



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

DETECCIÓN DE PARASITOS EN VERDURAS Y FRUTAS FRESCAS EN TALCA, 2019

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

ALUMNO: HÉCTOR VALDÉS LEITE

PROFESORA GUIA: OLGA LOBOS

PROFESORA CO-GUIA: PATRICIA POBLETE

TALCA-CHILE

2019

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

1-INDICE

| | | |
|-------------|---|----|
| 1 | INDICE..... | 1 |
| 2 | RESUMEN..... | 3 |
| 3 | INTRODUCCIÓN..... | 4 |
| 4 | OBJETIVOS..... | 6 |
| 5 | MARCO TEÓRICO..... | 7 |
| 5.1 | ENTEROPARÁSITOS..... | 8 |
| 5.1.1 | HELMINTOS..... | 8 |
| 5.1.1.1 | NEMATHELMINTOS: NEMATODOS..... | 8 |
| 5.1.1.1.1 | <i>Ascaris lumbricoides</i> | 9 |
| 5.1.1.1.2 | <i>Trichuris trichiura</i> | 10 |
| 5.1.1.1.3 | UNCINARIAS..... | 11 |
| 5.1.1.1.4 | <i>Strongyloides stercoralis</i> | 13 |
| 5.1.1.2 | PLATHELMINTOS: TREMATODOS Y CESTODOS..... | 14 |
| 5.1.1.2.1 | CESTODOS..... | 14 |
| 5.1.1.2.1.1 | <i>Taenia spp</i> | 14 |
| 5.1.1.2.1.2 | <i>Hymenolepis spp</i> | 16 |
| 5.1.1.2.2 | TREMATODOS..... | 17 |
| 5.1.2 | PROTOZOOS..... | 19 |
| 5.1.2.1 | <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> | 20 |
| 5.1.2.2 | <i>Balantidium coli</i> | 21 |
| 5.1.2.3 | <i>Giardia lamblia</i> | 22 |
| 5.1.2.4 | <i>Dientamoeba fragilis</i> | 23 |
| 5.1.2.5 | <i>Blastocystis hominis</i> | 24 |
| 5.1.2.6 | <i>Sarcocystis sp</i> | 25 |
| 5.1.2.7 | <i>Cystoisospora belli</i> | 26 |
| 5.1.2.8 | <i>Cryptosporidium spp</i> | 26 |
| 5.1.2.9 | <i>Cyclospora cayetanensis</i> | 28 |

| | | |
|----------|--|----|
| 5.1.2.10 | PROTOZOOS COMENSALES..... | 29 |
| 5.2 | EPIDEMIOLOGÍA..... | 30 |
| 5.3 | REGULACIÓN LEGAL DE LOS ENTEROPARÁSITOS EN CHILE | 32 |
| 6 | MATERIALES Y METODOS..... | 34 |
| 6.1 | TIPO DE MUESTRA Y RECOLECCIÓN..... | 34 |
| 6.2 | PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA..... | 34 |
| 6.3 | OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA..... | 35 |
| 6.4 | TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN | 35 |
| 6.5 | REGISTRO DE DATOS Y ANALISIS ESTADISTICOS..... | 36 |
| 6.6 | CONTROL DE CALIDAD..... | 36 |
| 7 | RESULTADOS..... | 38 |
| 8 | DISCUSIÓN..... | 43 |
| 9 | CONCLUSIÓN..... | 45 |
| 10 | BINLIOGRAFÍA..... | 46 |

2-RESUMEN

Chile presenta una alta producción de hortalizas, siendo cosechadas 28.918,2 hectáreas el 2018. Esta es parte cotidiana de la dieta de las personas, en esto radica la importancia de pesquisar distintos enteroparásitos que pueden estar en dichos productos debido a la contaminación con heces o debido a regadío con aguas contaminadas. Entre los enteroparásitos que afectan al hombre podemos encontrar los protozoos y helmintos (nematodos, cestodos y trematodos), siendo los más comunes los protozoos. El género detectado con mayor frecuencia en muestras de hortalizas es *Entamoeba spp.*, en los nematodos los *Ascaris spp.*, en los cestodos las *Taenia spp* y en trematodos *Fasciola spp.* Debido a la importancia clínica que tienen los parásitos se tiene como objetivo establecer datos reales estadísticos de parásitos presentes en los vegetales de consumo humano en Talca, Chile, el 2019, permitiendo que la comunidad genere conciencia sobre el lavado de la verdura antes de consumirla. En el presente estudio se recolectaron muestras de variadas hortalizas (Lechuga, tomate, pimiento, apio, espinaca, lechuga hidropónica, cilantro y perejil) las cuales fueron agitadas en una solución de lavado (suero fisiológico) que permite extraer las estructuras parasitarias y mediante centrifugaciones se concentra la muestra, observando a través de microscopía, tinción con lugol, CVS y Ziehl-Neelsen, y también corroborando con microscopía con luz UV, para ciertas estructuras. Se obtuvo una parasitosis del 29%, siendo el *Cryptosporidium spp* el más encontrado. En comparación a otros países de América Latina, Chile presenta una baja prevalencia de parasitosis en hortalizas de consumo humano. Es de importancia identificar y establecer prevalencia de los parásitos presentes en las hortalizas de consumo humano en Chile.

3-INTRODUCCIÓN

Los parásitos son definidos por la CDC el 2016 como organismo que vive sobre un organismo hospedero (de una especie distinta) o en su interior y se alimenta a expensas del hospedero, siendo el humano un probable hospedero para algunos parásitos. ⁽¹⁾ Los enteroparásitos son los de mayor importancia clínica, donde se encuentran protozoos y helmintos (trematodos, cestodos y nematodos); también están los comensales, que son todos protozoos. ⁽²⁾

Debido a las mejoras en “*el nivel de vida, saneamiento ambiental, buena disposición de excretas, disponibilidad de agua potable, prescindencia de aguas servidas para el riego en la agricultura, crianza higiénica en ganadería, educación general y sanitaria, vivienda adecuada, etc., se ha logrado el control gradual de las infecciones enteroparasitarias*” ⁽³⁾, pero no se han eliminado por completo manteniéndose de forma endémica. Aunque “*en la actualidad las enfermedades parasitarias constituyen un problema de salud pública debido a su alta prevalencia en países en vías de desarrollo en Asia, África y Latinoamérica; por su frecuencia en países desarrollados dada la migración de personas provenientes de países del Tercer Mundo y su alta morbilidad*” ⁽⁴⁾, teniendo una mayor importancia su control y prevención. Entre los mecanismos de propagación de los enteroparásitos se encuentra el consumo de alimentos y aguas contaminadas, requiriendo medidas preventivas en la comunidad.

Como las verduras y frutas son componentes de la alimentación de los humanos, es importante tomar medidas de higiene al momento de consumirlos, debido a que estos se pudieron haber contaminado con parásitos. Teniendo en cuenta esto, las principales formas de contaminación de estos vegetales son a través de la prácticas de irrigación de las áreas de cultivo con agua contaminada por materia fecal de origen humano o de fertilización con

desechos humanos, aunque también se deben tomar en cuenta las prácticas de manejo de los vegetales poscosecha, ya sea en el transporte o por manipulación en los puntos de ventas. ⁽⁵⁾

Muchos de las verduras que se consumen son cultivadas en tierra, pero otras son a través de cultivos hidropónicos que se realizan en agua y usando un medio inerte como sustrato, al que se añade una solución de nutrientes que contiene todos los elementos esenciales vitales para que la planta se desarrolle y crezca, haciendo posible también el crecimiento de algunos parásitos dependiendo de los aditivos que se agreguen o de la manipulación de que se realice.

En Chile la norma para el regadío de aguas y hortalizas permite un umbral de 1000 coliformes fecales por 100 ml, lo cual conlleva un posible riesgo para la contaminación de estos alimentos por distintos microorganismos provenientes del tracto intestinal de humanos y/o animales, producto de lo anterior es que para el presente estudio se estima que las hortalizas y frutas de consumo diario en Chile se encuentran contaminadas con parásitos.

5-OBJETIVOS

5.1-OBJETIVOS GENERALES

Evaluar la presencia de parásitos en hortalizas y frutas de consumo humano en Talca, Chile, el 2019.

5.2-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Examinar muestras de hortalizas y frutas para la pesquisa de parásitos.
- Analizar datos obtenidos a partir de las muestras procesadas.

4-MARCO TEÓRICO

Las verduras son alimentos esenciales en la dieta, por lo que su control y fiscalización son importantes. En Chile la producción de hortalizas es alta, considerando como hortalizas a la acelga, apio, espinaca, lechuga, pimiento, repollo, tomate, entre otras.

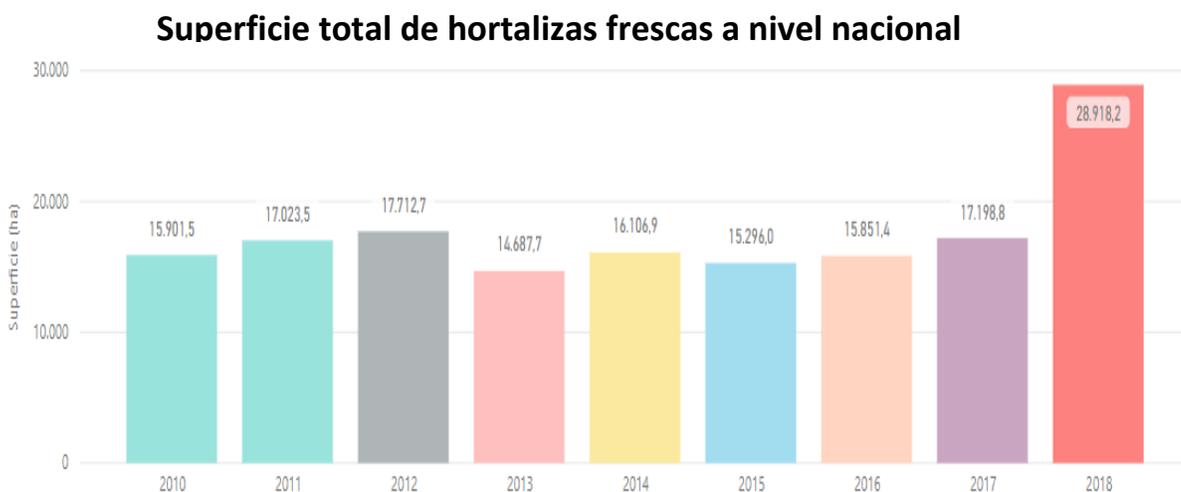


Figura 1. Superficie de Hortalizas frescas presentadas hasta septiembre del 2018 en Chile, considerando acelga, apio, espinaca, lechuga, pimiento, repollo, tomate consumo fresco y tomate consumo industrial. ⁽⁶⁾

Las producción de hortalizas tienen distintas etapas tales como, (1) cultivo (riego y fertilizantes), (2) Transporte y (3) Venta, debido a estos procedimientos donde es manipulado es posible la contaminación de estos productos con parásitos, por esto es necesario hacer controles en las distintas etapas y determinar si están contaminadas y el origen de la contaminación evitando así brotes por infección con parásitos. Dentro de los parásitos de importancia clínica que infectan las hortalizas están los enteroparásitos que pueden ser protozoos o helmintos.

4.1-ENTEROPARÁSITOS

4.1.1-HELMINTOS

Son gusanos que pertenecen al reino animal siendo también invertebrados de vida libre o parasitaria. Son organismos pluricelulares, que cuando alcanza la vida adulta, la mayoría, se pueden observar de forma macroscópica.

4.1.1.1-NEMATHELMINTOS: NEMATODOS

También conocidos como gusanos redondos, son pseudocelomados. Como características es que poseen una simetría bilateral y tamaño variable dependiendo la especie. Tienen dimorfismo sexual siendo la hembra la que presenta un tamaño mayor que el macho. Posee órganos internos, organizados en distintos sistemas tales como sistema nervioso central, sistema reproductor, aparato digestivo completo (boca-cavidad bucal-esófago-intestino-ano) y sistema excretor.

Dentro de los nematodos están los geohelmintos, que son parásitos que parte de su ciclo biológico requiere del suelo, permitiendo que se contagie vía fecal-oral (fecalismo), a través de los alimentos o por la penetración de larvas. Los nemátodos clínicamente importante que se pueden encontrar en hortalizas son:

- *Ascaris lumbricoides*
- *Trichuris trichiura*
- Uncinarias

- *Strongyloides stercoralis*

Los parásitos pueden ser hallados en distintos estadios, dependiendo del parásito, como huevo, larva o adulto, siendo las características microscópicas y macroscópicas que permiten su identificación a nivel de género y especie en el caso que sea necesario.

4.1.1.1.1-*Ascaris lumbricoides*

Ascaris lumbricoides tiene una forma cilíndrica. El adulto macho mide entre 15 a 20 cm, mientras que la hembra es de mayor tamaño midiendo entre 20 a 30 cm. Para diferenciarlos la hembra termina su extremo posterior de forma recta y el macho presenta una curva. El estadio infectante de este parásito es el huevo larvado (con larva L3), siendo redondeado u oval, puede presentar una corteza mamelonada o no, en su interior se ve un material granuloso y tiene una coloración café. El huevo mide entre 40 y 60 μm . ⁽⁷⁻⁸⁾

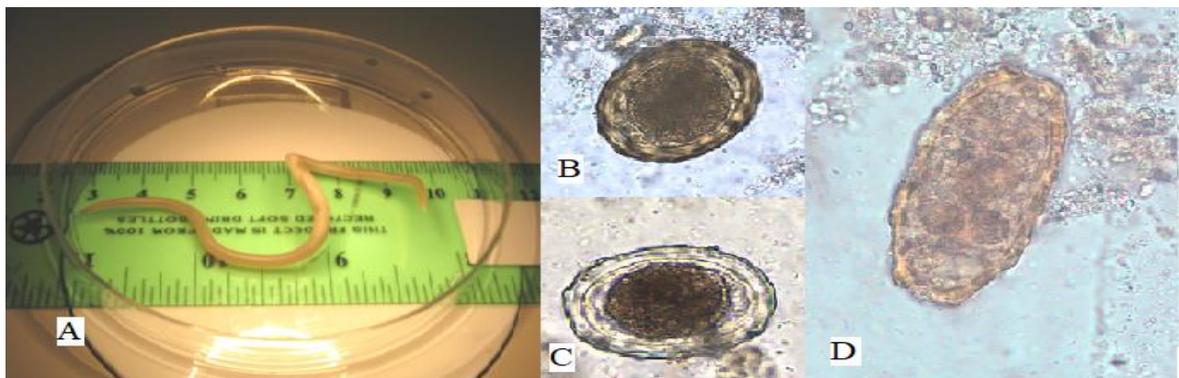


Figura 2. En la imagen (A) se observa una hembra adulta de *A. lumbricoides*; se observan (B) huevos fértiles corticados, (C) huevo fértil decorticado y (D) un huevo infértil de *Ascaris spp.* Extraído del CDC. ⁽⁹⁾

Debido a la presencia de este parásito en el intestino se produce irritación de la mucosa y obstrucción intestinal, una de sus complicaciones es cuando el parásito migra del intestino, llamado erratismo, donde puede (1) emigrar a las vías biliares, (2) llegar al intestino grueso

y perforar la apéndice produciendo una peritonitis o (3) subir por la vía digestiva alta y llegar a los pulmones produciendo una obstrucción respiratoria, estos cuadros pueden desencadenar la muerte del paciente. ⁽⁷⁻⁸⁾

4.1.1.1.2-*Trichuris trichiura*

Parásito redondo que tiene una característica forma de látigo, la hembra adulta tiene un tamaño ente 4 y 5 cm y el macho tiene un menor tamaño que la hembra. Estos se diferencian en la terminación de la parte posterior del parásito, el macho presenta la cola enroscada y la hembra la cola en punta. El aparato reproductor del macho finaliza, junto al sistema digestivo, de donde emerge una espícula copulatriz. El huevo embrionado es el estadio infectante y el huevo no embrionado es el estadio diagnóstico de este parásito. El huevo tiene una morfología muy característica denominada “forma de barril” o de “limón”, presentan una forma alargada, de color café y en sus extremos tiene unos tampones mucosos. Este huevo mide aproximadamente 50 µm de longitud y 25 µm de ancho. ⁽⁷⁾



Figura 3. Huevo de *Trichuris trichiura*, en un montaje húmedo, donde se observa su característica forma de barril. Extraído del CDC. ⁽¹⁰⁾

Este parásito se aloja en el intestino grueso, produciendo una lesión mecánica en la mucosa, ocasionando inflamación, edema y hemorragia (debido a las ulceraciones). Las

lesiones producidas pueden desencadenar una infección bacteriana secundaria a la parasitosis. ⁽⁷⁾

4.1.1.1.3-UNCINARIAS

Las dos especies de mayor importancia son *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*, los que presentan capacidad hematófaga. La hembra adulta de *A. duodenale* mide de 10 a 18 mm de longitud y posee la vulva en el tercio posterior y en su extremo terminal un apéndice caudal. El macho de *A. duodenale* mide de 8 a 11mm de longitud presentando la bolsa copultriz con 11 ó 13 costillas. Sus dos espículas son divergentes y terminan en una punta fina. Estas características las diferencian del *N. americanus* donde la hembra mide de 9 a 11mm y presenta la vulva en el tercio medio. Mientras que el macho mide de 7 a 9 mm de longitud y presenta la bolsa copultriz con 12 ó 14 costillas. Sus dos espículas son largas y se unen. Además en la cavidad bucal el *A. duodenale* tiene 2 pares de dientes y el *N. americanus* presenta 2 placas cortantes. ⁽⁷⁾

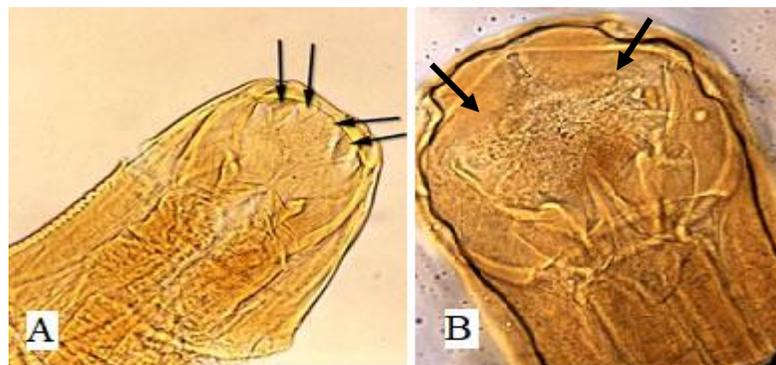


Figura 4. Adultos de *Uncinarias*, se muestra una diferencia morfológica característica de estos gusanos en su cavidad bucal, en la imagen (A) *Ancylostoma duodenale*, con sus 2 pares de dientes (marcados por las flechas) y en la imagen (B) *Necator americanus*, con las 2 placas cortantes marcadas por las flechas. ⁽¹¹⁾

Los huevos, las larvas rhabditiformes (o rhabditoides) y las larvas filariformes son similares en ambos parásitos (presentan algunas diferencias), donde el estadio infectante es

la larva filariforme que infecta al humano por la penetración de la piel y el huevo es el estadio diagnóstico. Los huevos miden aproximadamente 60 μm , son ovalados y tiene la apariencia de un saco que contiene el embrión que se encuentra segmentado. Esta envoltura es transparente y se denota una clara separación entre la delgada envoltura y el embrión. ⁽⁷⁾

Las larvas rhabditiformes o rhabditoides de estas dos especies presentan muchas similitudes, son muy móviles, miden aproximadamente 250 μm de largo. El extremo anterior es romo con una cápsula bucal larga, seguida de un esófago muscular donde se distinguen tres partes: el cuerpo, el istmo y el bulbo. El intestino también es visible y termina en el ano. El primordio de órgano genital es puntiforme y el extremo posterior es puntiagudo. ⁽⁷⁾

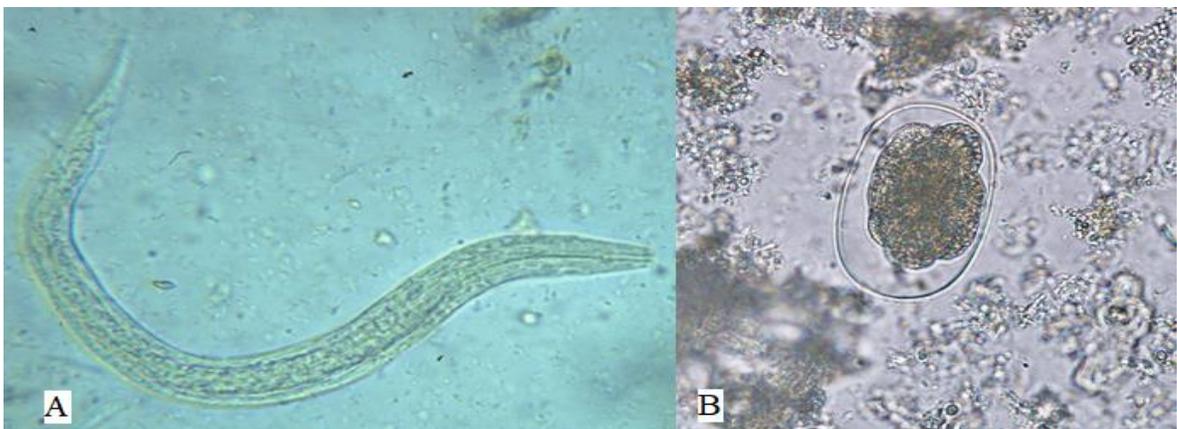


Figura 5. Una (A) larva rhabditiforme en montaje húmedo y un (B) huevo en montaje húmedo, ambos de *Uncinarias*. Extraído del CDC. ⁽¹²⁾

Estos pueden producir dermatitis debido a su infiltración en la piel, puede desarrollar una fase pulmonar y en el intestino se adhiere a la mucosa y consume la sangre del huésped pudiendo desencadenar en una anemia producto de la pérdida de sangre. ⁽⁷⁾

4.1.1.1.4-*Strongyloides stercoralis*

El macho de esta especie solo se genera en el suelo (macho de vida libre), por lo que en el intestino solo se encuentran hembras parásitas, las que por partenogénesis generan huevos sin la necesidad de un macho. La hembra parásita tiene un aspecto filiforme y es transparente. Tiene una boca con 4 labios y su esófago ocupa un tercio de la longitud del parásito, el que continúa en intestino y orificio anal. Esta mide 2 mm de largo y 50 μm de diámetro. El estadio infectante es la larva filariforme y el estadio diagnóstico la larva rhabditiforme. ⁽⁷⁾

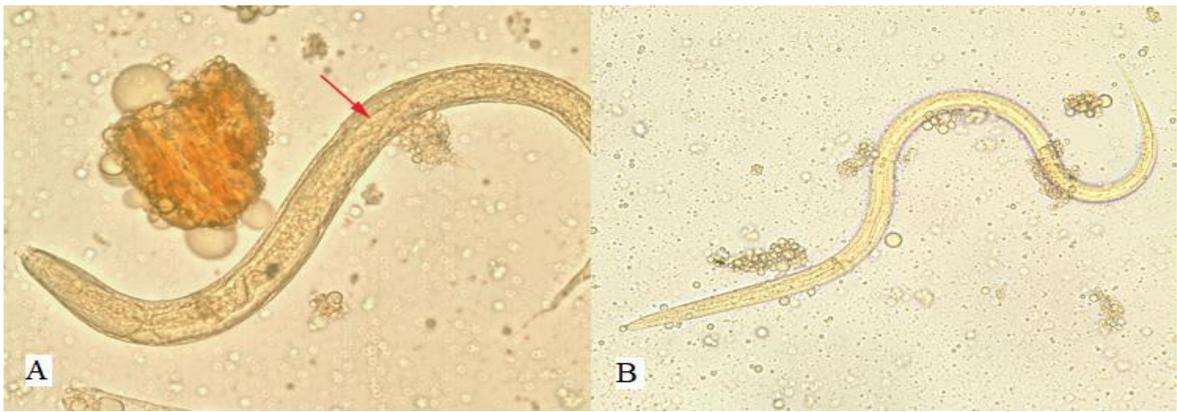


Figura 6. (A) Larva rhabditiforme L2 de *S. stercoralis* en monturas húmedas de heces sin teñir. Tenga en cuenta el canal bucal corto y el primordio genital (flecha roja) y una (B) larva filariforme. Extraído del CDC. ⁽¹³⁾

Este parásito es complejo de tratar debido a que puede generar autoinfección endógena y exógena, es resistente a los tratamientos. A nivel intestinal puede producir inflamación hasta ulceraciones. Además esta larva puede migrar generando problemas pulmonares (síndrome de Loeffler), migración al corazón, entre otras. Este parásito adquiere una mayor relevancia en pacientes inmunodeficientes ya sea farmacológica o por enfermedad, como lo es un paciente VIH positivo o un paciente con inmunosupresores como tratamiento. ⁽⁷⁾

4.1.1.2-PLATHELMINTOS: TREMATODOS Y CESTODOS

Los plathelminos son parásitos que tienen la particularidad de ser aplanados dorsoventralmente, conservando una simetría bilateral. Dependiendo la especie los tamaños varían pudiendo algunos medir hasta varios metros. Son generalmente hermafrodita, dándoles la característica de ser principalmente solitarios. Son acelomados y no presentan aparato circulatorio, ni respiratorio y muchos de estos no presentan aparato digestivo.

4.1.1.2.1-CESTODOS

Son de un color blanquecino y tienen forma de cinta. Posee una cabeza que es el órgano de fijación llamado escólex y también un cuerpo segmentado llamado estróbilo, estos segmentos son llamados proglótidas las que presentan características distintas según especies.

4.1.1.2.1.1-Taenia spp.

Las *Taenia* tienen dos especies de gran importancia *T. saginata* y *T. solium*, donde *T. saginata* en su forma adulta puede alcanzar de 4 a 10 m de largo. Es plano, de color blanco nacarado. Presenta un escólex con cuatro ventosas que le sirven para fijarse al intestino y no presenta rostelo. Las proglótidas contienen más de 12 ramas uterinas dicotómicas, a cada lado del tallo principal (las que son teñidas con tinta china para distinguirlas). Mientras que *T. solium* en su forma adulta tiene una longitud de 2 a 3 m de largo, siendo más pequeña que la *T. saginata*. Presenta un escólex con cuatro ventosas y 1 rostelo con dos hileras de ganchos y las proglótidas cuentan con menos de 12 ramas uterinas de forma dendrítica. Las proglótidas se separan del resto del estróbilo y son eliminados pasivamente con las heces. ⁽⁷⁾

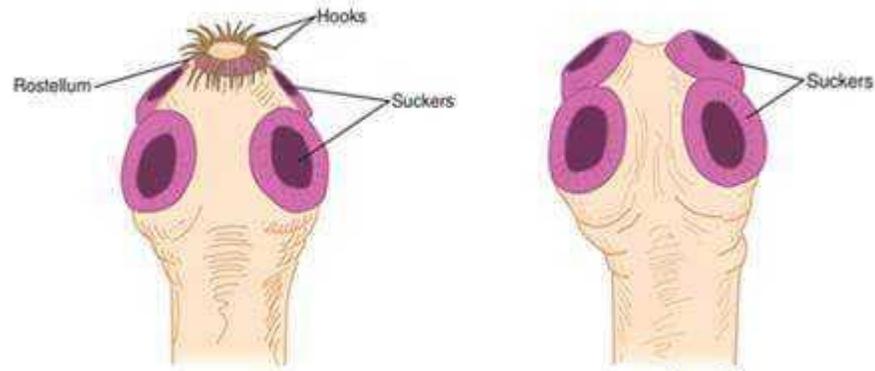


Figura 7. Diferencia clara entre el escólex de una *Taenia solium* (izquierda) y una *Taenia saginata* (derecha), donde se denota la ausencia del rostellum en la *T. saginata*.⁽¹⁴⁾

El diagnóstico de la *Taenia* se realiza a través de la pesquisa de huevos en las heces, recalcando que ambas especies presentan huevos morfológicamente idénticos. Los huevos son de forma redonda, con pared gruesa y lisa, siendo su corteza radiada. Estos huevos pueden permanecer viables en el medio ambiente.



Figura 8. Huevo de *Taenia spp.* que no presenta características distintivas entre las distintas especies.⁽¹⁵⁾

El estadio infectante de las *Taenia* es el cisticerco y el diagnóstico es el parásito adulto (o las proglótidas) y el huevo. El humano se contagia al comer el cisticerco de la carne contaminada (*T. solium* carne de cerdo y *T. saginata* carne de vacuno) produciendo así el

alojamiento del parásito a nivel intestinal, siendo la mayoría de las infecciones asintomáticas, pero cuando se consume el huevo (*T. solium*) se puede producir una liberación de la oncosfera, produciendo una cisticercosis en el humano donde el embrión exacanto emigra desde el intestino hasta el tejido subcutáneo, músculo, ojo y/o cerebro, siendo la última la más grave, ya que puede desencadenar en epilepsias y otras complicaciones. Esta también es importante debido a que el huevo (*T. solium*) puede ser consumido en verduras contaminadas con estos mismo, presentando la cisticercosis. ^(7, 16)

4.1.1.2.1.2-*Hymenolepis spp.*

Presenta dos especies de importancia para el ser humano, la *H. diminuta* y la *H. nana*, donde *Hymenolepis nana* es de importancia en enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs).

Hymenolepis nana es un parásito hermafrodita, conocido también por gusano plano enano. En su forma adulta mide aproximadamente entre 15 y 45 μm de largo. Presenta un escólex que tiene cuatro ventosas y un rostelo retráctil, corto y está armado con 20 a 30 ganchos. Las proglótidas son pequeñas, más anchas que largas. Los huevos miden entre 45 y 50 μm de diámetro. Tienen una envoltura doble, compuesta por una membrana externa delgada y otra interna más gruesa en los polos, con filamentos que se extienden a partir de estos. En su interior contienen una oncosfera, con tres pares de ganchos. Este parásito actúa frente al hombre como hospedero definitivo e intermediario a la vez. Puede ocurrir autoinfección y es esa una de las razones por las que se perpetúa la infección. También puede transmitirse de persona a persona. Son generalmente asintomáticos, pero puede llegar a desarrollar sintomatología tales como náuseas, dolores abdominal y diarreas. ⁽⁷⁾

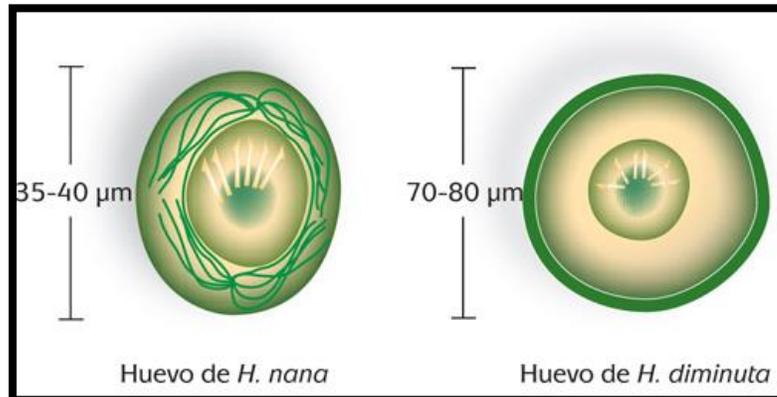


Figura 9. Diferencias mostradas entre huevos de *H. nana* (presenta filamentos polares y 6 pares de ganchos) y *H. diminuta* (presenta ganchos en forma de abanico).⁽¹⁷⁾

Hymenolepis spp tiende a generar una infección asintomática, pero si hay una alta carga parasitaria este puede generar náuseas, dolor abdominal y/o diarrea.

4.1.1.2.2-TREMATODOS

La *Fasciola hepatica* es de las más importantes dentro de los trematodos, siendo el parásito adulto de tamaño variable, de 2 a 3 cm de longitud por 1 a 1,5 cm en su porción más ancha. Cuando infecta se localiza en los conductos biliares del hígado de los hospederos definitivos. El huevo de *F. hepatica* está entre los más grandes dentro de los helmintos. Es de forma ovoide, de color amarillento y con un opérculo relativamente pequeño. Tiene unas 150 micrómetros de longitud por 80 micrómetros en su porción más ancha y se expulsa al medio a través de las heces de animales y hombre infectados. Este trematodo se enquista como metacercaria en la vegetación acuática (como los berros) u otros sustratos. Los mamíferos, incluyendo a los humanos, se infectan al ingerir vegetación contaminada con metacercarias.^(7, 15)



Figura 10. Huevo de *Fasciola hepatica* observado al microscopio en montaje húmedo, en el extremo superior se denota el opérculo. Extraído del CDC. ⁽¹⁸⁾

El parásito tiene actividad expoliadora debido a que es hematófago, actividad mecánica que produce la obstrucción de los canales biliares y la actividad toxicas e irritativas que genera el daño en el hígado, dejan lesiones en el hígado las cuales pueden desencadenar en cirrosis hepáticas.

4.1.2-PROTOZOOS

Los **protozoos** son organismos unicelulares, eucariotas que se reproducen mayoritariamente por mecanismos asexuales como división binaria simple, endogonia y esquizogonia. La mayoría de los protozoos son heterótrofos. Se encuentran en casi todos los hábitats como suelo, aguas, plantas, animales, entre otros. Estos se clasifican según movilidad, los móviles se clasifican según su estructura de movilidad (pseudopodo, cilio o flagelo) y los inmóviles según el tipo de reproducción que presentan (sexual, asexual, mixta).

Dentro de los protozoos hay algunos que son comensales y otros patógenos primarios, dependiendo de las condiciones y características del huésped. Los protozoos presentan dos fases (principalmente), la trofozoíta y la quística que distinguen las distintas especies.

Tabla n° 1. Protozoos patógenos y comensales para el humano que son encontrados en deposiciones y su infección es por vía oral (fecalismo).

| PATÓGENOS | COMENSALES |
|-------------------------------------|----------------------------|
| <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> | <i>Entamoeba coli</i> |
| <i>Balantidium coli</i> | <i>Endolimax nana</i> |
| <i>Giardia lamblia</i> | <i>Iodamoeba bütschlii</i> |
| <i>Dientamoeba fragilis</i> | <i>Entamoeba hartmanni</i> |
| <i>Blastocystis hominis</i> | <i>Chilomastix mesnili</i> |
| <i>Sarcocystis hominis</i> | |
| <i>Cystoisospora belli</i> | |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> | |
| <i>Cyclospora cayetanensis</i> | |

4.1.2.1-*Entamoeba histolytica/dispar*

La *E. histolytica* es patógena y *E. dispar* es comensal, aunque morfológicamente son indiferenciables. Como estas especies solo se diferencian a nivel genético se informan como *E. histolytica/dispar*.

Este parásito existe en dos formas, la **trofozoíta** de 20 a 40 μm de diámetro, donde lo más característico es su núcleo céntrico con cariosoma central y puntiforme, y **quistica** de 10 a 20 μm de diámetro, siendo redonda con cuatro núcleos. La infección en el intestino grueso por este parásito se conoce como amebiasis, en la cual el 10% presenta síntomas, tanto intestinal como extraintestinal (hígado, pulmón y cerebro).⁽¹⁹⁾

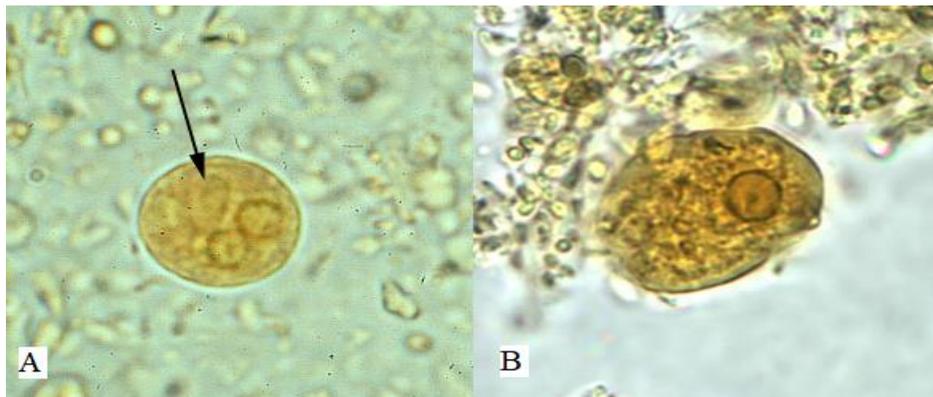


Figura 11. (A) Quiste con dos núcleos y el cuerpo cromatoide (flecha) teñido con yodo y (B) trofozoíto teñido con yodo, en cámara húmeda, ambos de *E. histolytica / E. dispar*. Extraído del CDC.⁽²⁰⁾

El curso de la enfermedad es generalmente asintomático, pero puede producir disentería severa y complicaciones asociadas. Algunas manifestaciones extraintestinales son principalmente hepáticas, pero se pueden producir abscesos en el pulmón y cerebro.⁽²⁰⁾

4.1.2.2-*Balantidium coli*

Al igual que las *Entamoeba*, este parásito también tiene dos formas, los trofozoítos que son de tamaño variable (30-120 μm de longitud). Son de forma oblonga-esférica y están cubiertos por cinceles longitudinales (filas de cilios). En el extremo anterior hay una depresión (vestíbulo) que conduce al citostoma (boca). Internamente, contienen un solo macronúcleo grande en forma de riñón y un solo micronúcleo pequeño. Los quistes aparecen como cuerpos ovoides unidos a la membrana que varían de 40-60 μm de diámetro. ⁽²¹⁾

Puede desencadenar inflamaciones intestinales, úlceras, reacción similar a la disentería, entre otras, o ser un paciente portador asintomático, dependiendo de las condiciones que tenga el huésped. ⁽²¹⁾

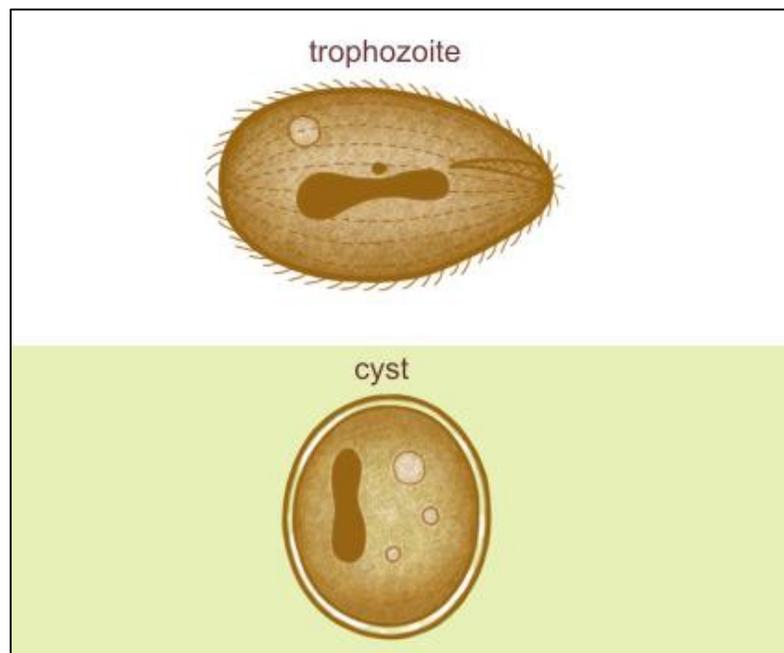


Figura 12. Esquematización donde en la parte superior se encuentra la fase trofozoíta con los cilios cubriéndolo y la parte inferior se denota la fase quística con su núcleo arriñonado, ambos de *B. coli*. ⁽²²⁾

4.1.2.3-*Giardia lamblia*

Giardia lamblia es un protozoo flagelado, que puede producir diarreas y malabsorción en el ser humano. Este parásito está presente en forma endémica aun en países desarrollados. Puede llegar a producir brotes de infección a través de la ingestión de aguas o alimentos contaminados, y por transmisión de persona a persona como en las guarderías infantiles. ⁽⁷⁾

Los quistes son entre redondos u ovales y miden de 8 a 14 μm por 7 a 10 μm . Cada uno de ellos tiene cuatro núcleos y contiene estructuras como axonemas y cuerpos medianos. Los flagelos, al igual que los axonemas, están enrollados. Los trofozoítos tienen simetría bilateral, miden de 10 a 20 μm de largo por 5 a 15 μm de ancho, y tienen la forma de una gota lagrimal cuando son vistos en sentido dorsal o ventral. Son convexos en sentido dorsal y presentan un disco suctorial cóncavo en su porción ventral. ⁽⁷⁾

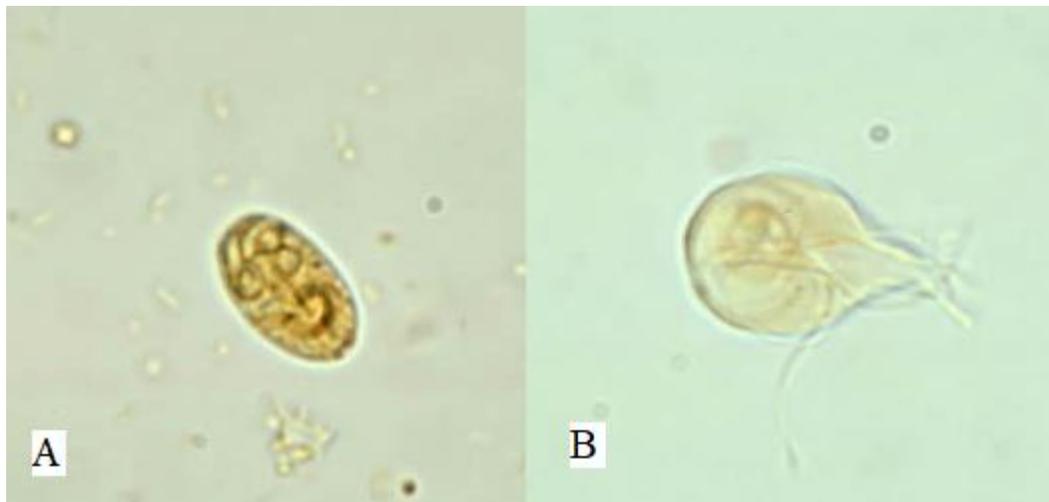


Figura 13. Se observan (A) quistes teñidos con lugol y (B) trofozoítos al fresco teñidos con yodo ambos de *Giardia lamblia*. Extraído del CDC. ⁽²³⁾

4.1.2.4-*Dientamoeba fragilis*

Es un organismo pleomórfico, que se le conoce solo la fase trofozoíta, es de tamaño relativamente pequeño, entre 5 y 15 μm (habitualmente entre 9 y 12 μm), en preparaciones al fresco el citoplasma presenta un aspecto finamente granulado y con tinción se observan inclusiones alimenticias de naturaleza diversa. ⁽²⁴⁾

Dientamoeba fragilis debe ser considerado como un parásito de distribución cosmopolita, sin embargo, la prevalencia real no es conocida. A pesar de algunas investigaciones que demuestran su actividad patógena, aún hay debate de si es un microorganismo comensal o patógeno, pero debido a los pocos estudios de este parásito se dificulta la aclaración de esta incógnita. ⁽²⁴⁾

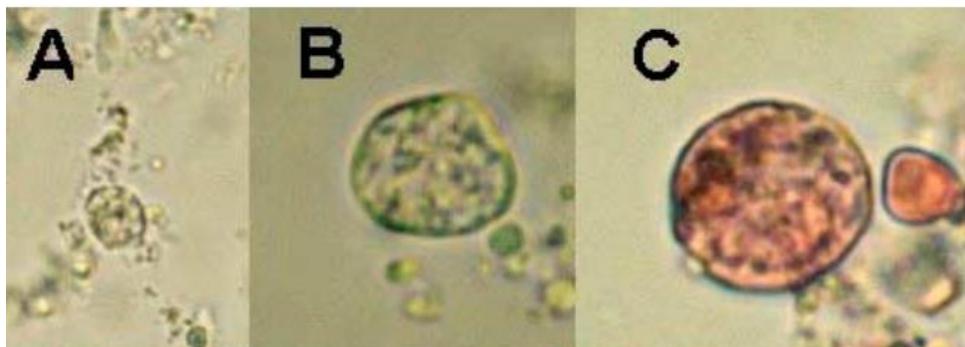


Figura 14. Fotocomposición de imágenes microscópicas de trofozoítos de *Dientamoeba fragilis*. A y B: en preparaciones al fresco (A: 400x; B: 1000x); C: teñido con M.I.F. (1000x). ⁽²⁴⁾

4.1.2.5-*Blastocystis hominis*

Blastocystis hominis es un parásito que se le han identificado 4 formas, la vacuolada, granular, ameboide y quística, siendo el quiste la forma infectante. Es un parásito cosmopolita y altamente prevalente en las personas, siendo de forma sintomática (enfermedad) y asintomática (portación). Tiene una mayor prevalencia en poblaciones donde hay más pobreza. Se reporta en países subdesarrollados que su prevalencia es de un 60%, mientras que en países desarrollados la frecuencia disminuye de un 5% a 20%. ^(25, 26)

La forma vacuolada de *Blastocystis hominis* es la más encontrada en heces, siendo una estructura redonda que mide desde 3 a 25 μm de diámetro, tiene una vacuola central que ocupa el 90% del contenido celular, presentando alrededor de la vacuola el núcleo y organelos, puede presentar de 1-4 núcleos, incluso más. ⁽²⁶⁾

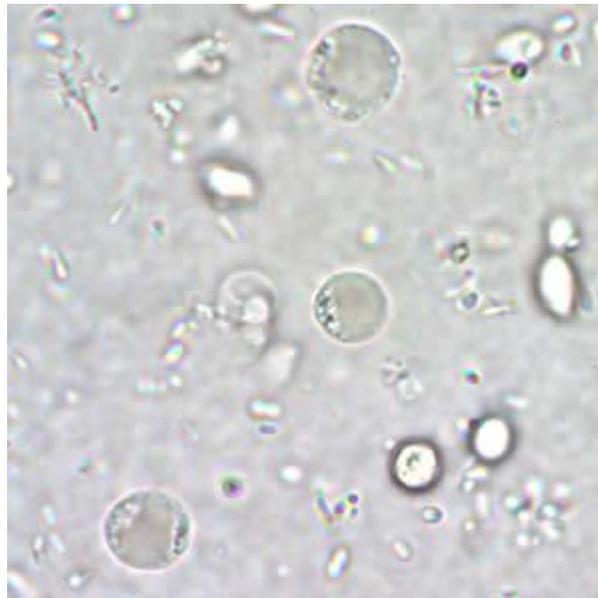


Imagen 15. Forma vacuolada de *Blastocystis hominis*, observada al fresco. Extraído del CDC. ⁽²⁷⁾

4.1.2.6-*Sarcocystis* sp.

En los casos de sarcocistosis intestinal, cuando los humanos sirven como hospedadores definitivos, las infecciones suelen ser asintomáticas y desaparecen espontáneamente. Ocasionalmente, pueden producirse fiebre leve, diarrea, escalofríos, vómitos y problemas respiratorios. Cuando los humanos se infectan con sarcoquistes de especies no humanas, las infecciones no son intestinales sino que provocan quistes musculares; Pueden aparecer síntomas como mialgia, debilidad muscular y edema transitorio. Dependiendo del tipo de infección puede ser detectado en las heces o en biopsias musculares, en las heces se puede detectar al fresco o por microscopía de luz UV, debido a que presentan autofluorescencia (brillan de color verde).⁽²⁸⁾



Figura 16. Se observa un ooquiste en la imagen de la izquierda y esporoquiste en la imagen de la derecha, ambos de *Sarcocystis hominis* en coproparasitológico, montaje en húmedo, aumento 400x. Extraído del CDC.⁽²⁸⁾

4.1.2.7-*Cystoisospora belli*

Este coocideo puede afectar a personas inmunocompetentes e inmunocomprometidas. En individuos inmunocompetentes, puede ser asintomática o una diarrea autolimitada de corta duración y en individuos inmunodeficientes, las infecciones pueden ser complicarse, siendo principalmente diarreas profusas y prolongadas, que provocan la deshidratación grave del paciente o su muerte en casos más graves. En las muestras al fresco los ooquistes de *C. belli* presentes en las heces son ovales o elipsoidales y de color blanco transparente, miden aproximadamente 28 por 13 μm , para su diagnóstico se utiliza la tinción de Ziehl-Neelsen que las tiñe fucsia intenso en un fondo azul. ^(29, 30)

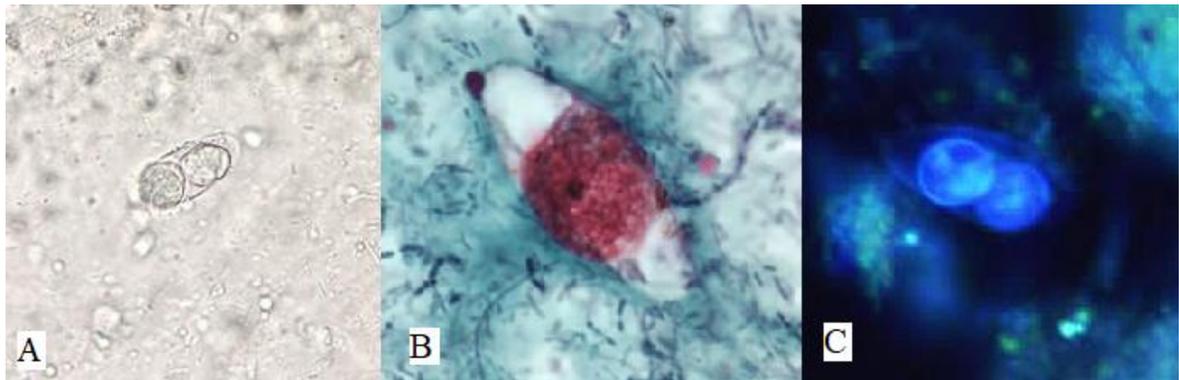


Figura 17. Ooquiste inmaduro de *C. belli* (A) Con 2 esporoblastos al fresco, (B) con un esporoblasto teñido con safranina y (C) con 2 esporoblasto frente a luz UV. ⁽³⁰⁾

4.1.2.8-*Cryptosporidium spp.*

La cryptosporidiosis se puede presentar en pacientes inmunocompetentes y en inmunodeficientes (VIH u otras), siendo en pacientes inmunodeficientes la más probable. En inmunocompetentes se presenta como una diarrea autolimitada y en pacientes inmunodeficientes como una diarrea grave que puede desencadenar en la muerte del paciente. Esta patología es zoonótica (algunas especies) siendo una patología ocupacional, aunque

también puede afectar a quienes tienen animales, como perros y gatos, como es el caso de una embarazada, niños, entre otros. ^(31,32)

Los ooquistes de *Cryptosporidium spp.* tienen forma redonda, que miden entre 4,2 y 5,4 μm , su diagnóstico se hace a través de microscopía de muestras al fresco y muestras teñidas con Ziehl-Neelsen donde se observan estas esferas de color rojo debido a que son ácido alcohol resistente. ⁽³¹⁾

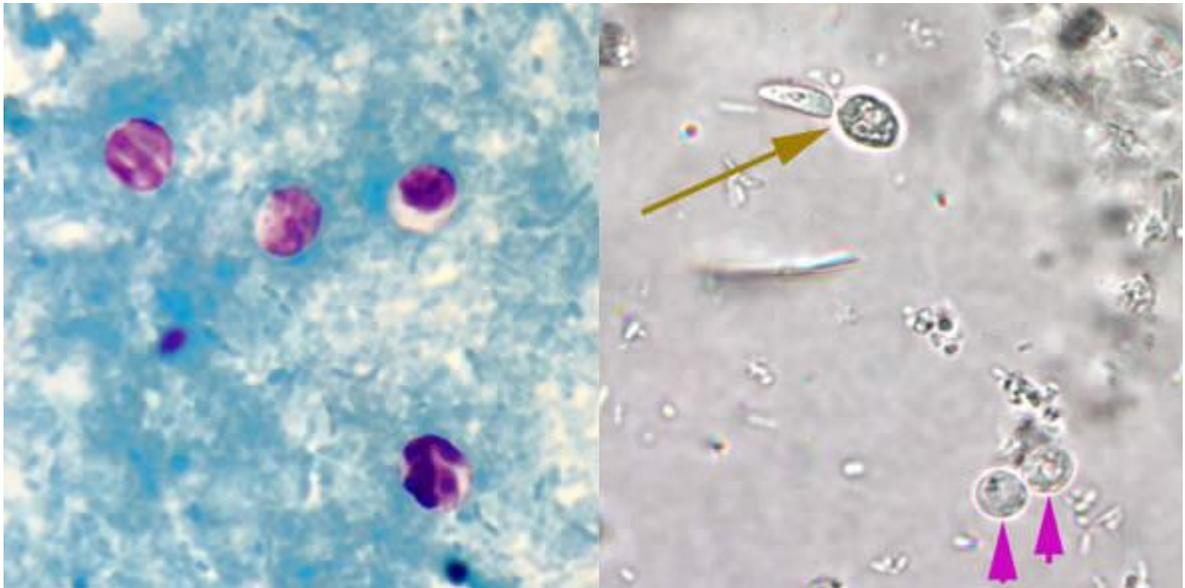


Figura 18. En la imagen de la izquierda se aprecian ooquistes de *Cryptosporidium spp* teñidos con tinción de Ziehl-Neelsen, estos se observan de color rojo; en la imagen de la derecha se observan una preparación al fresco donde las flechas rosadas muestran *Cryptosporidium spp.* y la flecha marrón destaca una levadura. Extraída del CDC. ⁽³¹⁾

4.1.2.9-*Cyclospora cayetanensis*

Este parásito es causante de diarrea aguda y prolongadas en personas inmunocompetentes, mientras que en inmunocomprometidos produce diarreas crónicas, pero también produce brotes epidémicos y diarrea del viajero. Tiene un aspecto redondo y mide desde 8 a 10 μm de diámetro, para su diagnóstico es necesario teñir la muestra con Ziehl-Neelsen, donde tomará una coloración fucsia intenso. ⁽³³⁾

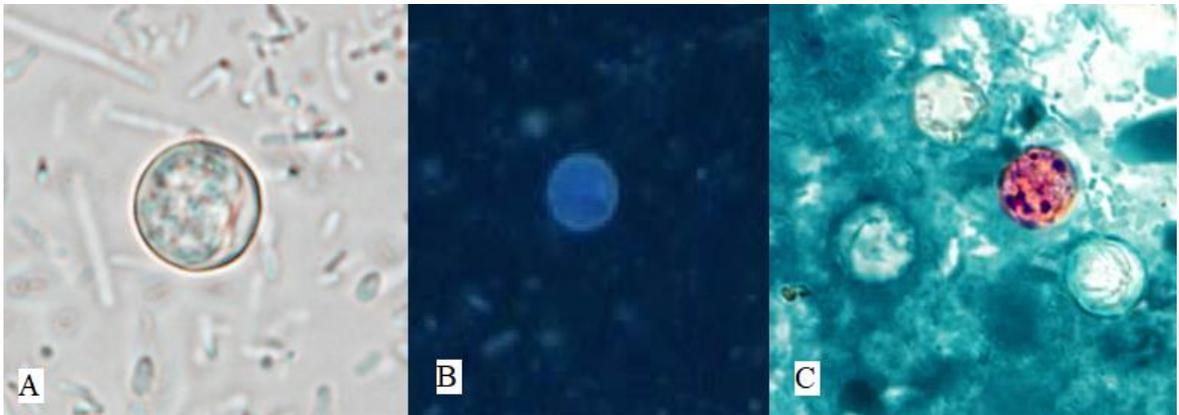


Figura 19. Ooquiste de *C. cayetanensis* (A) al fresco, (B) a luz UV y teñido con (C) ácido modificado. ⁽³⁴⁾

En general los ooquistes tienen una mayor relevancia en pacientes inmunocomprometidos, destacando su participación debido a que la mayoría de las recomendaciones para estas personas es la alimentación saludable, considerando a su vez el consumo de vegetales. Como la mayoría de los parásitos patógenos son infecciones autolimitadas la pesquisa y diagnóstico de estos son subvalorados.

4.1.2.10- PROTOZOOS COMENSALES

Estos parásitos se pueden encontrar en el intestino de manera que no generan cuadros clínicos, en algunos casos dependiendo las condiciones del hospedero y la carga parasitaria pueden desarrollar algún cuadro clínico, como diarreas autolimitadas. Entre estos parásitos están:

- *Entamoeba coli* y *Entamoeba hartmanni*

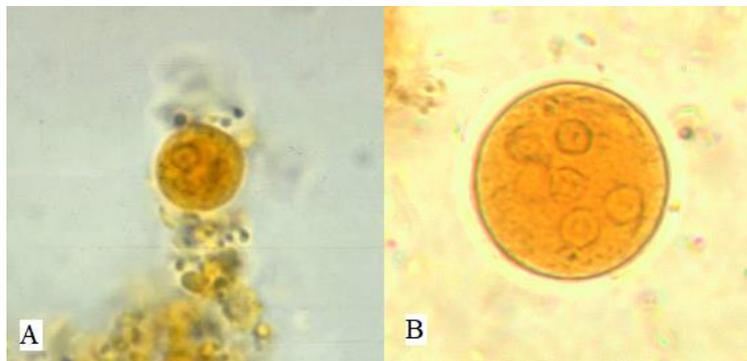


Figura 20. La imagen (A) presenta un quiste de *Entamoeba hartmanni* y la (B) presenta un quiste de *Entamoeba coli* con sus 7 núcleos. Extraída del CDC. ⁽³⁵⁾

- *Endolimax nana*, *Iodamoeba bütschlii* y *Chilomastix mesnili*

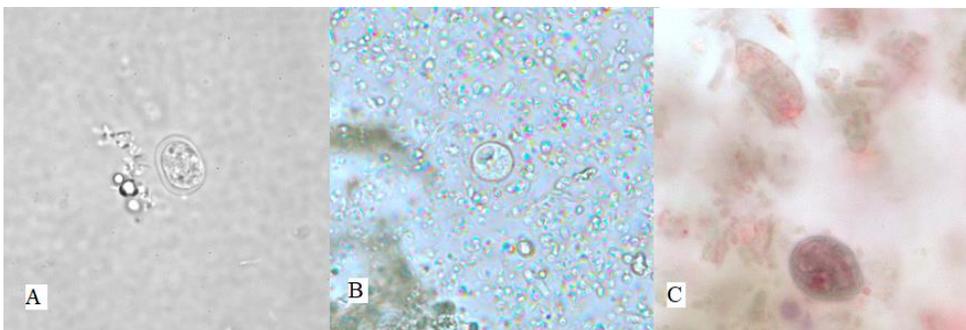


Figura 21. La imagen (A) muestra quistes de *Endolimax nana* al fresco, (B) presenta quiste de *I. bütschlii* y (C) presenta en la parte superior un trofozoíto y en la inferior un quiste, ambos de *C. mesnili*. Extraída del CDC. ^(35, 36)

4.2-EPIDEMIOLOGÍA

En Chile los parasitosis han disminuido en general, pero “*aquellas parasitosis del tubo digestivo que no son influenciadas por el medio ambiente externo como la oxuriasis, han mantenido una prevalencia alta. En pacientes inmunodeprimidos con SIDA, cáncer, linfomas, trasplantados, etc., se presentan en aumento los coccidios intestinales: cistisosporiasis, ciclosporiasis, criptosporiasis, microsporidiasis.*” ⁽¹⁾, haciendo de suma importancia el control de estos parásitos en los alimentos como son las frutas y vegetales.

En Chile no hay estudios sobre contaminación de frutas y vegetales con enteroparásitos, pero en muchos países si, como en Venezuela el 2004 Luis Traviezo y colaboradores realizó un estudio en las lechugas expandidas en el mercado del estado de Lara donde se encontró que de las 100 lechugas analizadas 29 estaban contaminadas con algún tipo de enteroparásito entre los que se encontraron *Strongyloides sp.*, *Anquilostomideos*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli*, *Toxoplasma gondii*, *Toxocara sp.*, *Blastocystis hominis* y *Endolimax nana*.⁽³⁷⁾ Datos similares se encontraron el 2004, en Argentina, María Rea y colaboradores analizaron parásitos intestinales presentes en hortalizas en la ciudad de Corrientes, donde dieron positivas en achicoria (31%), escarola (50%), lechuga crespa (23%) y lechuga lisa (19%), teniendo un total de 30% de hortalizas infectadas con enteroparásitos. Los parásitos hallados son larvas *Strongyloides sp.* y *Uncinarias sp.*, huevos de *Uncinarias sp.*, *Ascaris sp.*, *Enterobius sp.*, *Trematode*, *Trichostrongylus sp.*, *Metastrongylus sp.*, *Giardia sp.*, *Blastocystis hominis* y Amebas sp. ⁽³⁸⁾

Andrea Nelsi y colaboradores, el 2006 en Bogotá encontraron parásitos en frutas y verduras, hallando los mismos parásitos encontrados en los informes anteriores, agregando que en esta investigación predomina *Entamoeba coli* con un 24% y le sigue *Strongyloides sp* con un 15% de prevalencia. ⁽³⁹⁾

Gregorio Pérez y colaboradores el 2008 analizaron agua y alimentos del mercado y colegios de Trujillo, Perú, donde se analizaron desde vegetales hasta platos de comidas y postres, donde se pudieron aislar parásitos como *G. lamblia*, *Cyclospora spp.*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba bütschlii*, *B. hominis*, *Fasciola hepatica* y *Ascaris lumbricoides* mostrando la importancia de la higiene al manipular alimentos. ⁽⁴⁰⁾

Mona Ali Mohamed y colaboradores el 2016 en el estado de Khartoum, Sudan se detectaron huevos helmínticos y quistes de protozoos en 13.5% (35/260) de vegetales frescos examinados y en 14% (7/50) de muestras de agua utilizadas para rociar vegetales y, contrario a lo anterior descrito, en esta investigación los parásitos más detectados en las muestras de vegetales fueron *E. histolytica / dispar* (42.9%) y *G. lamblia* (22.9%). ⁽⁴¹⁾

También se han pesquisado parásitos en fincas dedicadas a la producción de lechugas el 2016 en Pasto, Colombia, donde Giovanni Polo y colaboradores obtuvieron valores mayores a los descritos en la literatura con una proporción de *Entamoeba spp.* (95,4 %) e *Cystoisospora spp.* (71,4%) ⁽⁴²⁾ dando cifras alarmantes para la población. Tiene también una relevancia debido a que al ser muestras obtenidas de primera fuente se disminuyen los focos de contagio posibles, dando un valor real de cuáles son las responsabilidades y precauciones necesarias para la producción de hortalizas.

En Ethiopia se realizaron dos estudios uno por Fitsum Bekele y Teja Shumbej (2019) donde se obtuvo que *A. lumbricoides* (16.7%) fue el parásito detectado con mayor frecuencia, seguido de *Toxocara* (13.7%), *Hymenolepis nana* (11.9%), *H. diminuta* (10.7%), *E. histolytica / dispar* (10.4%), *G. intestinalis* (9.6%) y *Cystoisospora belli* (2.6%). ⁽⁴³⁾ La otra Investigación por Getaneh Alemu (2019) arrojó que *E. histolytica/dispar* (8.4%) fue el parásito detectado con mayor frecuencia seguido por *G. lamblia* (6.9%) y el ooquisto de especies de *Cryptosporidium* (5.8%) destacando que *E. histolytica/dispar* se detectó solo en tomate (22/29) y zanahoria (7/29). Por el contrario, *G. lamblia* se detectó abundantemente en muestras de repollo (16/24) seguido de pimiento verde y zanahoria (4/24 en cada una)

considerando así una asociación que se establece entre el tipo de parásito y el vegetal o fruta parasitado. También contrarrestando la literatura el tomate (35%) fue el vegetal contaminado con mayor frecuencia seguido de zanahoria (29%) y repollo (24%), siendo que en la literatura predomina la contaminación por parásitos en la lechuga. ⁽⁴⁴⁾

Catherine Kudah y colaboradores el 2018 en Ghana tuvo como resultado que estaban contaminadas el 97.2% de cebolletas, 70.8% lechuga, 50.0% de tomates, 43.1% de repollo y 26.4% de zanahoria. Encontrando parásitos como larvas de *Strongyloides stercoralis* (36.4%), quiste de *Balantidium coli* (13.6%), oocistos de *Cryptosporidium sp.* (11.1%), flagelados (7.8%) y huevo de *Fasciola sp.* (7.2%). ⁽⁴⁵⁾

Permitiendo dar una proyección en el mercado de Trujillo, Perú, el 2019 Diana Benites y colaboradores encontraron que “el 56,7% fueron positivas a una o más especies de protozoarios y/o helmintos intestinales del hombre. *Blastocystis sp.* (41,2%) fue la especie de protozario que presentó la mayor prevalencia” ⁽⁴⁶⁾ permitiendo demostrar que la cantidad de verduras contaminadas por parásitos se mantiene con el pasar de los años, pero cambia la prevalencia de estos mismos.

4.3-REGULACIÓN LEGAL DE LOS ENTEROPARÁSITOS EN CHILE

En Chile existen leyes y normas que regulan el agua utilizada en el regadío de verduras y frutas que crecen a ras del suelo, como la Norma Chilena N° 1.333 que expone “estándares para aguas de regadíos” donde se evalúan pH, metales pesados y coliformes fecales, como criterios de calidad. También está el REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS, DTO. N° 977/96, del Ministerio de Salud (1997) donde se expone el ARTÍCULO 171 “...b) parámetro microbiológico: los análisis microbiológicos específicos practicados a cada alimento, tales como, microorganismos indicadores, microorganismos patógenos, toxinas, etc.; c) indicador microbiológico: a los microorganismos no patógenos pero frecuentemente

asociados a éstos, utilizados para reflejar el riesgo de la presencia de agentes productores de enfermedades...” aclarando ciertos términos utilizados para el control de aguas de regadío. Ninguno de estos considera de forma específica o directa los parásitos como mecanismo de control de la calidad del agua de regadío, su importancia o repercusión en el consumidor tampoco es considerada de impacto en las leyes chilenas.

6-MATERIALES Y MÉTODOS

6.1-TIPO DE MUESTRA Y RECOLECCIÓN

Se recolectaron hortalizas de consumo humano que circulan en la ciudad de Talca, basado en estudios realizados en Bolivia y Ghana ^(5, 45). Se recolectaron 56 muestras:

- 8 Lechugas.
- 7 Cilantros.
- 8 Perejiles.
- 7 Tomates.
- 8 Morrones.
- 8 Apios.
- 6 Espinacas.
- 4 Lechugas hidropónicas.

Se recolectó en el CREA (18 muestras), negocios de barrio del sector norte de Talca (36 muestras) y supermercados de Talca (4 lechugas hidropónicas), se compró la verdura y se depositó en una bolsa de plástico Siploc ® limpia y se transportó al laboratorio donde se procesó la muestra, cuidando el no generar una contaminación de la muestra se utilizó guantes.

6.2-PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Se utilizó y modificó protocolo basado en las investigaciones de Muñoz V. ⁽⁵⁾ y Kudah C. ⁽⁴⁵⁾, donde se pesó la verdura en una bolsa de plástico estéril, luego vertió una cantidad de

solución de lavado (suero fisiológico) suficiente respetando una proporción 1:4 (Verdura: suero fisiológico), esta bolsa se cerró y se dejó en agitación constante durante 24hrs.

Se vertió el líquido en tubos fondo cónico y centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos. Se descartó sobrenadante y se extrajo 1 gota de sedimento y se le aplicó tinción de Ziehl Neelsen, para la búsqueda de coccidios. Al resto del sedimento se le agregó 5 ml de suero fisiológico y 2 ml de éter etílico al 99% y agitar rigurosamente el tubo. Se centrifugó 3 minutos a 3000 rpm, luego se eliminó el sobrenadante y se resuspendió con suero fisiológico.

Se observó la muestra al fresco, depositando una gota de muestra sobre el portaobjeto y cubriéndola con un cubreobjeto, fase trofozoíta y fase quística, después se corroboró con tinción. Las tinciones húmedas utilizadas son Lugol y Cristal Violeta-Safranina (CVS).

6.3-OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA

En las preparaciones al fresco se depositó una gota de muestra en el portaobjetos y se colocó un cubreobjeto y se revisa en objetivo menor (10X) y objetivo mayor (40X) y en paralelo se observa una gota de la muestra con una gota de lugol (o CVS), para observar estructuras parasitarias teñidas.

6.4-TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN

Se realizó un frotis (extendido) de la muestra en un portaobjeto limpio y seco (de preferencia nuevo), se secó a temperatura ambiente y se fijó con metanol 100%. Luego se cubrió con solución de carbol fucsina 0,3% y calentó aplicando una pequeña llama (con una

bagueta de vidrio con algodón y 5 gotas de metanol o etanol), una vez desprendan vapores blancos se contaron 5 minutos. Después se lavó con agua limpia.

Con alcohol ácido 3% se cubrió la muestra durante 5 minutos o hasta que el frotis esté lo suficientemente decolorado, es decir, de color rosa pálido. Luego se lavó con agua limpia.

Luego con azul de metileno 0,3 % (o verde de malaquita) se cubrió durante 2 minutos y nuevamente lavó con agua limpia. Luego se secó a temperatura ambiente y observó al microscopio con objetivo de inmersión (100X) y se buscó los coccidios teñidos de color fucsia. Aquellas estructuras sospechosas de *Cyclospora spp.* fueron confirmadas por microscopía con Luz UV, donde se realizó una preparación al fresco y se buscó estructuras que tuvieran una fluorescencia de color azul.

6.5-REGISTRO DE DATOS Y ANALISIS ESTADISTICOS

Los datos fueron registrados en formato físico y en digital (EXCEL) y las fotografías fueron tomadas con una cámara Leica. Los datos fueron analizados, calculando porcentajes y realizando gráficos, con el programa Excel.

6.6-CONTROL DE CALIDAD

Se realizó controles negativos y positivos de los reactivos preparados, tinciones, material (tubos y bolsas utilizadas) y controles de lectura previos a la visualización microscópica, utilizando los mismos protocolos de procesamiento.

1. Se utilizó un control negativo de los procedimientos y tinciones utilizando suero fisiológico, para verificar si las bolsas y la solución de lavado no estaban contaminadas.

2. Se utilizó control positivo, para reconocer protozoos al fresco y con tinciones húmedas, material obtenido del Laboratorio de Parasitología, del Departamento de Microbiología de la Universidad de Talca.
3. Se utilizó control positivo para la Tinción de Ziehl Neelsen, con muestras de *Cryptosporidium spp.* del Laboratorio de Parasitología, del Departamento de Microbiología de la Universidad de Talca. Control positivo de *Cystoisospora belli* obtenido del Hospital Regional de Talca.

7-RESULTADOS

Tras analizar las distintas verduras procesadas se obtuvieron presencia de distintos parásitos dependiendo la verdura. 16 de las 56 verduras analizadas presentan algún parásito.

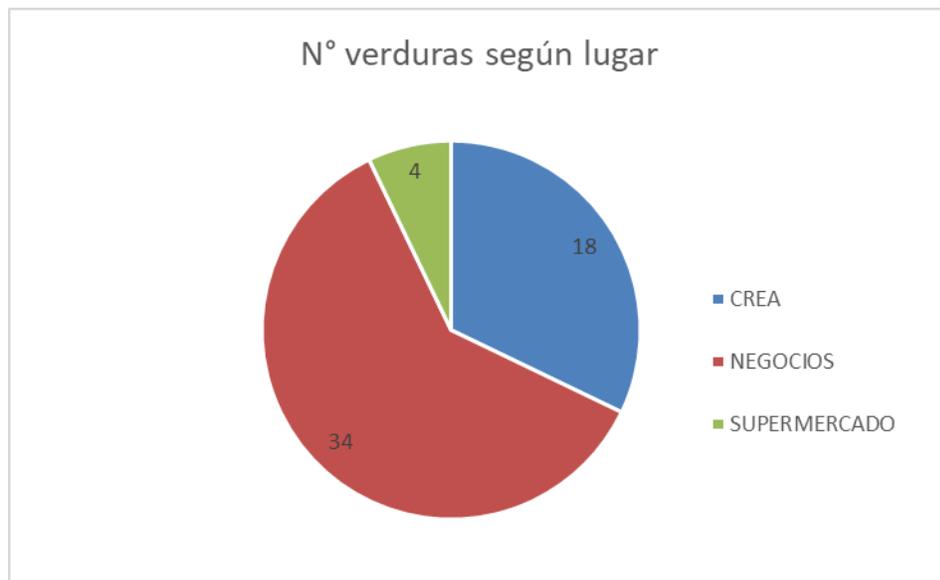


Figura 22. Número de verduras según lugar de obtención de la muestra, pero no se encontró asociación entre el lugar de obtención y la presencia de enteroparásitos.

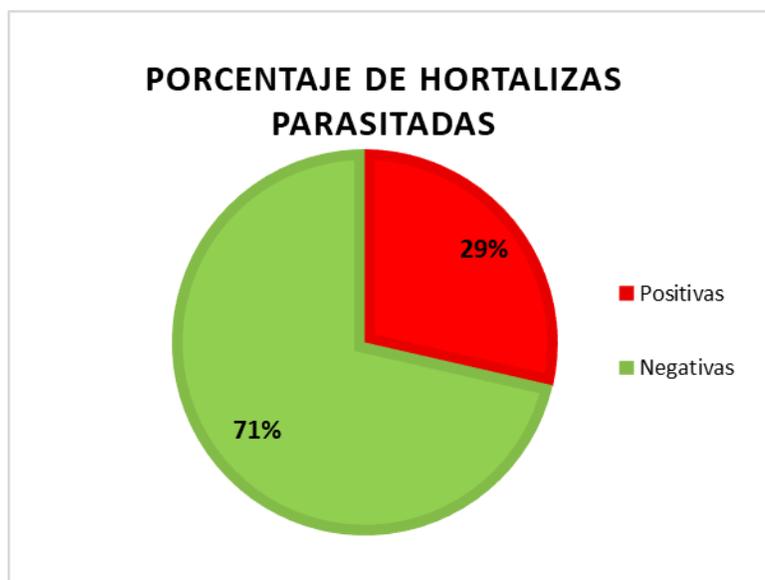


Figura 23. Porcentaje de las muestras positivas y negativas analizadas en este estudio.

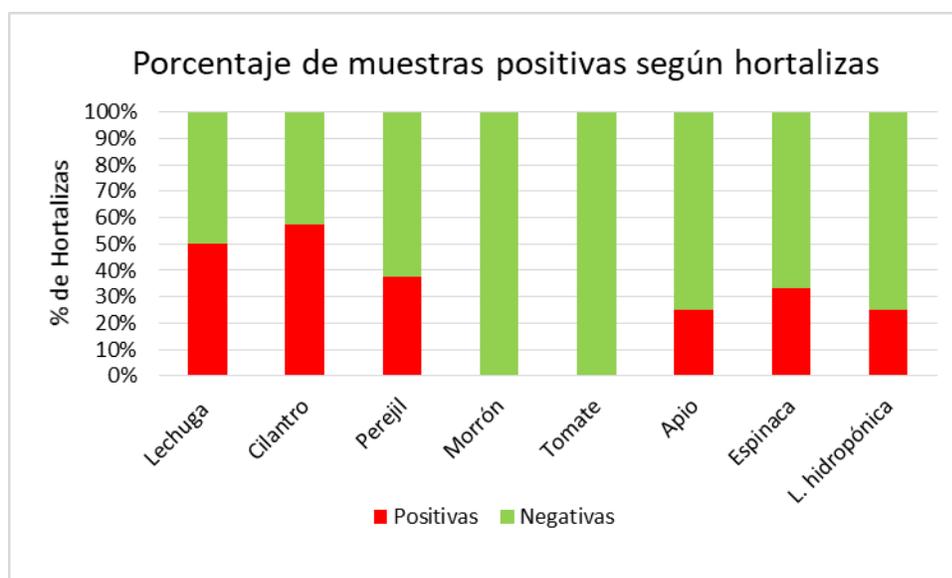


Figura 24. Grafica porcentaje de muestras positivas según hortalizas mostrando el Cilantro y la lechuga con mayor parasitosis al morrón y al tomate con 0 muestras positivas.

Dentro de las hortalizas de tallo corto la que obtuvo mayor porcentaje de contaminación con parásitos es el cilantro y la lechuga, observando principalmente protozoos. Entre las muestras positivas se encontraron ooquistes (*Cryptosporidium spp* y *Cyclospora spp*) y

quistes del protozoo *Balantidium spp*; también habían nematodos como *Fasciola spp*. El parásito mayormente encontrado en las muestras de hortalizas de Talca es el *Cryptosporidium spp*.

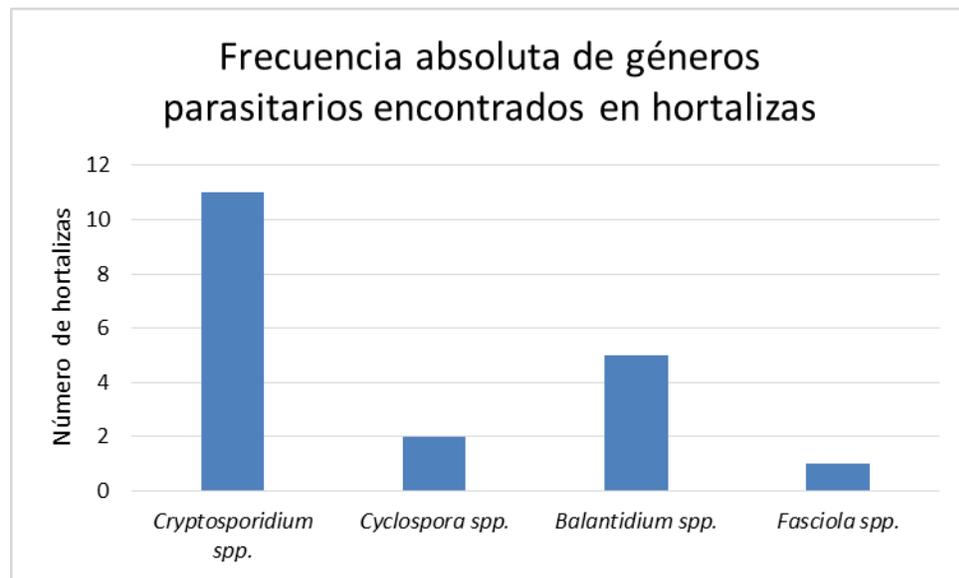


Figura 25. Frecuencia absoluta de géneros de parásitos detectados en las hortalizas estudiadas.

De las 58 muestras analizadas 11 (19,6%) presentaron ooquistes de *Cryptosporidium spp.*, 5 (8,9%) tenían *Balantidium spp.*, 2 (3,4%) de *Cyclospora spp.* y 1 (1,7%) huevo de *Fasciola spp.* Los parásitos menos encontrados son los helmintos donde se destacaron la *Fasciola spp* y *Strongyloides spp.*

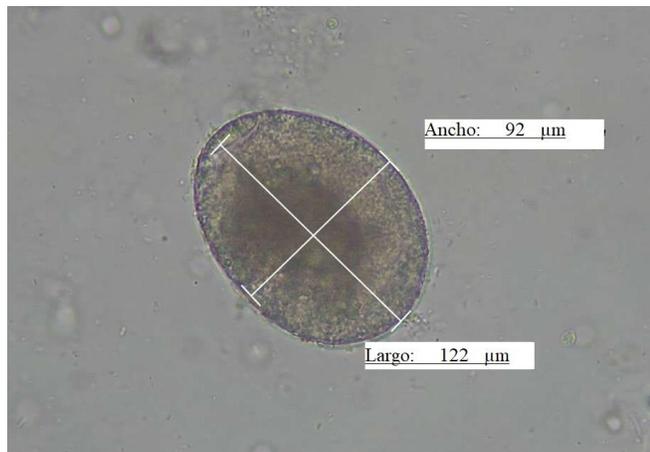


Figura 26. Huevo de *Fasciola spp* detectado en una muestra de lechuga, en la zona superior se denota el opérculo. Preparación al fresco con objetivo de 40X. Imagen obtenida a través de cámara Leica.

Otro parasito que fue encontrado en baja prevalencia es el *Balantidium spp.* que fue confirmado su género con tinción Cristal Violeta-Safranina.



Figura 27. Quiste de *Balantidium spp* donde se notan los cilios internos y el núcleo marcado de color rosado con su característica forma arrionada. Preparación al fresco teñida con CVS, objetivo 40X.

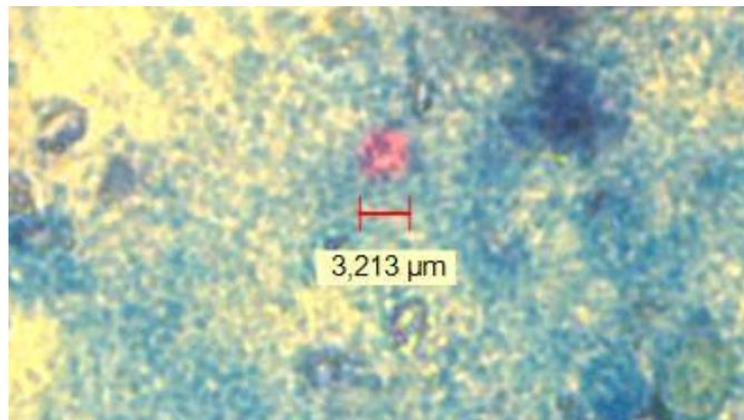


Figura 28. *Cryptosporidium spp* teñido con Ziehl Neelsen y observado a 100X observado en una muestra de cilantro. Imagen obtenida con cámara leica.

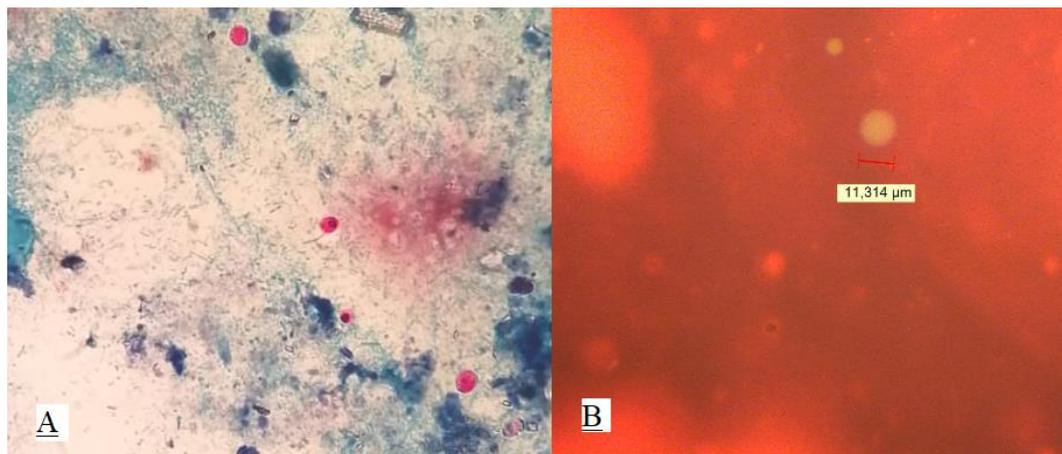


Figura 29. *Cyclospora* que se tiño de color (A) fucsia con Ziehl Neelsen y posterior confirmación en una muestra al fresco con (B) luz UV, fluoresciendo de color azul o verde, en un fondo rojo debido al clorofila. Foto tomada con cámara Leica.

La Lechugas hidropónicas presentan variados protozoos de vida libre, tanto flagelados como ciliados, destacando que uno de las 4 lechugas analizadas presentaba quistes de *Balantidium spp.*

8-DISCUSIÓN

En Chile no hay estudios sobre enteroparásitos presente en hortalizas de consumo humano, por lo que no hay un punto de comparación epidemiológicamente hablando. Un 29% de las hortalizas analizadas portaban algún enteroparásito, al compararnos con países de América Latina como Venezuela (2004) donde Traviezo ⁽³⁷⁾ y colaboradores determinan una prevalencia de parásitos en hortalizas del 29%, que estamos en una situación similar respecto a las parasitosis. Datos similares fueron encontrados por Rea ⁽³⁸⁾ en Argentina (2004) con un 30% y por Muñoz ⁽⁶⁾ en Bolivia (2008) con un 35,8 % ,destacando que los valores obtenidos en Talca, Chile están dentro de los valores más bajos de parasitosis en hortalizas de América Latina y comparándolos con otros países, como Colombia (2016) donde Polo ⁽⁴²⁾ y colaboradores determinaron que el 100% de las muestras analizadas son positivas y en Perú (2019) por Benites ⁽⁴⁶⁾ que detectaron un 56,7 %, Talca tiene valores muy por debajo haciendo énfasis a las políticas de saneamiento de aguas son buenas.

La mayoría de los estudios realizados en hortalizas no pesquisan ooquistes haciendo un difícil punto de comparación, ya que en este estudio se detectó un 18,9% de *Cryptosporidium spp* y un 3,4% de *Cyclospora spp*. Los ooquiste presentan importancia en pacientes inmunocomprometidos, por esto en una población presuntamente sana no tiene relevancia, pero en Chile los casos de VIH han aumentado hasta diciembre del 2019 el MINSAL declaró que “el ISP ha confirmado 5.331 casos nuevos de personas que viven con VIH, entre enero y septiembre de este año” ⁽⁴⁷⁾ dando importancia a estos parásitos oportunistas. Comparando con otros países, como Colombia ⁽⁴²⁾ que tienen una prevalencia de 71,43% de *Cystoisospora spp*, en Talca se tiene una baja prevalencia. Pero comparado a otros países como Bolivia, ⁽⁶⁾ tiene 0,6% de *Cryptosporidium spp*, Talca tiene alta presencia coccidios en hortalizas.

Algunas de los factores que afectan a los parásitos es la humedad, según Calvo ⁽⁴⁸⁾ el 2004 en Costa Rica, la cantidad de ooquiste varía entre estaciones lluviosas y secas, donde el

Cryptosporidium spp tiene mayor prevalencia en estaciones secas y las *Cyclospora spp* en estaciones lluviosas, dando una proyección del estudio donde se estime la prevalencia en estaciones distintas y tener un valor real de los parásitos que circulan en Chile.

Muchos de los parásitos presentes en las hortalizas pueden ser contaminación producto de los animales como es el caso del *Balantidium coli*, que es el único parásito ciliado que afecta al hombre, la tinción permite determinar su género pero no su especie. El cerdo es portador del *B. coli*, pudiendo contaminar las hortalizas, pero también es portador de otros *Balantidium*, como el *B. suis* (sin importancia clínica) que son morfológicamente idénticos, por lo que es de importancia la identificación con biología molecular al ser analizada muestras de hortalizas. ⁽⁴⁹⁾

Es difícil de encontrar *Fasciola hepatica* en lechugas, pero no imposible ya que se asocia a hortaliza de tallo corto, principalmente los berros como informa el MINSAL ⁽⁵⁰⁾ de Chile el 2016 tras un caso de Distomatosis por *F. hepatica* tras el consumo de berros silvestres. Además que animales como la vaca pueden ser portador de este parásito propagándolo por los cultivos. La presencia del huevo deja en claro la contaminación de las muestras con deposiciones, pero el ser humano se infecta al consumir metacercarias de *F. hepática.*, no huevos.

Las lechugas hidropónicas según sus proveedores destacan que son lechugas libres de parásitos, bacterias e insectos, pero en los análisis a nivel microscópicos estos presentaban muchos protozoos de vida libre y una de estas lechugas presentaba *Balantidium spp* el que podría desencadenar una infección, contrarrestando lo expresado por estas empresas, pudiendo deberse a alguna contaminación por manipulación o transporte previo a su venta.

9-CONCLUSIONES

En Chile los parásitos son poco considerados en la clínica siendo de una alta morbilidad y producen infecciones subdiagnosticadas debido a que en ocasiones producen enfermedades autolimitadas y/o de sintomatologías leves. Las infecciones por parásitos son asociadas principalmente a mala higiene y pobreza, pero no son excluyentes, ya que afecta transversalmente a todos, por esto es de importancia de salud pública saber la prevalencia de parásitos en hortalizas de consumo humano.

De las hortalizas analizadas en Talca, un 29% presenta parásitos, siendo importante realizar una proyección de este estudio donde se eviten sesgos como el de selección, se aumente el tamaño muestral y se consideren las diferentes variables que afectaron este estudio.

Los coccidios son los parásitos más prevalentes en hortalizas de la ciudad de Talca, destacando *Cryptosporidium spp* y una proyección sería mejorar las técnicas de identificación agregando PCR, sería importante para la identificación de *B. coli* y otros.

No hay una relación clara entre los parásitos y la procedencia de la muestra (negocios o CREA), pero si hay una relación entre parasitosis y verduras, ya que las hortalizas de tallo corto presentan proporciones variables de parásitos, pero los tomates y los morrones no presentaron parásitos, probablemente porque el agua no llega directamente al fruto.

10-BIBLIOGRAFÍA

- 1) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Acerca de los parásitos. Revisado el 18 octubre de 2016. Disponible en: <https://www.cdc.gov/parasites/es/about.html>.
- 2) Louis Apt, B. W. Parasitología humana. 1ª ed. España: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V; 2013
- 3) Tassara O., Renzo. Enteroparasitosis: realidad actual y manejo. Revista chilena de pediatría. 1999; 70(5), 441-445.
- 4) Apt, W. Infecciones por parásitos más frecuentes y su manejo. Revista Médica Clínica Las Condes. 2014; 485-528.
- 5) Muñoz Ortiz, V., & Laura, N. Alta contaminación por enteroparásitos de hortalizas comercializadas en los mercados de la ciudad de La Paz, Bolivia. BIOFARBO. 2008; 1-8.
- 6) ODEPA. Boletín de hortalizas frescas. Chile. Revisado 2019. Disponible en: <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-de-hortalizas-frescas-octubre-de-2019>
- 7) Llop A.; Valdés M.; Vivanco D.; Zuazo J. (2001) Microbiología y Paratología Médicas, Tomo III. Ciudad de las Habanas: Editorial Ciencias Médicas; 2001.
- 8) Garro Donini, A (2015). REPORTE DE CASO, PSEUDOOBSTRUCCIÓN INTESTINAL POR ASCARIS LUMBRICOIDES. Medicina Legal de Costa Rica- Edición Virtual; septiembre de 2015. Vol. 32.
- 9) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Ascariasis. Revisado el 19 Julio de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/ascariasis/index.html>
- 10) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Trichuriasis. Revisado el 19 de Diciembre de 2017. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/trichuriasis/index.html>

- 11) García P.; Luna N.; Uribarren T. NECATORIASIS. UNAM, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología y Parasitología. (S/F) Disponible en: http://microypara.facmed.unam.mx/?page_id=2205
- 12) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Hookworm. Revisado el 17 de Septiembre de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/hookworm/index.html>
- 13) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Strongyloidiasis. Revisado el 30 de Julio de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/strongyloidiasis/index.html>
- 14) Universidad de Nínive. Taenia solium y Taenia saginata. Revisado el 12 de Abril de 2018 Disponible en: <https://www.muhadharaty.com/lecture/20524/%D8%B9%D9%85%D9%84%D9%8A/Taenia-solium-&-Taenia-saginata-pptx>
- 15) García P.; Luna N.; Uribarren T. GENERALIDADES DE CESTODOS. UNAM, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología y Parasitología. (S/F). Disponible en: http://microypara.facmed.unam.mx/?page_id=1914
- 16) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Taeniasis, Enfermedad. Revisado el 10 de Enero del 2013. Disponible en: <https://www.cdc.gov/parasites/taeniasis/es/enfermedad.html>
- 17) Becerril M. Parasitología médica. Cap. 19: Himenolepiasis. 4° edición. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.; 2014.
- 18) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Fascioliasis, Enfermedad. Revisado el 2 de Mayo del 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/fascioliasis/index.html>
- 19) Zerpa L Rito, Náquira V César, Espinoza B Yrma. Una nueva visión de Entamoeba histolytica. Rev. perú. med. exp. salud publica. 2007; 190-191.
- 20) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Amebiasis. Revisado el 15 de Octubre del 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html>

- 21) The Australian Society for Parasitology. Balantidium. (S/F). Disponible en: <http://parasite.org.au/para-site/text/balantidium-text.html>
- 22) The Australian Society for Parasitology. Balantidium. (S/F). Extraído de <http://parasite.org.au/para-site/balantidium/balantidium-parasite.html>
- 23) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Giardiasis. Revisado el 9 de Diciembre del 2017. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html>
- 24) Gomila B., Amselem L., Guillermo J. DIENTAMOEBOSIS: ¿UNA PROTOZOOSIS INTESTINAL OLVIDADA? Control, Calidad, SEIMC. (S/F)
- 25) Fonte Galindo Luis, Fong González Annia, Méndez Sutil Yuliet, Moreira Perdomo Yoanka. Patogenicidad de Blastocystis sp. Evidencias y mecanismos. Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2014; 312-321.
- 26) García Flores L., Santillán Benítez J., Hernández Navarro M. Blastocystis: Biología, Subtipos Genéticos, Patología y Tratamiento. Revista de Parasitología Latinoamericana. 2016; 6-17.
- 27) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Blastocystis sp. Revisado el 21 de Octubre del 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/blastocystis/index.html>
- 28) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Sarcocistosis. Revisado el 18 de Diciembre del 2017. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/sarcocystosis/index.html>
- 29) Silva-Díaz Heber, Fernández-Valverde Darwin, Hernández-Córdova Gustavo, Failoc-Rojas Virgilio E.. Infección por Cystoisospora belli en pacientes con VIH: análisis de casos con diferente evolución clínica. Rev. chil. infectol. 2017; 347-351.
- 30) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Cystoisosporiasis. Revisado el 5 de Diciembre del 2017. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/cystoisosporiasis/index.html>

- 31) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Cryptosporidiosis. Revisado el 20 de Mayo del 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/cryptosporidiosis/index.html>
- 32) Neira O Patricia, Muñoz S Nelson, Rosales L M. José. Infección por *Cryptosporidium parvum* en una mujer embarazada, inmunocompetente, con riesgo ocupacional. *Rev. chil. infectol.* 2010; 345-349.
- 33) Weitz J., Weitz C., Canales M., Moya R. (2009). Infección por *Cyclospora cayetanensis*. Revisión a propósito de tres casos de diarrea del viajero. *Revista Chilena de Infectología*.
- 34) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Cyclosporiasis. Revisado el 10 de Abril del 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/cyclosporiasis/index.html>
- 35) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). Amebas intestinales no patógenas. Revisado el 29 de Octubre del 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/intestinalamebae/index.html>
- 36) Centros para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC). *Chilomastix mesnili*. Revisado el 5 de Junio del 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/chilomastix/index.html>
- 37) TRAVIEZO-VALLES LUIS, DÁVILA JUAN, RODRÍGUEZ RICARDO, PERDOMO OMAIRA, PÉREZ JOSÉ. Contaminación enteroparasitaria de lechugas expandidas en mercados del estado Lara. Venezuela. *Parasitol. latinoam.* 2004; 167-170.
- 38) Rea MJ, Fleitas A, Borda CE. Existencia de parásitos intestinales en hortalizas que se comercializan en la ciudad de Corrientes, Argentina. *Comunicaciones científicas y tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste.* 2004.
- 39) Castillo, Nelsi & Fernandez, Silvia. Estudio piloto de detección de parásitos en frutas y hortalizas expandidas en los mercados públicos y privados de la ciudad de Bogota D.C. 2006.
- 40) Pérez-Cordón, Gregorio, Rosales, María J., Valdez, Renzo A., Vargas-Vásquez, Franklin, & Córdova, Ofelia. Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica.* 2008; 144-148.

- 41) Mohamed, Mona & Siddig, Emmanuel & Elaagip, Arwa & edris, Ali & Nasr, Awad. Parasitic contamination of fresh vegetables sold at central markets in Khartoum state, Sudan. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2016.
- 42) Polo, G. A., Benavides, C. J., Astaiza, J. M., Vallejo, D. A., & Betancourt, P. Determinación de enteroparásitos en *Lactuca sativa* en fincas dedicadas a su producción en Pasto, Colombia. *Biomédica*. 2016; 525-534.
- 43) Bekele, F., & Shumbej, T. Fruit and vegetable contamination with medically important helminths and protozoans in Tarcha town, Dawuro zone, South West Ethiopia. *Research and reports in tropical medicine*. 2019.
- 44) Alemu G., Mama M., Misker D., Haftu D. Parasitic contamination of vegetables marketed in Arba Minch town, southern Ethiopia. *BMC infectious diseases*. 2019; 410.
- 45) Kudah, C., Sovoe, S., & Baiden, F. Parasitic contamination of commonly consumed vegetables in two markets in Ghana. *Ghana medical journal*. 2018; 88–93.
- 46) BENITES SALCEDO, D. M., & CASTILLO VALDIVIESO, C. P. Contaminación parasítica de hortalizas comestibles expandidas en mercados de Trujillo, Perú. *Revista de Investigación Científica REBIOL*. 2019; 41-49.
- 47) MINSAL. 2019: Más de 5 mil casos de VIH confirmados por ISP. Revisado el 4 de Diciembre de 2019. Disponible en: <https://www.minsal.cl/2019-mas-de-5-mil-casos-de-vih-confirmados-por-isp/>
- 48) Calvo Melvin, Carazo Melissa, Arias María Laura, Chaves Carolina, Monge Rafael, Chinchilla Misael. Prevalencia de *Cyclospora* sp., *Cryptosporidium* sp., microsporidios y determinación de coliformes fecales en frutas y vegetales frescos de consumo crudo en Costa Rica. *ALAN*. 2004; 428-432.
- 49) Becerril M. *Parasitología médica*. Cap. 11: Balantidiasis. 4° edición. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.; 2014.
- 50) MINSAL. Seremi Salud Valparaíso llama a autocuidado tras caso de enfermedad parasitaria por consumo de berros silvestres. Revisado el 26 de Agosto del 2016. Disponible

en: <https://www.minsal.cl/seremi-salud-valparaiso-llama-a-autocuidado-tras-caso-de-enfermedad-parasitaria-por-consumo-de-berros-silvestres/>