



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

TESIS

“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LECHUGA *Lactuca Sativa* DE CONSUMO HUMANO”

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

Bachiller: Lupinta Anco, Deysi Jenny

Asesora: MG. Mallqui Brito, Ethel Vania

Lima - Perú
2016

DEDICATORIA

A nuestro Señor, Jesús, quien me dio la fe, y la esperanza, para terminar este trabajo y A mis padres Diego y Reyna por brindarme en todo momento su amor y confianza. A mis Docentes por el tiempo prestado.

AGRADECIMIENTO

A, DIOS, todo poderoso por permitirme culminar mis estudios satisfactoriamente, por darme la salud iluminarme por el camino del bien y mantenerme siempre de su mano ante la dificultad de la vida

A mi asesora Blga MSc.Mallqui Brito,Ethel Vania, por su orientación y apoyo.

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos constituyen un problema de salud, diversos estudios demuestran la alta contaminación microbiológica de la lechuga en la cadena alimentaria. Este estudio tuvo como objetivo realizar la evaluación de la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano en tres mercados mayoristas y verificar el cumplimiento de los límites permisibles de microorganismos según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15, junio-octubre 2016. Las hojas de lechuga *Lactuca sativa* fueron colectadas del departamento de Lima en tres mercados, Mercado Central del Callao, Mercado Mayorista de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero. La evaluación microbiológica de la lechuga se determinó según el método La International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) para salmonela sp y 3M Placas Petrifilm para el recuento de *Escherichia coli* (AOAC). Los resultados obtenidos demuestran una importante contaminación de *Escherichia coli* 24.67×10^2 . Se concluye que se deben introducir mejoras en el procesamiento, transporte y almacenamiento de los alimentos, así realizar un control sanitario estricto y constante de manera que no representen un riesgo para la salud pública.

Palabras claves: *Lactuca sativa*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*

ABSTRACT

Foodborne diseases are a health problem; studies show high microbiological contamination of lettuce in the food chain. This study aimed to carry out the assessment of *Lactuca sativa* lettuce human consumption in three wholesale markets and determine the permissible limits of microorganisms under Supreme Decree No. 007-98-SA Chapter IV Article 15 leaves from June to October 2016. *Lactuca sativa* lettuce were collected in the department of Lima in three markets, central market of Callao, Santa Anita wholesale market and market on February 3. The microbiological evaluation of the lettuce was determined according to the International Commission .The on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) method for Salmonella sp and 3M Petrifilm Plates for counting Escherichia coli (AOAC) results show an important *Escherichia coli* contamination 24.67×10^2 . It is concluded that improvements must be introduced in the processing, transportation and storage of food, and make strict sanitary control and constant so as not to pose a risk to public health.

Keywords: *Lactuca sativa*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*.

ÍNDICE

CARÁTULA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FOTOS	viii
INTRODUCCIÓN	ix

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática	10
1.2 Formulación del problema a Investigar	11
1.2.1 Problema General	11
1.2.2 Problemas Específicos	12
1.3 Objetivos de la Investigación	12
1.3.1 Objetivo General	12
1.3.2 Objetivo Especifico	12
1.4 Hipótesis la Investigación	12
1.4.1 Hipótesis General	12
1.4.2 Hipótesis Específicos	13
1.5 Justificación e importancia de la investigación	13
1.5.1. Justificación	13
1.5.2. Importancia	14

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes Investigativos	16
2.1.1 Antecedentes Nacionales	16
2.1.2 Antecedentes Internacionales	17
2.2 Bases Teóricas	18
2.2.1 <i>Lactuca sativa</i> lechuga	18
2.2.2. Características morfológicas	19

2.2.3 Taxonomía	20
2.2.4 Propiedades nutritivas	20
2.2.5. Enfermedades de trasmisión por alimento	22
2.2.6. Clasificación de las enfermedades (ETAs)	23
2.2.7. Norma sanitaria	24
2.2.8 .Importancia de las aguas servidas	25
2.2.9. Microorganismos indicadores	26
2.2.10 Bacterias relacionadas con las (ETAs)	27
2.2.14. Método de análisis para cuantificación	31
2.3 Definición de término Básicos	33

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación	34
3.1.1. Método	34
3.1.2. Técnica	34
3.1.3. Diseño	34
3.2 Población y Muestreo de la Investigación	35
3.2.1 Población	35
3.2.2 Muestra	35
3.3. Variables e indicadores	35
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	35
3.4.1 Técnicas	35
3.4.2. Instrumentos	39

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Resultados	40
4.2. Análisis e interpretación de Resultados	41
DISCUSIÓN	44
CONCLUSIONES	47
RECOMENDACIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	49

ANEXOS	53
--------------	----

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°1: Taxonomía <i>Lactuca sativa</i> lechuga	20
CUADRO N°2: Composición de <i>Lactuca sativa</i> lechuga	22
CUADRO N°3: Criterio Microbiológico para consumo humano	25
CUADRO N°4: Clasificación de <i>Escherichia coli</i>	28
CUADRO N°5: Clasificación de <i>Salmonella sp</i>	30

ÍNDICE DE FOTOS

FOTON°1: Recolección de la especie de estudio	36
FOTO N°2: Control de Caldo Selenito Cisteina	37
FOTO N°3: Lechuga <i>Lactuca sativa</i>	54
FOTO N°4: Preparación para el Transporte	54
FOTON°5: Preparación caldo Lactosado	55
FOTO N°6: Recuento de coliformes Totales	55
FOTO N°7: Recuento para <i>Escherichia .coli</i>	56

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N°1: Resultado del Mercado Central del Callao	41
ANEXO N°2: Resultado del Mercado Santa Anita	41
ANEXO N°3 Resultado del Mercado Tres de Febrero	41
ANEXO N°4: Resultado del Recuento	42
ANEXO N°5: Procedimiento de Análisis	53
ANEXO N°6: Procedimiento de Análisis	54
ANEXO N°7: Matriz de consistencia	58

INTRODUCCIÓN

La lechuga *Lactuca sativa* es una hortaliza muy conocida y cultivada en muchos países como el Perú, siendo la más importante entre los vegetales que se consumen crudos, está constituida por agua, proteínas, vitaminas, minerales y fibras, existen numerosos tipos y variedades de lechugas, sus suelos son de preferencia ligeros, arenoso-limosos y con buen drenaje. El sistema de riego son por gravedad pero las aguas de regadío es deficiente, o incluso se riega los cultivos con aguas servidas, lo que representa una importante fuente de infección. Las Enfermedades Transmitidas por los alimentos (ETAs), entre ellas las hortalizas ocupan el segundo lugar entre las diez primeras causas de morbimortalidad en el mundo, y según la Organización mundial de la salud (OMS), el 70% de los casos reportados corresponden a diarreas. El nivel de salud de la población está relacionado directamente con la higiene y seguridad de las hortalizas que puedan adquirirse. En 1998, se implementa en el Perú un sistema de vigilancia epidemiológica para las ETAs. Pero la aplicación de reglamentos de control de alimentos debidamente verificables estaba limitado sólo a supermercados y a las franquicias de alimentos, dejando sin cobertura a los centros de abastos (tanto municipales y privados) de áreas urbanas populosas.

Los tres mercados mayoristas mercado Central del Callao, mercado central de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero abastece de lechuga *Lactuca sativa* a: mercados minoristas (66,6%), bodegas (11,3%), supermercados (10,3%) y ambulantes (7,6%), siendo los primeros el principal lugar donde gran parte de la población urbana obtiene los alimentos que consumen. El presente estudio tiene como objetivo evaluar la calidad microbiológica y determinar la inocuidad de la lechuga *Lactuca sativa* y que la población adquiera un alimento principalmente inocuo, nutritivo y agradable; así mismo poder elevar el nivel sanitario del sistema manipulador-vendedor.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

La frecuencia de infecciones causadas por microorganismos han aumentado considerablemente, sobre todo los transmitidos por alimentos (ETAs) debido a la presencia de organismos patógenos, pudiendo ser de carácter toxico o infeccioso; en las últimas décadas en el Perú, se registran anualmente cerca de 1,700,000 casos de enfermedades infecciosas intestinales (2010-2013), y constituye la tercera causa de morbilidad, debido a las aguas superficiales ríos, esteros, canales etc, que están permanentemente siendo contaminados al eliminarse en ellas las aguas servidas de la actividad humana, industrial o agrícola. De estos cursos se extraen las aguas usadas en regadío, haciendo ellas el riesgo sanitario ⁽¹⁾

La lechuga, *Lactuca sativa* es importante para la salud humana por ser rica en fibra, lactucina, pectina y betacarotenos; poseen fuente inagotable de vitaminas, como B1, B2, B3, A, E y C; así también minerales como el potasio, sodio, magnesio y calcio, se considera importante realizar la evaluación microbiológica de la lechuga porque podría generar un riesgo para la salud humana si no cumpliera con los estándares de calidad nacional.

El ministerio de salud mediante resolución ministerial N°007-98-SA capitulo IV artículo 15 establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos de consumo humano nos dice que los alimentos y bebidas deben cumplir íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos

correspondientes a su grupo o subgrupo para ser considerados aptos para el consumo humano estableciendo para el rubro de frutas y verduras frescas sin ningún tratamiento límites microbiológicos contemplando *Escherichia coli* y *Salmonella sp*. Esta investigación permitirá dar a conocer a la población si los mercados mayoristas están cumpliendo con los parámetros establecidos de la calidad sanitaria del Ministerio de Salud, que pone a disposición las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, y ser considerados aptos para el consumo humano.

1.2 Formulación del Problema

La lechuga *Lactuca sativa* es la más importante del grupo de los vegetales de hoja que se consumen crudos. Es la base de cualquier ensalada y es un ingrediente básico que aporta minerales y vitaminas. Debido a que determinan una alta tasa de morbilidad y mortalidad afectando la salud y calidad de vida de las personas. Se realizó la evaluación microbiológica a la lechuga *Lactuca sativa* según el Decreto Supremo N° 007-98-SA del capítulo IV artículo 15.

1.2.1 Problema General

¿Cuáles serán los resultados de la evaluación microbiológica de la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano, en los mercados mayoristas: Mercado Central del Callao, Mercado Central de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero, según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15 junio-octubre 2016?

1.2.2 Problemas Específicos

¿Tendrá contaminación bacteriana de *Escherichia coli*, origen fecal la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano, en los tres mercados mayoristas?

¿Tendrá contaminación bacteriana de *Salmonella sp*, a lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano, en los tres mercados mayoristas?

1.3 Objetivo de la Investigación

1.3.1 Objetivo General

Realizar la evaluación microbiológica de la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano en tres mercados mayoristas, junio-octubre 2016.

1.3.2 Objetivo Específicos

OE1: Examinar el cumplimiento de los límites permisibles de microorganismos en la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15, en tres mercados mayoristas

OE2: Determinar la inocuidad de la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15, en tres mercados mayoristas

1.4 Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

La evaluación microbiológica de la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano en los tres mercados mayoristas presento

una contaminación significativa por bacteria de *Escherichia coli*, de origen fecal, el Mercado Central del Callao. Y ausencia de *salmonella sp* para los tres mercados mayoristas.

1.4.2 Hipótesis Específicos

HS1: El Mercado central del Callao no cumple con los límites permisibles de microorganismos en la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15.

HS2: El Mercado Central del Callao no presenta inocuidad la lechuga *Lactuca sativa* de consumo humano según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15, en los tres mercados mayoristas.

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

1.5.1 Justificación de la Investigación

La lechuga *Lactuca sativa* es rica en Fito nutrientes y es consumida en gran número por personas, un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) publicado recientemente recomienda como objetivo poblacional la ingesta de un mínimo de 400g diarios de frutas y verduras para prevenir enfermedades crónicas como las cardiopatías, el cáncer, la diabetes o la obesidad, así como para prevenir y mitigar varias carencias de micronutrientes, sobre todo en los países menos desarrollados⁽²⁾

Uno de los factores más importantes que me llevó a realizar esta investigación es la elevada contaminación de este vegetal, obedece a que son regadas con aguas servidas o aguas contaminadas, en el Perú no se cuenta con un sistema de tratamiento de aguas residuales, como consecuencia de esto nos encontramos en alto riesgo de contraer infecciones por patógenos como salmonelosis y enterocolitis, que son la causa más común de las (ETA), con esta investigación se pretende ayudar a la población limeña a adquirir lechugas *Lactuca sativa* inocuas en tres mercado mayoristas, Mercado Central del Callao, Mercado Central de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero.

De lo expuesto según el decreto supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15 se realizara el recuento de *Escherichia coli*, y se determinara ausencia/presencia de *Salmonella sp* a las lechugas *Lactuca sativa* provenientes de tres mercados mayoristas, Mercado Central del Callao, Mercado Central de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero.

1.5.2 Importancia de la Investigación

La lechuga está compuesta por minerales betacarotenos, oligoelementos, folatos, vitamina C, xantina, carotenos entre otros mas que aportan propiedades benéficas para la salud, y previenen de la aparición de enfermedades. Las (ETAs) constituyen, según la Organización Mundial de la Salud, uno de los problemas de salud más extendidos en el mundo contemporáneo, debido a que determinan una alta tasa de morbilidad y mortalidad afectando la salud y calidad de vida de las personas.

La morbilidad por microorganismos intestinal es situado en tercer lugar a nivel mundial, la misma que es ocasionada por contaminación de los alimentos, siendo ésta una de las principales causas predisponentes de enfermedades diarreicas y de mal nutrición. ⁽³⁾

Se realizará la evaluación microbiológica a la lechuga *Lactuca sativa* que permitirá dar a conocer si los mercados mayoristas Mercado Central del Callao, Mercado Central de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero donde acuden los pobladores por los precios accesibles están cumpliendo con los parámetros establecidos según el Decreto Supremo N° 007-98-SA del capítulo IV artículo 15 y de esta manera estaremos ayudando a prevenir cuadros infecciosos en los consumidores.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1 A nivel Nacional

Velez A, Ortega J, (2013). **DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y E. COLI EN MUESTRAS DE LECHUGA EXPENDIDAS EN CUATRO MERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA** El grado de contaminación de las lechugas fue tolerable, solo el 1% de las muestras estuvo contaminada con niveles no aceptables de coliformes totales y el 6,25% con niveles no aceptables de *E. coli*, según la Recopilación Internacional de Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados de Pablo Moragas y col. Además, no se encontró ninguna relación significativa entre el mercado y el lugar de producción con el grado de contaminación de las lechugas

Muñoz S, Vilca M, Ramos D, Lucas J, (2013). **FRECUENCIA DE ENTEROBACTERIAS EN VERDURAS FRESCAS DE CONSUMO CRUDO EXPENDIDAS EN CUATRO MERCADOS DE LIMA, PERÚ**

El estudio demostró que el 18.9% del total de verduras y el 22.2% de verduras provenientes del mercado de La Parada presentaron niveles de coli fecales superiores a lo establecido por la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), siendo la espinaca la más contaminada. Además, el 2.2% de verduras del mercado Caquetá presentó niveles elevados de *E. coli*

Tipo I (Típico) y el 10% de las verduras presentó contaminación por *Salmonella sp*, especialmente la col.

2.1.2 A nivel internacional

Rodríguez M, Solano, Lozano B, Torrico M, Cruz R. (2015). **EVALUACION DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA LECHUGA *LACTUSA SATIVA* EN LA CADENA ALIMENTARIA PROVINCIA DE QUILLACOLLO, COCHABANBA, BOLIVIA.** Este estudio demuestra la contaminación de las lechugas con bacterias *Aerobias Mesófilas*, coliformes totales y fecales en concentraciones superiores a los estándares permitidos en los tres puntos de la cadenas alimentaria evaluadas; identificándose *Salmonella sp* la contaminación está relacionada con la utilización de abono de aves en el cultivo y la manipulación inadecuada de la lechuga en la cadena alimentaria.

García G, Fernandez.E (2008). **DETERMINAR LA INCIDENCIA DE *SALMONELLA* Y *E. COLI* EN LECHUGA *LACTUCA SATIVA* EXPENDIDA EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE QUERÉTARO.** Para la detección de *Salmonella* por PCR y 2) para estimar el contenido de *E. coli* por la técnica de NMP. Se detectó *E. coli* en el 14.9% de las muestras con niveles de 0.2 a 62 NMP/g y *Salmonella* en 0.6% con límites de <0.06 a 28 NMP/g. En la temporada cálida (marzo a junio) la positividad para *Salmonella* y *E. coli* fue de 1.9 y 25.3% respectivamente y, para la temporada fría (octubre a febrero) las cifras fueron de 0 y 1.4%. El estudio reveló que el grupo de la población con mayor exposición al producto oscila entre 25 y 64 años de edad.

Barrantes K, Achí R,(2011).**CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y ANÁLISIS DE PATÓGENOS (SHIGELLA Y SALMONELLA)** Se cuantificó *Escherichia coli* (NMP/g) como indicador de contaminación fecal y se determinó la presencia de patógenos específicos (*Shigella* y *Salmonella*), por cultivo y por PCR-Múltiple. En el 65% de las muestras analizadas se detectó *E. coli*, aunque no se encontró *Shigella* ni *Salmonella* por PCR-Múltiple o cultivo. Una posible explicación es que los niveles de contaminación de *Shigella* y *Salmonella* están por debajo de los límites de detección de ambos métodos (menos de 10^4 UFC/g para *Shigella* y menos de 10^2 UFC/g para *Salmonella*)

2.2 Bases teóricas

2.2.1 *Lactuca sativa* lechuga

La lechuga *Lactuca sativa* es una hortaliza que ha sido cultivada en la cuenca Mediterránea desde alrededor del año 4500 A.C. Es una planta anual herbácea y autógama, propia de las regiones templadas. En su estado silvestre son plantas pequeñas y de sabor amargo, pero la selección del hombre a lo largo del tiempo ha producido gran variedad.

Es la más importante dentro del grupo de las hortalizas de hoja; generalmente se consume cruda en ensaladas, es ampliamente conocida y se cultiva en casi todos los países del mundo. Presenta una gran diversidad dada principalmente por diferentes tipos de hojas y hábitos de crecimiento de las plantas. Debido a las muchas variedades que existen se puede producir durante todo el año.

Normalmente se consume cruda, como ingrediente de ensaladas.

La lechuga tiene muy poco valor nutritivo, con un alto contenido de agua (90-95%), es rica en antioxidantes, como la vitamina A, C, E, B1, B2 y B3, minerales: fósforo, hierro, calcio, potasio y aminoácidos. Las hojas exteriores más verdes son las que tienen mayor contenido en vitamina C y hierro⁽⁴⁾

2.2.2 Características morfológicas de *Lactuca sativa* lechuga

- *Planta*: de ciclo anual, cultivada por sus hojas en forma de roseta. Se disponen en forma alterna y pueden ser de formas variadas según las variedades botánicas.
- *Raíz*: la raíz, que no llega nunca a sobrepasar los 25 cm. de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones.
- *Hojas*: las hojas están colocadas en roseta, desplegadas al principio; en unos casos siguen así durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otros se acogollan más tarde. El borde de los limbos pueden ser lisos, ondulados o aserrados.
- *Tallo*: es cilíndrico y ramificado. En la etapa vegetativa el tallo es corto (1 a 3 cm); en la fase de floración éste se alarga pudiendo alcanzar una altura de hasta 1,5 m.
- *Inflorescencia*: son capítulos florales amarillos dispuestos en racimos o corimbos.
- *Semillas*: están provistas de un vilano plumoso. Las semillas (frutos) son aquenios, de colores variables del blanco al marrón oscuro, casi negro, achatado y pequeño.⁽⁵⁾

2.2.3 Taxonomía de *Lactuca sativa* lechuga

La taxonomía de la lechuga se clasifica según su nombre científico tal como lo describe la cuadro N°1⁽⁶⁾

CUADRO. N° 1
TAXONOMÍA *Lactuca sativa* lechuga

Dominio	Eucariota
Reino	Viridiplantae
Phylum	Espermatófita
Subphylum	Angiosperma
Clase	Dicotiledónea
Orden	Asterales
Familia	Compuestas o Asteraceas
Nombre científico	<i>Lactuca sativa</i>
Nombre vulgar	Lechuga

Fuente: <http://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/lactuca-sativa,2016>

2.2.4 Propiedades nutritivas de *Lactuca sativa* lechuga

La lechuga es un alimento que aporta muy pocas calorías por su alto contenido en agua, su escasa cantidad de hidratos de carbono y menor aún de proteínas y grasas. En cuanto a su contenido en vitaminas, destaca la presencia de folatos, provitamina A o β -caroteno, y vitaminas C y E. La lechuga romana cultivada al aire libre es la variedad más rica en vitaminas, mientras que la "iceberg" es la que menor cantidad de vitamina C presenta. Los folatos intervienen en la producción de glóbulos rojos y blancos, en la síntesis de material genético y la formación de anticuerpos del sistema inmunológico. El β -caroteno es un pigmento natural que

confiere el color amarillo-anaranjado-rojizo a los vegetales y que el organismo transforma en vitamina A según sus necesidades. En el caso de la lechuga, el β -caroteno está enmascarado por la clorofila, pigmento más abundante. La vitamina A es esencial para la visión, el buen estado de la piel, el cabello, las mucosas, los huesos y para el buen funcionamiento del sistema inmunológico, además de tener propiedades antioxidantes. La vitamina E interviene en la estabilidad de las células sanguíneas y en la fertilidad. Ejerce una acción antioxidante que también caracteriza a la vitamina C. Ésta participa en la formación de colágeno, huesos, dientes y glóbulos rojos. Favorece la absorción del hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones. En cuanto a los minerales, la lechuga destaca por la presencia de potasio y hierro. También contiene magnesio y calcio, aunque en menor proporción. El calcio presente en la lechuga no se asimila apenas si se compara con los lácteos u otros alimentos buena fuente de este mineral. Algo similar ocurre con el hierro, cuya absorción es mucho mayor cuando procede de alimentos de origen animal.

El potasio es un mineral necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso y para la actividad muscular normal, además de colaborar en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula. El magnesio se relaciona con el funcionamiento de intestino, nervios y músculos, forma parte de huesos y dientes, mejora la inmunidad y posee un suave efecto laxante. Las hojas más externas de la lechuga concentran la mayor parte de vitaminas y minerales, tal como lo describe la cuadro N° 2. ⁽⁷⁾

CUADRO. N° 2
COMPOSICIÓN POR 100 GRAMOS DE PORCIÓN COMESTIBLE

Agua (ml)	95
Hidratos carbono (g)	1,4
Fibra (g)	1,5
Proteínas (g)	1,5
Potasio (mg)	240
Calcio (mg)	34,7
Vitamina A (mcg de Eq. de retinol)	29
Folatos (mcg)	33,6
Vitamina C (mg)	12,2

Fuente: <http://www.botanical-online.com/lechuga-valor>.

2.2.5 Enfermedades de transmisión por alimento (ETAs)

Las enfermedades de transmisión alimentaria abarcan un amplio espectro de dolencias y constituyen un problema de salud pública creciente en todo el mundo. Se deben a la ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas. La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquier etapa del proceso que va de la producción al consumo de alimentos («de la granja al tenedor») y puede deberse a la contaminación ambiental, ya sea del agua, la tierra o el aire.

La manifestación clínica más común de una enfermedad transmitida por los alimentos consiste en la aparición de síntomas gastrointestinales, pero estas enfermedades también pueden dar lugar a síntomas neurológicos, ginecológicos, inmunológicos y de otro tipo. La ingestión de alimentos contaminados puede provocar una insuficiencia multiorgánica, incluso cáncer, por lo que representa una

carga considerable de discapacidad, así como de mortalidad
(8)

2.2.6 Enfermedades Trasmisión por Alimento (ETAs)

Clasificación de las (ETAs)

- *Infecciones*: son enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos que contienen microorganismos perjudiciales vivos. Por ejemplo: salmonelosis, hepatitis viral tipo A y toxoplasmosis.
- *Intoxicaciones*: Ocurren cuando las toxinas o venenos de bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido. Estas toxinas generalmente no poseen olor o sabor y son capaces de causar enfermedades después que el microorganismo es eliminado. Algunas toxinas pueden estar presentes de manera natural en el alimento, como en el caso de ciertos hongos y animales. Ejemplos: botulismo, intoxicación estafilocócica o por toxinas producidas por hongos.
- *Toxiinfección*: Es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos con una cierta cantidad de microorganismos causantes de enfermedades, los cuales son capaces de producir o liberar toxinas una vez que son ingeridos. Ejemplos: cólera.⁽⁹⁾

2.2.7 Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de Calidad sanitaria MINSA/DIGESA

El consumo de frutas y hortalizas frescas es parte importante de una dieta saludable, desde el punto de vista microbiológico son alimentos comparativamente de menor riesgo que las carnes y los productos lácteos. Sin embargo, al ser consumidos sin ningún tipo de cocción, son potencialmente peligrosos en caso de que exista contaminación. Según la norma sanitaria establece para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano, existe una Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM que aprobó los “Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano y un Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007-98-SA.con el fin relacionado a la vigilancia y control de la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos, tal como se menciona en la cuadro N°3.⁽¹⁰⁾

CUADRO. N° 3
CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS APTOS PARA EL CONSUMO
HUMANO:

Agente microbiano	Categoría	clase	n	c	Limite por gramo	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g

Fuente: http://www.digesa.sld.pe/norma_consulta/Proy_RM615,2016

2.2.8 Importancia de las aguas servidas

El tratamiento de aguas residuales consiste en una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen como fin eliminar los contaminantes físicos, químicos y biológicos presentes en el agua efluente del uso humano. Las aguas servidas son generadas por residencias, instituciones y locales comerciales e industriales. Estos procesos de tratamiento son típicamente referidos a:

- *Tratamiento primario* (asentamiento de sólidos).
- *Tratamiento secundario* (tratamiento biológico de la materia orgánica disuelta presente en el agua residual, transformándola en sólidos suspendidos que se eliminan fácilmente).
- Tratamiento terciario (pasos adicionales como lagunas, micro filtración o desinfección).

El tratamiento de aguas residuales importancia.

- Ayuda al mejoramiento en las condiciones de salud
- Tratar el agua servidas ayuda a la conservación de agua en el mar de la región, pues provoca menos contaminación.

- Es relevante debido a que el tratamiento de la misma nos permite hacerla potable nuevamente.
- El tratamiento de agua nos permite hacer llegar el líquido vital a una mayor cantidad de personas.
- Al llevar esto a cabo, ayudamos al medio ambiente, reduciendo la contaminación con el cuidado del mismo, por medio de este líquido.
- El tratamiento de aguas residuales ayuda a la concientización de la sociedad en cuanto al cuidado de la misma.
- Ayuda al cuidado de la ciudad, pues con la misma se riegan áreas verdes, se limpian avenidas, e inclusive es de consumo directo para las personas.
- Con la mezcla correcta de sustancias químicas podemos obtener agua totalmente consumible para el ser humano.
- Es importante para la agricultura de la región.⁽¹¹⁾

2.2.9 Microorganismos indicadores de la calidad del agua

Varios organismos patógenos de transmisión fecal-oral pueden estar presentes en el agua cruda (agua natural que no ha sido sometida a proceso de tratamiento para su potabilización), entre ellos bacterias como *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *E. coli*, coliformes totales y fecales, los cuales han sido encontradas en abastecimientos de aguas.

En el Perú no contamos con el tratamiento de aguas servidas estamos expuestos a la contaminación de estas bacterias, y la gran mayoría de nuestros vegetales son regados con estas aguas no tratadas.

2.2.10 Bacterias relacionadas con las (ETAs)

2.2.11 *Escherichia coli* (*E.coli*)

Bacilo gran negativo, no esporulado, móvil con flagelos peritricos, aerobios-anaerobios facultativos, crecimientos rápido e indol positivo. Producen ácido y gas a partir de glucosa, arabinosa y habitualmente de lactosa. Se clasifican en mas de 170 serogrupos según características antigénicas del antígeno somático O, (lipopolisacáridos termoestables) y en serotipos por el antígeno flagelar H,(termolábil de naturaleza proteica),también, son importantes los antígenos K(capsulares lyII) y F(fibrilares).

El antígeno O forma parte del lipopolisacarido (LPS) presente en la membrana externa de la pared celular, el antígeno K corresponde al polisacárido capsular que envuelve la pared celular; y enmascara el antígeno O inhibiendo aglutinación. La determinación del perfil antigénico de las diferentes cepas permite determinar un tipo antigénico con las cepas patógenas.⁽¹²⁾

E.coli, se considera parte normal de la microbiota intestinal del hombre y animal de sangre caliente y desempeña un importante papel en la fisiología del intestino. Suele ser inocuo, pero algunas cepas son capaces de causar gastroenteritis y otras enfermedades

2.2.12 *Escherichia coli* como patógeno intestinal

Las principales cepas de *E.coli* relacionadas con enfermedades de origen alimentario como se menciona en el cuadro N°4⁽¹²⁾

Cuadro. N° 4

Clasificación de *Escherichia coli* asociada a enfermedades

Serotipo de <i>E. coli</i>	Epidemiología	Tipo de diarrea	Mecanismo patogénico
Productora de toxina Shiga	Colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico en todas las edades y púrpura trombótica trombocitopénica posdiarrea en adultos	Sanguinolenta y no sanguinolenta	Lesiones de adherencia y borramiento (AE) en el intestino grueso
Enteropatógena	Diarrea aguda y diarrea crónica endémica y epidémica en niños	Acuosa	AE en el intestino delgado
Enterotoxigénica	Diarrea infantil en países no industrializados y diarrea del viajero en todas las edades	Acuosa	AE en el intestino delgado, producción de enterotoxinas termolábiles y termoestables
Enteroinvasora	Diarrea aguda y diarrea crónica en niños	Sanguinolenta y no sanguinolenta ; disentería	Lesiones de adherencia, invasión de la mucosa e inflamación del intestino grueso
Enteropatógena		Acuosa, en ocasiones sanguinolenta	Lesiones de adherencia en el intestino delgado y en el intestino grueso, producción de enterotoxina y de citotoxina

Fuente: www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.htm

2.2.13 *Salmonella sp*

Los miembros del género *Salmonella* son bacilos gram negativo, anaerobios facultativos no esporulados, generalmente móviles por flagelos peritricos; indol negativo,

lisina positiva. No fermentan la lactosa pero si glucosa, con producción de gas no es muy resistente a condiciones ambientales, principalmente, luz solar intensa desecación, altas temperaturas y concentraciones elevadas de sal sin embargo una vez que se encuentra en el medio ambiente sobrevive en agua y superficies inanimadas por días o meses.

Presenta dos antígenos principales antígeno O (somatico) LPS y factor principal en la caracterización de los diversos tipos antigénicos; y el antígeno H (flagelar) constituido principalmente por una proteína llamada flagelina.

El género salmonella pertenece a la familia Enterobacteriaceae tribu salmonelleae y se diferencia de otras enterobacterias mediante reacciones bioquímicas y serológicas. El género ha sido objeto de sucesivas modificaciones en su nomenclatura y taxonomía y ha demostrado que está constituida por dos especies salmonella entérica y salmonella bongori.

Desde el punto de vista epidemiológico las salmonellas se clasifican en serotipos y portadores como se menciona en el cuadro N°5.

CUADRO. N° 5
CLASIFICACIÓN DE SALMONELLA SEGÚN SEROTIPO Y
PORTADORES

Serotipo de salmonella	Portadores
<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> A Y C	Infectan solo al hombre, se trasmite de persona a persona
<i>Salmonella gallinarum</i> <i>Salmonella pollorum</i>	Ganado vacuno
<i>Salmonella abortus</i>	Ovinos, equinos
<i>Salmonella choleraesuis</i>	cerdos
<i>Salmonellosis</i>	Variedades no adaptadas o que no tienen preferencia por algún huésped infectando al hombre como a los animales. En este grupo se encuentra la mayoría de las serovariedades responsable de la salmonelosis.

Fuente: [http://www.ispch.cl/sites/default/files/Boletin%20Salmonella%202009-2014%20\(23-10-2014\)%20.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/Boletin%20Salmonella%202009-2014%20(23-10-2014)%20.pdf)

Según las patologías las salmonelas se clasifican en:

- **Salmonellosis**

Infección entérica de origen alimentario, donde los alimentos contaminados constituyen el principal modo de transmisión. Las *salmonelas* que originan intoxicación en el humano se clasifican en más de 200 serotipos

- **Fiebre entérica**

Asociada a *Salmonella typhi* (fiebre tifoidea), *Salmonella paratyphi* A, C y B (fiebre paratifoidea), la última serovariedad es la única que puede afectar tanto al hombre como a los animales.⁽¹³⁾

2.2.14 Método de análisis microbiológico para la cuantificación de micro organismos.

- **Métodos convencionales**

Los métodos convencionales o también llamados tradicionales, son sistemas destinados a la detección, el recuento, la caracterización y aislamiento. Esto dependerá de la preparación de medios de cultivos óptimos para el análisis microbiológico con significado semejante en cualquier laboratorio que utilice, es fundamental que los medios de cultivo, ingredientes de los mismos y reactivos sean comparables. Las entidades regulatorias cuentan con especificaciones o requisitos que deben de cumplir, durante la preparación de medios de cultivo.

Si estas condiciones óptimas (pH, esterilidad, nutrientes y otros), si no se controlan, el medio de cultivo posiblemente se contaminara por otros microorganismos de estudio que no son de interés o no se desarrollará el crecimiento microbiano esperado, debido a ello, el método tradicional se trabaja con control negativo (no debe observarse crecimiento microbiano) para asegurar que los resultados microbiológicos sean óptimos.

- **Método recuento en placas**

El recuento en placa es un procedimiento que permite conocer el número de microorganismos que hay en una muestra.

El método de recuento en placas es el mas ampliamente usado, abarcando dos métodos por extensión en superficie y vertido en placa, dependerá del estudio de microorganismo.

El método convencional requiere de los siguientes pasos:

- Preparación de medios de cultivo.
- Inoculación 1 ml de la muestra esparcir.

- Incubación a la temperatura apropiada.
- Conteo de colonias.

- **Métodos rápidos**

Los métodos rápidos son sistemas destinados a la detección, el recuento, la caracterización y la subtipificación de microorganismos (patógenos y del deterioro) mediante el cual se obtiene resultados de manera sencilla, fiable y en menos tiempo que con los métodos convencionales. El desarrollo de métodos rápidos y automatizados constituye un área de la microbiología aplicada muy dinámica y en continua evolución.

Los métodos rápidos se basan en técnicas físico-químicas (películas de medios de cultivo deshidratados generales o selectivos, sistemas para determinar el número más probable, medio cromo génico y fluorogénicos, bioquímicas (galerías miniaturizadas y automatizadas) u otros.

- **Método Placas Petrifilm (AOAC)**

Método microbiológico que consiste en una familia de placas listas para usarse diseñadas para ofrecer ahorro de tiempo, incremento de productividad, fiabilidad y eficiencia. Su diseño tiene una película rehidratable cubierta con nutrientes y agentes gelificantes. Proporciona resultados en tres pasos: inoculación, incubación y recuento. Las Placas Petrifilm™ están disponibles para la mayoría de las necesidades de pruebas microbiológicas incluyendo: recuento de aerobios, recuento de coliformes, recuento de E.coli / coliformes, recuento de Enterobacterias, recuento de alta sensibilidad de coliformes, recuento rápido de coliformes, recuento de Staphylococcus aureus, recuento de mohos y levaduras y Listeria en ambientes.

2.3 Definición de términos Básicos

- *Microorganismos*: Es un ser vivo, o un sistema biológico, que solo puede visualizarse con el microscopio.
- *Infeción*: Multiplicación de un microorganismo en el interior de un ser vivo.
- *Cepas*: En microbiología, una variante fenotípica de una especie o, incluso, de un taxón inferior, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias.
- *Inóculo*: Sustancia que se introduce en el organismo para reducir o aumentar su inmunidad frente a determinada enfermedad o proceso. Puede ser una toxina, un virus o una bacteria, muertos o atenuado, o un suero inmune
- *Anticuerpo*: Molécula producida por un animal como resultado de la interacción con un antígeno, con la propiedad de combinarse específicamente con el antígeno que indujo su producción.
- *Aséptico*: Estéril, libre de organismos contaminantes.
- *Biota*: Organismos habituales en un ambiente.
- *Alimento inocuo*: es la garantía de que no causará daño al consumidor cuando el mismo sea preparado o ingerido, de acuerdo con los requisitos higiénico-sanitarios. La inocuidad alimentaria es un proceso que asegura la calidad en la producción y elaboración de los productos alimentarios.

CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

Aplicada: Porque se trabajó con métodos validados, proceso que demuestra que los procedimientos analíticos son aptos para el uso indicado

De Campo: Porque este estudio se realizó dentro de un laboratorio cumpliendo todas las normas del laboratorio

3.1.1 Método

Científico: Porque esta tesis cumplió con todas las exigencias que plantea este método.

Descriptivo: Porque se explica detalladamente como se realizó la investigación.

Inductivo: Porque las muestras fueron tomadas al azar y de tres puestos de mercado.

Cuantitativo: Porque este estudio está basado a medir colonias UFC/g (unidades formadoras por colonia).

3.1.2 Técnica

Las técnicas utilizadas fueron:

- Observación directa
- Técnica de sembrado

3.1.3 Diseño

No experimental: Se trabajó con la muestra de lechuga *Lactuca sativa* de los mercados mayoristas Callao, Santa

Anita y Tres de Febrero con las cuales hemos limitado a evaluarlas según el método AOAC y ICMSF.

Transversal: Este trabajo se realizó de junio a octubre del 2016, es comprendido en ensayos breves.

3.2 Población y muestreo de la Investigación

3.2.1 Población: Lechugas *Lactuca sativa* de tres puestos de mercados mayoristas Lima

3.2.2 Muestra: Hojas de lechuga *Lactuca sativa*

Muestreo al azar

Tamaño de la muestra 100 gr de la hoja.

3.3 Variables e Indicadores

VARIABLE	INDICADORES
Variable Independiente (X) Lechuga <i>Lactuca sativa</i>	Presencia/Ausencia crecimiento de microorganismos
Variable Dependiente (Y) Recuentos de microorganismos	UFC/g (unidades formadoras por colonia)

Fuente: Elaboración propia, 2016

3.4 Técnicas e instrumentos de Recolección de Datos

3.4.1 Técnicas

A) Recolección de la lechuga *Lactuca Sativa*

Lechuga *Lactuca Sativa* se recolectó en tres mercados de la ciudad de lima mercado Central del Callao, mercado central de Santa Anita y mercado tres de Febrero siendo los mercados más recorridos por los pobladores.

Haciendo uso del equipo de disección se cortaron las hojas de lechuga *Lactuca Sativa* unos 200 gr aproximadamente de cada puesto. Las hojas se colocaron en envolturas de bolsas ziplo y finalmente en caja térmica/ hielo seco para su transporte al laboratorio. (Foto N°1)

FOTO. N° 1
RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE DE ESTUDIO



Fuente: Elaboración propia, 2016.

B) Método utilizado para el análisis de *salmonella sp*

La International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF).

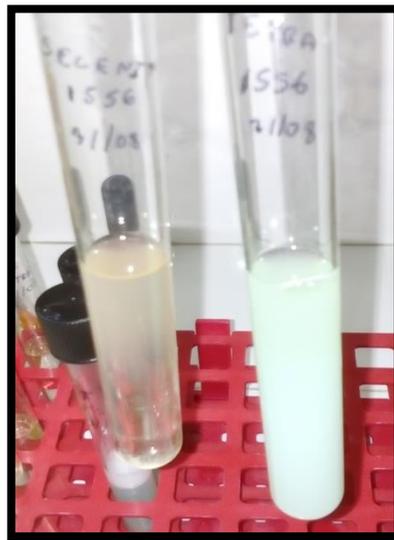
Divididas en las siguiente etapas

- Enriquecimiento no selectivo
Se pesó 25 g de hojas de lechuga *Lactuca Sativa* en 225 ml de caldo lactosado en condiciones asépticas y llevadas a incubación, por 24 horas a 35-37 ° C.
- Enriquecimiento selectivo
Tomar 1 ml de caldo (lactosado +muestra) incubado y trasferir a un tubo que contiene caldo selenito cisteína y lo mismo con el otro tubo, pero éste con caldo

tetracionato verde brillante e incubar a 43 ° C por 24 horas.(Foto. N°2).

FOTO. N° 2

**CONTROL CALDO SELENITO CISTEÍNA Y CALDO
TETRACIONATO VERDE BRILLANTE**



Fuente: Elaboración propia, 2016.

- Siembra en placas medio de agar selectivo
Se sembró por estrías a partir del caldo tetracionato verde brillante en cada uno de los medios sólidos: agar verde brillante, agar sulfito bismuto y agar desoxicolato citrato.
Incubar las placas de agar verde brillante durante 24 horas a 35-37°; Incubar las placas de agar sulfito bismuto a 35-37° C, durante 48 horas; y por último, incubar el agar desoxicolato citrato, durante 48 horas a 35-37°
- **Fundamento**
Agar verde brillante: Las colonias típicas de *salmonella sp* son incoloras, rosa o fucsia o traslucida u opacas, con

el medio que las rodea de color rosa a rojo lo que nos indica presencia de *salmonella sp.*

Agar sulfito de bismuto: Las colonias de *salmonelas* aparecen marrones o grises a negro a veces con brillo metálico, algunas colonias verdes con el medio que lo rodea muy poco o nada lo que nos indica presencia de *salmonella sp.*

C) Método utilizado para el análisis de *Escherichia coli*

3M Placas Petrifilm para el recuento de e. coli (AOAC)

- Preparación de las placas petrifilm.
- Se desinfecto la mesa de trabajo con alcohol al 70%.
- Se colocó la placa Petri en una superficie limpia.
- Con una pipeta perpendicular a la placa Petri colocar 1 ml de diluyente agua peptonada en el centro de la película inferior.
- Liberar la película superior lentamente para evitar que atrape burbujas de aire.
- Se colocó el dispensador sobre la muestra que se observa debajo de la película y se presionó suavemente hasta que se distribuya en el círculo.
- Seguidamente se guardó en papel de aluminio y se llevó a temperatura 2-8°C para ser utilizado en el muestreo de campo.

- Toma de muestra.
- Se levantó el film superior de placa Petrifilm (sin tocar el área circular de crecimiento) y se llevó hacia atrás.
- Se fijó la placa Petrifilm por el método de cinta adhesiva.

- Cinta adhesiva:
- Se pegó con un trozo de cinta adhesiva en la parte superior y central de la placa petrifilm.

- **Método de exposición ambiente**
- Se expone la placa petrifilm al ambiente por un tiempo máximo de 15 minutos, puede colocarse las placas de forma horizontal o vertical.
- Se quitó la cinta adhesiva de la placa.
- Liberar la película superior lentamente.
- Se envolvió en papel de aluminio y se guardó en una caja térmica a temperatura 2-8°C, para su posterior análisis al laboratorio.
- Incubar las placas, cara hacia arriba.
- Resultados se expresara en unidades formadoras de colonias por 15 minutos.(UFC/min).

- **Fundamento**
 Las placas Petrifilm para el recuento de *E.coli* contiene nutrientes de Bilis rojo violeta (URV),gelificantes solubles en agua fría un indicador de actividad de la glucoronidas colonias de color azul asociado con burbujas de gas nos indica *E.coli*.

3.4.2 Instrumentos

El instrumento que se utilizó para esta investigación fue:

Materiales y equipos:

- | | |
|----------------------------|-----------------------------|
| - Beakers | - Probeta |
| - Balanza | - Balanza |
| - Refrigerador | - Caja térmica |
| - Estufa | - Caldo selenito |
| - Equipo de esterilización | - Caldo tetratoato |
| - Matraces | - Agar verde brillante |
| - Tubos de ensayo | - Agar sulfito bismuto |
| - Mechero | - Agar desoxicolato citrato |
| - Propipetas | - Placas petriflin 3M |

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

Los resultados se registraron en base a la metodología aplicada: AOAC:991.1419Th Edition.17.3.04:2012 coliform and *Escherichia coli* counts in Foods.

4.1.1 Recuento en placas para *Escherichia coli*

La lechuga *lactuca sativa* se tomó de tres mercados mayoristas, donde se realizó un muestreo al azar en tres puestos diferentes A,B y C tal como describe en los Anexos1,2,3

El Mercado Central del Callao obtuvo como promedio 10.833×10^2 UFC/gr.

El Mercado Mayorista de Santa Anita obtuvo como promedio 13.33 UFC/gr.

El Mercado Tres de Febrero obtuvo como promedio 10 UFC/gr.

4.1.2 Presencia ausencia de *salmonella sp*

La lechuga *lactuca sativa* se tomó de tres mercados mayoristas, donde se realizó un muestreo al azar en tres puestos diferentes A,B y C tal como describe en los Anexos1,2,3.

Las muestras analizadas tuvieron como resultado ausencia de *salmonella sp*.

4.2 Análisis e interpretación de Resultados

ANEXO N°1

RESULTADO DEL MERCADO CENTRAL DEL CALLAO

	<i>Escherichia coli</i> UFC/gr	<i>Salmonela sp</i> Ausencia /25 gr
A	11.5X10 ²	Ausencia
B	11X10 ²	Ausencia
C	10X10 ²	Ausencia
\bar{X}	10.833X10 ²	Ausencia

Fuente: Elaboración propia 2016.

ANEXO N°2

RESULTADO DEL MERCADO MAYORISTA DE SANTA ANITA

	<i>Escherichia coli</i> UFC/gr	<i>Salmonela sp</i> Ausencia /25 gr
A	10	Ausencia
B	10	Ausencia
C	20	Ausencia
\bar{X}	13,33	Ausencia

Fuente: Elaboración propia 2016.

ANEXO N°3

RESULTADO DEL MERCADO CENTRAL DE TRES DE FEBRERO

	<i>Escherichia coli</i> UFC/gr	<i>Salmonela sp</i> Ausencia /25 gr
A	10	Ausencia
B	10	Ausencia
C	10	Ausencia
\bar{X}	10	Ausencia

Fuente: Elaboración propia 2016.

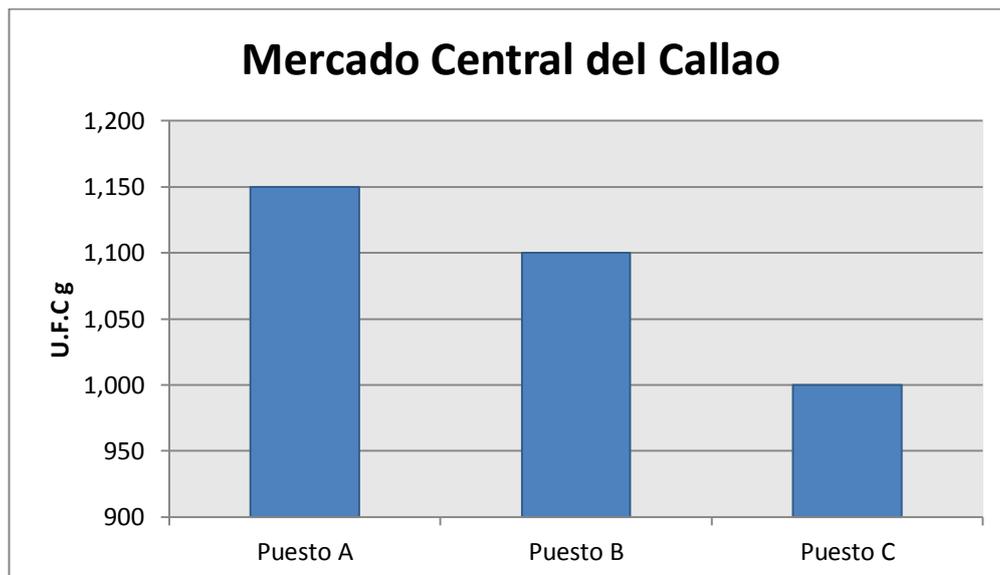
ANEXO N°4

RESULTADO DE RECuento DE *Escherichia coli* Y DETERMINACIÓN DE *Salmonella sp.*

MUESTRA	<i>Escherichia coli</i>	<i>salmonela sp</i>
A	++++	-
B	+++	-
C	++	-
A	-	-
B	-	-
C	-	-
A	-	-
B	-	-
C	-	-

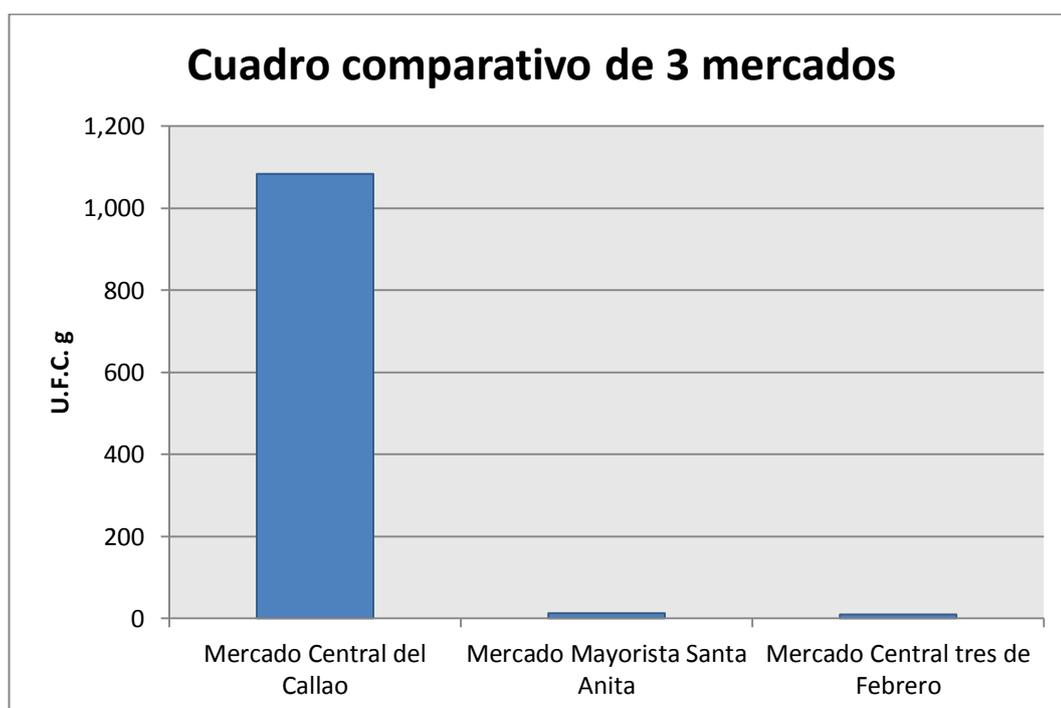
++++= Muy visible +++ = visible ++ = poco visible - = ausencia

Gráfico N°1 El diagrama representa la comparación de los tres puestos evaluados para *Escherichia coli* en hojas de lechuga *Lactuca sativa* del mercado central del callao.



Resultado: Demuestran que presentan contaminación bacteriana de origen fecal en un valor mínimo que supera los valores permitidos según los parámetros establecidos del ministerio de salud, donde el promedio de UFC/gr de *Escherichia coli*, es posiblemente debida a la contaminación ambiental de la época producida por el gran movimiento de las persona en el mercado la inadecuada manipulación excesiva humedad de la planta o la exposición al medio ambiente hasta que lleguen a las manos del consumidor.

Gráfico N°2 Diagrama representa la contaminación de los tres mercados evaluados para *Escherichia coli* en lechuga *Lactuca sativa*.



Resultado: El histograma de barras de positividad se obtuvo en unidades colectadas en el mercado central del Callao. Es posible que la lechuga *Lactuca sativa* en este punto del comercio se encontraron más expuestas a la contaminación. A diferencia de los mercados de Santa Anita y Tres de febrero que se obtuvo un resultado negativo en unidades colectadas.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de las hojas de lechuga *Lactuca sativa*, que se expende en los tres mercados mayoristas, Mercado Central del Callao, Mercado Central de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero demuestran resultados diferentes, el mercado Central del Callao presenta contaminación bacteriana *Escherichia coli*, de origen fecal, en un valor que supera los valores permitidos según los parámetros establecidos del ministerio de salud mediante la resolución ministerial N°007-98-SA, donde el promedio de UFC/gr es 10.833×10^2 . Sin embargo los dos mercados mencionados están dentro de los parámetros establecidos del ministerio de salud con un promedio de UFC/gr 13.33 para el mercado central de Santa Anita y con un promedio de UFC/gr de 10 para el Mercado Central tres de febrero.

Diversos estudios se han reportado con el fin de conocer la incidencia de patógenos en hortalizas. De acuerdo al estudio de Velez A, Ortega J, (2013). El grado de contaminación de las lechugas estuvo contaminada con niveles no aceptables de *E.coli*, con un promedio $>10^2$ UFC/g, afirma que la contaminación no es controlada a través de las buenas prácticas de higiene lo cual es concordante con los resultados de nuestro trabajo ya que las lechugas del mercado central presentan contaminación por *E.coli* con un promedio $>10^2$ UFC/g.

Muñoz, Vilca M. Ramos D. Lucas J, (2013). En su trabajo de investigación realizada por la técnica número más probable demostró contaminación de *E.coli* con un porcentaje de 17.5% en verduras en los mercados estudiados de lima. Lo cual llegan a la conclusión que es debido a la utilización de agua de riego no tratada. Nuestro estudio fue realizado también en la ciudad de lima en tres mercados centrales por el método 3M Placas Petrifilm para el recuento de *E. coli* (AOAC) lo cual también nos presentó contaminación bacteriana por *E.coli* de origen fecal

podemos decir que podría deberse también a la contaminación de agua de riego no tratada ya que en el Perú no contamos con el tratamiento de aguas servidas.

El estudio de Rodríguez M. Solano, Lozano B, Torrico M, Cruz R. (2015). Este estudio demuestra la contaminación de las lechugas con bacterias Aerobias Mesófilas, coliformes totales y fecales en concentraciones superiores a los estándares permitidos en los tres puntos de la cadenas alimentaria evaluadas; identificándose también *Salmonella sp* llegando a la conclusión que está relacionada con la utilización de abono de aves en el cultivo y la manipulación inadecuada; De acuerdo con los resultados obtenidos, en comparación con nuestro estudio no encontramos contaminación por *salmonella sp* es posible porque nuestras lechugas evaluadas no estaban en contacto con abono de aves.

Según la investigación de García G, Fernandez.E (2008). La contaminación de las lechugas por la técnica de número más probable se detectó *E. coli* en el 14.9% de las muestras con niveles de 0.2 a 62 NMP/g y *Salmonella* en 0.6% con límites de <0.06 a 28 NMP/g, los investigadores asumen que podría deberse a una contaminación cruzada, como también a la falta de higiene en manipulación de las hortalizas de manera general. En comparación con nuestros resultados podemos observar muy claramente que la lechuga *lactuca sativa* al ser distribuidas en diferentes puntos de venta, recibe diferente trato y manipulación, es por ello que la intoxicación alimentaria es un problema vigente en nuestro medio.

Según la investigación de Barrantes K, Achí R,(2011). Las muestras analizadas se detectó *E. coli*, aunque no se encontró *Salmonella* por la técnica PCR-Múltiple o cultivo. Este método molecular se basa en detectar el gen invasivo por medio de una banda de 389 pb. Este gen está codificado en el cromosoma bacteriano, en la SPI1 y es esencial

para la virulencia en modelos celulares y animales ha demostrado ser muy valioso para la identificación de virus, bacterias, hongos, y parásitos. Una posible explicación que no se haya detectado *salmonela sp* es que en este estudio los niveles de contaminación de *Salmonella* están por debajo de los límites de detección de ambos métodos (menos de 102 UFC/g para *Salmonella*).en comparación con nuestra evaluación, realizamos la identificación para *salmonela sp* por el método International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) que se basa en realizar un apropiado cultivo de pre enriquecimiento y enriquecimiento, el aislamiento en medios selectivos y la posterior confirmación mediante pruebas bioquímicas morfológicas y/o serológicas los resultados de nuestro trabajo también fueron negativos para la identificación de *salmonela sp*

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos del estudio permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- En el presente estudio ha sido demostrado la presencia de contaminación microbiana de la lechuga *Lactuca Sativa* en uno de los mercados evaluados que supera al valor estándar permitido, 10^2 límites por gr. Y con respecto al estudio de *salmonela sp*, los tres mercados evaluados cumplen los límites permisibles,(ausencia/25g) según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15.
- En el presente estudio de evaluación microbiológica de la lechuga *Lactuca sativa*, con el método 3M Placas Petrifilm (AOAC) se pudo verificar que el mercado central del Callao no cumple con los límites permisibles porque sobrepasa a ello con un promedio de 10.833×10^2 y según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15 no es considerado apto para el consumo humano.
- El estudio demostró una importante contaminación microbiológica de las lechugas, *Lactuca sativa* en el Mercado Central del Callao debido posiblemente a la manipulación inadecuada de esta hortaliza (conservación, lavado, forma exposición para su venta, etc.) o podría deberse al riego con aguas servidas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar investigaciones posteriores de evaluación microbiológica de supermercados más concurridos de la ciudad de Lima.

Realizar estudios de conservación y preservación e lechuga *Lactuca sativa*.

Profundizar estudios microbiológicos de esta especie en otras regiones de nuestro Perú, con fines aplicativos a la industria alimentaria.

Realizar una evaluación microbiológica, de diferente especie de lechugas de consumo humano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico [Sitio en internet].disponible en <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>(1)
- 2 University of Maryland. Mejorando la seguridad y calidad de frutas y hortalizas frescas [Sitio en internet].Disponible En: <http://www.jifsan.umd.edu/pdfs/> el 22 de octubre de 2008. (2)
- 3 Avalos Alas C. Determinación de contaminantes microbiológicos en las ensaladas frescas que se comercializan en establecimientos de comida rápida del distrito dos de la zona metropolitana de san salvador.[Licenciatura en Química y Farmacia].Santiago: Servicio de publicación e Intercambio Científico,Universidad de Santiago;2009.(3)
- 4 Salazar Ordaz Identificación de razas de bremia Lactucae y caracterización de variedades de lechuga [Tesis Maestría].México. Colegio Posgrado campus montecillo posgrado de Fito sanidad fitopatología 2011(4)
- 5 Espinosa Carrillo J. Comportamiento bioagronómico del cultivar de lechuga silverado (lactuca sativa) con abonos orgánicos en el cantón salcedo [Tesis Ingeniero agropecuario] Ecuador. Servicio de Publicación e Intercambio Científico, Universidad Técnica estatal de Quevedo;2013(5)
- 6 Modelo Tecnológico para Lechuga en el Buenas Prácticas Agrícolas Bajo el Cultivo de Oriente Antioqueño [Sitio internet].Disponible en:<http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/MANUAL%20DEL%20CULTIVO%20DE%20LA%20Lechuga.2016>. (6)

- 7 Vilaplana Batalla M. Verduras y hortalizas Fuentes naturales de antioxidantes [Sitio en internet]. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13057699&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v23n02a13057699pdf001.pdf&ty=139&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es 2004.(7)
- 8 Iris Tananta V, Amanda Chávez V, Eva Casas A Francisco Suárez A y Enrique Serrano Presencia de enteroparásitos en lechuga (*lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos en el mercado de lima Rev Inv Vet Perú 2004; 15 (2): 157-162.8(8,9)
- 9 Perú, Ministerio de Salud, Resolución ministerial N° 615-2003 SA/DM, Norma sanitaria que establece, los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano; 2003 (10)
- 10 Zapata Restrepo L. Francisco Oliveros F. Tratamiento de aguas residuales [Tesis Maestría]. Módulo V, Universidad de Manizales. 2008 (11).
- 11 Estudio de caso – Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador [Sitio en internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0480s/i0480s03.pdf>.2011.(12)
- 12 Aspectos microbiológicos.[Sitio internet]. Disponible en: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_7_fig.pdf.2011.(13)
- 13 Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación / Organización Mundial de la Salud.como hacer a los riesgos

emergentes sobre el medio ambiente y las nuevas tecnologías.segundo Foro Mundial FAO/OMS.

14 FAO-DIGESA.Taller nacional sobre aplicación de buenas practicas de manufactura (BPM)y de sistema de análisis de peligros y de los puntos críticos de control (APPCC)en el control de alimentos Ministerio de salud DIGESA;Peru;25,26,27,28de mayo 2003.

15 Enfermedades Infecciosas y Microbiología, vol. 31, núm. 4, octubre-diciembre 2011.

16 Tratado Seimc de enfermedades infecciosas y microbiología clínica, capítulo 60,2005.

17 Prats G, Microbiología Clínica, Argentina, Editorial medica Panamericana, 2005.

18 Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de Calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de Consumo humano, Decreto Supremo N° 007-98-SA. 1999 (14-15).

19 Muñoz Ortiz V, Laura N. Alta contaminación por enteroparásitos de hortalizas comercializadas en los mercados de la ciudad de La Paz, Bolivia. 2008. BIOFARBO. Vol. 16:1-8.

20 Traviezo-Valles L, Dávila J, Rodríguez R, Perdomo O, Pérez J. Contaminación enteroparasitaria de lechugas expandidas en mercados del estado Lara. Venezuela. Parasitol Latinoam. 2004 Jul;59 (3-4):167-70.

21 Meléndez S, Francisca I, Cisneros Almazán R, Aceves De Alba J, García D, Martín H, et al. Calidad del agua de riego en suelos agrícolas y

cultivos del Valle de San Luis Potosí, México. Rev Int Contam Ambient. 2011 Apr; 27(2):103-13.

22 Rugama J Castillo Y. Enfoque práctico para la inocuidad alimentaria[Sitiointernet].<https://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>2010.

23 García-Huidobro D, Carreño M, Alcayaga S, Ulloa J. Descripción clínica y epidemiológica de un grave brote de salmonelosis transmitida por alimentos. Rev Chil Infectol. 2012;132-7.

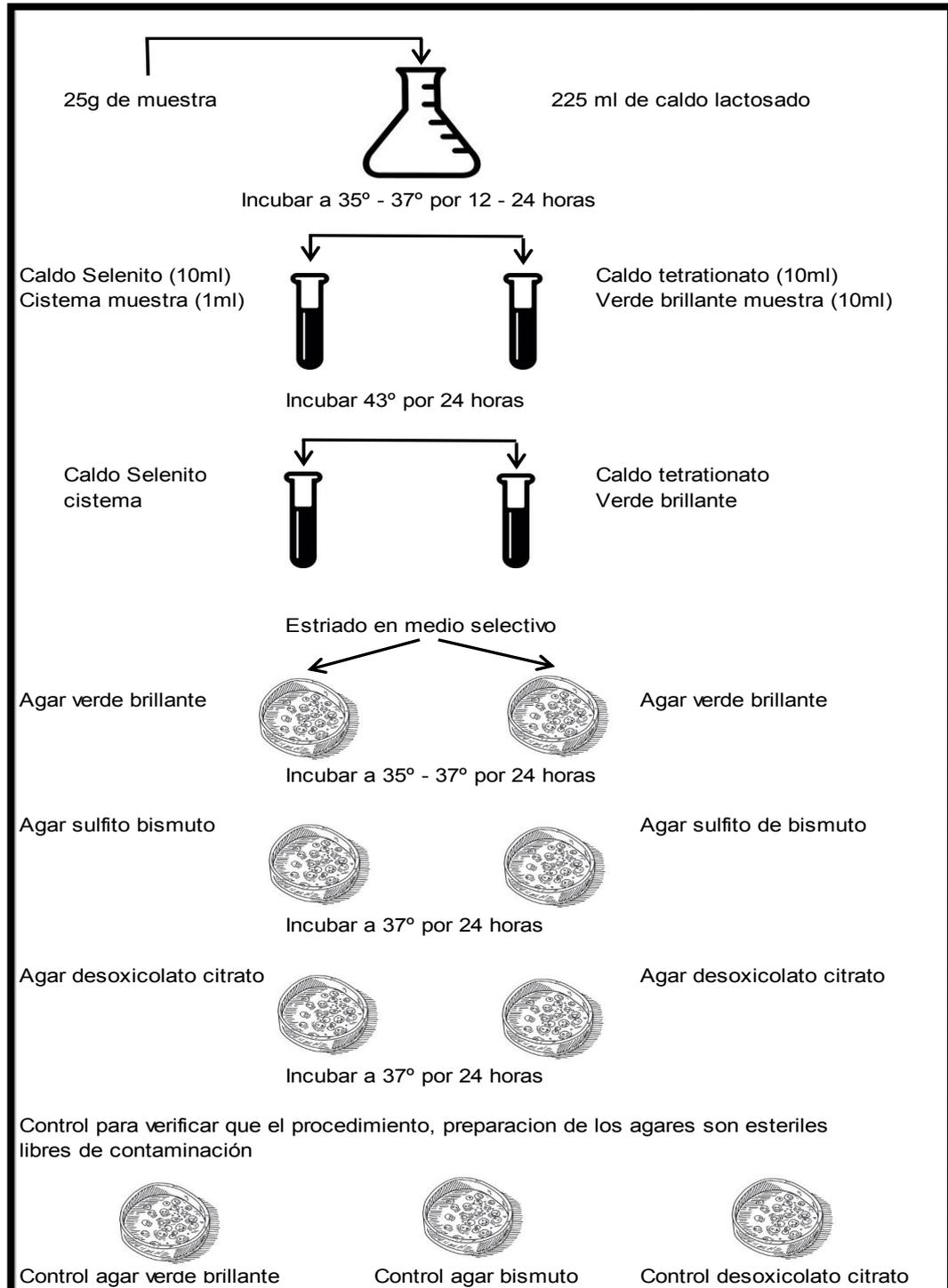
24 Muñoz Ortiz V, Laura N. Alta contaminación por enteroparásitos de hortalizas comercializadas en los mercados de la ciudad de La Paz, Bolivia. 2008. BIOFARBO. Vol. 16:1-8.

25 Puerta García A,, Mateos Rodríguez F. enterobacterias. Medicine. 2010.[Sitioeninternet]:Disponibleen:http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf.2010.

26 Tananta I, Chávez A, Casas A, , Suárez F, Serrano M . Presencia de Enteroparásitos en Lechuga (Lactuca Sativa) en Establecimientos de Consumo Público de Alimentos en el Cercado de Lima. Rev Inv Vet Perú 2004; 15 (2): 157-162.

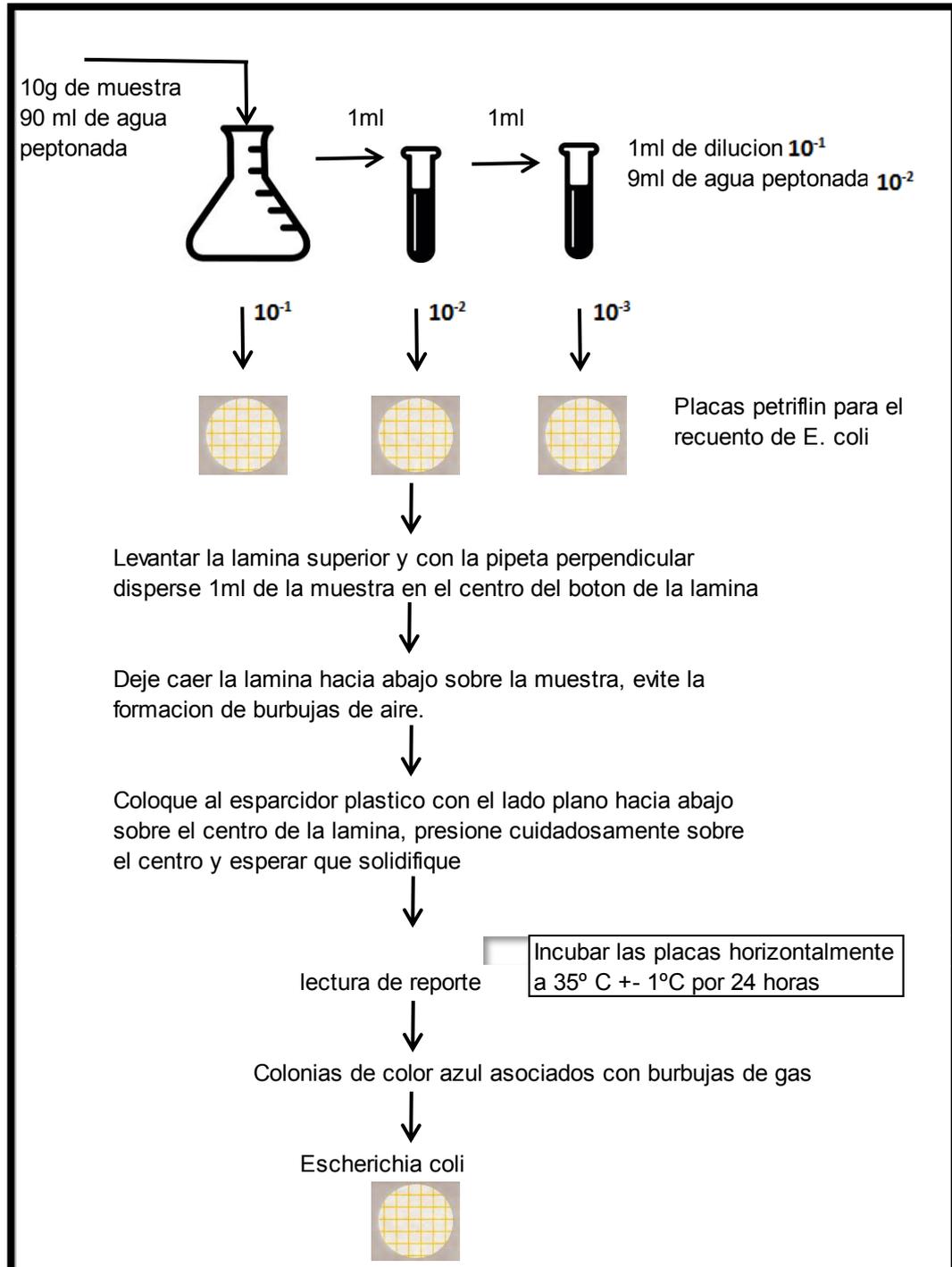
27 3MPIlacas Petrifilm™ para el Recuento de E. coli/Coliformes [Sitio en internet]. Disponible en:
<http://multimedia.3m.com/mws/media/4449500/3m-petriefilm-e-coli-coliform-count-plate-interpretation-guide-spanish.pdf>.2009.

ANEXO N°5
PROCEDIMIENTO DE ANALISIS PARA LA DETERMINACION DE
Salmonella sp



Fuente: Elaboración propia, 2016

ANEXO N°6
PROCEDIMIENTO DE ANALISIS PARA LA DETERMINACION DE
Escherichia coli



Fuente: Elaboración propia, 2016

FOTO. Nº 3
LECHUGA *Lactuca sativa*



Fuente: Elaboración propia, 2016

FOTO. Nº 4
PREPARACIÓN PARA EL TRANSPORTE DE LA ESPECIE



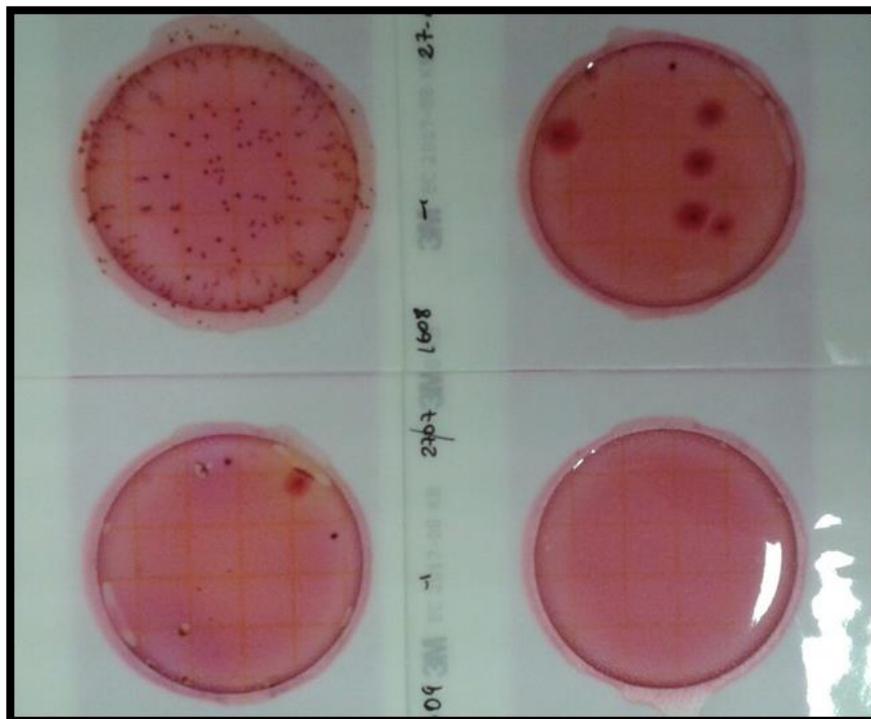
Fuente: Elaboración propia, 2016

FOTO. N°5
PREPARACIÓN EN CALDO LACTOSADO



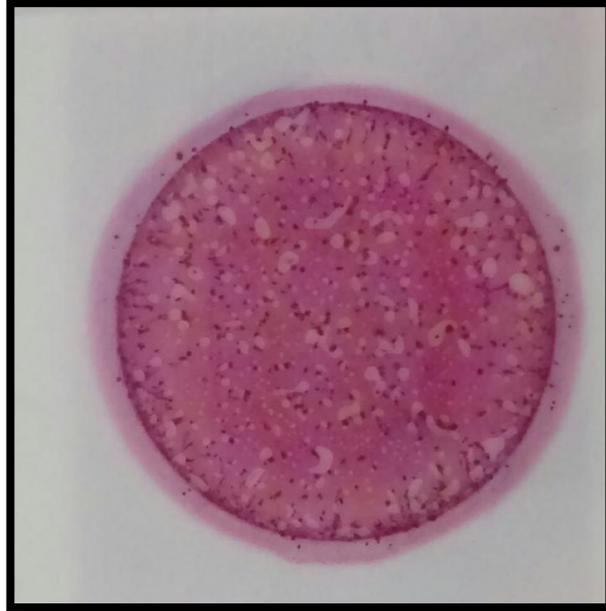
Fuente: Elaboración propia, 2016

FOTO. N°6
RECuento DE COLIFORMES TOTALES Y E. COLI EN HOJAS DE LECHUGAS.



Fuente: Elaboración propia, 2016

FOTO. N°7
PLACAS PETRIFILM RECuento DE *E. coli*



Fuente: Elaboración propia, 2016

- **Se observó crecimiento**

FOTO. N°8
PLACAS PETRIFILM RECuento DE *E. coli*



Fuente:Elaboración propia, 2016

- **No se observó crecimiento**

ANEXO N° 7

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título del Proyecto de Tesis: EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LECHUGA *Lactuca sativa* DE CONSUMO HUMANO

Bachiller: Lupinta Anco, Deysi Jenny

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES	POBLACIÓN Y MUESTRA
¿Cuáles serán los resultados de la evaluación microbiológica de la lechuga <i>Lactuca sativa</i> en los mercados mayoristas: Mercado Central del Callao, Mercado Central de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15 junio-octubre 2016?	Realizar la evaluación microbiológica de la lechuga <i>Lactuca sativa</i> de consumo humano en los mercados mayoristas, junio-octubre 2016. Objetivos Específicos O.E.1: Determina los límites permisibles de microorganismos en la lechuga <i>Lactuca sativa</i> de consumo humano según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15, en los tres mercados mayoristas O.E.2: Determinar la inocuidad de la lechuga <i>Lactuca sativa</i> de consumo humano según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15, en los tres mercados mayoristas	Es probable que la lechuga <i>Lactuca sativa</i> de consumo humano este cumpliendo los parámetros microbiológicos de la calidad según el decreto supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15 junio-octubre 2016, en los tres mercados mayoristas Hipótesis Específicas H.E.1: La lechuga <i>Lactuca sativa</i> de consumo humano presentara límites permisibles según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15, en los tres mercados mayoristas. H.E.2: La lechuga <i>Lactuca sativa</i> de consumo humano presentara inocuidad según el Decreto Supremo N° 007-98-SA capítulo IV artículo 15, en los tres mercados mayoristas.	Tipo de Investigación: Aplicada De laboratorio Nivel de Investigación: Descriptivo	Método de Investigación: Científico Descriptivo Inductivo cuantitativo Diseño de Investigación: No experimental Transversal	Variable Independiente (x) x: Lechuga <i>Lactuca Sativa</i> Indicadores: x1: Presencia/ausencia crecimiento microorganismos Variable Dependiente (Y) Y: Recuentos de microorganismos Indicadores: Y1: UFC/gr (unidades formadoras por colonia)	Población: Lechugas de tres puestos de los Mercados Mercado Central del Callao, Mercado Central de Santa Anita y Mercado Tres de Febrero Muestra: hojas de lechuga

