EN LABORATORIO  
CLINICO Y ANATOMIA PATOLOGICA.**

**JOHNNY JESUS LUYO BALCAZÁR**

**ASESOR: DR. CABELLO VILCHEZ, ALFONSO MARTIN**

LIMA – PERÚ

2016

# HOJA DE APROBACION

**JOHNNY JESÚS LUYO BALCÁZAR**

**“Detección de enteroparásitos en hortalizas de consumo habitual y actividad antihelmíntica de *Annona montana* y *Piper aduncum* Julio 2015”**

“Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de Licenciado en Tecnología Médica con mención en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica por la Universidad Alas Peruanas”

---

---

---

LIMA – PERÚ

2016

Se dedica este trabajo:

A mis Padres, Humberto y Luisa a mi tía Emilia y familiares por sus consejos que han servido de gran ayuda y su apoyo incondicional en mi vida y han sido los pilares de la formación profesional en todos estos años gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.

A mis profesoras las licenciadas Amparo Garay y Bertha Rojas al Dr. Cesar Fuertes por transmitirme sus diversos conocimientos y guiarme durante el desarrollo de la tesis.

Se agradece por su contribución para el desarrollo de esta tesis a:

El Centro de Salud Santa Magdalena Sofía a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMS y al cuerpo de profesionales que integran su institución por la asesoría y el apoyo constante para hacer posible el presente estudio.

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto. **Materiales y métodos:** Se analizaron un total de 300 muestras de Lechuga (*Lactuca sativa*), proveniente de la Provincia de Canta, Cañete, valle de Chillón y distrito de Huacho. Se evaluó la actividad antinematoda con extracto hidroalcohólico de dos tipos de plantas, hojas de guanábana (*Annona montana*) y matico (*Piper aduncum*) en contra con los huevos y larvas de *Strongyloides stercoralis*. **Resultados:** De las muestras analizadas fueron positivas a protozoos y nemátodes el 55%. *Acanthamoeba spp.* 11% y *Strongyloides stercoralis* 16%. Se utilizó el método de directo y el método de centrifugación. La actividad antihelmíntica con dos tipos de hojas, los extractos de *Piper aduncum* y *Annona montana* a concentraciones altas mostraron ser eficaces a 50%, 25% y 12,5% en la prueba de eclosión de huevos, mientras que en la prueba de motilidad de las larvas a las concentraciones 50%, 25% y 12,5% en el extracto de hoja de *Piper aduncum* fueron completamente inmovilizados a las 14 horas, en los extractos de *Annona montana* mostraron su eficacia inmovilizando las larvas pasadas las 12 horas de exposición. **Conclusiones:** El enteroparásitos potencialmente patógenos encontrado en los diferentes tipos de lechugas fue quiste de *Acanthamoeba spp.* y huevos, larvas de *Strongyloides stercoralis*, también se encontraron amebas y ciliados de vida libre, pero ninguno otro parasito de importancia médica. Los lugares de procedencia con mayor índice de parásitos fueron las provenientes del norte provincia de Canta 70%, seguido del distrito de Huacho 23% y los provenientes de Lima este del valle Chillón 7%. El volumen de lavado se estableció en huevos / Litro, encontrándose 9 huevos de *Strongyloides spp.* que representa el 82% que provienen de la provincia de Canta, seguido del recojo de hojas del suelo con un promedio de 2 huevos / litro 18%, el resto de lugares no se encontraron huevos de parásitos.

**Palabras clave:** Guanábana; matico; actividad antihelmíntica; *Strongyloides stercoralis*.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the frequency of potentially pathogenic intestinal parasites in lettuce sold in a meat market. **Materials and Methods:** A total of 300 samples of lettuce (*Lactuca sativa*), from the Province of Canta, Cañete, Chillón Valley and Huacho district were analyzed. The antinematode activity was evaluated with aqueous alcoholic extract of two types of plants, leaves of soursop (*Annona montana*) and matico (*Piper aduncum*) against the eggs and larvae of *Strongyloides stercoralis*. **Results:** Of the samples tested, 55% were positive for protozoa and nematodes. *Acanthamoeba* spp. 11% and *Strongyloides stercoralis* 16%. Direct method and the centrifugation method were used. The anthelmintic activity with two types of blades, *Piper aduncum* and *Annona montana* extracts showed high concentrations to be effective to 50%, 25% and 12.5% in egg hatch test, while in testing motility of larvae at concentrations of 50%, 25% and 12.5% in the leaf extract of *Piper aduncum* were completely immobilized at 14 hours, in extracts of *Annona montana* showed its effectiveness immobilizing larvae past 12 hours exposure. **Conclusions:** The potentially pathogenic intestinal parasites found in different types of lettuce were cysts of *Acanthamoeba* spp. and eggs, larvae of *Strongyloides stercoralis*, amoebas and free-living ciliates were also found, but none other medically important parasite. The places of origin with the highest rate of parasites were from the northern province of Canta 70%, followed by Huacho district and 23% from the Lima Chillón Valley 7%. The wash volume was established in eggs/liter, being nine eggs of *Strongyloides* spp. representing 82% coming from the province of Canta, followed by picking up leaves on the ground with an average of 2 eggs/liter 18%, the remaining places no parasite eggs were found.

**Keywords:** Soursop; matico; anthelmintic activity; *Strongyloides stercoralis*.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA N°1: larva de *Strongyloides spp.* lavado de hojas diciembre del 2014

FIGURA N°2: Caso de dimorfismo sexual.

FIGURA N°3: Ciclo biológico *Strongyloides stercoralis*.

FIGURA N°4: *Lactuca sativa*, "lechugas" provenientes de diferentes lugares.

FIGURA N°5: Preparación del extracto hidroalcohólico.

FIGURA N°6: Proyecto buscando parásitos en diferentes hortalizas.

FIGURA N°7: Estandarizado lavado de las hojas de lechuga.

FIGURA N°8: Reposo de la suspensión del lavado de hojas de lechuga.

FIGURA N°9: Siembra en Agar Nutritivo.

FIGURA N°10: Cultivo contaminados por mosquitos.

FIGURA N°11: Bordes de la primera siembra.

FIGURA N°12: Resiembra en Agar Nutritivo.

FIGURA N°13: Resiembra después de 4 a 7 días de incubación.

FIGURA N°14: Identificación de larva *Strongyloides stercoralis*.

FIGURA N°15: Acantamoeba, lavado de hojas de lechuga, ameba no identificada.

FIGURA N°16: Video 4245 larvas y huevos de *Strongyloides spp.*

FIGURA N°17: Conteo de huevos en cámara de Neubauer.

FIGURA N°18: Huevos de *Strongyloides stercoralis* coloreados con azul de tripano.

FIGURA N°19: técnica de Harada y Mori recolección larvas L<sub>3</sub> y rhabditoide.

FIGURA N°20. Distribución a diferentes concentraciones de los extractos de hojas.

FIGURA N°: 21 preparación extractos de *Annona montana* y *Piper aduncum*.

FIGURA N°22: Larvas *Strongyloides stercoralis* macho y hembra fotos.



## LISTA DE TABLAS

TABLA N°1: Calculo diluciones seriadas <i>P aduncum</i> .....	41
TABLA N°2: Calculo soluciones seriadas de <i>A montana</i> .....	42
TABLA N°3: Calculo de disolución con dimetil sulfóxido y el extracto de hoja <i>A montana</i> . (W.D).....	42
TABLA N°4: Dispensar en la placa de microdilución.....	44
TABLA N°5: Resultado de 300 muestras de lechugas analizadas parásitos patógenos.....	49
TABLA N°6: Protozoos y nematodos patógenos para los seres humanos en 300 muestras de lechugas analizadas.....	50
TABLA N°7: Larvas de <i>Strongyloides stercoralis</i> , en 1 lechuga según ciudad de procedencia.....	51
TABLA N°8: Larvas de <i>Strongyloides stercoralis</i> , según el tipo de lechuga de 300 muestras.....	52
TABLA N°9: Porcentaje de larvas según el tipo de Lechuga.....	53
TABLA N°10: Porcentaje volumen carga parasitaria Huevo / Litro.....	54
TABLA N°11: Prueba de eclosión de huevos <i>Piper aduncum</i> .....	55
TABLA N°12: Prueba de motilidad de larvas <i>Piper aduncum</i> .....	56
TABLA N°13: Prueba de eclosión de huevos <i>Annona montana</i> .....	58
TABLA N°14: Prueba de motilidad de larvas <i>Annona montana</i> .....	59

## LISTA DE GRÁFICOS

GRAFICO N°1: Prevalencia de parásitos patógenos en 300 muestras de lechuga que se expenden en los diferentes puestos de la Av. 28 de Julio.....	49
GRAFICO N°2: Presencia de protozoos y nematodos en lechugas, que se expende en los puestos de la Av. 28 de julio.....	50
GRAFICO N°3: Porcentaje de larvas por lechuga según ciudad de procedencia....	51
GRAFICO N°4: Detección larvas en 300 lechugas según lugar de procedencia.....	52
GRAFICO N°5: Detección de parásitos en diferentes tipos de lechuga.....	53
GRAFICO N°6: Volumen carga parasitaria huevos / Litro.....	54
GRÁFICO N°7: Prueba de eclosión de huevos <i>Piper aduncum</i> .....	55
GRÁFICO N°8: Prueba de motilidad de larvas, <i>Piper aduncum</i> .....	57
GRÁFICO N°9: Prueba de eclosión de huevos <i>Annona montana</i> .....	58
GRÁFICO N°10: Prueba de motilidad de larvas <i>Annona montana</i> .....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS

- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- OPS: Organización Panamericana de la Salud.
- ETA: Enfermedades transmitidas por alimentos.
- SVE: Sistema de vigilancia epidemiológica.
- EPTA: Enfermedades parasitarias transmitida por alimentos.
- IFAT: Inmunofluorescencia directa con anticuerpo monoclonales.
- H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>: Agua destilada.
- C.S.P: Cantidad suficiente para.
- PCR: Reacción en cadena de polimerasa.
- USAQ: Unidad de servicio de análisis químico.
- Sol. W: solución de trabajo.
- ZnSO<sub>4</sub>: Sulfato de zinc.

## INTRODUCCIÓN

El consumo de 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. (Chaidez y col., 2002).

Las enfermedades transmitidas por los alimentos contaminados, representan un grave problema de salud pública. Las infecciones por trematodos transmitidos por los alimentos se encuentran entre las enfermedades tropicales más desatendidas. Hay poco interés por parte de las autoridades políticas para establecer programas de salud y control de algunas enfermedades tropicales por el Ministerio de Salud. (FAO/OMS.2009)(13).

El déficit de agua potable está aquejando al planeta y compromete cada día más la reutilización de aguas residuales en el mundo. El agua usada por los agricultores ha generado un mayor rendimiento en los campos de cultivo, pero se ha observado un riesgo en las hortalizas, el origen del agua de la irrigación debe ser conocido. El agua debe ser tratada pero, si no lo es, esto permite que los microorganismos se preserven en las áreas más húmedas de las plantas y permanezcan protegidos (Tananta y col, 2002).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que más de dos mil millones de personas en todo el mundo, principalmente niños y mujeres embarazadas, están infectados por enteroparásitos debilitantes, constituyendo uno de los problemas de salud más persistentes que causan anemias en lactantes, mal nutrición y retraso en el crecimiento.( OMS 2014).

La OMS sitúa dentro de las diez principales causas de muerte a la entero parasitosis, especialmente en países en vías de desarrollo que mantienen endemias altas debido a las deficientes condiciones de saneamiento ambiental, a la pobreza y a la falta de medidas de control y prevención adecuadas.

Los estudios sobre Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) señalan las hortalizas y frutas consumidas crudas, como un factor en la diseminación de enteroparásitos. Las buenas prácticas agrícolas garantizan la obtención de frutos de alta calidad, la protección del medio ambiente, la salud de los trabajadores y la inocuidad de los productos agrícolas ya que algunos de estos productos por sus características físicas están más expuestos a contaminación y por lo tanto son portadores de agentes causales de enfermedades. (OPS/OMS Perú, 2010).

Estos factores, incluyendo enfermedades tropicales desentendidas a esto el acceso de antihelmíntico en las zonas de escasos recursos, nos impulsó a evaluar la utilidad de los extractos de hojas de *Annona montana* y *Piper aduncum* como antihelmíntico.

El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto, adicionalmente se realizó su actividad *in vitro* antiparasitaria de los extractos de hojas de *Annona montana* y *Piper aduncum* contra los huevos y larvas de *Strongyloides spp.* en lechugas que se expende en el Ex – Mercado Mayorista de la victoria, con el fin de aportar datos de interés de salud pública.

## INDICE

CARATULA.....	01
HOJA DE APROBACIÓN.....	03
DEDICATORIA.....	04
AGRADECIMIENTO.....	05
RESUMEN.....	06
ABSTRACT.....	07
LISTA DE FIGURAS.....	08
LISTA DE TABLAS.....	09
LISTA DE GRÁFICOS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
INTRODUCCIÓN.....	13

### CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema.....	17
1.2. Formulación del Problema.....	18
1.2.1. Problema General.....	18
1.2.2. Problema Especifico.....	18
1.3. Objetivos.....	18
1.3.1. Objetivo General.....	18
1.3.2. Objetivo Especifico.....	18
1.4. Justificación.....	19

### CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.2. Antecedentes.....	20
2.2.1. Antecedentes Internacionales.....	20
2.2.2. Antecedentes Nacionales.....	24
2.3. Bases Teóricas.....	26
2.3.1. Generalidades.....	25
2.3.1.1. Nematodo.....	27
2.3.1.2. Historia.....	27
2.3.1.3. Taxonomía.....	28
2.3.2. Genero <i>Strongyloides stercoralis</i> .....	29
2.3.2.1. Morfología.....	29
2.3.2.2. Ciclo biológico.....	30
2.3.2.3. Cuadro clínico.....	31
2.3.2.4. Métodos serológicos y moleculares.....	32
2.3.2.5. Métodos parasitológicos.....	33

### CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1.	Diseño del Estudio.....	36
3.1.1	Tipo de investigación.....	36
3.2.	Población.....	36
3.3.	Muestra.....	36
3.4.	Operacionalización de Variables.....	36
3.5.	Procedimientos y Técnicas.....	38
3.5.1	Métodos.....	38
3.5.1.1.	Recolección y transporte de muestras.....	38
3.5.1.2.	Estandarizar el lavado de hojas.....	38
3.5.1.3.	Siembra en medio Agar Nutritivo.....	39
3.5.1.4.	Resiembra en medio Agar nutritivo.....	40
3.5.1.5.	Conteo huevos y larvas <i>Strongyloides spp.</i> actividad antihelmíntica <i>in vitro</i> .....	41
3.5.1.6.	Preparación del extracto Hidroalcohólico.....	42
3.5.1.7.	Preparación del extracto de <i>Piper aduncum</i> .....	43
3.5.1.8.	Preparación del extracto de <i>Annona montana</i> .....	44
3.5.1.9.	Dimetil sulfóxido.....	45
3.5.2.	Procedimientos.....	45
3.5.2.1.	Obtención de la muestra.....	45
3.5.2.2.	Áreas de estudio.....	45
3.5.2.3.	Placa de microdilución.....	45
3.5.2.4.	Prueba de eclosión de huevo.....	47
3.5.2.5.	Prueba de motilidad de larvas.....	48
3.5.2.6.	Volumen carga parasitaria huevo / litro.....	48
3.5.2.7.	Larvas <i>Strongyloides stercoralis</i> en medio de cultivo.....	48
3.6.	Plan de Análisis de Datos.....	49

## **CAPITULO IV: RESULTADOS ESTADÍSTICOS**

4.4.	Resultados.....	51
4.4.1.	Enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas.....	51
4.4.2.	Tipos de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas.....	52
4.4.3.	Enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas según lugar de procedencia.....	53
4.4.4.	Volumen carga parasitológica huevo / litro.....	56
4.4.5.	Actividad antihelmíntica de los extractos de <i>Annona montana</i> y <i>Piper aduncum</i> .....	57
4.4.5.1.	Prueba de eclosión de huevos <i>Piper aduncum</i> .....	57
4.4.5.2.	Prueba de motilidad de larvas <i>Piper aduncum</i> .....	58
4.4.5.3.	Prueba de eclosión de huevos <i>Annona montana</i> .....	60
4.4.5.4.	Prueba de motilidad de larvas <i>Annona montana</i> .....	61

4.5.	Discusiones de resultados.....	63
4.6.	Conclusiones.....	65
4.7.	Recomendaciones.....	66
	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>67</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>76</b>



## **CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

### **1.1. Planteamiento del Problema**

Según la OMS 2015, la incidencia anual de diarrea estimada en el mundo es de 1.500 millones de casos, se ha descrito que el 70% de las diarreas se originan por la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos o sus toxinas. Alrededor de 250 son los agentes causantes de ETA, entre los que se incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales (1). El 24% de la población mundial, está infectada por helmintos transmitidos por el suelo. Más de 270 millones de niños en edad preescolar y más de 600 millones en edad escolar viven en zonas con intensa transmisión de esos parásitos y necesitan tratamiento e intervenciones preventivas (2).

Por lo menos 46 millones de niños de las Américas corren el riesgo de padecer infecciones parasitarias. La salud de estos niños se ve afectada además por las limitaciones en el acceso a la atención médica, a agua segura y saneamiento adecuado, y a la seguridad de los ingresos económicos al hogar. En el caso de los niños infectados, los parásitos intestinales causan anemia, deficiencia de vitamina A, retraso en el crecimiento, malnutrición, y trastornos del desarrollo físico y cognitivo (3).

En el Perú, donde solo el 38% de hogares tienen acceso a agua, las ETAS son indudablemente un importante problema de salud pública. Las cuales a menudo, ocurren como brotes, por lo que la vigilancia epidemiológica es de vital importancia, mediante el sistema de vigilancia epidemiológica (SVE), en el año 2014 se han reportado 61 brotes de ETA por año y en III trimestre 2015, 27 brotes (1). Las infecciones transmitidas por los alimentos se encuentran entre las enfermedades tropicales más desatendidas. Es escasa la atención que les prestan los ministerios de salud y la comunidad médica en general (4). Se estima que el 4% del total de muertes en el mundo se deben a problemas relacionados al agua, desagüe e higiene (5).

## **1.2. Formulación del Problema**

### **1.2.1. Problema General**

¿Cuánto es la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto?

### **1.2.2. Problema Especifico**

- ¿Cuáles son los tipos de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto?
- ¿Cuál será la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto, según el lugar de procedencia?
- ¿Cuáles serán los volúmenes de lavado para establecer la carga parasitológica en las lechugas comercializadas en un mercado de abasto?
- ¿Cuál será la actividad *in vitro* de los extractos de hojas de *Annona montana* y *Piper aduncum* en parásitos aislados de lechugas comercializadas en un mercado de abasto?

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto.

### **1.3.2. Objetivo específico.**

- Determinar la frecuencia de los tipos de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto.
- Determinar la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto, según el lugar de procedencia.

- Calcular los volúmenes de lavado para establecer la carga parasitológica en las lechugas comercializadas en un mercado de abasto.
- Evaluar la actividad *in vitro* antiparasitaria de los extractos de hojas de *Annona montana* y *Piper aduncum* en parásitos aislados de lechugas comercializadas en un mercado de abasto.

#### **1.4. Justificación.**

La parasitosis es considerada un problema de Salud Pública. El Perú es uno de los países de Sudamérica endémico en parasitosis u otras entidades microbianas, algunas de las enfermedades parasitarias suelen ser transmitidas por alimentos (EPTA) por un mal manejo en cualquier fase de la cadena de producción.

Este mecanismo de transmisión ha sido poco estudiado en nuestro país, al menos 6 publicaciones peruanas se han hallado usando el motor de búsqueda Pubmed y Scielo. Nuestro estudio pretende establecer la tasa de parasitosis en las hortalizas y evaluar la susceptibilidad *In Vitro* de extractos de dos tipos de hojas, contribuir con el desarrollo de productos fitoterapéuticos que podría ser más accesible seguro y rentable y proporcionar un menor riesgo de resistencia, por ello creemos que es importante.

## CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.2. Antecedentes

#### 2.2.1. Antecedentes Internacionales:

Un estudio realizado en 2004-2006, la Paz Bolivia, determino la presencia de enteroparásitos de 477 hortalizas de 14 especies (13), con un 85% solo de parásitos, siendo la quilquiña, cebolla verde, acelga y el berro presentaron 100% de parásitos y el de menor grado lechuga, tomate y locoto. *Blastocystis hominis* 21,6%, *Balantidium coli* 7,1%, *Endolimax nana* 2,3%, *Entamoeba coli* 1%, *Cryptosporidium spp.* 0,6%, *Giardia spp.* 0,6%, *Strongyloides spp.* 8,4%, *Ascaris sp.* 7,3%, *Hymenolepis nana* 0,4%, *Fasciola hepática* 0.4%. Muñoz V, Laura N y col, 2008.

La Investigación se desarrolló en 2004, ciudad de Corrientes, Argentina; demostrando la existencia de Enteroparásitos con un 30% de las 94 muestras de hortalizas (14). La escarola, la más contaminada 50%, y en la lechuga lisa al 19%, la menos contaminada, *Blastocystis hominis* 7%, *Amebas sp.* 3%, *Strongyloides spp.* 3%, *Ascaris sp.* 3% y *Uncinarias sp.* 7%. Rea M, Fleitas A, Borda E y col, 2004.

Un estudio evaluó la contaminación parasitológico de las verduras que se consumen crudos y comercializados en Gaza 2006. Se estudiaron 216 muestras de seis vegetales, *Petroselinum crispum* (Perejil), *Anethum graveolens*, *Eruca sativa* (Rúcula), *Cucumis sativa* (Pepino), *Brassica oleracea* (Coliflor) y *Portulaca oleracea*. La prevalencia de los parásitos fue de 37.0% *Entamoeba histolytica* 37.5%, *Giardia lamblia* 28.7%, *Strongyloides spp.* 7.5% y *Áscaris lumbricoides* 20.0% fueron los parásitos más frecuentemente aislados (15). Se puede concluir que los parásitos son comunes en las verduras que se comen crudas con frecuencia. Al-Shawa R y M wafy S. 2006.

Un estudio enero-abril 2006, se evaluó 127 muestras, de 10 especies de hortalizas, en mercados y supermercados Coro, Venezuela. Se detectó una prevalencia parasitaria 32,28%, siendo el apio, el repollo y la lechuga las hortalizas más contaminadas. Los parásitos fueron: *Ascaris sp.* 11,81%, *Cyclospora sp.* 8,66% y *Cryptosporidium sp.* 5,51% (16). No se encontró una relación significativa entre establecimiento público o privado. Cazorla D, Morales P, Chirinos M y Acosta M.2006.

Una investigación determino la contaminación parasitológica de verduras para ensaladas Trípoli – Libia 2005-2006. Un total de 126 muestras obtenida de mercados. Tomate, pepino, lechuga, berro se detectaron Helmintos *Ascaris spp.* *Toxocara cati.*, *Toxocara canis.*, *Taenia spp.*, *Echinococcus spp.* Protozoos *Giardia spp.* (17). La contaminación parasitológico en Trípoli puede suponer un riesgo para la salud de los consumidores. Amal A, Mohamed N, Nuri M, Mohamed S and Khalifa G. 2009

Un estudio evaluó la contaminación parasitaria de vegetales comestibles en Qazvin 2006-2007. De 150 muestras de diferentes verduras incluyendo puerro, perejil, lechuga, cilantro, rábano, cebolla de verdeo, estragón, albahaca, menta, y berro. El 35,3% de contaminación parasitaria helmintos 8,6% y la larva rabditoide 21,4 % en los vegetales (18). Shahnazi M, Sharifi M, Kalantari Z, Allipour M y Agamirkarimi N. 2009.

Un estudio en Sao Paulo, Brasil en el 2009.Comparo la sensibilidad de las técnicas parasitológicas en muestras de vegetales (19), de 30 muestras lechuga (*Lactuca sativa*), rúcula (*Eruca sativa*) y berro (*Nasturtium officinale*) las técnicas de Hoffman, Pons y Janer (HPJ) y Faust (F). Las muestras analizadas, 46,6 % resultó positivo: *Balantidium coli* 20,0%, *Entamoeba coli* 21,6%, *Entamoeba histolityca* 5,0%, *Trichuris trichiura* 3,3% y *Strongyloides stercoralis* 2,5%. Se demostró que la técnica HPJ fue más eficaz. Sena A, Ribeiro R, Carvalho E, Clayton R, Brassea G, Zabeu M y col, 2009.

Una investigación diseñada para determinar la presencia de parásitos intestinales en verduras frescas (20), Irak 2009-2010. 60 muestras de tres hortalizas *Apium graveolense* (Apio), *Lepidiu maucheri* y *porrum del allium* (Poro). La tasa de contaminación global 67.3% *Echinococcus spp.* 50% *Oxyuris equi* y *Habronema spp.* 45%. Esto plantea una amenaza para la salud pública. Hadi A. 2011.

Este estudio tuvo como objetivo detectar la contaminación parasitaria en algunos vegetales crudos Alejandría, Egipto 2010-2011. Cinco tipos de verduras de 300 muestras 60 de cada una estudio lechuga (*Lactuca sativa*), cohete (*Eruca sativa*), perejil (*Petroselinum hortense*), puerro (*Allium porrum*) y la cebolla verde (*Allium ascalonicum*) (21). 31,7 % los parásitos incluidos *Cyclospora spp.* 21,3%, *A. lumbricoides* 20,3%, *Toxocara spp.* 19%, *Giardia spp.* 6,7% y *H. nana* 2,6%. Se detectó muestras contaminadas en cohete 46,7 %, mientras el menor cebolla verde 13,3 %, considerados alta prevalencia de parásitos detectados. Estos hallazgos tienen implicaciones importantes para la seguridad alimentaria mundial. El Said D. 2012.

Un estudio tuvo como objetivo evaluar la tasa parasitológica ciudad de Mekelle 2011. 190 muestras vegetales examinados en 2 áreas, 32.41 % ciudad de Mekelle y 30,49 % Mariam Dahan. *Lettuce*, *Swiss chard*, *Onion*, *Cabbage* y *Tomato*, contenían al menos un contaminante parasitario (22). *Strongyloides stercoralis*, *Taenia spp.* y *Entamoeba spp.* fueron los de mayor frecuencia parasitaria en la acelgas, esto plantea riesgos para la salud pública de las comunidades campesinas. Zewdneh T and Dawit K. 2011.

Un estudio Habana 2009-2011, determinó la calidad microbiológica de hortalizas, se estudiaron 100 muestras de vegetales en 26 áreas y el agua de regadillo. La presencia de parásitos *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium spp.* (23), fue 6% y Bacterias *Escherichia coli* 18,0%, mayor frecuencia lechuga, berro y espinaca. Potencialmente patógenas en las hortalizas, lo que estuvo asociado principalmente

al uso de agua de regadío no tratada. Puig Y, Leyva V, Rodríguez A, Carrera J, Molejón P y col. 2013.

El estudio determinó la contaminación de enteroparásitos en hortaliza. Venezuela, en el 2012 se evaluó 115 muestras lechuga 40, perejil 40 y berro 35. El 53,04 % presentaron contaminación parasitaria (24), siendo el perejil la hortaliza más prevalente con 72,50 %. *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli* y *Balantidium coli* *Necator americanus*, *Ascaris lumbricoides* y *Enterobius vermicularis*. Encontrándose un mayor porcentaje de *Balantidium coli*. en las 3 hortalizas, principalmente en berro con 71,42 %. Rivas M, Venales M, Belloso G. 2012.

El objetivo del trabajo de investigación, fue detección de elementos parasitarios en Rabanitos (25), de 36 atados lavados con solución tween 80 al 1%, encontrándose *Blastocystis spp.* larvas de nematodos a coloración de Kinyoun no confirmaron la presencia de coccidios. en el mes de Setiembre, La Plata Buenos Aires. Sosa L, Cardozo M, Kozubsky L, Costas M, Magistrello P y col, 2013.

El presente estudio se llevó a cabo para determinar la contaminación parasitológico de las verduras que se venden en diferentes mercados de la ciudad de Erbil Kurdistan Región-Iraq (21). 72 muestras seis tipos de verduras (apio, cohete, perejil, puerro, el eneldo y el berro. 68.05% fueron positivos y 31,94% eran negativos. Los parasitarios: huevos *Echinococcus granulosus* 22,4%, *Ascaris sp.* 18,3%, *Hymenolepis nana* 10,2%, *Hymenolepis diminuta* 4,0%, *Toxocara sp.* 12,2%, *Trichostrongylus sp.* 8,1%, *Enterobius vermicularis* 4,0% y *Dipylidium caninum* 6,1%, *Entamoeba histolytica* 20,4%, *Entamoeba coli* 22,4%, *Giardia sp.* 16,3%, *Toxoplasma gondii* 18,3% y *Isospora sp.* 12,2%. Saida L and Nooraldeen K.2013.

Este estudio evaluó el grado de contaminación parasitaria de hortalizas que se comercializan en Benha, Egipto. Incluía 530 verduras: lechuga, berro, perejil, cebolla verde, y el puerro. Estos resultados indican una significativa estacional variación, con mayor prevalencia en verano 49 % y la más baja en invierno 10,8 %. *Giardia lamblia*

8,8%, *Entamoeba spp.* 6,8%, *Enterobius vermicularis* 4,9%, *Hymenolepis nana* 2,8%, *Hymenolepis diminuta* 2,1%, y *Ascaris lumbricoides* 0,6%. La verdura lechuga 45,5%, berro 41,3%, perejil 34,3%. Estos resultados proporcionan evidencia por el alto riesgo de contraer la infección parasitaria por el consumo de vegetales crudos (27). Septiembre 2012 a Agosto 2013. Ahmad M, Mostafa S, El-Sayed M, Mohammed A, Salah A y col, 2014.

El objetivo del estudio fue comparar la prevalencia y la diversidad de parásitos patógenos, Ghana 2014 y comparar tres técnicas de lavado. 168 Muestras col, pimiento dulce, zanahoria, lechuga, tomate y cebolla. La contaminación: lechuga y la col 61% y tomate 18%. Los mercados al aire libre fue de aproximadamente diez veces mayor que la de los supermercados. *Strongyloides stercoralis* 43 % y *Cryptosporidium parvum* ooquistes 16 %. *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli*, *Giardia lamblia*, ooquistes de *Cyclospora cayetanensis*, *Enterobius vermicularis*. Estos resultados actúan como una fuente importante de las enfermedades parasitarias transmitidas por los alimentos (28). Duedu K, Yarnie E, Tetteh-Quarcoop P, Attah S, Donkor E and Ayeh-Kumi P y col, 2014.

### **2.2.2. Antecedentes Nacionales:**

Se investigaron las lechugas para determinar el grado de contaminación por enteroparásitos en verduras crudas expandidas en establecimientos de consumo público de alimentos del Distrito de Cercado de Lima, Perú. Se recolectaron al azar 105 muestras de lechuga (*Lactuca sativa*) de restaurantes, cebicherías y pollerías de la zona, la técnica de sedimentación y centrifugación tinción Ziehl-Neelsen modificada. 1.9 % *Giardia sp*, 3.81% *Isospora sp*, 6.67 % *Cryptosporidium parvum*. Tananta I. 2002.

El presente estudio tuvo como finalidad determinar el grado de contaminación por enteroparásitos en muestras de agua (acequias y pozos) y alimentos cocidos y crudos. Trujillo (5), Perú entre los años 2005 – 2006. Se recolectaron 352 muestras



hortalizas y moluscos, técnicas flotación de Willis, Sheater o Ritchie y tinción de Giemsa y Ziehl-Neelsen modificada. Permitieron aislar parásitos como *G. lamblia* 100.1%, *Cyclospora spp.* 10.0%, *Endolimax nana* 17.4%, *Iodamoeba bütschlii* 16.7%, *B. hominis* 6.7%, *Fasciola hepática* 18.1% y *Ascaris lumbricoides* 18.2%. Pérez G, Rosales M, Valdez R, Vargas F, Córdova O y col. 2006.

Un estudio evaluó 60 muestras de lechugas, tomadas al azar en los mercados de La Parada (La Victoria) y Caquetá (San Martín) Lima 2010. De las 60 muestras de lechuga evaluadas, 63,3% presentaron contaminación con larvas de *Strongyloides* spp., en fases de larvas filariforme y rabditoide, este fue el entero parásito detectado con más frecuencia entre los protozoos y helmintos (10). Guerrero C, Garay A y Guillén A.2011.

Investigaron la contaminación por endoparásitos en lechuga americana, lechuga orgánica, cebolla china y culantro un total de 126 muestras en el distrito de la Victoria, Independencia, Los Olivos, San Martín y cercado de Lima (Perú), encontraron 30% contaminados por enteroparásitos 34,21% mercados populares 22,72% supermercados, encontraron las siguientes: *Entamoeba coli*, 10%; *Strongyloides stercoralis* 3,33% y 18,18%, *Balantidium coli* 9,2%, *Endolimax nana*, 9,09% (47). Morillo R. y col, 2011.

El presente estudio se realizó en Tacna. El objetivo fue evaluar la contaminación de hortalizas por enteroparásitos. Se analizaron 522 muestras correspondientes a cuatro especies de hortalizas, 131 lechugas, 131 espinacas, 129 repollos, 131 rabanitos procesadas por los métodos de sedimentación, observación directa y por la técnica de coloración de Ziehl-Neelsen modificado. Encontrándose; *Isospora sp.* 17,06%, *Cryptosporidium parvum* 2,48% y *Giardia sp.* 1,71%. Las hortalizas de mayor contaminación fueron la lechuga 6,13%, rabanito 5,55% y repollo 5,59% (30). Contreras y col, 2012.

Se estudió determinar la prevalencia de protozoos y nematodos en tubérculos que se consumen crudos, expendidos por los agricultores del distrito de Ate Lima (Perú). Se analizaron 80 muestras correspondientes a 20 campos de cultivo, método directo y método de centrifugación, *Beta vulgaris*, 'beterraga', *Brassica napus*, 'nabo', *Daucus carota*, 'zanahoria', *Raphanus sativus*, 'rábano'. Se encontró un 78,75% positivo a protozoos y nematodos: *Acanthamoeba sp.* 4,77%, *Balantidium coli* 12,7%, *Naegleria sp.* 3,18%, *Strongyloides stercoralis* 4,76%, *Toxocara canis* 7,94% y amebas de vida libre (48). Sifuentes D. 2012.

El trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la presencia de enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) Huacho, Provincia de Huaura 2012. De 28 muestras de lechuga, 23 presentaron presencia de enteroparásitos 82,1% (31). Se utilizó tres técnicas Takayanagui 83,4% protozoarios y 16,6% helmintos, Lutz 67,5% protozoarios 32,4% a helmintos y Sheather escasos protozoarios no se detectaron huevos de helmintos. *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli*, *Giardia lamblia*, *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura*. Huayna L y col, 2013.

## **2.3. Bases Teóricas.**

### **2.3.1. Generalidades**

#### **2.3.1.1. Nematodo.**

Estos organismos se los reconoce por presentar un cuerpo cilíndrico con extremos adelgazados, poseen un sistema digestivo completo, son de sexo separados y presentan un dimorfismo sexual, siendo el macho generalmente de menor tamaño que las hembras.

Algunos poseen un ciclo biológico directo o monoxénico ocupando solo un hospedero donde alcanza su desarrollo y diferenciación sexual, otros poseen un ciclo biológico heteroxénico utilizando invertebrados, especialmente copépodos o cangrejos y peces donde se desarrollan los estadios larvarios. Los daños patológicos varían considerablemente dependiendo de su localización.

#### **2.3.1.2. Historia.**

En 1876, el médico francés Louis Normand, del Hospital de St. Mandrier en Toulon, Francia, fue el primero en describir las larvas de *Strongyloides stercoralis*, hasta ese momento no identificado, en la materia fecal de soldados que regresaban de la Cochinchina (sudeste asiático, hoy Vietnam). Inicialmente se lo denominó *Anguillula stercoralis*.

Es un parásito de características muy particulares pues es el único nematode que parasita al hombre, que puede reproducirse dentro de este huésped y permanecer en él durante largos períodos, como lo demuestra el hallazgo de *S. stercoralis* en individuos que habían abandonado las zonas endémicas hacía 20 ó 30 años. Además, debido a su capacidad de desarrollar ciclos de vida libre, permite la formación de reservorios en el suelo, que favorecen el establecimiento de zonas endémicas.

#### **2.3.1.3. Taxonomía.**

##### **2.3.2. Género *Strongyloides stercoralis*.**

Es un geo-helminto que se localiza en el intestino delgado en el humano, el huésped principal. Existen alrededor de 52 especies de *Strongyloides*, las cuales infectan un amplio rango de huéspedes. Además, perros, gatos y otros mamíferos pueden actuar como reservorios de *S. stercoralis*.

La infección puede cursar asintomática, pero existe una gran morbimortalidad en personas inmunocomprometidas, en sujetos desnutridos y pacientes con otras enfermedades que pueden desarrollar hiperinfecciones; el parásito tiene el potencial de producir autoinfección interna y multiplicarse en los seres humanos.

La estrombiloidosis se encuentra en la lista de enfermedades tropicales desatendidas; se estima que existen 30 - 100 millones de personas infectadas a nivel en el mundo y un número no determinado en riesgo de infección, aunque estas cifras se manejan desde hace más de una década. En algunas publicaciones se menciona que la cifra podría alcanzar 100 millones de afectados.

Este nematodo es endémico en regiones geográficas tropicales, subtropicales y hasta templadas donde se dan las condiciones adecuadas para su desarrollo (temperatura, humedad, materia orgánica y condiciones sanitarias deficientes), y se carece de información sobre su prevalencia.

**FIGURA N°1:** larva de *Strongyloides spp.* Suspensión del lavado de hojas con agua destilada izquierda, montaje con lugol derecha. Diciembre del 2014.

### 2.3.2.1. Morfología

*Strongyloides stercoralis* es un nematode, verme cilíndrico, que presenta diversos estadios o formas parasitarias: hembra adulta parasitaria, larvas rabditoide, larvas filariformes y machos y hembras de vida libre. La hembra parasitaria adulta es filiforme, transparente y mide 2 mm de largo por 40-50  $\mu$  de diámetro. Presenta un esófago cilíndrico, muscular, que ocupa su tercio anterior, que se continúa en un intestino y termina en un orificio anal. Posee dos úteros que contienen pocos huevos de 50-55  $\mu$  por 35  $\mu$  siendo su potencial biótico de 40 huevos/día/hembra.

La hembra de vida libre es de menor tamaño que la anterior, pues mide 1 mm de longitud por 50-75  $\mu$  de diámetro.

El macho de vida libre mide 700  $\mu$  de largo por 40-50  $\mu$  de diámetro; su extremidad caudal está curvada ventralmente y posee dos espículas cortas que facilitan la cópula.

Las larvas rabditoide o L1 que emergen del huevo son muy móviles, miden aproximadamente 250-300  $\mu$  de largo por 15  $\mu$  de diámetro. El extremo cefálico es romo y el caudal, agudo. La cavidad bucal es corta y estrecha. Presentan un esófago muscular con bulbo posterior y un istmo bien marcado en la parte media. El primordio genital es muy evidente en el tercio posterior de la cara dorsal. Se alimentan de detritus del suelo.

Las larvas filariformes o L3, infectantes, son más finas y alargadas que las L1. Miden 500-700  $\mu$  por 20  $\mu$ ; presentan un esófago cilíndrico, sin bulbo muscular, que ocupa la mitad del cuerpo y su extremo posterior tiene una terminación bífida característica. No se alimentan y son capaces de resistir hasta 50 días en el suelo.

**FIGURA N°2:** Caso de dimorfismo sexual.

### 2.3.2.2. Ciclo biológico

El ciclo de vida de *S. stercoralis* es muy singular, por presentar una alternancia entre una generación homogónica y partenogenética en el intestino del hospedador y una generación heterogónica de vida libre en el exterior.

La generación dioica (hembra: 2n; macho: 1n) vive en el medio ambiente y pone huevos embrionados de cáscara fina, de los que eclosionan larvas de tipo rabditoide ( $L_1$ ). Estas se transforman, tras realizar las correspondientes mudas, en larvas  $L_3$  infectantes, que invaden a sus hospedadores por vía percutánea, penetrando por la piel intacta. Migran a través de los capilares y linfáticos en forma pasiva hasta el corazón derecho, llegan hasta los pulmones, rompen el endotelio capilar y la pared de los alvéolos, ascienden por bronquiolos, tráquea y laringe, alcanzan la faringe, son deglutidas hasta el intestino delgado, se alojan en la lámina propia del duodeno donde la hembra partenogenética ovipone a partir del 17<sup>o</sup> día post-infección. Los huevos presentan diferentes dotaciones cromosómicas 1n, 2n y 3n, y de estos huevos salen larvas rabditoide 1n; 2n y 3n, que son muy móviles incluso a bajas temperaturas.

Larvas 3n:

- a) Experimentar una muda cuando están aún en el intestino y transformarse en larvas filariformes que vuelven a invadir la mucosa (autoendoinfección).
- b) Experimentar la muda en las cercanías del ano, pero en el exterior, y penetrar después (autoexoinfección).

c) Experimentar la muda después de un período cuya duración es función de las condiciones de temperatura y de humedad del medio ambiente (desarrollo directo).

Larvas 2n:

Se convierten en hembras adultas fecundables de vida libre (desarrollo indirecto).

Larvas 1 n: se convierten en machos adultos de vida libre.

Los estudios *in vitro* han demostrado que la evolución de estos huevos depende de factores externos (sustrato, pH, relación O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) que actúan modificando la actividad de los genes o el equilibrio de las hormonas sexuales. Los adultos de vida libre pueden repetir este ciclo en el medio ambiente por varias generaciones, produciendo finalmente larvas filariformes, infectantes para el hombre.

Tan sólo un 1-4% de las larvas puestas por las hembras partenogenéticas son 1n y 2n dando la generación dioica. Este proceso es dependiente del sustrato y del estado inmunológico del hospedador. Se ha observado, por ejemplo, que el número de larvas que se desarrollan en el exterior dando la generación dioica es mucho más elevado cuando el hospedador está altamente inmunizado. Las hembras partenogenéticas, que viven aproximadamente 1 año, ponen diariamente unos 40 huevos, mientras que las de vida libre ponen únicamente unos pocos centenares de huevos en un lapso de dos semanas.

**FIGURA N° 3:** Ciclo biológico *Strongyloides stercoralis*.

**2.3.2.3.** Cuadro clínico:

Las presentaciones clínicas de las estrongiloidosis difieren según se trate de un huésped inmunocompetente o inmunocomprometido. En pacientes inmunocompetentes, si la intensidad de la parasitosis es leve, el cuadro clínico puede ser oligosintomático e incluso asintomático. Según las diferentes etapas evolutivas del parásito en el hombre, se pueden presentar distintas

manifestaciones, con signos y síntomas que involucran piel, pulmones y tracto digestivo.

Las lesiones cutáneas suelen ser las primeras, provocadas por la penetración y migración larvaria a través de la piel. Generalmente consisten en dermatitis pruriginosas en diferentes zonas, según los distintos puntos de penetración y pueden presentar sobreinfección bacteriana debido al rascado. En algunos casos se presenta como una verdadera larva *currens* o larva *migrans* cutánea.

El paso larvario por los pulmones puede producir tos, expectoración, fiebre y bronquitis en las parasitosis intensas. Estas manifestaciones son indiferenciables del síndrome de Löeffler provocado por otras etiologías.

Las principales características de la afección intestinal son: diarrea, dolor abdominal y menos frecuentemente náuseas, vómitos, pérdida ponderal, constipación. En casos de infecciones severas pueden presentarse síndromes de malabsorción y enteropatías perdedoras de proteínas.

La eosinofilia se presenta en la mayoría de los casos con valores de hasta 60%. La persistencia de la infección parasitaria durante largos períodos se debe a la autoinfección.

El parásito y el huésped alcanzan un estado de equilibrio donde ninguno es dañado severamente. Si ese equilibrio se quiebra por alguna razón, como una situación de inmunocompromiso, la infección prolifera con la producción de gran número de larvas que pueden diseminarse. La posibilidad de hiperinfecciones puede darse en individuos con leucemia, enfermedad de Hodgkin, linfomas, enfermedades renales crónicas, desnutrición avanzada, tuberculosis, lupus eritematoso sistémico, alcoholismo crónico, etc. Aparentemente, existiría una asociación importante entre la infección con HTLV 1 y la estrogiloidosis diseminada. Actualmente se minimiza el carácter oportunista de *S. stercoralis* en pacientes con SIDA. Las terapias prolongadas con corticoides son particularmente importantes ante la posibilidad de hiperinfecciones.

En pacientes inmunocomprometidos los cuadros son más severos y generalmente son el resultado de la hiperinfecciones. En esos casos se encuentran involucrados pulmones, hígado, tracto biliar, cerebro, bazo, riñones, ovarios, páncreas, glándulas adrenales, tiroides, ganglios linfáticos, corazón, etc. En el tracto digestivo, además del intestino delgado, puede existir compromiso colónico con sintomatología similar a la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn, e incluso íleo paralítico. El cuadro pulmonar se puede presentar con disnea, hemoptisis, bronconeumonía y abscesos pulmonares.

Puede haber eosinopenia, lo que se considera de mal pronóstico. La infección de cerebro o meninges puede ser mortal. La sepsis bacteriana se asocia a la migración larvaria que arrastra bacterias intestinales.

#### **2.3.2.4. Métodos serológicos y moleculares:**

Existe una gran variedad de técnicas que son utilizadas en el diagnóstico de la parasitosis, parasitológicas, serológicas y moleculares, con ventajas y desventajas propias, varias de las cuales no están disponibles en las zonas endémicas.

ELISA, cuya sensibilidad oscila entre 84 - 95%, de especificidad controvertida en zonas endémicas de geo helmintos. Pueden dar lugar a que se sobrestime la prevalencia de la parasitosis debido a la reactividad cruzada con otros nematodos. La serología se considera una herramienta de utilidad en estudios epidemiológicos y en casos individuales.

IFAT. Inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales. De mayor sensibilidad y especificidad que ELISA; inmunoblot, precipitación con el sistema de luciferasa (LIPS)

PCR: Se requiere mayor estudio de la biología molecular de este parásito: estudios de genómica fundamental, proteómica y metabolómica, que ofrezcan bases aplicadas para la prevención y tratamiento.



### 2.3.2.5. Métodos parasitológicos:

El diagnóstico de laboratorio se basa fundamentalmente en la búsqueda de larvas del parásito en materia fecal. Debido al bajo potencial biótico parasitario y a que la eliminación de larvas rabditoide no es constante, es necesario, especialmente en infecciones leves o moderadas, la realización de análisis seriados o repetidos en heces. Por ejemplo, la detección puede ser sólo del 30%, 50% y 70% para 1, 3 ó 10 muestras, respectivamente. Los métodos bifásicos empleados habitualmente en los análisis coproparasitológico tienen baja sensibilidad y, en consecuencia, son útiles sólo en casos de parasitosis con alto número de vermes.

Para aumentar la sensibilidad se pueden utilizar métodos que aprovechan algunas propiedades biológicas del parásito como son los de concentración y cultivo.

**El método de Baermann:** de concentración, se basa en el termotropismo, geotropismo e hidrotropismo positivos de las larvas rabditoide. En este procedimiento se dispone de un embudo, en cuya parte superior se ubica una malla metálica que actúa como soporte de una gasa donde se coloca materia fecal fresca (recolectada sin conservantes ni refrigeración). El vástago del embudo se continúa con una tubuladura de goma que se cierra con una pinza de Mohr. El vástago se llena con agua templada (35-37 °C) y se deja incubar una hora. Al cabo de ésta se recolecta el contenido de la tubuladura en un tubo de centrifuga, se centrifuga y se observan las larvas al microscopio. En general, se verán larvas rabditoide, pero en casos de hiperinfección pueden detectarse incluso las filariformes.

**El método de Harada-Mori:** reproduce en el laboratorio parte del ciclo de vida libre del parásito. Utiliza materia fecal en fresco, que se esparce en un papel de filtro y se coloca en un tubo de ensayo o cónico que contenga suficiente cantidad de agua como para embeber al papel por capilaridad, pero que no entre en contacto con la materia fecal. Se incuba a 30 °C durante 7 a 10 días, lapso en el cual las larvas rabditoide o L1 evolucionan a filariformes o L3. Se centrifuga y se observa al microscopio. Es importante tener en cuenta el carácter altamente infectivo de este material dado que las L3 pueden penetrar por la piel.

**Cultivo en placas de agar:** tiene mayor sensibilidad que los anteriores y que según algunos autores es del 96%. Generalmente se utiliza un agar nutritivo en placas de Petri donde se siembra la materia fecal fresca y se incuba durante 2 a 3 días a 30°C. Las larvas móviles arrastran bacterias y dejan trazos o huellas visibles sobre el sustrato sólido. Estas larvas pueden observarse con un microscopio invertido. También puede lavarse la superficie del agar con solución formolada, que se centrifuga y el sedimento se analiza microscópicamente.

Este método si bien es más sensible que los anteriores, es más costoso y laborioso. En todos los casos es necesario diferenciar las larvas de *S. stercoralis* de las de uncinarias (*Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*), teniendo en cuenta las similitudes epidemiológicas y evolutivas de estos parásitos.

Las L1 de *S. stercoralis* tienen la cavidad bucal más corta y un primordio genital más prominente que los de uncinarias. Las L3 de *S. stercoralis* poseen un extremo caudal con una muesca o bifurcación, mientras que en las uncinarias es aguzado.

En algunos casos en que el tránsito intestinal está acelerado, pueden aparecer huevos en materia fecal, que son muy similares a los de las uncinarias y a los de *S. fülleborni* (parásito de monos, de rara presentación en humanos).

Debido a que es necesario efectuar múltiples exámenes de materia fecal para realizar un diagnóstico correcto, es importante remarcar que la falta de hallazgo de larvas, no es indicación de ausencia de infección.

A pesar de que algunos autores consideran que el examen del líquido duodenal es muy sensible para la búsqueda de L1, por ser invasivo se recomienda sólo cuando sea necesario demostrar rápidamente la presencia del parásito.

En los casos de hiperinfecciones con diseminación, las larvas pueden buscarse en esputo, lavado bronqueo alveolar, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, orina, etc.

Se debe recalcar la importancia de los estudios para detectar o descartar la infección por *S. stercoralis* antes de iniciar cualquier terapia inmunosupresora, especialmente

en pacientes de áreas endémicas o de riesgo, aun cuando las hayan abandonado hace mucho tiempo. También deben realizarse estudios parasitológicos como control post-tratamiento durante un período de 3 a 7 meses.

**FIGURA N°4:** Video 4126 de larvas en medio de cultivo.

## CAPITULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Diseño de la investigación

Estudio descriptivo de tipo transversal.

### 3.2. Población

Todas las lechugas, que se expenden en los puestos de la Av. 28 de Julio del distrito de La Victoria en Lima, Perú (ex-Mercado Mayorista La Parada); durante el mes de Julio del 2015.

### 3.3. Muestra

Se recolectaron 300 muestras de planta de *Lactuca sativa* (lechuga), las cuales fueron recolectadas en los puestos de comerciantes de ventas de hortalizas que se expende en la Av. 28 de Julio del Ex – Mercado Mayorista La Parada. Se empleo el tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia.

### 3.4. Operacionalización de Variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala de Medición	Forma de Registro
<b>Principal:</b>  Enteroparásitos	Detección e identificación de quistes y/o huevos de parásitos intestinales presentes en hortalizas.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Método de Filtrado Simple.</li><li>• Método de concentración por flotación de sheather.</li></ul>	Binaria	<ul style="list-style-type: none"><li>• Quiste, huevo de.....</li><li>• No se observa quiste, huevo de parásitos.</li></ul>

<p><b><u>Secundarias:</u></b> Tipo de enteroparásitos</p>	<p>Morfo tipo de parásito presente en hortalizas.</p>	<p>Microscopía</p>	<p>Nominal</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Quiste de <i>Acanthamoeba spp.</i></li> <li>• Huevos de <i>Strongyloides stercoralis.</i></li> <li>• Larvas de <i>Strongyloides stercoralis.</i></li> </ul>
<p>Lugar de procedencia.</p>	<p>Cultivos en donde animales insectos y el hombre pueden contaminarlo</p>	<p>Ficha de recolección de datos.</p>	<p>Nominal</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Provincia Canta.</li> <li>• Distrito Huacho.</li> <li>• Ve. Chillón Lima.</li> <li>• Provincia cañete.</li> <li>• Recojo hojas del suelo.</li> </ul>
<p>Carga parasitaria</p>	<p>Volumen de líquido para el lavado de cada lechuga.</p>	<p>Microscopia</p>	<p>Discreta</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Centímetros cúbicos.</li> </ul>
<p>Actividad antiparasitaria</p>	<p>Extractos liofilizados de hojas de plantas</p>	<p>Hemocitómetro de Neubauer. Microscopia</p>	<p>Binaria</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prueba de eclosión de huevos.</li> <li>• Prueba de motilidad de larvas</li> </ul>

### **3.5. Procedimientos y Técnicas**

#### **3.5.1. Métodos**

##### **3.5.1.1. Recolección y transporte de muestras:**

La recolección se realizó con el uso de guantes descartables y bolsas estériles, para evitar la contaminación entre estas y para identificarlas se usó un plumón indeleble se colocó el nombre del lugar de procedencia, según los vendedores que expende el producto en el cruce de las avenidas Nicolás Ayllón con 28 de Julio La Parada.

Luego de recolectar las muestras estas fueron transportadas al Centro de Salud Santa Magdalena Sofía, MR ATE III, lugar donde se procedió a realizar los procedimientos de este proyecto de investigación.

##### **3.5.1.2. Estandarizar el lavado de hojas:**

Se halló el volumen de agua destilada para cada lechuga en milímetros cúbicos que se empleó para el lavado, se realizó una medición indirecta como la lechuga es un cuerpo de forma irregular he medido el volumen por el método de desplazamiento de líquido (Principio de Arquímedes), lo que se pretende es con la cantidad de volumen empleado estará reportando por milímetro cubico la carga parasitaria huevos / litro.

Procedimiento:

- 1- Se sumergió la lechuga en un recipiente completamente lleno de agua, causando que se derrame. Entonces, se recoge el agua derramada y se mide su volumen, cada lechuga se lavó en un fuente con agua destilada con la cantidad de 350ml, se cogió cuidadosamente las hojas externas que estén en contacto con la tierra, y con un pincel plano número 24 se pasa sobre la superficie de la hoja.
- 2- Del lavado se filtró a través de una gasa doblada para eliminar el exceso de suciedad y se dejó en reposo por 6 horas.
- 3- Luego se cogió con una pipeta Pasteur del sedimento una pequeña cantidad una gota aproximadamente 50µl, se observó al microscopio con el objetivo de 40x para realizar el conteo de larvas por ciudad de procedencia.

- 4- También se cogió 1ml con una pipeta automática del sedimento para la siembra en medio de cultivo.
- 5- Se siguió los pasos para establecer el volumen de carga parasitaria, pág. 47. Se aplicó la formula análisis de agua – medición del número de huevos de helminto en aguas residuales y residuales tratadas por observación microscópica - método de prueba 2012.

Las muestras recolectadas durante el periodo de investigación según el lugar de procedencia fueron:

- Provincia de Canta.
- Distrito de Huacho.
- Valle de Chillón Lima.
- Provincia de cañete.
- Recojo de hojas del suelo.

El tipo de lechuga que se recolectaron fueron:

- Lechuga *Trocadero*. (Canta, Huacho)
- Lechuga *Butterhead*. (Canta, Huacho)
- Lechuga *Batavia*. (Canta, Huacho y Chillón)
- Lechuga *Iceberg*. (Chillón, Cañete)
- Lechuga *Escarola*. (Chillón, Cañete)
- Lechuga *Curly*. (Chillón, Cañete y Huacho)

**FIGURA N° 6:** Lavado de las hojas de lechuga.

**FIGURA N° 7:** Reposo de la suspensión por 6 a 8 horas.

### 3.5.1.3 **Siembra en medio Agar Nutritivo:**

Los métodos de diagnósticos para *Strongyloides stercoralis* en el Perú. Luis M, Marcos C, Angélica T. (2010). Se cogieron placas de Agar Nutritivo de la suspensión obtenida del lavado de las hojas de lechuga de esta se cogió con una pipeta Pasteur aproximadamente 1ml y se añadió en la parte central del medio, a estas cantidades la recuperación y su reproducción de las larvas son muy buenas, una vez terminada el proceso de sembrado son selladas con una tira de parafilm para su manipulación y no permitirá la contaminación de insectos, se incuba a 30°C, el medio en su

primera fase se colocaran tal como se encuentra sin invertir la placa, solo luego después de la resiembra segunda fase se invertirá el medio.

**FIGURA N° 8:** Siembra en Agar Nutritivo.

**FIGURA N° 9:** Cultivo contaminados por mosquitos.

#### 3.5.1.4 Resiembra en medio Agar nutritivo:

Se trasladan los microorganismos a partir de la primera siembra, hasta otros medios de cultivo. Conviene hacerlo luego de una semana, se observa todos los días al microscopio con el objetivo de 40x, en los bordes del primer siembra de la muestra, de ahí es donde se encuentra mayor cantidad tanto de larvas como de huevos, se cogió una asa de siembra de 10µl, se coge una pequeña cantidad y es llevado a otra placa de agar nutritivo en esta se coloca una buena cantidad en 5 puntos cuatro a los costados y uno al medio, las larvas hacen el resto ellas migran llevando las bacterias a su paso, estas dejan huellas serpentiginosas visibles sobre el sustrato sólido (*Strongyloides stercoralis* en el Perú. Luis M, Marcos C, Angélica T). Se sellan los bordes con parafilm y las placas se invierten, se espera por 4 a 7 días para que las larvas rhabditiformes macho y hembra de vida libre y los huevos ocupen en todo el medio se puedan recolectar conforme pasan los días.

Se pueden observar las larvas de vida libre, las hembras muestran generalmente una hilera de huevos dentro del útero y la vulva está en la mitad del cuerpo muy sobresalida; en algunas veces se observa hasta 2 huevos que viajan juntos adherida, el macho al observar tiene el extremo posterior curvo y provisto de dos espículas copulatrices este migra buscando a las hembras, al entrar en contacto con una larva el macho realiza un movimiento con las espículas copulatrices recorriendo varias veces el contorno de la hembra y no siempre copula solo si esta es una hembra ya adulta.

**FIGURA N° 10:** Imágenes de los bordes de la primera siembra pasado los 7 a 10 días de incubación.



**FIGURA N° 11:** Resiembra en Agar Nutritivo, con un asa de siembra 5 o 10  $\mu$ l se coge una pequeña cantidad y colocados a los extremos y la parte central del medio de cultivo.

**FIGURA N°12:** Video 4243-4245 después de 4 a 7 días de incubación se obtienen larvas de *Strongyloides spp.* y una gran cantidad de huevos.

#### 3.5.1.5 **Conteo Huevos y larvas *Strongyloides spp.***

Las cámaras de recuento se utilizan para determinar el número de partículas por unidad de volumen de un líquido. Las partículas leucocitos, eritrocitos, trombocitos, bacterias, esporas, polen etc. se cuentan visualmente con un microscopio con la ayuda de una cámara de Neubauer, McMaster o Sedgwick-Rafter.

Solo cuento con la cámara de Neubauer y debido a las diferentes fórmulas u técnica cuantitativa parasitológica empleada, se pudo obtener resultados diversos, pudiendo observarse variaciones entre un 30 a 75% en los contaje de huevos y larvas en la cámara de neubauer, en este proyecto no cuento con el empleo de una cámara de Sedgwick-Rafter que se utiliza en medicina veterinaria para el conteo de huevos y larvas de helmintos el conteo se realizó de la siguiente manera:

#### **Conteo de Huevos de *Strongyloides spp.* Actividad Antihelmíntica *in vitro.***

En la cámara de Neubauer se pudo contabilizar en una suspensión de 8ml contando los 5 cuadrados grandes que equivale a 5 $\mu$ l un promedio de 3 huevos. Muy aparte se utilizó una asa de siembra de 5 $\mu$ l y se cogió de la misma suspensión de huevos los resultados fueron iguales después de repetirlo unas 10 veces.

Para el conteo: obtenido los huevos por el método de concentración por flotación de sheather, de esta suspensión se añadió agua destilada y se añadió a un tubo cónico con capacidad de 8 mililitros se homogenizo y se retiró con una pipeta automática 120  $\mu$ l para luego colocarlo en una lámina porta objeto, esta lamina se le hizo un circulo con un lápiz de ceda para que contenga la suspensión, se dejó secar al aire libre por 10 minutos para luego contabilizar un promedio de 57 huevos en 120  $\mu$ l por pocillo, 475 huevos/ml.

**FIGURA N°13:** Huevos de *Strongyloides spp.* video 3743, 3770

#### **Conteo de Larvas de *Strongyloides spp.* Actividad Antihelmíntica *in vitro*.**

Para la obtención de larvas L<sub>3</sub> y rabditoide se recuperaron por migración espontánea usando la técnica de Harada y Mori entre 7 a 10 horas, la suspensión se colocó en un tubo cónico de 8 ml, se homogenizó y se extrajo con una pipeta automática 120 µl para luego colocarlo en una lámina porta objeto, se añadió lugol parasitológico para evitar que las larvas se muevan y facilitar su conteo, se pudo contabilizar un promedio de 20 larvas en 120 µl que fueron distribuidos en placas de micro dilución.

**FIGURA N° 14:** Conteo larvas *Strongyloides spp.*

#### **3.5.1.6 Preparación del extracto hidroalcohólico:**

Las plantas, hojas de guanábana (*Annona montana*) se recolectaron del Distrito de Santa Cruz de Flores que se encuentra en la provincia de cañete departamento Lima latitud 12°37'13" S y longitud 76°38'29" W a 85 m.s.n.m. Las hojas de matico (*Piper aduncum*), se obtuvieron de la compra en la avenida Aviación N° 284 La Victoria Lima, que provienen de la zona central de selva, el costo por cada atado fue de 1.50 soles, se extrajo solo las hojas y se pesó para luego ser llevadas a desecación a 40°C por separados por 7 días aproximadamente, cumplida la semana cada día se pesó hasta que el peso sea constante y luego tras la desecación estos fueron colocados en un molino de cuchillas hasta convertirlo en polvo fino, se almaceno en frasco color ámbar hasta completar los 800 a 900 gramos de polvo fino de cada hoja. Luego se preparó en un frasco aparte el volumen de Etanol 70% – Agua, 80: 20 v/v, esto se le añadió al envase de vidrio ámbar junto con polvo fino de las hojas para ser almacenado durante siete días en lugar fresco, mediante el método de maceración en frío, luego con la ayuda de un papel filtro se separa las muestras para obtener un líquido oscuro pero sin turbidez, se utilizó 500ml de cada hoja y se llevó a la USAQ en Facultad de Química e Ingeniera Química de la universidad de San Marcos un evaporador al vacío o liofilizador, se pesó y se almaceno.

### **FIGURA N° 5:** Preparación del extracto hidroalcohólico.

Para evaluar las concentraciones de las drogas, se pesó el producto 0,1g (liofilizado), con 1ml de agua destilada solución madre, luego realizar diluciones finales al 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% y 1.5625%.

#### **3.5.1.7 Preparación del extracto de *Piper aduncum*.**

El liofilizado de las Hojas de *P aduncum*, se pesó 0.1 gramos y se disolvió en 1 ml de agua destilada de esta se preparó diluciones finales en 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% y 1.5625%.

**TABLA N°1:** Calculo diluciones seriadas *P aduncum*:

<b>Extracto de <i>Piper aduncum</i></b>	<b>W.D</b>
0,1g extracto + 1ml diluyente agua destilada.	Sol. W
1ml sol W.D + 1ml diluyente agua destilada.	1/2
1ml sol (1/2) + 1ml diluyente agua destilada.	1/4
1ml sol (1/4) + 1ml diluyente agua destilada.	1/8
1ml sol (1/8) + 1ml diluyente agua destilada.	1/16
1ml sol (1/16) + 1ml diluyente agua destilada.	1/32
1ml sol (1/32) + 1ml diluyente agua destilada.	1/64

#### **3.5.1.8 Preparación del extracto de *Annona montana*.**

El liofilizado de las Hojas de *A montana*, se disolvió con dimetil sulfóxido, un peso 0.1 gramos y se disolvió en 1 ml de agua destilada de esta se preparó diluciones finales en 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% y 1.5625%.

**TABLA N°2:** Calculo soluciones seriadas de *A montana*:

<b>Extracto de <i>Annona montana</i></b>	
Sol. W.D + 1ml agua destilada	
1ml sol W.D + 1ml diluyente agua destilada.	1/2
1ml sol (1/2) + 1ml diluyente agua destilada.	1/4
1ml sol (1/4) + 1ml diluyente agua destilada.	1/8
1ml sol (1/8) + 1ml diluyente agua destilada.	1/16
1ml sol (1/16) + 1ml diluyente agua destilada.	1/32
1ml sol (1/32) + 1ml diluyente agua destilada.	1/64

### 3.5.1.9 Dimetil sulfóxido:

El liofilizado de *A montana* no se disuelve con agua destilada, se tuvo que trabajar con 200 µl de dimetil sulfóxido hasta que se disolviera por completo, disuelto se le agrego 1ml de agua destilada. Se realizó un control a diferentes concentraciones seriadas para observar si la concentración del dimetil sulfóxido es viable con las larvas, con 200 µl se observó la viabilidad de estas.

**TABLA N°3:** Calculo de disolución con dimetil sulfóxido y el extracto de hoja *A montana*. (W.D)

<b>Disolución con dimetil sulfóxido</b>	<b>W.D</b>
0,1g extracto + 200 µl dimetil sulfóxido + 1ml agua destilada, solo para extracto de <i>Annona montana</i> .	Sol. WD

**FIGURA N°15.** Distribución a diferentes concentraciones de los extractos de hojas.

### 3.5.2 Procedimiento:

#### 3.5.2.1 Obtención de la muestra

#### 3.5.2.2 **Áreas de estudio.**

El estudio se realizó en el distrito de la Victoria en el cruce de las avenidas 28 de Julio y Nicolás Ayllon en el ex mercado mayorista La Parada, en el departamento de Lima, a 133 msnm, longitud sur: 12° 13' 54", longitud oeste: 76° 01' 52", región natural costa, las lechugas que se compraron en los diferentes puestos al azar que provienen de diferentes lugares.

#### 3.5.2.3 **Placa de microdilución:**

Una placa de microtitulación, o microplaca es una placa con múltiples pocillos que se utilizan como pequeños tubos de ensayo. La microplaca se ha convertido en un utensilio estándar en la investigación analítica y clínica en microbiología, y en laboratorios de diagnóstico.

























- Se utilizó 2 placa de microdilución de 96 pocillos uno para la prueba de eclosión de huevo y el otro se utilizó para la prueba de motilidad de larvas de *Strongyloides spp.*
- Se dispense 120µl del extracto de hojas a diferentes concentraciones más 120µl de la suspensión de huevos o de larvas en total 240µl, por cuadruplicado por cada pocillo, de igual manera se trabajaron los controles negativos y positivos.
- Se incubo las placas tanto de huevos como de larvas a 30°C para luego ser observadas al microscopio, la placa de huevos cada 6, 12, 24, 48 y 72 horas y la placa de larvas cada 4, 6, 8, 10, 12, 14, 24, 36, 48 y 72 horas.
- El conteo se realizó en la misma placa de microdilución con el microscopio convencional a objetivo de 40x, recorriendo todos los pocillos.

- En la placa para las prueba de eclosión de huevos se contaron la motilidad larvas L<sub>1</sub> que habían en estos pocillos.
- En la placa de la prueba de motilidad se contaron las larvas L<sub>3</sub> y rabditoide hasta que en los pocillos no hubiera movimiento alguno.

**FIGURA N°16:** Distribución en la placa de Microdilución. Extractos de hojas de *Piper aduncum* o *Annona montana* más la suspensión de muestra huevos o larvas de *Strongyloides spp.*

**TABLA N°4:** Dispensar en la placa de microdilución:

DISPENSAR EN PLACA MICRODILUCIÓN POR CUADRUPLICADO.			
FILA	SOLUCION DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS POR CUADRUPLICADO	SUSPENSIÓN MUESTRA HUEVOS O LARVAS	CONTENIDO FINAL DEL POCILLO
A	120 µl solución (1/2)	120 µl	240 µl
B	120 µl solución (1/4)	120 µl	240 µl
C	120 µl solución (1/8)	120 µl	240 µl
D	120 µl solución (1/16)	120 µl	240 µl
E	120 µl solución (1/32)	120 µl	240 µl
F	120 µl solución (1/64)	120 µl	240 µl
G	120 µl de agua destilada.	120 µl	240 µl
H	240 µl de agua destilada.	-	240 µl

	1	2	3	4	
A					1/2
B					1/4
C					1/8
D					1/16
E					1/32
F					1/64

#### 3.5.2.4 Prueba de eclosión de huevos:

Métodos de diagnósticos para *Strongyloides stercoralis* en el Perú. Luis M, Marcos C, Angélica T. (2010), al microscopio con objetivo de 40x, las placas de cultivo con mayor cantidad de huevos observados son separados, se utilizó el método de concentración por flotación de sheather, a las placas de cultivo se le añadió una pequeña cantidad de agua destilada 2.5 ml y con la ayuda de un pincel chato pequeño se pasó por el medio y esto se colocó en un beaker con una gasa doblada en cuatro para eliminar el resto de excedente, a esta muestra se centrifugo 2 minuto a 2000 rpm se eliminó el excedente de agua y se resuspende, al sedimento se añadió la solución sobre saturada de azúcar se homogeniza bien y se deja reposar en 5 a 10 minutos para luego recolectar con una pipeta el sobrenadante y lavar 3 a 4 veces con agua destilada centrifugando 2 minuto a 2000 rpm. Del lavado se observa al microscopio y se pueden observar los huevos y algunas larvas muy pequeñas u otros artefactos.

El conteo en lámina porta objeto en 120µl se pudo contabilizar un promedio de 57 huevos en 120 µl por pocillo 475 huevos/ml de estos no todos eclosionaran (figura 10 y 11 video 3743, 3770).

Parte experimental:

De la cámara de micro diluciones por cuadruplicado se añadió la suspensión de huevos se homogeniza bien y se coloca 120 µl en cada pocillo un promedio de 57 huevos, 32 pocillos para *Piper aduncum* y 39 pocillos para *Annona montana* 7 más de este como controles a diferentes diluciones del dimetil sulfóxido. Para las pruebas de la actividad antihelmíntica se prepararon del extracto de las 2 hojas de plantas a diferentes diluciones finales 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% y 1.5625%, luego ser observada al microscopio 6, 12, 24, 48 y 72 horas.

#### 3.5.2.5 **Prueba de motilidad de larvas:**

Para la evaluación de la motilidad, las larvas rhabditiformes se cultivaron inicialmente por los métodos de diagnósticos para *Strongyloides stercoralis* en el Perú. Luis M, Marcos C, Angélica T. (2010), técnica de cultivo en placas de agar nutritivo, hasta que las larvas lleguen a su etapa de vida libre, para luego ser recuperada por migración espontanea usando la técnica de Harada y Mori entre 7 a 10 horas, la suspensión contiene un promedio de 20 larvas en 120 µl que son distribuidos en placas de micro dilución por cuadruplicado 32 pocillos para *Piper aduncum* y 39 para *Annona montana* 7 más de este como controles a diferentes concentraciones del dimetil sulfóxido. Para las pruebas de la actividad antihelmíntica se prepararon del extracto de las 2 hojas de plantas a diferentes diluciones finales 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% y 1.5625%, la placa se incubo a 30°C, para luego ser observada al microscopio a 40x cada 4, 6, 8, 10, 12, 14, 24, 48 y 72 horas el número de larvas móviles y no móviles se contó centrándose especialmente en la presencia o ausencia de movimiento sinusoidal:

- F: fuerte (gran cantidad de larvas con movimientos muy rápidos)
- S: suave ( larvas con movimiento dificultoso)
- A: ausente (sin movimiento).

#### 3.5.2.6 **Volumen Carga Parasitaria Huevos / Litro.**

Se asume que todos los huevos están uniformemente distribuidos en la etapa final del proceso de lavado de hojas de lechuga. El paso de la multiplicación por lo tanto se usa para convertir el número de huevos basados en huevos por litro. El número



de muestras positivas para larvas es mucho más significativa por la cantidad encontrada frente a los huevos de *Strongyloides spp.* En su mayoría se encontraron larvas en diferentes estadios y con una motilidad muy fuerte.

El método de concentración y lavado cuantitativo que se utilizó para el conteo de huevos de *Strongyloides spp.*

1. Se lavó 10 plantas de lechuga 3,500ml, se utilizó como colador una gaza doble para eliminar el excedente, se dejó reposar por 3 horas.
2. Para las hojas que se recolectó del suelo se pesó el equivalente a 10 plantas de lechuga.
3. Se eliminó el sobrenadante cuidadosamente, se añadió agua destilada y se homogeniza para luego ser llevados a varios tubos de 15 ml centrifugados a 2,300 rpm durante 2 minutos. Se repitió por tres veces.
4. Del sedimento obtenido por este procedimiento de centrifugación y lavado se divide en 2 técnicas, la de sedimentación el que se lleva a cuantificar a través de la cámara de Sedgwick-Rafter y la técnica de flotación cualitativa se utilizó esta última por la falta de cámara.
5. Se añadió al sedimento 5 volúmenes de solución de Sulfato de Zinc (ZnSO<sub>4</sub>) por 1ml del sedimento, hasta llenar los tubos, homogenizar y centrifugar a 2300 rpm durante dos minutos.
6. Se tomó el sobrenadante de todos los tubos con una pipeta Pasteur y colocar en un tubo aparte, lavar con H<sub>2</sub>O y centrifugar 3 veces a 2300rpm eliminar el sobrenadante y llevarlo a una lámina porta objeto para el conteo.
7. Se cogió la formula análisis de agua – medición del número de huevos de helminto en aguas residuales y residuales tratadas por observación microscópica - método de prueba 2012, Expresar el resultado en número de huevos por litro (Numero entero) según la siguiente formula:

$$H_L = \frac{H}{5}$$

Dónde:

H es el número de huevos contados en la muestra.

HL es el número de huevos por litro.

5 es el volumen de la muestra.

En el caso de que el resultado de la fórmula anterior sea menor de 1, se debe reportar 1 H/L.

En caso de que existan fracciones mayores a 1 H/L se deberá redondear al entero inmediato superior.

#### 3.5.2.7 Larvas de *Strongyloides stercoralis* en medio de cultivo.

Tras observar directamente a los medios de cultivos con objetivo de 40x se pudieron grabar videos donde los machos con su extremo posterior donde se encuentra su espícula copulatriz recorre la hembra varias veces para luego llegar a cupular, en otras se pudieron observarse larvas que contenían en su interior gran cantidad de huevos, el fenómeno que se pudo observar larvas hembras ya muertas en su interior no se observa ningún órgano pero se encontraban con huevo estas seguían su proceso de maduración eclosionando los huevos, las larvas L<sub>1</sub> no pueden salir del recubrimiento que posee la hembra. Las larvas que emergen dentro recorren toda la larva tratando de salir. Este fenómeno se pudo observar varias veces y es que por cada medio de cultivo se pudo observar, no se encontró ninguna información en la web a cerca de ello es por eso que es necesario continuar con dicho estudio.

Fotos: 3858, 3859, 3860, 3861. y videos 3:862, 3863, 3864, 3865.

### 3.6 Plan de Análisis de Datos

Los datos obtenidos fueron comparados utilizando hojas de cálculos estadísticos en formato Microsoft Office Excel Professional Plus 2010, SPSS para luego ser plasmados en cuadros resumidos en el presente trabajo de investigación.

## CAPITULO IV: RESULTADOS ESTADÍSTICOS

### 4.4. Resultados

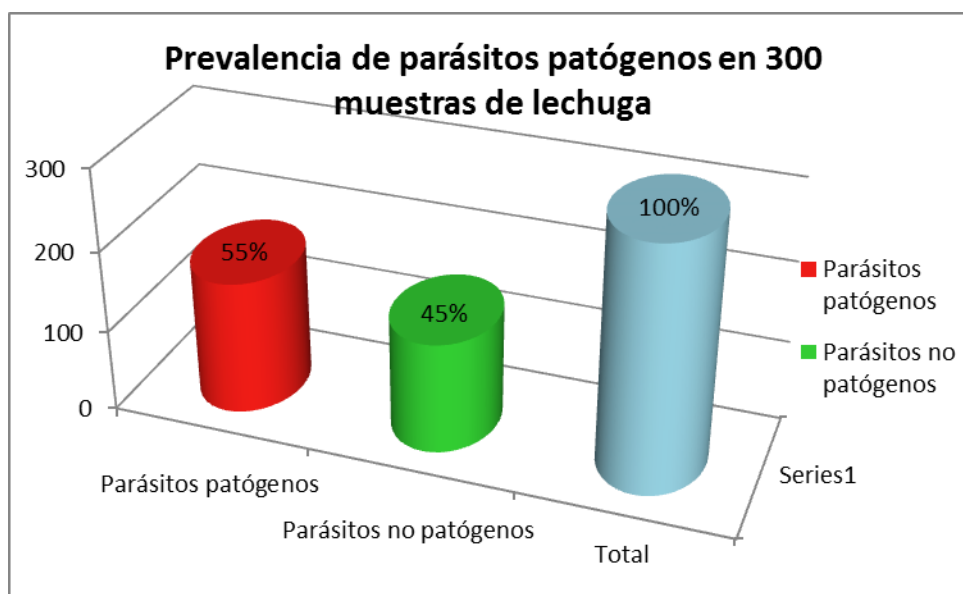
#### 4.4.1. Enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas.

Protozoos y nematodos patógenos encontrados en 300 muestras de los diferentes tipos de lechugas que se expenden en la Av. 28 de Julio.

**TABLA N°5:** Resultado de 300 muestras de lechugas analizadas parásitos patógenos:

300 Muestras analizadas	Numero de lechugas analizadas	Porcentaje de lechugas
Parásitos patógenos	164	55%
Parásitos no patógenos	136	45%
Total	300	100%

**GRAFICO N°1:** Prevalencia de parásitos patógenos en 300 muestras de lechuga que se expenden en los diferentes puestos de la Av. 28 de Julio.



En la tabla número 5 y grafico 1 se observa que en las 300 muestras estudiadas fueron positivas a protozoos y nematodos patógenos para los seres humanos.

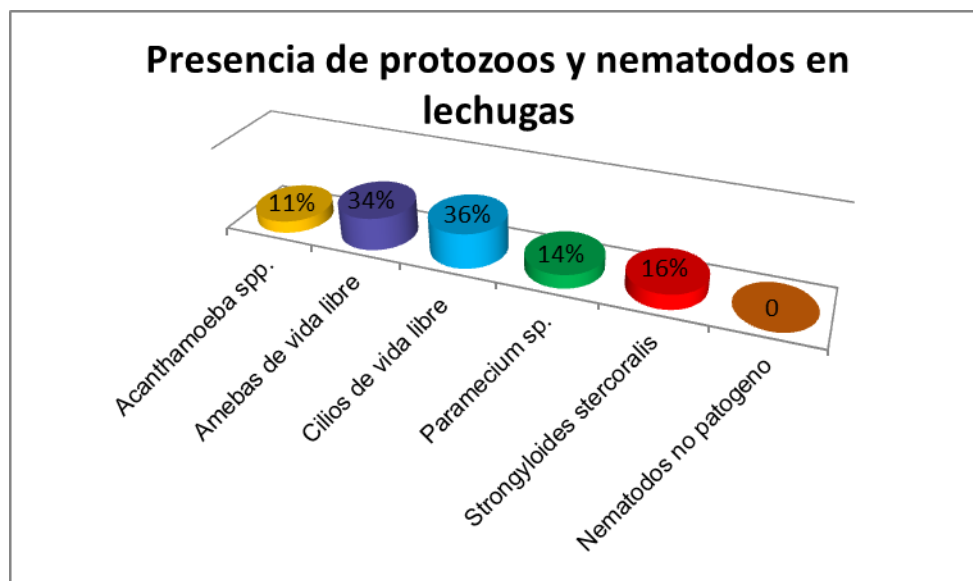
4.4.2. Tipos de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas.

Prevalencia de protozoos y nematodos en lechugas que son consumidos crudos, expendidos en los puestos de la Av. 28 de Julio, según especies.

**TABLA N°6:** Protozoos y nematodos patógenos para los seres humanos en 300 muestras de lechugas analizadas:

Especies de protozoos y nematodos		Cantidad	%
Protozoos patógenos	<i>Acanthamoeba spp.</i>	73	11
protozoos no patógenos	Amebas de vida libre	197	34
	Cilios de vida libre	212	36
	<i>Paramecium spp.</i>	83	14
Nematodos patógeno	<i>Strongyloides stercoralis</i>	91	16
Nematodos no patógeno		0	0

**GRAFICO N°2:** Presencia de protozoos y nematodos en lechugas, que se expende en los puestos de la Av. 28 de julio.



En la tabal 6 y grafico 2 se observa la prevalencia de protozoos patógenos *Acanthamoeba spp.* 11%, nematodo patógeno para los seres humanos, *Strongyloides stercoralis* con un 16 %.

4.4.3. Enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas según lugar de procedencia.

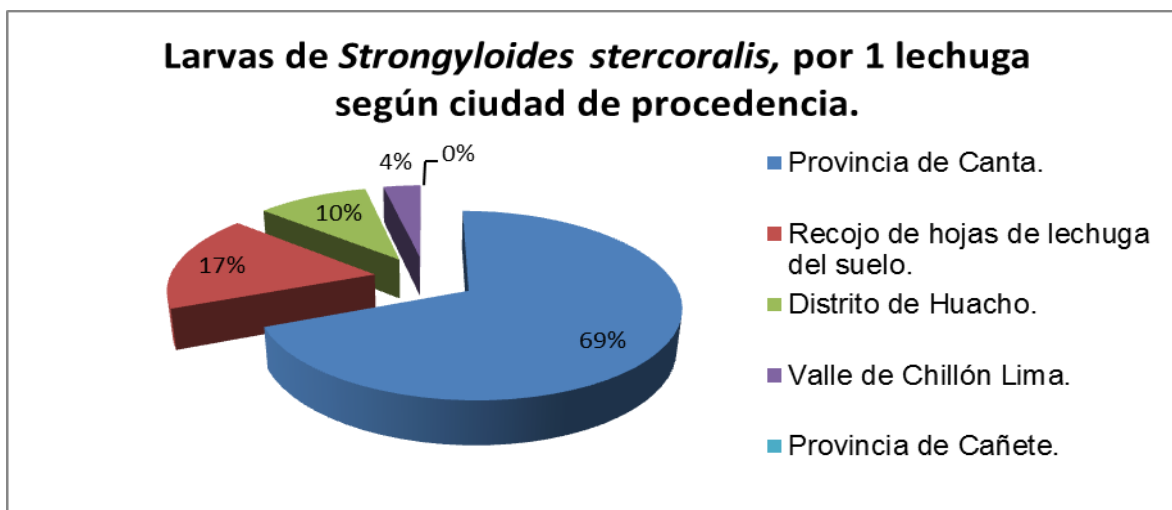
En el estudio se analizaron de un total de 300 lechugas, de seis tipos los cuales cumplieron con los criterios de procedencia de Canta, Huacho, Chillón y Cañete. La distribución de las muestras según área de procedencia se observa en los siguientes cuadros:

**TABLA N°7:** Larvas de *Strongyloides stercoralis*, en 1 lechuga según ciudad de procedencia:

Ciudad de procedencia	En 50 µl suspensión	%
Provincia de Canta.	20	69%
Recojo hojas de lechuga del suelo.	5	17%
Distrito de Huacho.	3	10%
Valle de Chillón Lima.	1	4%
Provincia de Cañete.	0	0%

En la tabla 7, en 1 lechuga por lugar de procedencia la cantidad en una gota de suspensión del lavado de hojas.

**GRAFICO N°3:** Porcentaje de larvas por lechuga según ciudad de procedencia.

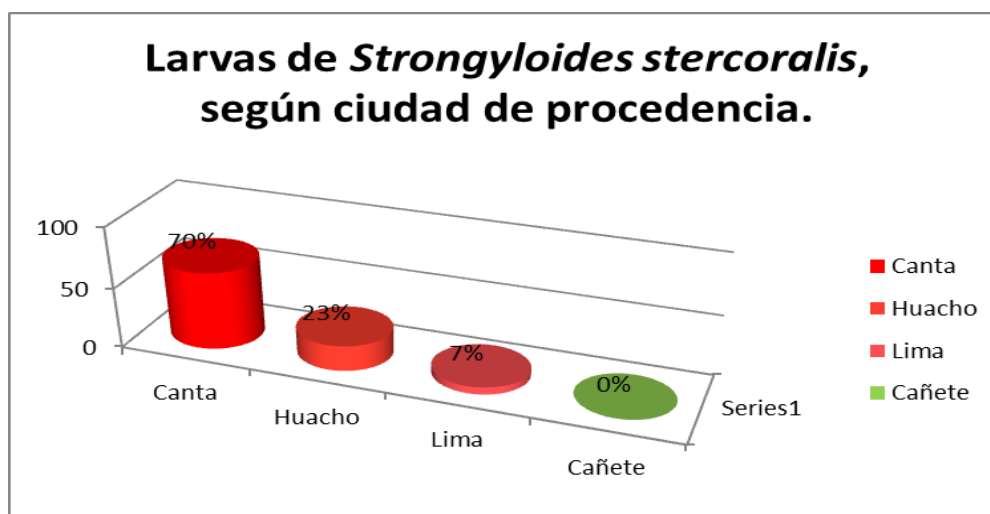


La tabla 7 y grafico 3, la provincia de Canta 69%, seguida del recojo de hojas del suelo con un 17% en ambas muestras se pudo observar a las larvas en diferentes estadios con movilidad muy fuerte, el Distrito de Huacho registra un 10% y el valle de Chillón con 4% en estas últimas se observaron larvas sin movilidad y deterioradas en sus órganos principales.

**TABLA N°8:** Larvas de *Strongyloides stercoralis*, según el tipo de lechuga de 300 muestras:

Lugar de Procedencia	TIPOS DE LECHUGAS	Cantidad	detección parásitos	%
Canta	- Lechuga <i>Trocadero</i> .	97	43	70
	- Lechuga <i>Butterhead</i> .		21	
Huacho	- Lechuga <i>Batavia</i> .	69	14	23
	- Lechuga <i>Curly</i> .		7	
Valle de Chillón Lima	- Lechuga <i>Iceberg</i> .	71	0	7
	- Lechuga <i>Escarola</i> .		0	
	- Lechuga <i>Batavia</i> .		2	
	- Lechuga <i>Curly</i> .		4	
Cañete	- Lechuga <i>Curly</i> .	63	0	0
	- Lechuga <i>Iceberg</i> .		0	
	- Lechuga <i>Escarola</i> .		0	
	- Lechuga <i>Batavia</i> .		0	

**GRAFICO N°4:** Detección de larvas en 300 lechugas según lugar de procedencia.



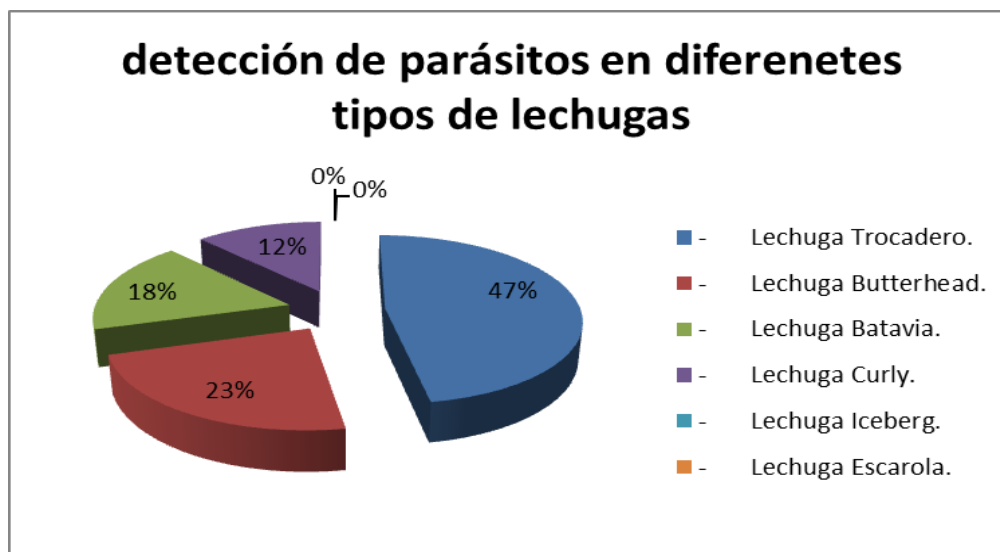
En la tabla 8, grafico 4, el lugar de mayor prevalencia de larvas de *Strongyloides stercoralis*, provienen de la provincia de Canta con un 70%, seguido del distrito de Huacho 23% y el valle de Chillón con 7%, la provincia de Cañete no registra ningún tipo de parasito patógeno.

Los seis tipos de lechugas compradas al azar de los diferentes puestos de la avenida 28 de julio y fueron:

**TABLA N°9:** Porcentaje de larvas según el tipo de Lechuga:

TIPOS DE LECHUGAS	Cantidad 300	detección parásitos	%
- Lechuga <i>Trocadero</i> .	58	43	47
- Lechuga <i>Butterhead</i> .	39	21	23
- Lechuga <i>Batavia</i> .	44	16	18
- Lechuga <i>Curly</i> .	47	11	12
- Lechuga <i>Iceberg</i> .	59	0	0
- Lechuga <i>Escarola</i> .	53	0	0

**GRAFICO N°5:** Detección de parásitos en diferentes tipos de lechuga.



Los tipos de lechugas reportaron *Trocadero* 47%, *Butterhead* 23% y *Batavia* 18% estas provienen del norte de Lima, Canta y Huacho le siguen *Curly* 12%, *Iceberg* 0% y *Escarola* 0% estas provienen de Chillón, Cañete y Huacho estas ultima no mostraron ningún tipo de quiste huevo o larva de parásitos, estas últimas son tipo

repollo y sus hojas no están en contacto con la tierra y si la están estas son quitadas en el proceso de selección.

#### 4.4.4. Volumen carga parasitaria huevo / litro.

Tras realizar el conteo en lámina porta objeto, se obtuvieron los siguientes resultados en litros, por medio de regla de tres simple se obtuvo huevo / 350ml.

**TABLA N°10:** Porcentaje volumen carga parasitaria Huevo / Litro:

Lugar de procedencia	Huevos/ Litro	Huevos 350ml	%
Provincia de Canta.	9	3.1	82
Recojo de hojas del suelo.	2	0.7	18
Distrito de Huacho.	0	0	0
Valle de Chillón Lima.	0	0	0
Provincia de cañete.	0	0	0

**GRAFICO N°6:** Volumen carga parasitaria huevos / Litro.



La tabla 10 grafico 6 los volúmenes de lavado para establecer la carga parasitaria en las lechugas comercializadas en un mercado de abasto fueron se encontró 9 huevos de *Strongyloides spp.* que representa el 82% que provienen de la provincia de Canta, que representa 3 huevos por cada lechuga, seguido del recojo de hojas del



suelo con un promedio de 2 huevos / litro. Los demás lugares de procedencia no se observó ningún otro quiste o huevo de parásito.

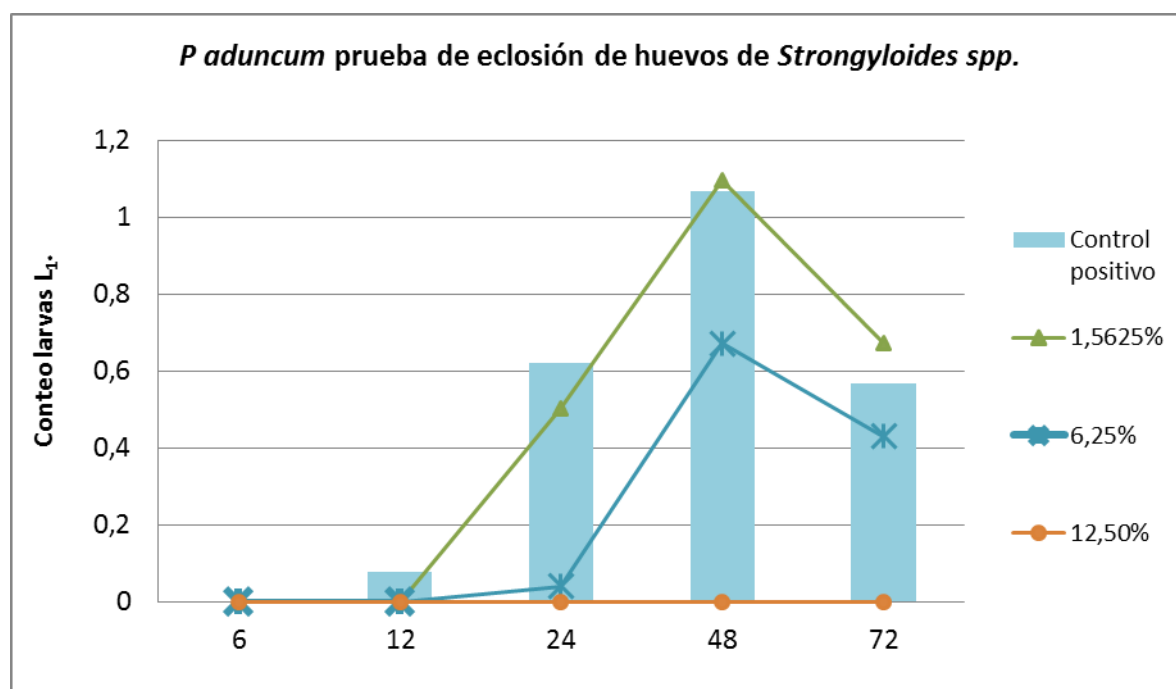
#### 4.4.5. Actividad antihelmíntica de los extractos de hojas *Piper aduncum* y *Annona montana*.

##### 4.4.5.1 Prueba de eclosión de huevos *Piper aduncum*:

**TABLA N°11:** Prueba de eclosión de huevos *Piper aduncum*.

HORAS	control negativo	Control positivo	1,5625%	3,125%	6,25%	12,50%	25%	50%
6	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0,079	0	0,079	0	0	0	0
24	0	0,623	0,505	0,653	0,0413	0	0	0
48	0	1,068	1,096	1,136	0,672	0	0	0
72	0	0,568	0,672	0,755	0,431	0	0	0

**GRÁFICO N°7:** Prueba de eclosión de huevos *Piper aduncum*.



El conteo de larvas L<sub>1</sub> se realizó en la misma placa de microdilución, con el microscopio a 40x, solo se contaron las que están viables con motilidad. En las tres primeras diluciones al 50%, 25% y 12.5% indicaron una actividad significativa del extracto de hojas de *P aduncum*, no se observaron larvas L<sub>1</sub>, demostraron ser eficaces en el desarrollo inicial del embrión, al 6.25% en sus primeras 24 horas la eclosión es escasa pero a las 48 horas se estabiliza y decae a partir de 72 horas como en todas las diluciones finales, 3.125% y 1.5625% hay larvas L<sub>1</sub>.

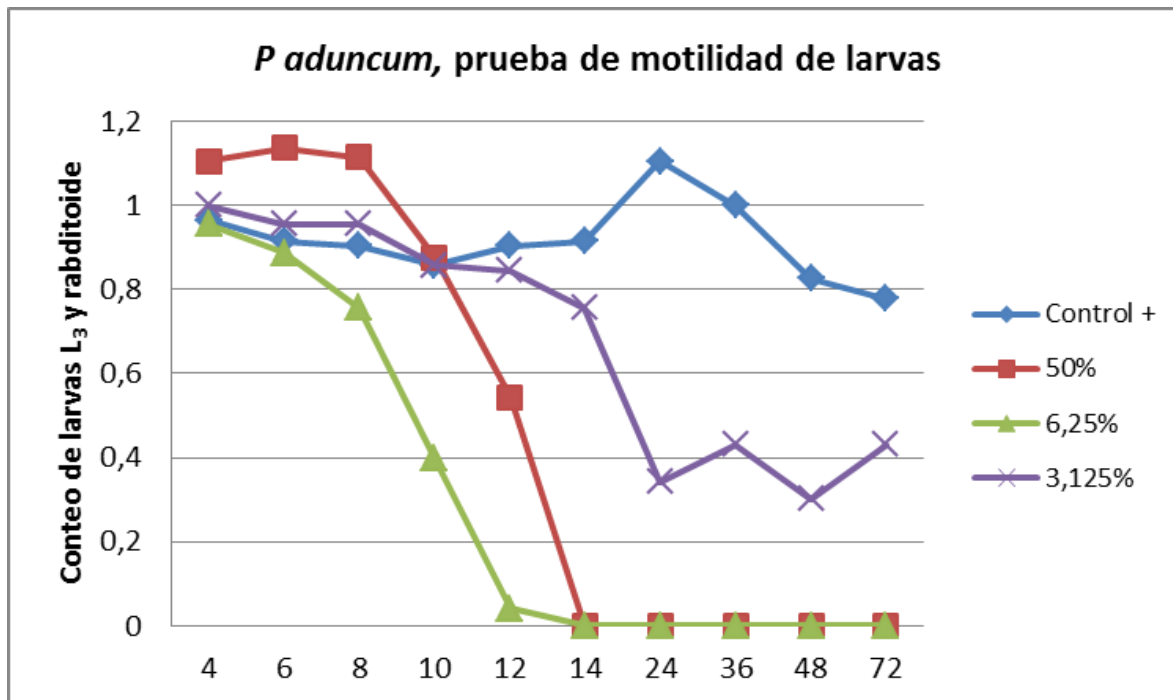
Se observó la mayor actividad en la eclosión de huevos estuvo dentro de las 48 horas, en el control positivo decayó a las 72 horas como en las otras diluciones.

#### 4.4.5.2 Prueba de motilidad de larvas *Piper aduncum*:

**TABLA N°12:** Prueba de motilidad de larvas *Piper aduncum*.

HORAS	control -	Control +	1,5625%	3,125%	6,25%	12,50%	25%	50%
4	0	0,963	0,986	1	0,954	1	0,986	1,103
6	0	0,913	1,029	0,954	0,886	1	1,068	1,136
8	0	0,903	1	0,954	0,755	0,826	0,913	1,113
10	0	0,857	0,963	0,857	0,397	0,342	0,602	0,875
12	0	0,903	0,954	0,845	0,041	0,041	0,041	0,544
14	0	0,913	0,986	0,755	0	0	0	0
24	0	1,103	1,176	0,342	0	0	0	0
36	0	1	1,029	0,431	0	0	0	0
48	0	0,826	0,977	0,301	0	0	0	0
72	0	0,778	0,886	0,431	0	0	0	0

**GRÁFICO N°8:** Prueba de motilidad de larvas, *Piper aduncum*.



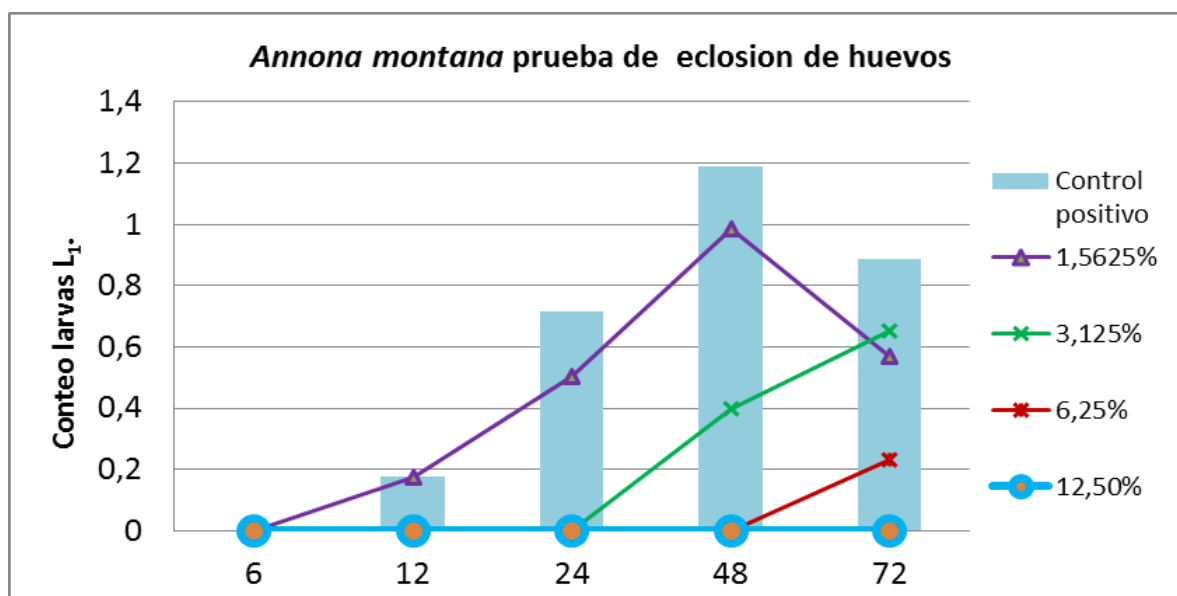
Las larvas en su mayoría expuestas a altas concentraciones del extracto de hojas de *Piper aduncum* al 50%, 25% y 12.5% van decayendo en número de motilidad a partir de las 10 y 12 horas el movimiento es lento y hasta al veces se observa con dificultad. A las 14 horas se observó que no hay ningún movimiento en las tres primeras diluciones, al 6.25% entre las 10 y 14 horas decae su número de movimiento 48 horas después estas pierden su motilidad, al 3.125% después de las 24 horas la motilidad se vuelve lenta. Solo la dilución al 1.5625% se mantiene al igual que el control positivo pero se puede observar que entre las 48 y 72 horas hay larvas L<sub>1</sub>.

#### 4.4.5.3 Prueba de eclosión de huevos *Annona montana*:

**TABLA N°13:** Prueba de eclosión de huevos *Annona montana*:

HORAS	control negativo	Control positivo	Dimetil Sulfóxido.	1,5625%	3,125%	6,25%	12,50%	25%	50%
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0,176	0,176	0,176	0	0	0	0	0
24	0	0,716	0,623	0,505	0	0	0	0	0
48	0	1,190	1,301	0,986	0,397	0	0	0	0
72	0	0,886	0,653	0,568	0,653	0,230	0	0	0

**GRÁFICO N°9:** Prueba de eclosión de huevos *Annona montana*.



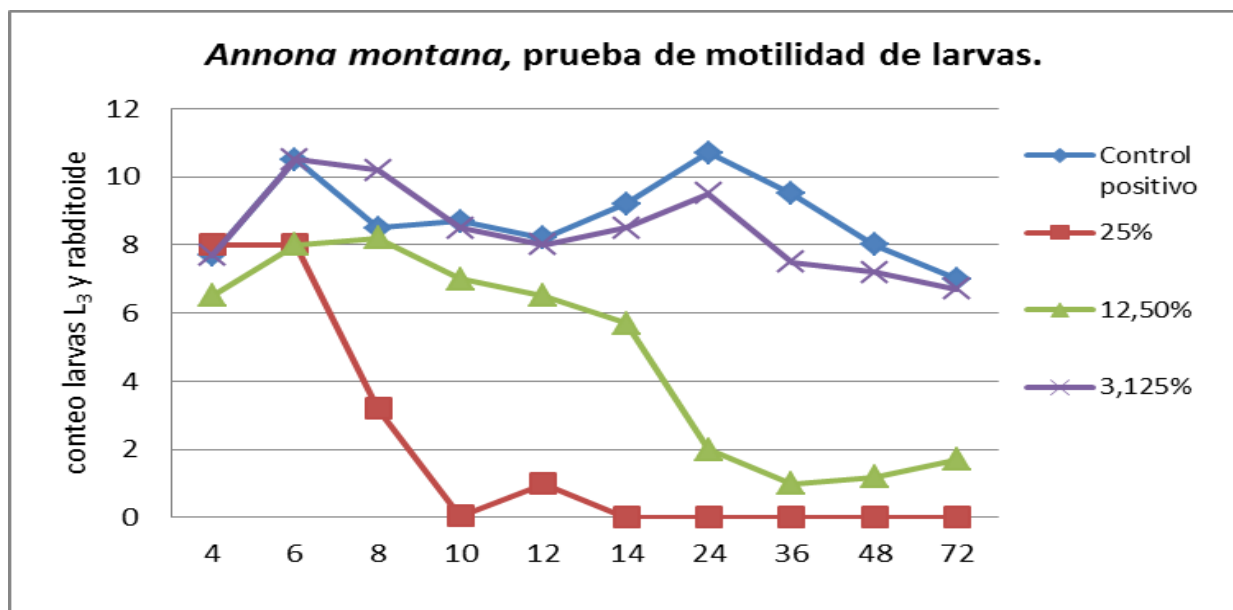
Los resultados indicaron una actividad significativa del extracto de hojas de *Annona montana* en la prueba de eclosión de los huevos en las diluciones al 50%, 25% y 12.5%, donde no se observó ningún movimiento pasada las 72 horas, solo las que estuvieron a concentraciones de 6.25% eclosionaron los huevos con las larvas ya desarrolladas, pero fueron decayendo pasando las 96 y 120 horas no había movimiento. En 3.125% y 1.5625% estas siguieron el proceso de crecimiento y solo decayeron a las 72 horas.

4.4.5.4 Prueba de motilidad de larvas *Annona montana*:

**TABLA N°14:** Prueba de motilidad de larvas *Annona montana*:

HORAS	Control negativo	Control positivo	C. Dimetil sulfóxido	1,5625%	3,125%	6,25%	12,50%	25%	50%
4	0	0,886	1	0,826	0,886	0,812	0,812	0,903	1,041
6	0	1,021	1,255	0,986	1,021	0,903	0,903	0,903	1,06
8	0	0,929	1,176	0,986	1,008	0,913	0,913	0,505	0,792
10	0	0,939	1,176	0,963	0,929	0,653	0,845	0,041	0,230
12	0	0,913	1,146	0,845	0,903	0,698	0,812	0	0,176
14	0	0,963	1,113	0,857	0,929	0,875	0,755	0	0
24	0	1,029	1,278	0,954	0,977	0,716	0,301	0	0
36	0	0,977	1,204	0,886	0,875	0,301	0,041	0	0
48	0	0,903	1,176	0,857	0,857	0,397	0,079	0	0
72	0	0,845	1,079	0,778	0,826	0,653	0,230	0	0

**GRÁFICO N°10:** Prueba de motilidad de larvas *Annona montana*.



La actividad del extracto de hoja de *Annona montana* en las diluciones 50% y 25% a las 14 horas inhibieron la motilidad de larvas L<sub>3</sub> y rabditoide, entre las 6 hasta las 12 horas disminuyen significativamente en número de movimiento, lentos y con gran dificultad al movilizarse, en 12.5% lo hace entre las 14 y 36 horas y se mantiene estable al igual en 6.25% se mantiene con movimiento muy lento hasta las 72 horas y las últimas diluciones 3.125% y 1.5625% se mantuvieron con un movimiento fuerte e incluso se pudo observar eclosión de larvas L<sub>1</sub> entre las 48 y 72 horas.

En el control de larvas con el dimetil sulfóxido las larvas se mantienen constantes, con un movimiento estable y fuerte, diferente al control positivo de larvas conforme pasan las horas va decayendo en número y la motilidad se vuelve lenta.

## Discusión de resultados

### 4.5 Discusiones:

En los estudios la prevalencia de protozoos y nemátodos en lechugas que se consumen crudos, expendidos en los mercados de abastos de la Av. 28 de Julio ex mercado La Parada, en el mes de Julio del 2015. Se analizaron 300 muestras que corresponde a cuatro Distritos y Provincias de Lima. Se encontraron un 55% del total de muestras positivas para protozoos y nemátodos, de estos el 70% corresponde a larvas de *Strongyloides stercoralis* según el lugar de procedencia la Provincia de Canta, coincidiendo con Guerrero C y col. Que realizaron un estudio a las larvas de *Strongyloides spp.* en lechugas de los mercados de la Victoria y Caquetá (Lima Marzo del 2011) de 60 muestras el 63% presento contaminación con larvas de *Strongyloides spp.* en fase de filariforme y rabditoide<sup>10</sup>, no concordando con Contreras y col, 2012.(Tacna). Se analizaron 522 muestras correspondientes a cuatro especies de hortalizas, procesadas por los métodos de sedimentación, observación directa y por la técnica de coloración de Ziehl-Neelsen modificado. Encontrándose; *Isospora sp.* 17,06%, *Cryptosporidium parvum* 2,48% y *Giardia sp.* 1,71%. Las hortalizas de mayor contaminación fueron la lechuga 6,13%, rabanito 5,55% y repollo 5,59%.<sup>30</sup>

Las especies de protozoos y nematodos encontrados en los diferentes tipos de lechuga fueron: amebas, ciliados de vida libre quiste de *Acanthamoeba spp.* y huevos y larvas de *Strongyloides stercoralis*, pero ninguno otro parasito patógeno para el ser humano. Pese a esto, no se encontraron especies de protozoos y nematodos similares, con Huayna L y col, 2013. Su investigación tuvo como objetivo evaluar la presencia de enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) Huacho, Provincia de Huaura 2012. De 28 muestras de lechuga, 23 presentaron presencia de enteroparásitos 82,1%. Las técnicas Takayanagui, Lutz y Sheather detectó helmintos y protozoarios intestinales *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli*, *Giardia lamblia*, *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura*<sup>31</sup>.

Los extractos de hojas de *Annona montana* según los trabajos de investigación los efectos antiparasitarios de plantas del genero *Annona* y de acetogeninas encontradas se han informado en investigaciones anteriores a partir de semillas de

*Annona squamosa*, causa inhibición de la eclosión de huevos en un 90% en *Haemonchus contortus*. Souza et al. (2008)<sup>44</sup>. No se conocen los mecanismo de acción de los extractos de las plantas de la familia Annonaceae, pero los estudios han sugeridos que el mecanismo de inhibición de la eclosión de huevos y el desarrollo de las larvas de diferentes parásitos se relaciona con la inhibición de la división celular y por consecuencia a la formación de estructuras vitales del parasito Gallardo et al. (1998). Esto refleja en algo esta investigación en la eclosión de huevos y la inhibición de larvas de *Strongyloides spp.* en la concentración al 6.25 % las larvas L<sub>3</sub> y rabditoide a las 24 horas decae en número de motilidad y en los huevos de *Strongyloides spp.* a las 24 horas se produce la eclosión de larvas L<sub>1</sub> pero estas pasadas las horas pierden su motilidad, se refleja la poca cantidad solo eclosionaron los huevos que en su interior ya estaban formado las larvas. Pasada las 96 y 120 horas no hay movimiento en 6.25%.

El aceite de *Piper aduncum* contiene 22 sustancias que se distribuyen en monoterpenos, sesquiterpenos y el principal monoterpenos oxigenados 1,8 – cineol. Oliveira et al., 2013. El sesquiterpeno más representativo fue asignado el bicyclogermacrene, arypropanoid, generalmente identificado en *Piper aduncum* no se registran en la muestra. Maia et al., 1998. Esta especie tiene un gran potencial Piperaceae para el control alternativo de nematodos ya que esta planta es fácilmente cultivable Oliveira et al., 2013. Los extractos mostraron una eficacia en la inhibición de motilidad de las larvas L<sub>3</sub> y rabditoide pasada las 12 horas y en la eclosión de los huevos de *Strongyloides spp.* en las diluciones 50%, 25% y 12.5%.



#### 4.6 Conclusiones:

El enteroparásitos potencialmente patógenos encontrada en los diferentes tipos de lechugas fue quiste de *Acanthamoeba spp.* y huevos, larvas de *Strongyloides stercoralis*, también se encontraron amebas y ciliados de vida libre pero ninguno otro parasito patógeno para el ser humano.

- Todos los enteroparásitos potencialmente patógenos fueron quiste de *Acanthamoeba spp.* y huevos, larvas de *Strongyloides stercoralis*, en diversos estadios no se encontró otros tipos de parásitos de importancia médica.
- Los lugares de procedencia con mayor índice de parásitos fueron las provenientes del norte provincia de Canta 70%, seguido del distrito de Huacho 23% y los provenientes de Lima este del valle Chillón 7%.
- El volumen de lavado se estableció en huevos / Litro encontrándose 9 huevos de *Strongyloides spp.* que representa el 82% que provienen de la provincia de Canta, seguido del recojo de hojas del suelo con un promedio de 2 huevos / litro 18% el resto de lugares no se encontraron huevos de parásitos.
- Los extractos de *Annona montana* y *Piper aduncum* mostraron tener el efecto antinematoda en ambas pruebas de eclosión de huevos y motilidad de larvas, por lo que se puede concluir que el tipo de extracto tiene un gran potencial para ser usado en el manejo antiparasitario, también amplían el estudio a diversos plagas de insectos.

#### 4.7 Recomendaciones:

- La recolección de planta de *Lactuca sativa* (lechuga), las cuales fueron recolectadas en los puestos de comerciantes de ventas de hortalizas que se expende en la Av. 28 de Julio, los datos recolectados del lugar de procedencia fueron tomados de los mismo vendedores que expende el producto, se recomienda recolectar los datos que provienen de los mismo camiones que llegan al mercado, estos llegan entre las 4am.
- La metodología de siembra y resiembra de cultivo puede ser utilizado en las muestras regionales, en unidades de investigación como el INS u otras instituciones.
- Para el método de cuantificación tiende a emplear mayor tiempo e instrumentos, pero es necesario cuando se requiere conocer el número de quistes, huevos en aguas de recreación o en procesos de tratamiento de aguas servidas y aguas destinadas a cultivo. El método de concentración y lavado cuantitativo se debe utilizar una cámara de Sedgwick-Rafter o McMaster. Análisis de agua – medición del número de huevos de helminto en aguas residuales y residuales tratadas por observación microscópica - método de prueba 2012.
- Es necesario realizar un conteo de larvas es mucho más significativa por la cantidad encontrada frente a los huevos de *Strongyloides spp.* En su mayoría se encontraron larvas en diferentes estadios y con una motilidad muy fuerte para eso es necesario utilizar cámara de Sedgwick-Rafter o McMaster.

## REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Soto M, Enfermedades Transmitidas por Alimentos, una importante causa de morbilidad en nuestro País, MINSA. Boletín Epidemiológico (Perú). 21015;24(34): 676-677. Disponible en:  
<http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2015/34.pdf>
- 2- OMS .Helmintiasis transmitidas por el suelo. Nota descriptiva N°366. 2015 [Citado: 2 de Mayo 2015].Disponible en:  
[http://www.who.int/foodsafety/areas\\_work/foodborne-diseases/es/](http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/es/)
- 3- Moreno A, Roses M, Mistry N. Banco Interamericano de Desarrollo, Organización Panamericana de la Salud, Instituto de Vacunas Sabin. Un Llamado a la Acción: Hacer frente a helmintos transmitidos por el suelo en América Latina y el Caribe. [actualizado2011;citado 8 dic 2014]. Disponible en:  
[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=13724&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=13724&Itemid)
- 4- Albis Gabrielli/OMS. Acción contra las lombrices / las más desatendidas de las lombrices “desatendidas” diciembre 2007; Numero 10. [Citado: 11 de Diciembre 2014]. Disponible en:  
[http://www.who.int/neglected\\_diseases/preventive\\_chemotherapy/Newsletter10\\_spa.pdf](http://www.who.int/neglected_diseases/preventive_chemotherapy/Newsletter10_spa.pdf)
- 5- Pérez G, Rosales M, Valdez R, Vargas F, Córdova O y col. Detección de Parásitos Intestinales en Agua y Alimentos de Trujillo, Perú. Rev Perú Med [Internet]. 2008;25(1);144-48.Disponible en:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342008000100018&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000100018&lng=es&nrm=iso)

- 6- Botero D. & Restrepo M. (2003). *Parasitosis humanas*. 4ta ed. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia.
- 7- Martínez C, González G, Núñez M, Pérez S, García J y col. *Strongyloides stercoralis* en el sur de Galicia. AN. MED. INTERNA (Madrid) ARAN EDICIONES [Internet]. 2003;20(9):477-479. Disponible en:  
<http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v20n9/notacli4.pdf>
- 8- Uribarren T, GIARDIASIS o GIARDIOSIS: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina UNAM. Disponible en:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/giardiasis.html>
- 9- Marcos L, Canales M, Terashima A. Métodos de diagnóstico para *Strongyloides stercoralis* en el Perú. Revista Peruana de Parasitología[Internet]. 2010;18(1):2-9. Disponible en:  
[http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/parasitologia/v18\\_n1/pdf/a02.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/parasitologia/v18_n1/pdf/a02.pdf)
- 10-Guerrero C, Garay A y Guillén A. Larvas de *Strongyloides* spp. en lechugas obtenidas en mercados de Lima. RevPeruMedExp Salud Pública [Internet]. 2011;28(1): 156-160.Disponible en:  
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n1/a28v28n1.pdf>
- 11-Zerpa R, Espinoza Y, Náquira C. Ciclo biológico de *Strongyloides fuelleborni*: imágenes y videos. RevPeruMedExp Salud Publica. [Internet]. 2014;31(2):390-392. Disponible en:  
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v31n2/a32v31n2.pdf>
- 12-Kozubsky L, Archelli S. Consideraciones sobre la biología y el diagnóstico de *Strongyloides stercoralis*. Acta BioquímClínLatinoam [Internet]. 2004; 38 (3): 333-338.Disponible en:

<http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v38n3/v38n3a11.pdf>

13-Muñoz V, Laura N. Alta contaminación por Enteroparásitos de Hortalizas Comercializadas en los Mercado de la Ciudad de la Paz, Bolivia. BIOFARBO [Internet]. 2008;16( ):1-7. Disponible en:

[http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S1813-53632008000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S1813-53632008000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

14-Rea M, Fleitas A, Borda C. Existencia de parásitos intestinales en hortalizas que se comercializan en la ciudad de Corrientes, Argentina. CENPETROP [Internet]. 2004:resumen M-102. Disponible en:

<http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/3-Medicina/M-102.pdf>

15-Al-Shawa R and N.Mwafy S. "The enteroparasitic contamination of commercial vegetables in Gaza Governorates," The Journal of Infection in Developing Countries [Internet]. 2007;1(1):62–66.Disponible en:

<http://smwafy.6te.net/enteroparasitic.pdf>

16-Cazorla D, Morales P, Chirinos M y Acosta M. Evaluación parasitológica de hortalizas comercializadas en Coro, estado Falcón, Venezuela. Boletín de Malariología y salud ambiental [Internet]. 2009;29(1):117-125. Disponible en:

[http://www.iaes.edu.ve/descargas/Boletn%20de%20Malariologa%20y%20Salud%20Ambiental/V49-N1-2009/09\\_articulo\\_06.pdf](http://www.iaes.edu.ve/descargas/Boletn%20de%20Malariologa%20y%20Salud%20Ambiental/V49-N1-2009/09_articulo_06.pdf)

17- Amal A, Mohamed N, Nuri M, Mohamed S and Khalifa G. Parasitological contamination in salad vegetables in Tripoli-Libya. Food Control doi [Internet]. 2009;11(005):1-3.Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713509003132>

- 18-Shahnazi M, Sharifi M, Kalantari Z, Allipour M y Agamirkarimi N. The study of consumed vegetable parasitic infections in Qazvin. Irán. JQUMS [Internet]. 2009;12(4). Disponible en:  
<http://cdn.medlib.ir/oldPDF/22/438/4739.pdf>
- 19-Sena A, Ribeiro R, Carvalho E, Clayton R, Brassea G, Zabeu M y col. Análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano. REV CUBANA MED TROP [Internet].2010; 62(1).21-7Disponible en:  
<http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v62n1/mtr04110.pdf>
- 20-Hadi M. "Isolation and identification of intestinal parasites from vegetables from different markets of Iraq," Bulletin of the Iraq Natural History Museum[Internet].2011;11(4):17–25.Disponible en:  
<http://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&ald=34327>
- 21-Saida L and Nooraldeen K. Prevalence of parasitic Stages in Six Leafy Vegetables in Markets of Erbil City, Kurdistan Region-Iraq. Zanco Journal of Pure and Applied Sciences[Internet].2014;26(2):25-30.Disponible en:  
<file:///C:/Documents%20and%20Settings/GAMA/Mis%20documentos/Downloads/13-19-1-SM.pdf>
- 22- Zewdneh T and Dawit K. Parasitological Contamination of Wastewater Irrigated and Raw Manure Fertilized Vegetables in Mekelle City and Its Suburb, Tigray, Ethiopia.CNCS[Internet].2012;4(1):77-89.Disponible en:  
<http://www.mu.edu.et/mejs/pdfs/v4n1/74058-166265-1-PB.pdf>
- 23-Puig Y, Leyva V, Rodríguez A, Carrera J, Molejón P y col. Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en

áreas de cultivo en La Habana. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Internet].2013;13(1):111-119. Disponible en:

<http://www.redalyc.org/pdf/1804/180431104013.pdf>

24-Rivas M, Venales M, Belloso G. Contaminación por enteroparásitos en tres hortalizas frescas expendidas en el Mercado Municipal de Los Bloques de Maturín, Monagas, Venezuela. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos [Internet].2012; 3 (1).028-037.Disponible en:

[http://www.rvcta.org/Publicaciones/Vol3Num1/ArchivosV3N1/Rivas\\_Magalys\\_et\\_al.\\_RVCTA-V3N1.pdf](http://www.rvcta.org/Publicaciones/Vol3Num1/ArchivosV3N1/Rivas_Magalys_et_al._RVCTA-V3N1.pdf)

25-Sosa L, Cardozo M, Kozubsky L, Costas M, Magistrello P. Determinación de parásitos en vegetales de consumo humano.Facultad de Ciencias Exactas-UNLP. 2013.Disponible en:

[http://200.123.165.129/archivos/congreso\\_zoonosis/congreso/resumenes/Determinaci%C3%B3n%20de%20par%C3%A1sitos%20en%20vegetales%20de%20consumo%20humano.pdf](http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/Determinaci%C3%B3n%20de%20par%C3%A1sitos%20en%20vegetales%20de%20consumo%20humano.pdf)

26-Saida L and Nooraldeen K. Prevalence of parasitic Stages in Six Leafy Vegetables in Markets of Erbil City, Kurdistan Region-Iraq. Zanco Journal of Pure and Applied Sciences [Internet]. 2014;26(2). Disponible en:

<http://zancojournals.su.edu.krd/index.php/JPAS/article/view/13/9>

27-. Ahmad M, Mostafa S, El-Sayed M, Mohammed A, Salah A y col. Parasitic Contamination of Commonly Consumed Fresh Leafy Vegetables in Benha, Egypt.Journal of Parasitology Research[Internet]. 2014;Article ID 613960, 7pages.Disponible en:

<http://www.hindawi.com/journals/jpr/2014/613960/>

- 28-Duedu K, Yarnie E, Tetteh-Quarcoo P, Attah S, Donkor E y col. A comparative survey of the prevalence of human parasites found in fresh vegetables sold in supermarkets and open-aired markets in Accra, Ghana. BMC Research Notes [Internet]. 2014;7:836. Disponible en:  
<http://www.biomedcentral.com/1756-0500/7/836>
- 29-Villanueva C, silva M y col. Protozoarios y helmintos en hortalizas comestibles que se expenden en los mercados de la ciudad de Ica. BVRevistas parasitología[Internet]. Disponible en:  
[http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/parasitologia/v13\\_n1/pdf/a06v13n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/parasitologia/v13_n1/pdf/a06v13n1.pdf)
- 30-Contreras B, Estudio de la contaminación por enteroparásitos de importancia de Salud Pública en hortalizas expendidas en los mercados del Cercado de Tacna. [Tesis de Licenciatura]. Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann[Internet]. 2012.Disponible en:  
[http://200.37.105.196:8088/opac\\_css/index.php?lvl=notice\\_display&id=21719#.VaCVfvl\\_Oko](http://200.37.105.196:8088/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=21719#.VaCVfvl_Oko)
- 31-Huaynas L. Presencia de Enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) comercializada en el distrito de Huacho. Infinitum[Internet].2013.3(1); 12-18.Disponible en:  
<http://web.unifsc.edu.pe/revistas/index.php/Infinitum/article/view/96/95>
- 32-Chaidez C. Inocuidad de frutas y hortalizas frescas: Efecto del agua contaminada. Agua Latinoamérica. [Internet].2002; 2(3).1-4. Disponible en:  
<http://www.aqualatinoamerica.com/docs/pdf/5-6-02quiros.pdf>



- 33-Tananta V, Chávez A, Casas E. Presencia de enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos en el mercado de Lima. *Rev. Inv. Vet. Perú.* [Internet]2004;15(2):38-4.Disponible en:  
[http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/tananta\\_v\\_i/t\\_completo.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/tananta_v_i/t_completo.pdf)
- 34-Camargo N, Campuzano S. Estudio Piloto de detección de parásitos en frutas y hortalizas expandidas en los mercados públicos y privados de la ciudad de Bogotá D.C. *Nova.* 2006.4(005);77-81. Disponible en:  
<http://jpinero.webs.ull.es/Master/Articulo%201.pdf>
- 35-Garedaghi Y, Farhang H, and Pooryagoobi S. "Parasitic contamination of fresh vegetables consumed in Tabriz, Iran,"*Research Journal of Biological Sciences.*2011;6(10):518–522.Disponible en:  
<http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/rjbsci/2011/518-522.pdf>
- 36-El Said D. Detection of parasites in commonly consumed raw vegetables. *Egypt. Alexandria Journal of Medicine.*2012;48(005):345–352.Disponible en:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090506812000504>
- 37-FAO, OPS/OMS, IICA, COIRSA. Cooperación Internacional y Regional en la Inocuidad de los Alimentos. Conferencia, San José, 2005. Consultado el: 03/12/2014; Disponible en:  
[http://www.paho.org/PANAFTOSA/index.php?option=com\\_content&view=article&id=134&Itemid=0](http://www.paho.org/PANAFTOSA/index.php?option=com_content&view=article&id=134&Itemid=0).
- 38-Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO/OMS). Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias Dirección de Alimentación y Nutrición. VialedelleTerme di Caracalla 00100

Roma Italia;2003 [actualizado 25 Noviembre 2009; citado 4 diciembre 2014].

Disponible en:

<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/006/y8705s/y8705s00.pdf>

39-Depósito de documentos de la FAO. Departamento de Agricultura y Protección al consumidor. Capítulo 4: Aspectos higiénicos y sanitarios. En: López Camelo AF. Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas: Del campo al mercado. [Internet] Roma: FAO; 2003. [Citado: 15 de Diciembre 2014].

Disponible en:

<http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4893S/y4893s07.htm#bm07>

40-OPS/OMS, Guía de saneamiento básico en municipios rurales y pequeñas comunidades, Perú, 2010. [Citado: 15 de Diciembre 2014]. Disponible en:

[http://www.paho.org/per/index.php?option=com\\_content&view=article&id=944&Itemid=631](http://www.paho.org/per/index.php?option=com_content&view=article&id=944&Itemid=631)

41-Catalogación por la Biblioteca de la OMS: Cinco claves para cultivar frutas y hortalizas más seguras: promover la salud mediante la disminución de la contaminación microbiana. 2012.[Citado: 11 de Diciembre 2014]. Disponible en:

[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75960/1/9789243504001\\_spa.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75960/1/9789243504001_spa.pdf?ua=1)

42-Beltrán M. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Instituto Nacional de Salud, serie de normas técnica N°37. 2003. [Citado: 10 de Diciembre 2014]. Disponible en: Página Web:

[http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/salud\\_publica/nor\\_tec/37.pdf](http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/salud_publica/nor_tec/37.pdf)

43-Gisele L. Growth study and essential oil analysis of Piper aduncum from two sites of Cerrado biome of Minas Gerais State, Brazil. 23(2013): 743-753 [Citado: 15 de Diciembre 2014]. Disponible en:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-)

[695X2013000500743](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2013000500743)

44-Morales C. Evaluacion de la actividad larvicida de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (Diptera: culicidae), Colombia. 2004;30(2);187-192.

Disponible en:

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-)

[04882004000200010](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882004000200010)

45-Souza Marta. Anthelmintic acetogenin from *Annona squamosa* L. Seeds. Anais da Academia Brasileira de Ciências (2008);80(2);271-277. Disponible en:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-)

[37652008000200005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652008000200005)

46-Hincapié Carlos et al. Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), Colombia (2008);34 (1);76-82. Disponible en:

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-)

[04882008000100010](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882008000100010)

47-López G, Vieira T, Nunes V, Robson D, Moreira D y col. Chemical composition and efficacy in the egg-hatching inhibition of essential oil of *Piper aduncum* against *Haemonchus contortus* from sheep, Brazil. Rev bras Farma [Internet]. 2014;24(1);288-292. Disponible en:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-)

[695X2014000300288](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2014000300288)

- 48-Morillo R, Santillana B. Contaminación por endoparásitos en hortalizas que se consumen crudas y se expenden en los mercados populares y supermercados de lima 2010. Tesis para optar el título de Químico farmacéutico. Lima: UPNW; 2011.
- 49-Sifuentes D. prevalencia de protozoos y nematodos en tubérculos que son consumidos crudos, expendido por los agricultores del distrito de Ate, Perú. Tesis para optar el título de Químico farmacéutico. Lima: UPNW; 2012.

**ANEXOS:**

**TABLA N°1:** Clasificación de nemátodos de importancia médica.

<b>Phylum Nematoda.</b>	
<b>Clase</b>	<b>Géneros de importancia médica</b>
Aphasmida	<i>Trichinella</i> <i>Trichuris</i>
Phasmida	<b><i>Strongyloides</i></b> <i>Necator</i> <i>Ancylostoma</i> <i>Enterobius</i> <i>Ascaris</i> <i>Toxocara</i> <i>Gnathostoma</i> <i>Onchocerca</i> <i>Wuchereria</i> <i>Loa loa</i> <i>Mansonella</i>

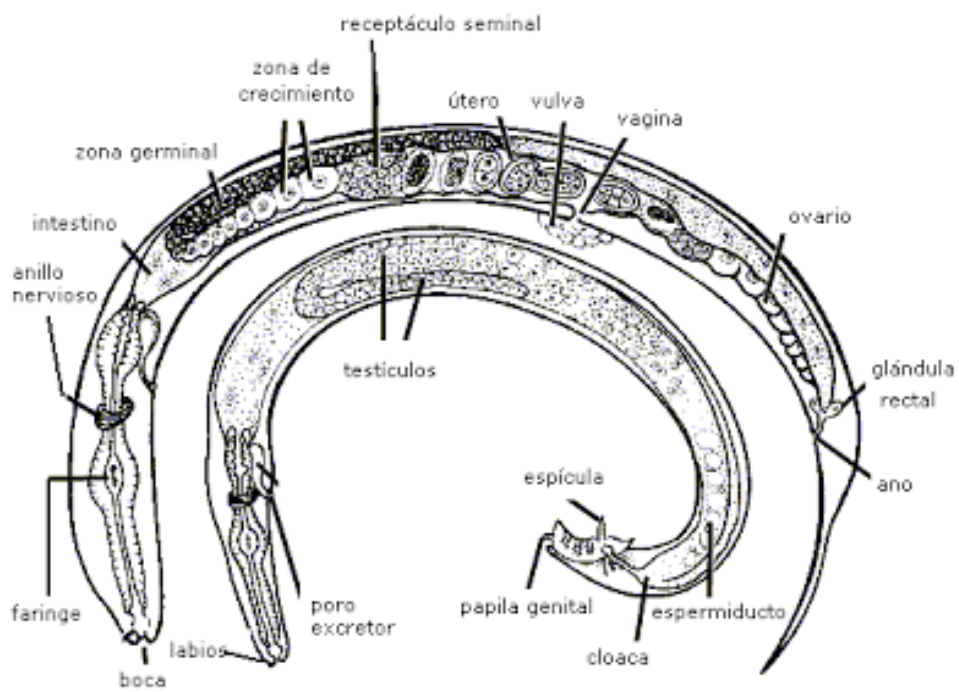
**FIGURA N°1:** Figura 1 larva de *Strongyloides spp.* Suspensión del lavado de hojas con agua destilada izquierda, montaje con lugol derecha. Diciembre del 2014.



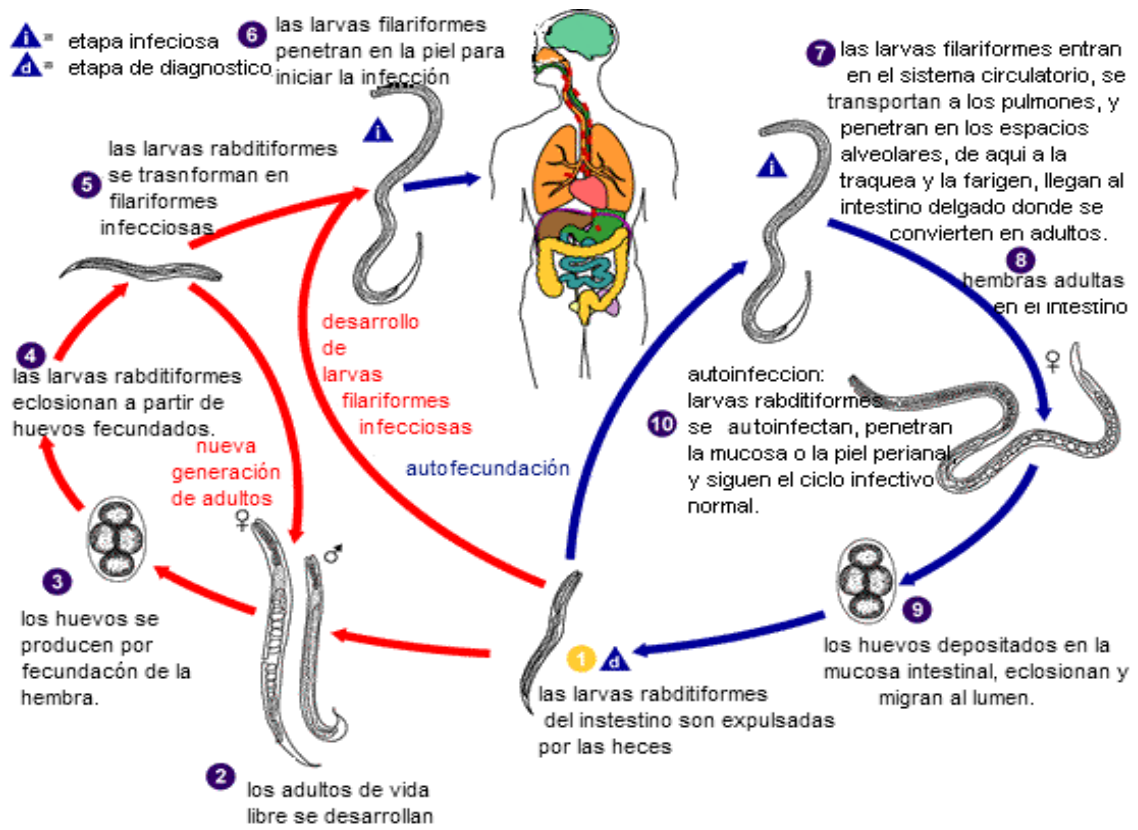




**FIGURA N°2:** Caso de dimorfismo sexual.



**FIGURA N°3:** Ciclo biológico *Strongyloides stercoralis*.



**FIGURA N° 4:** *Lactuca sativa*, “lechugas” provenientes de diferentes lugares, la última imagen las hojas fueron recogida del suelo.





**FIGURA N° 5:** Preparación del extracto hidroalcoholico.



Las hojas de *Annona montana* y *Piper aduncum* que se recolectaron y compraron respectivamente se lavaron una por una y se secaron al aire libre, para luego ser desecados en la estufa a 40°C por siete días aproximadamente.



Secadas las hojas son colocadas en un molino hasta convertirlas en polvo fino, para luego ser almacenados en frasco color ámbar.





A la izquierda superior preparación de etanol 70% - agua, 70:30 v/v para luego ser añadido a los frascos que contienen las hojas ya molidas, método de maceración en frío por siete días derecha superior, en la parte inferior proceso de filtración.

**FIGURA N°6:** Primeras imágenes del proyecto buscando parásitos en diferentes hortalizas.



Primeras etapas de la investigación buscando parásitos en cinco hortalizas de consumo habitual, utilizando para el lavado suero fisiológico la cantidad según el volumen de la hortaliza, luego el sedimento de cada uno fue llevado a una bomba al vacío 24/12/2014.

Solo se encontraron enteroparásitos patógeno en lechuga y rabanito larvas de *Strongyloides spp.*





En el proceso de cultivo de las muestras detectadas con larvas de *Strongyloides* spp. estas se contaminaban mucho más rápida por el crecimiento de gérmenes debido a la utilización del suero fisiológico 1ml. Lo que no ocurre mucho con el agua destilada.

**FIGURA N° 7:** Estandarizar el lavado de las hojas de lechuga, con 350 ml agua destilada y un pincel chato 20 o 24.



**FIGURA N° 8:** Reposo de la suspensión por 6 a 8 horas.

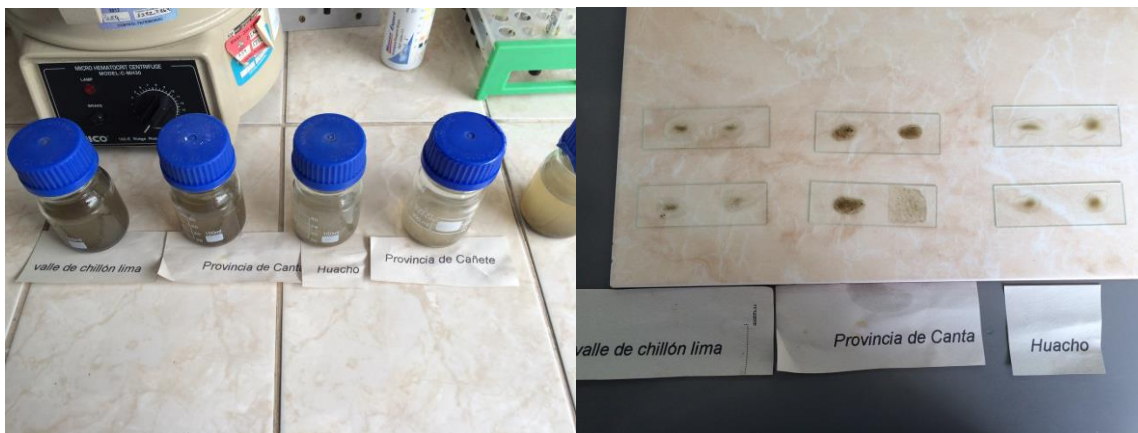


Figura 4 reposo del lavado de las hojas por 6 a 8 horas, revisión de las muestras por cuadruplicado.



**FIGURA N° 9:** Siembra en Agar Nutritivo.



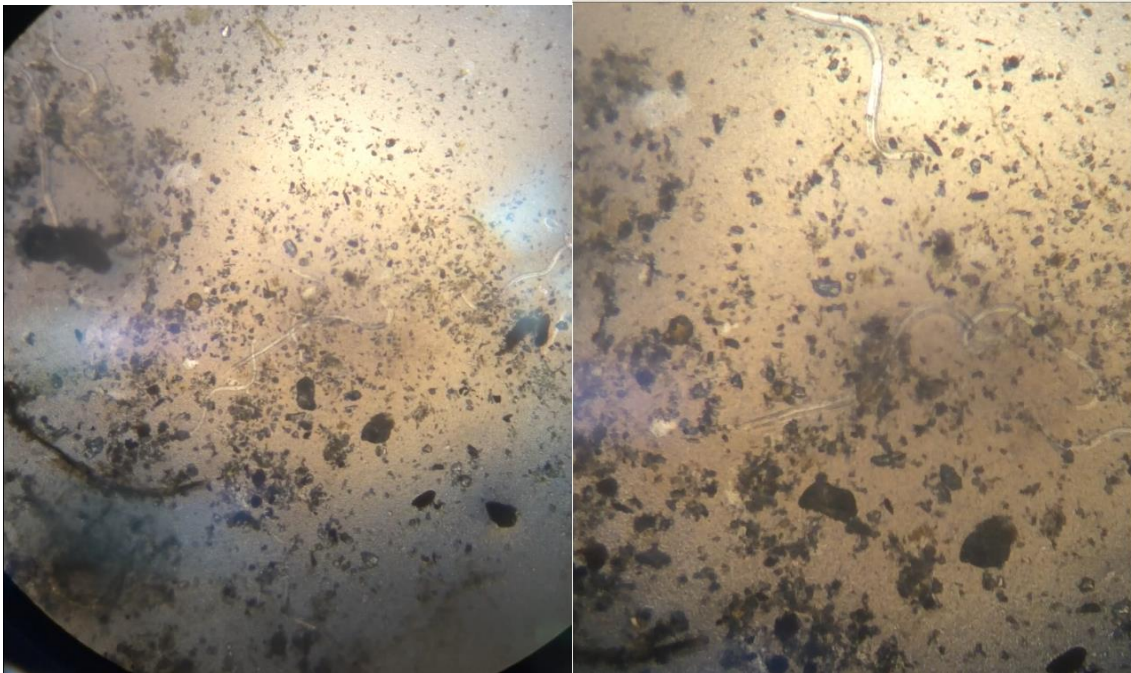
El medio agar nutritivo, las placas son recubiertas con parafilm, para luego ser colocadas en una jarra anaeróbica a temperatura ambiente.

**FIGURA N° 10:** Cultivo contaminados por mosquitos.

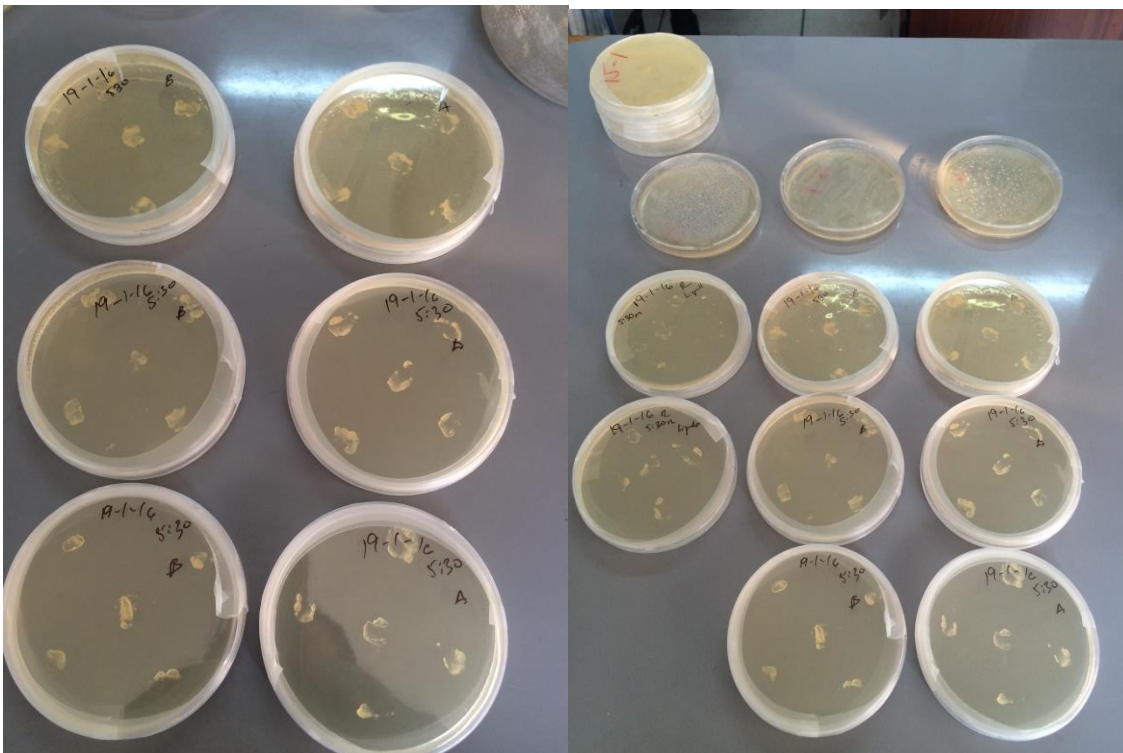


Medios contaminados. Estos insectos son atraídos por el olor que emana el medio tras los días que pasan.

**FIGURA N° 11:** Borde de la primera siembra.



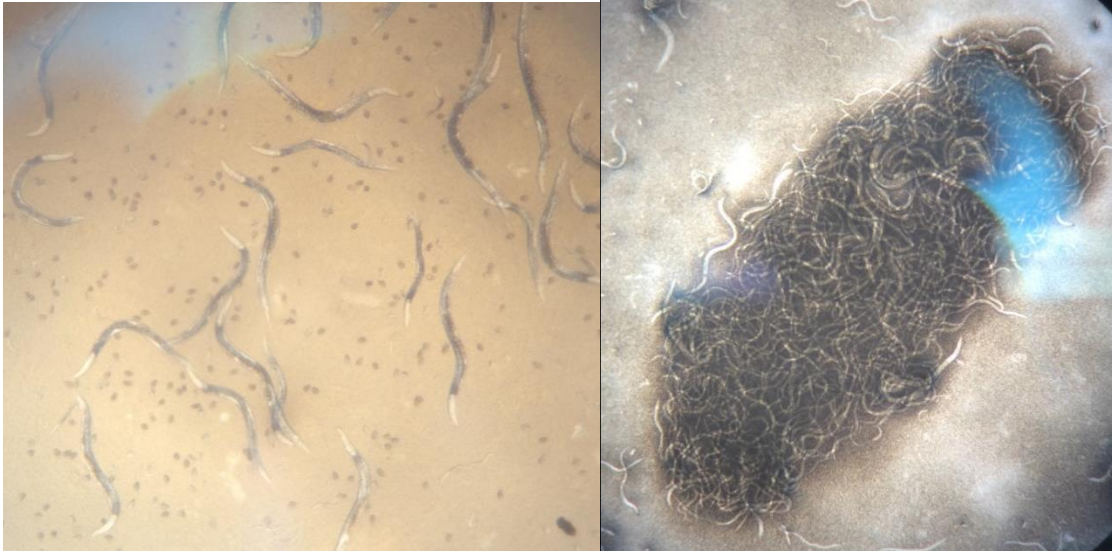
**Figura N°: 11** imágenes de los bordes de la primera siembra pasado los 7 a 10 días de incubación. Video 3832 y 3833.



**Figura N°12** Resiembra aza de siembra 5 o 10  $\mu$ l se coge una pequeña cantidad y colocados a los extremos y la parte central del medio de cultivo.



**FIGURA N° 13:** 4 a 7 días después de la resiembra.



**FIGURA N°14:** Identificación de larva *Strongyloides stercoralis*.



Larva rhabditiforme mide aproximadamente 250 micras de longitud por 15 de diámetro. Derecha extremo anterior como cavidad bucal corta, esófago con 3 partes

cuerpo, istmo con anillo nervioso y bulbo. Izquierda intestino que termina en el ano en el extremo posterior primordio genital.23/2/2015.



Larva rhabditiforme. Coloración con lugol izquierda primordio genital grande y en forma de media luna un poco posterior a la mitad del cuerpo, derecha directo del medio.

VIDEO 2677: Larva *Strongyloides stercoralis* primordio genital.

VIDEO 1° 2600 Recolección de larvas y huevos de *Strongyloides* spp.



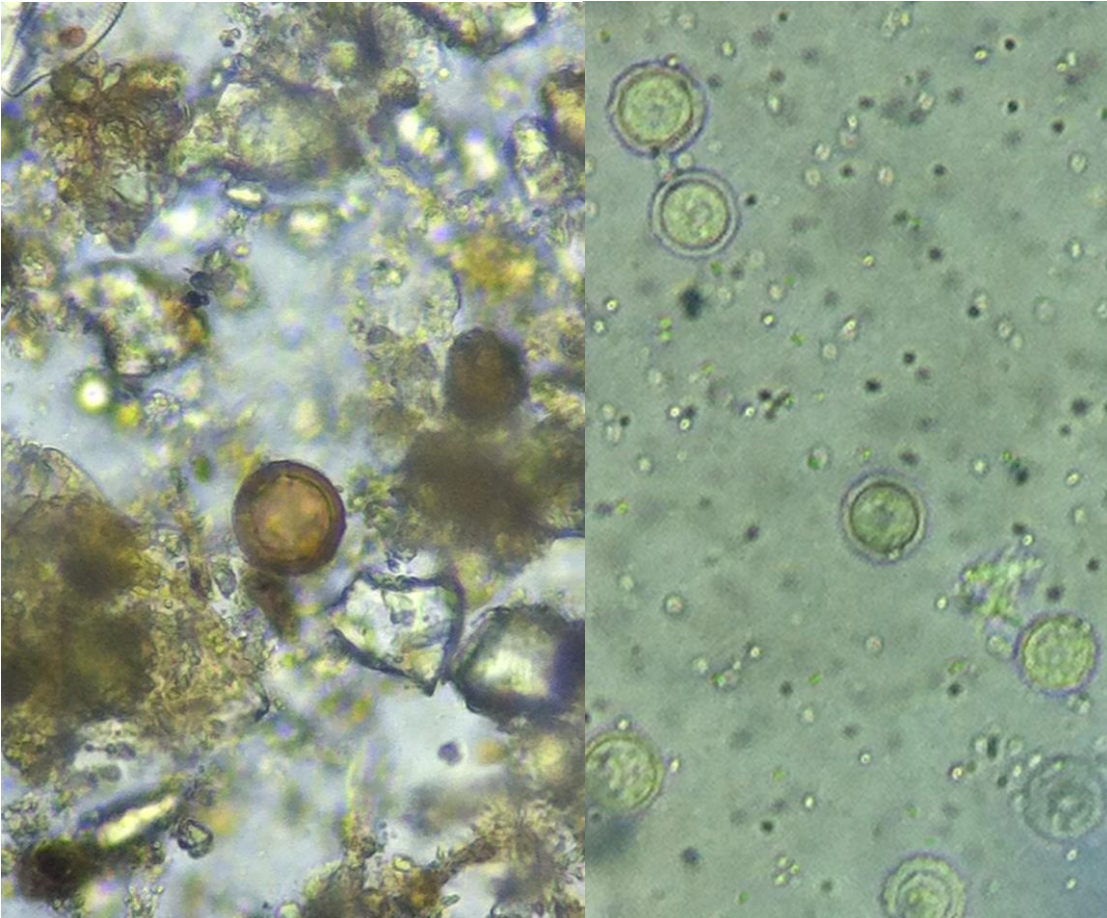
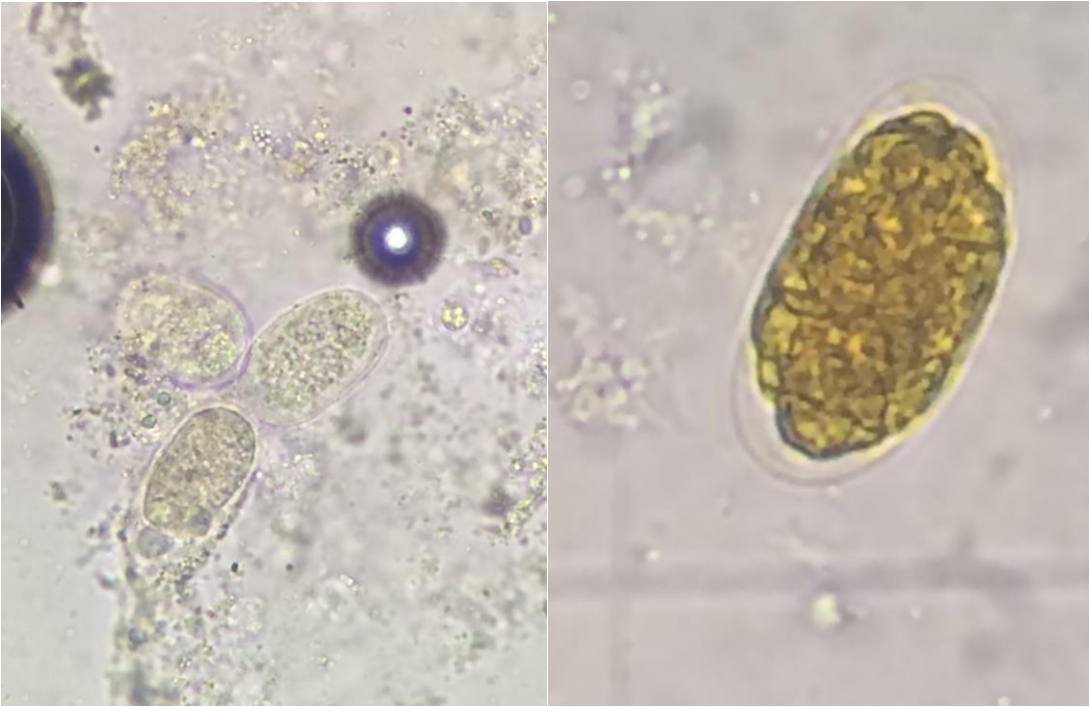
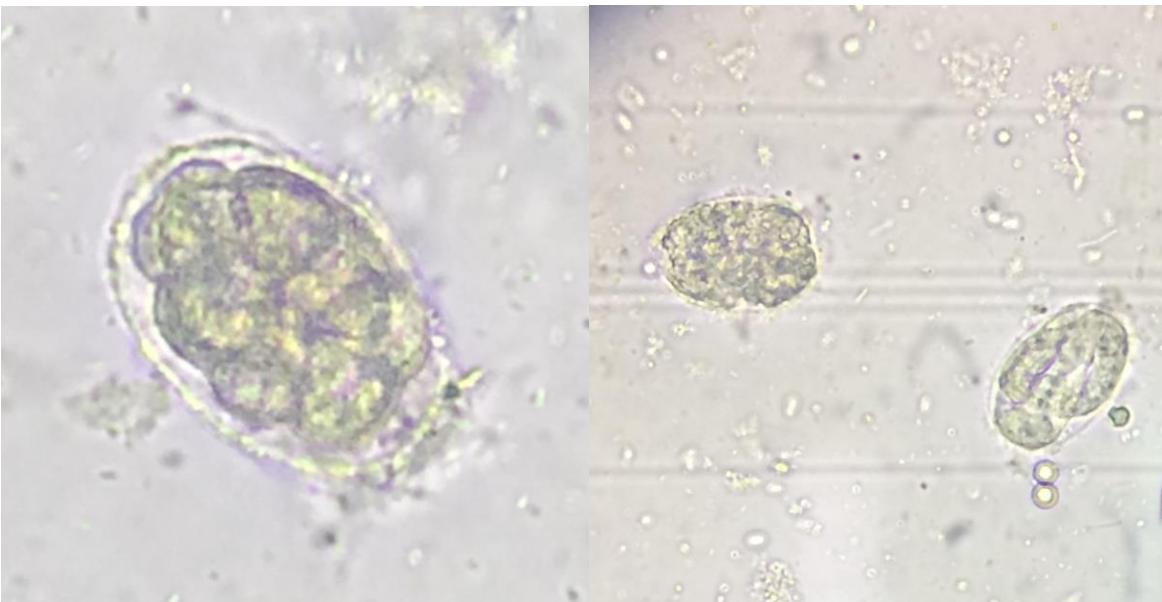


FIGURA 15: *Acanthamoeba* spp. izquierda lavado de hojas de lechuga, derecha e inferior ameba no identificada. 24/3/2015





**FIGURA N°16:** Video 4245 después de 4 a 7 días de incubación se obtienen larvas de *Strongyloides spp.* y una gran cantidad de huevos.



**FIGURA N°17:** conteos de los huevos en cámara de Newbauer.



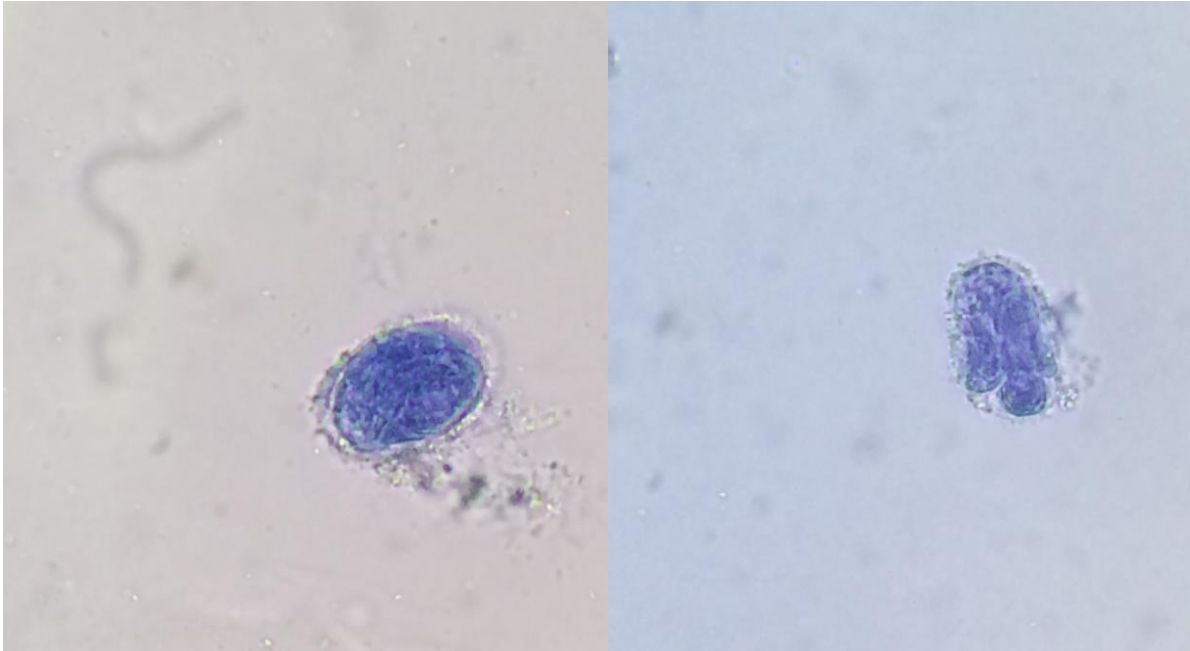


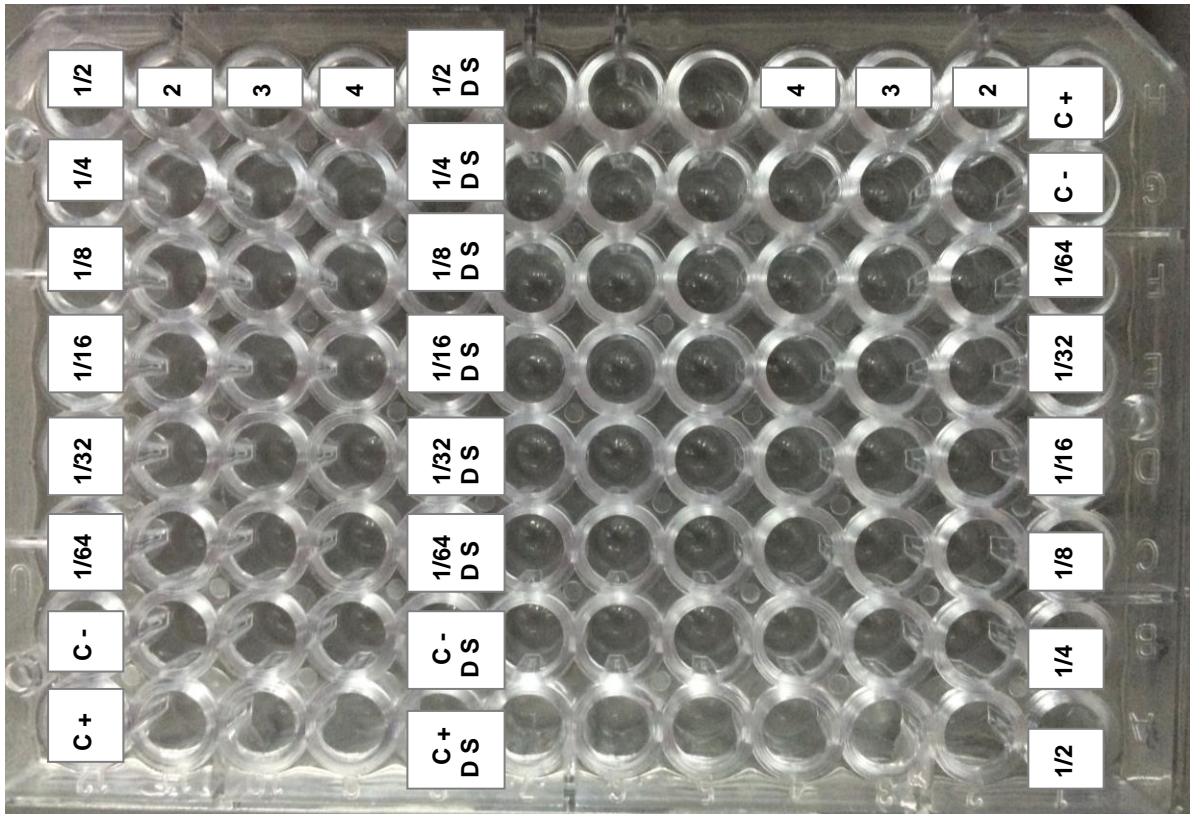
FIGURA N°18: Huevos de *Strongyloides stercoralis* inviables después del método de flotación Sheather coloreados con azul de tripano.



FIGURA N°19: técnica de Harada y Mori entre 7 a 10 horas se puede recolectar larvas L<sub>3</sub> y rhabditoide.

**FIGURA N°20.** Distribución a diferentes concentraciones de los extractos de hojas.

***Annona montana.***



***Piper aduncum.***

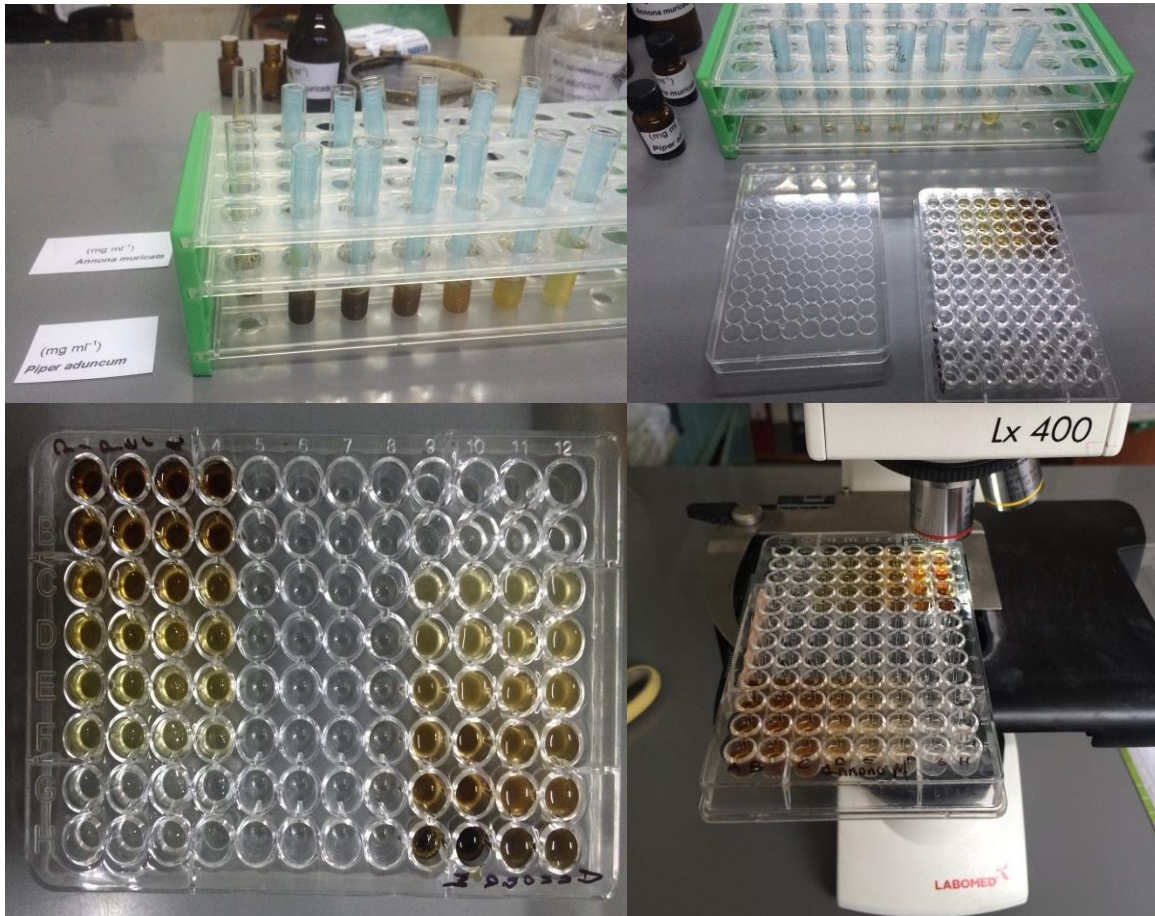


FIGURA N°: 21 preparación a diferentes concentraciones de los extractos de hojas de *Annona montana* y *Piper aduncum*, las lectura de la eclosión de huevos se realizó directo en los pocillos de micro dilución a 40x.



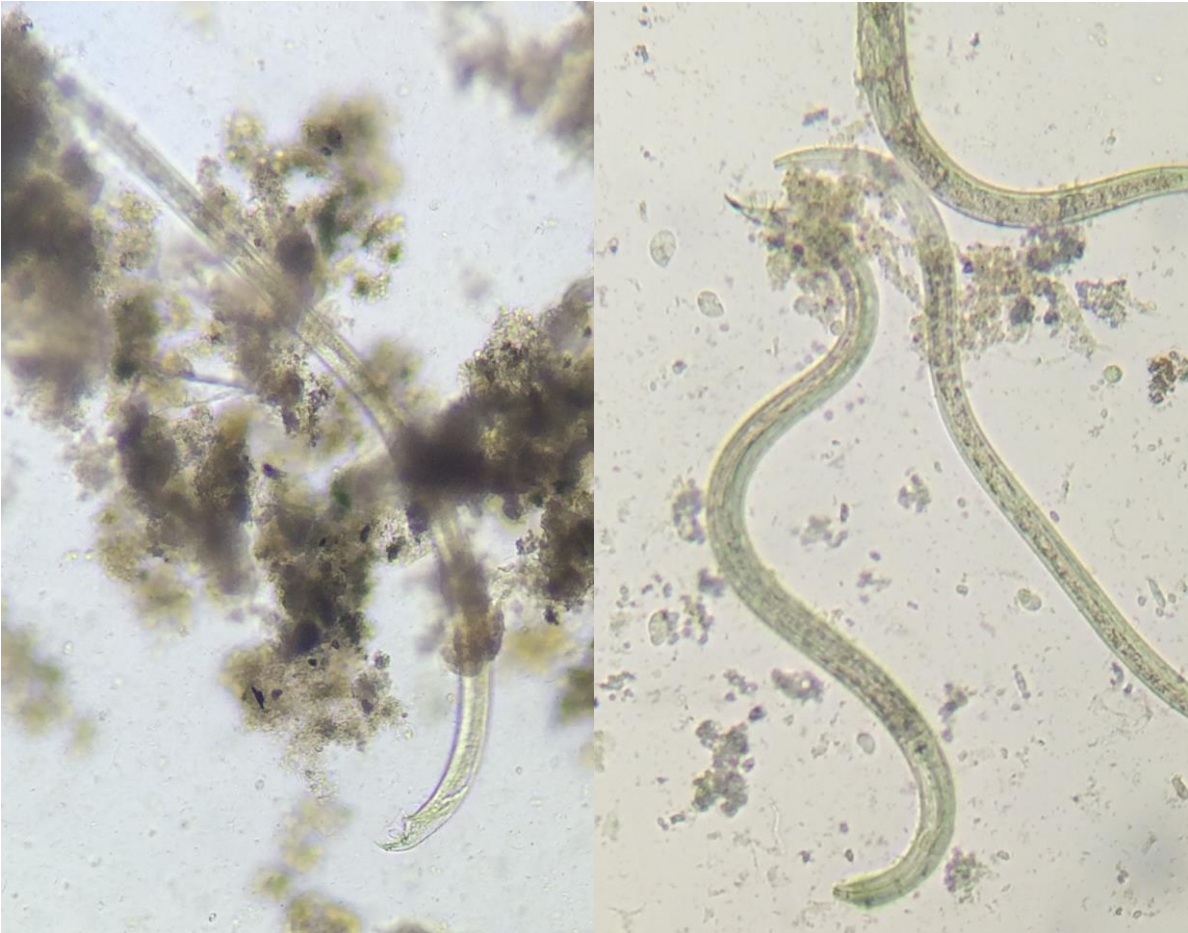


FIGURA N°22 Larvas *Strongyloides stercoralis* macho y hembra fotos 18/12/2015.





Video larvas *Strongyloides stercoralis* copulando 4079, 4080 Y 4081.



Video fenómeno de eclosión de huevos dentro de hembra progenitora.

PROBLEMA DE INVESTIGACION	OBJETIVO DE LA INVESTIGACION	VARIABLE DE ESTUDIO	DIMENSIONES E INDICADORES	INSTRUMENTO DE MEDICION	METODOLOGIA
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	VARIABLE PRINCIPAL			DISEÑO DE ESTUDIO
¿Cuánto es la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto?	Determinar la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto.	Enteroparásitos	Quiste, huevo de..... No se observa quiste, huevo de parásitos	Método de filtrado simple y Técnica de Hoffman, Pons y Janer (HPJ)	Estudio descriptivo de tipo transversal
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVO ESPECIFICO	VARIABLE SECUNDARIA			POBLACION
¿Cuáles son los tipos de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto?	Determinar la frecuencia de los tipos de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto	Tipos de enteroparasitos patógenos	<i>Giardia lamblia</i> <i>Entamoeba spp.</i> <i>Balantidium coli</i> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Ascaris spp.</i> <i>Fasciola hepatica</i> <i>Toxocara spp.</i> <i>Etc,</i>	Microscopia	Tipos de lechugas que se expenden en los puestos de la Av. 28 de Julio. Lechuga Trocadero Lechuga Butterhead Lechuga Batavia. Lechuga Iceberg Lechuga Escarola Lechuga Curly.
¿Cuál será la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto, según el lugar de procedencia?	Determinar la frecuencia de enteroparásitos potencialmente patógenos en lechugas comercializadas en un mercado de abasto, según el lugar de procedencia.	Lugar de procedencia	Provincia de Canta Distrito de Huacho Valle Rio Chillón Provincia de Cañete	Ficha de recolección de datos	
					MUESTRA
¿Cuáles serán los volúmenes de lavado para establecer la carga parasitológica en las lechugas comercializadas en un mercado de abasto?	Calcular los volúmenes de lavado para establecer la carga parasitológica en las lechugas comercializadas en un mercado de abasto	Carga parasitaria	Huevo / Litro	Hemocitometro de Neubauer	Se recolectaron un aproximado de 50 muestras de cada tipo de lechuga.
¿Cuál será la actividad <i>in vitro</i> antiparasitaria de los extractos de hojas de <i>Annona montana</i> y <i>Piper aduncum</i> en parásitos aislados de lechugas comercializadas en un mercado de abasto?	Evaluar la actividad <i>in vitro</i> antiparasitaria de los extractos de hojas de <i>Annona montana</i> y <i>Piper aduncum</i> en parásitos aislados de lechugas comercializadas en un mercado de abasto	Actividad antihelmintica	*Prueba eclosión de huevos <i>P. aduncum</i> *Prueba motilidad de larvas <i>P. aduncum</i> *Prueba eclosión de huevo <i>A. montana</i> *Prueba motilidad de larvas <i>A. montana</i>	*Inhibición de la eclosión de huevos *Inhibición de la motilidad de larvas	