

## ENTEROPARASITOS EN LECHUGAS. COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS. ESTADO CARABOBO, VENEZUELA.

María Triolo<sup>1,2</sup>, Eulimar Álvarez<sup>3</sup> y Osmary Alvizu<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Estudios Clínicos. Escuela de Bioanálisis, Sede Valencia. Universidad de Carabobo, Venezuela.

<sup>2</sup> Centro de Tecnología en Información, Comunicación y Educación Asistida (CETICEA). Universidad de Carabobo, Venezuela. <sup>3</sup> Escuela de Bioanálisis, Sede Valencia. Universidad de Carabobo, Venezuela. E-mail: mtriolo@uc.edu.ve

### RESUMEN

Debido a que las enfermedades transmitidas por alimentos contaminados representan un grave problema de salud pública, la detección de enteroparásitos empleando técnicas diagnósticas adecuadas cobra suma importancia. El objetivo del presente estudio consistió en comparar la sensibilidad de dos técnicas ampliamente empleadas en la detección de enteroparásitos en lechugas expendidas en mercados del estado Carabobo, Venezuela, durante el período 2009-2010. Se recolectaron de forma no probabilística accidental 120 muestras de lechugas: 60 variedad Americana (*Lactuca sativa* variedad *capitata* o Great Lakes) y 60 variedad Romana (*Lactuca sativa* variedad *longuifolia* o White Paris) las cuales fueron analizadas por la técnica de Álvarez modificada por Traviezo (AMT) y Takayanagui modificado (TM). Se obtuvieron los siguientes resultados: por la técnica AMT, 15,0 % de las lechugas analizadas fueron positivas a algún tipo de enteroparásito, mientras que por la técnica TM 21,7% resultaron positivas. Según el tipo de lechuga, la Americana resultó estar más contaminada por ambas técnicas: 26,7% por la técnica AMT y un 43,3% por la técnica TM. La prueba Z para la comparación de dos proporciones, analizadas a través del estadístico Chi cuadrado no demostró diferencia significativa entre ambas técnicas ( $Z = -0,71$ ;  $p = 0,4791$ ) lo que concluye que para la determinación de contaminación enteroparasitaria en muestras de lechuga pueden ser empleadas indistintamente cualquiera de las dos técnicas descritas.

Palabras clave: Lechugas, enteroparásitos, técnicas diagnósticas.

### INTESTINAL PARASITES IN LETTUCES. COMPARISON OF TWO DIAGNOSTIC TECHNIQUES. CARABOBO STATE, VENEZUELA.

### ABSTRAT

Because the contaminated food borne diseases pose a serious public health problem, the detection of intestinal parasites using appropriate diagnostic techniques is of paramount importance. The objective of this study was to compare the sensitivity of two technique used for detecting intestinal parasites in lettuce distributed in Carabobo state, Venezuela, during the period 2009-2010. Were collected of way non-probabilistic accidental 120 samples of lettuce: 60 of the American variety (*Lactuca sativa* variety *capitata* or Great Lakes) and 60 of the Romana variety (*Lactuca sativa* variety *longuifolia* or White Paris) which were analyzed by the Álvarez technique modified by Traviezo (AMT) and Takayanagui technique modified (TM). We obtained the following results: by the AMT technique, 15.0% of all lettuces tested positive to some type of intestinal parasites, while by the TM technique 21.7% were positive. Depending on the type of lettuce, the American turned out to be more contaminated by the two techniques: 26.7% for AMT technique and 43.3% for TM technique. The Z test for comparison of two proportions, analyzed by chi-square statistic no showed significant difference between them ( $Z = -0.71$ ,  $p = 0.4791$ ) as was concluded that for the analysis of samples enteroparasitarie contamination of lettuce can be used either of the techniques described.

Key words: Lettuce, intestinal parasites, diagnostic techniques.

Recibido: 02/07 /2013. Aprobado: 15 /10 /2013

## INTRODUCCIÓN

Las enteroparasitosis son producidas en su mayoría por protozoarios y helmintos, cuyo hábitat temporal o definitivo es el tracto gastrointestinal del hombre. Su principal vía de infección es la digestiva, pudiendo ingresar al organismo a través de alimentos contaminados como el caso de las hortalizas crudas o del agua de consumo humano (1).

Entre los enteroparásitos comúnmente encontrados en hortalizas contaminadas, destacan los protozoarios en los que se incluye: *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli*, *Cryptosporidium sp*, *Endolimax nana*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y los helmintos: *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Anquilostomideos sp*. Las manifestaciones clínicas en los afectados pueden variar desde cuadros asintomáticos hasta casos graves que en raras ocasiones causan la muerte. Entre los síntomas más comunes que se presentan se encuentran: diarrea, prurito anal, dolor abdominal, alteración de la conducta, y manifestaciones en la piel (2).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que más de dos mil millones de personas en todo el mundo, principalmente niños y mujeres embarazadas, están infectados por enteroparásitos debilitantes, constituyendo uno de los problemas de salud más persistentes que causan anemias en lactantes, mal nutrición y retraso en el crecimiento (3). Estas infecciones se producen en el hombre cuando sus hábitos y costumbres se interaccionan con los ciclos de vida de los helmintos y los protozoarios (4), como por ejemplo el consumo de alimentos inadecuadamente procesados, actuando éstos como posibles vectores de huevos, larvas de helmintos y quistes de los protozoos (5, 6). Entre los alimentos que favorecen dicha transmisión, figuran las verduras para consumo humano que han sido inadecuadamente manipuladas, constituyéndose así en un elemento importante en la diseminación de enteroparásitos, ya que muchas veces los campos de cultivo son abonados con estiércol, materia orgánica de origen fecal e irrigados con aguas servidas (7, 8, 9) que al ser ingeridos por el hombre le ocasiona infecciones.

La lechuga es una planta anual, propia de las regiones semi-templadas, que se cultiva para la alimentación. Se conocen principalmente tres tipos de lechugas: Romana (*Lactuca sativa* variedad *longuifolia* o White Paris) que es una variedad de lechuga que crece con una larga cabeza y que posee unas hojas robustas, alargadas y con un robusto nervio central. Criolla (Grand Rapids) las cuales forman cabezas flojas, y por último la Americana (*Lactuca sativa* variedad *capitata* o Great

Lakes) de forma redonda y algo compacta (parecida al repollo). Debido a las muchas variedades que existen y a su cultivo cada vez mayor en invernaderos, puede ser consumida durante todo el año. Normalmente se consume cruda, como ingrediente de ensaladas y otros platos, pero ciertas variedades de origen chino, poseen una textura más robusta generalmente se consumen cocidas (10).

La transmisión de enteroparásitos a través del consumo de alimentos inadecuadamente manipulados ha sido ampliamente estudiada, por lo que algunos autores han estandarizado varias técnicas con el objetivo de determinar la presencia o no de enteroparásitos en alimentos de consumo humano. En este sentido, la técnica de Álvarez modificada por Traviezo y cols (AMT) (11) permite analizar diferentes especies de hortalizas, la cual es fraccionada y procesada a través de un lavado sin filtración. Por otra parte, la técnica de Takayanagui modificada (TM) (12) utiliza la hortaliza sin fraccionar. En América Latina varios investigadores han efectuado estudios para la detección de enteroparásitos empleando para ello las técnicas antes mencionadas y otras cuyo procedimiento metodológico puede variar.

Dada la importancia que tiene la contaminación enteroparasitaria de lechugas de consumo crudo como fuente de transmisión al ser humano, se hace necesario investigar sobre las técnicas más comúnmente empleadas para demostrar cuál de ellas resulta ser más sensible en el diagnóstico de enteroparásitos en diferentes tipos de lechugas comercializadas en mercados del municipio Naguanagua estado Carabobo, para posteriormente ser empleada por el equipo de salud, y de esta manera aportar resultados confiables en la determinación de enteroparásitos en hortalizas y proveer información valiosa a fin de sugerir programas efectivos de control sanitario en los expendios de hortalizas regionales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se enmarca dentro de un proceso de tipo descriptivo, no experimental y de campo, de corte transversal.

**Población.** La población a estudiar estuvo representada por lechugas de las variedades: Americana y Romana expandidas en seis diferentes mercados del municipio Naguanagua, estado Carabobo.

**Muestra.** La muestra estuvo constituida por 120 lechugas: 60 de la variedad Americana y 60 de la variedad Romana

expandidas en mercados del municipio Naguanagua, estado Carabobo. La recolección de la muestra se efectuó de forma intencional no probabilística.

**Procedimiento metodológico.** El método de obtención y procesamiento de las muestras se inició con la recolección de las variedades de lechuga ya descrita, expendida en mercados del municipio Naguanagua, estado Carabobo durante el período 2009-2010. Una vez obtenidas las unidades de lechugas, éstas fueron colocadas individualmente en bolsas plásticas transparentes estériles debidamente etiquetadas, rotuladas y selladas, las cuales fueron trasladadas el mismo día al laboratorio de Prácticas Profesionales de Parasitología de la Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, escuela de Bioanálisis-sede Carabobo, para su inmediato análisis. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron procesadas y analizadas mediante las técnicas que a continuación se describen:

**Técnica de Álvarez modificada por Traviezo (AMT).** Se deshojaron las lechugas y se introdujeron en un frasco de vidrio estéril con dos (2) litros de agua potable previamente hervida y filtrada; se agitó el contenido y se dejó en reposo por 24 horas, luego se retiraron las hojas y se dejó el agua en reposo por 1 hora. Posteriormente se decantó 9/10 partes de la solución con la ayuda de mangueras de goma, transparentes y estériles que evitaron el reflujo. Parte de la solución sedimentada fue colocada en cuatro tubos de centrifuga de aproximadamente 25 mL c/u, los cuales fueron centrifugados por 10 minutos a 3.000 rpm, para finalmente descartar el sobrenadante y observar los cuatro nuevos sedimentos por cada muestra, entre láminas y laminillas con solución salina 0,85% y en otras láminas con lugol, observando con objetivos de 10X y posteriormente con 40X cada sedimento (11)

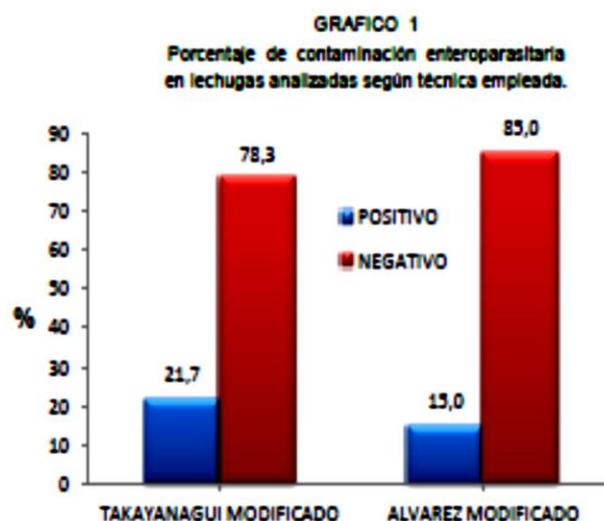
**Técnica de Takayanagui modificada (TM).** De cada unidad de lechuga se realizaron dos lavados: el primero se realizó en la bolsa plástica donde fue colocada la lechuga íntegra, agitando por 30 segundos después de la introducción de 250 mL de agua destilada estéril, y el segundo lavado se realizó después de deshojar cada lechuga, realizando una limpieza mecánica con las manos, previa colocación de guantes de látex estériles, hoja a hoja en un recipiente de vidrio con 250 mL de agua destilada estéril. El agua de los dos lavados se filtró por gasa doblada en ocho y se recolectó en cálices cónicos y se dejaron sedimentar espontáneamente por 24 horas. Una porción del sedimento obtenido de cada lavado fue examinado microscópicamente después de colocar una gota de lugol entre lámina y laminilla. Se observaron dos láminas con cada uno de los sedimentos, es decir, un total de cuatro (dos del sedimento del primer

lavado y dos del segundo). Posteriormente, se unieron los sedimentos y se realizó su centrifugación en tubos de 15 ml. Una porción del sedimento obtenido fue utilizado para hacer frotis y posterior coloración con la técnica de Kinyoun para la búsqueda de coccidios intestinales. El resto del sedimento se sometió a la técnica de formol éter y, como en la sedimentación, se prepararon dos láminas en cada caso (12).

Una vez aplicadas las dos técnicas se procedió a determinar la presencia o ausencia de enteroparásitos en las muestras analizadas.

**Análisis de datos.** El análisis estadístico de los datos se realizó mediante la prueba Z para la comparación de dos proporciones, analizadas a través del estadístico Chi cuadrado aplicando un modelo logarítmico. Todos estos procedimientos fueron efectuados a través del programa Statistix for Windows versión 8.0.

## RESULTADOS

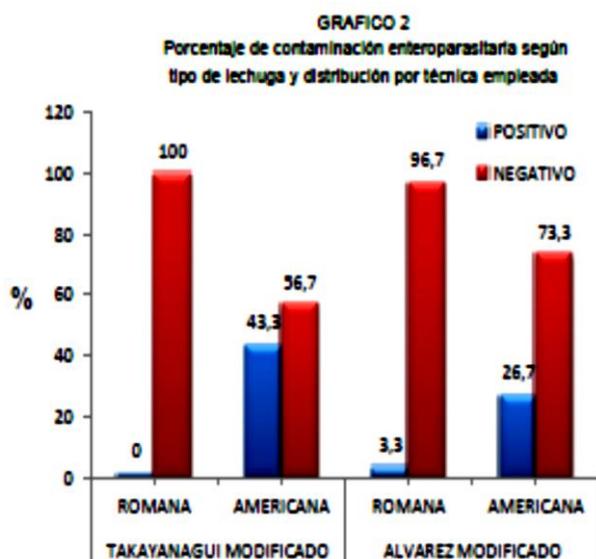


Los resultados obtenidos señalan que empleando la técnica de Álvarez modificada por Traviezo (AMT), la mayoría de los dos tipos de lechugas analizadas tanto Americana como Romana resultaron negativas a algún tipo de enteroparásito, mientras que apenas un sexto resultó positivo a la observación microscópica.

Por otra parte, al emplear la Técnica de Takayanagui Modificada (TM) se determinó que apenas una cuarta parte aproximadamente de todas las lechugas analizadas se encontraron positivas a algún tipo de

enteroparásitos. El resto, que correspondió a la mayoría de las muestras analizadas (78,3%) no presentó ningún tipo de enteroparásito observable al examen microscópico.

Al comparar los resultados obtenidos por ambas técnicas se puede afirmar con un 95% de confianza que no hubo diferencia significativa entre ellas ( $Z = -0,71$ ;  $p=0,4791$ ), por lo que ambas técnicas demuestran tener posibilidades similares de detección de enteroparásitos en muestras de lechugas.



Cuando se discriminan los resultados por tipo de lechuga analizada, se observa que por la técnica AMT el 26,7 % de las lechugas de tipo Americana resultaron positivas a enteroparásitos, mientras que en las de tipo Romana apenas 3,3 % resultó positiva. Con un 95% de confianza se puede afirmar que sí existe asociación significativa entre el tipo de lechuga y la presencia de enteroparásitos detectados por esta técnica en particular. ( $\chi^2 = 6,405$ ;  $p=0,011$ ;  $p<0,05$ ).

Cuando se efectúa el mismo análisis empleando la técnica TM, se encuentran resultados similares a los obtenidos por la técnica AMT. En 43,3 % de las lechugas de tipo Americana se comprobó la presencia de enteroparásitos, mientras que en las de tipo Romana no se observó presencia de enteroparásitos. Estos resultados nuevamente demuestran con un 95% de confianza que sí existe asociación significativa entre el tipo de lechuga y la presencia de enteroparásitos

detectados por la técnica TM ( $\chi^2 = 16,596$ ;  $p=0,000$ ;  $p<0,05$ ).

**TABLA 1**  
Frecuencia y porcentaje de enteroparásitos por género y especie de todas las lechugas analizadas por ambas técnicas.

Enteroparásitos	Frecuencia	Porcentaje
<i>Blastocystis hominis</i>	11	50,0
<i>Endolimax nana</i>	7	31,8
Larva de <i>Strongyloides stercoralis</i>	4	18,2
Total	22	100,0

En la Tabla 1 se muestra la frecuencia y porcentaje de enteroparásitos por género y especie identificados en todas las lechugas analizadas por ambas técnicas. Se encontró que los parásitos más frecuentemente encontrados pertenecen al grupo de los protozoarios; de ellos, el más frecuentemente diagnosticado fue *Blastocystis hominis* con un 50,0% de positividad, siguiéndole en prevalencia *Endolimax nana* con 31,8%. De los helmintos, el único identificado a través del análisis microscópico aplicando ambas técnicas fue *Strongyloides stercoralis* con 18,2%.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos señalan que 15,0 % de las lechugas analizadas a través de la técnica AMT resultaron positivas para algún tipo de enteroparásito, mientras que por la técnica TM el porcentaje fue ligeramente superior: 21,7%. Estos resultados coinciden con algunos estudios previos (7, 15) en los cuales se emplearon ambos métodos por separado, y que señalan porcentajes de positividad similares al encontrado. Sin embargo al comparar estos resultados con los obtenidos en otros estudios efectuados en Latinoamérica (12, 13, 14) y particularmente en Venezuela (11, 16, 17) empleando las mismas técnicas diagnósticas, se encontraron porcentajes de positividad superiores a los observados en el presente estudio.

Traviezo y col (11) revelan un 29,0 % de positividad empleando la misma técnica AMT en muestras de lechugas Romana y Americana. Este hallazgo es explicado por los autores por el hecho de que las lechugas fueron cosechadas y recolectadas en

período estacional seco, lo que implica necesariamente el empleo de sistemas de riego durante el cultivo, y que permitiría una mayor probabilidad de contaminación enteroparasitaria. Resultados similares fueron reportados por Cazorla y col (16) empleando la técnica TM, encontrando 44,4% de lechugas del tipo Americana contaminadas.

Devera y col (17) encontraron un 53,9 % de positividad empleando la técnica TM en muestras de lechugas Romana y Americana; sin embargo el autor no señala la zona geográfica de Venezuela donde fueron cultivadas las muestras, lo que no permite afirmar categóricamente que la procedencia de las lechugas es un factor determinante en la diferencia encontrada. Por otra parte, un factor que si pareciera estar involucrado en la diferencia encontrada es que las muestras obtenidas para el presente estudio eran lavadas y deshojadas antes de ser exhibidas al público. De igual manera, las lechugas eran recambiadas diariamente, lo que no permite una mayor transmisibilidad de enteroparásitos a través de vectores mecánicos convencionales tales como: moscas, cucarachas, insectos, entre otros.

Nuevamente, los porcentajes de positividad hallados en este trabajo son relativamente bajos cuando se comparan con los reportados en otros países (12, 13, 14) empleando las mismas técnicas diagnósticas por separado. En Venezuela los cultivos y riegos a gran escala de hortalizas no utilizan abono de origen humano ni aguas residuales para regar los cultivos, lo que disminuye la probabilidad de contaminación con enteroparásitos cuya prevalencia sí es mayor en otros países más aún cuando la cosecha coincide con períodos estacionales secos.

Cuando se efectúa el análisis de la contaminación parasitaria según el tipo de lechuga recolectada, se evidencian resultados similares a los reportados en otros trabajos en Venezuela (11, 15). Se encontró diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de contaminación enteroparasitaria según el tipo de lechuga analizada por ambas técnicas, encontrándose que por la técnica AMT ( $p=0.011$ ) y por TM ( $p=0.000$ ), resultó más contaminada la de tipo Americana. En Venezuela, Rivero y col (15) analizaron la contaminación parasitaria según el tipo de lechuga. Dicho estudio reveló que de las muestras contaminadas, las lechugas de tipo Americana representaron el 71,4 %, mientras que las de tipo Romana representaron un 28,6 %, empleando la técnica AMT. Por su parte, Traviezo y col (11), encontraron que la lechuga de tipo Americana resultó ser la más contaminada, con un 55,0 % de positividad en relación con el 45,0 % encontrado en la

lechuga romana, empleando la misma técnica empleada por Rivero.

Estas diferencias se explican por el tipo y la característica particular de cada follaje. La lechuga Americana se caracteriza por presentar hojas múltiples y separadas con gran base de contacto con el suelo, lo que permite una mayor contaminación con enteroparásitos; mientras que la lechuga Romana con menor base de contacto y hojas largas, firmemente yuxtapuestas, puede dificultar la adherencia de las formas evolutivas a las partes más internas del vegetal.

Con un 95% de confianza se puede afirmar que no existe diferencia significativa entre las proporciones de muestras parasitadas detectadas por la técnica AMT y TM ( $Z= -0,71$ ;  $p= 0,4791$ ). Con base en los resultados obtenidos se concluye que para estudios en los cuales se pretenda determinar contaminación enteroparasitaria en hortalizas, con especial interés en muestras de lechugas, se pueden emplear indistintamente tanto la técnica AMT como TM.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ledesma A, Fernández G. Enteroparasitosis: factores predisponentes en población infantil de la Ciudad de Resistencia, Chaco. Universidad Nacional del Nordeste, comunicaciones científicas y tecnológicas. 2004; resumen: M-044
2. Tananta I, Chávez A, Casas E, Suárez F, Serrano E. Presencia de enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos en el mercado de Lima. Rev Inv Vet Perú 2004; 15:157-162
3. Denise González. Vacuna contra parásitos intestinales, 2008. Disponible en: <http://skopia.wordpress.com/2008/06/24/investigacion-si-es-viable-una-vacuna-contra-parasitos-intestinales>. Consultado el: 02/03/2009
4. Frisancho O. Parasitosis intestinal: Aspectos fisiopatológicos. Rev Gastroent Per 1993; 13:45-49.
5. Quevedo F, Takur A. Parasitosis transmitidas por alimentos. Buenos Aires. Centro Panamericano de Zoonosis. 1980 (Serie de Monografías Científicas y Técnicas. CP2.12).
6. Organización Mundial de la Salud. Comité de Expertos en Prevención y Control de Infecciones Parasitarias Intestinales. Ginebra. 1986. Informe. Ginebra. 1987 (Serie de Informes Técnicos. 749).

7. Murga-Gutiérrez S. Formas parasitarias del hombre en *Lactuca sativa* "Lechuga", cultivada en la provincia de Trujillo-Perú. Boletín Peruano de Parasitología 1995; 11:42-45.
8. Franjola R, Gutiérrez J. Estudio parasitológico en lechuga y betarragas en la ciudad de Valdivia, Chile. Rev Méd Chile 1984; 112:57-60.
9. Herrera J, Obeso J. Presencia de protozoarios y helmintos de interés sanitario en verduras expendidas en mercados de Lima Metropolitana. Tesis Farmacia y Bioquímica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos 1987; p.45
10. OMS. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten. Raw: a review. Ginebra: OMS;1998 [Food safety ISSVES: FOS/98.2]
11. Traviezo L, Dávila J, Rodríguez R, Perdomo O, Pérez J. Contaminación enteroparasitaria de lechugas expendidas en mercados del estado Lara. Venezuela. Parasitol Latinoam 2004; 59:167-170.
12. Takayanagui O, Oliveira C, Bergamini A, Capuano D, Okino M, Febronio L. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirao Preto. Rev Soc Bras Med Trop 2001; 34:37-41
13. Muñoz V, Laura N. Alta contaminación por enteroparásitos de hortalizas comercializadas en los mercados de la ciudad de la Paz, Bolivia. Biofarbo 2008; 16.
14. Camargo N, Campuzano S. Estudio piloto de detección de parásitos en frutas y hortalizas expendidas en los mercados públicos y privados de la ciudad de Bogotá. Nova 2006; 4:77-81
15. Rivero Z, Fonseca R, Moreno Y, Oroño I, Urdaneta M. Detección de parásitos en lechugas distribuidas en mercados populares del Municipio Maracaibo. Kasmera 1998; 26:1-16.
16. Cazorla D, Morales P, Chirinos M, Acosta M. Evaluación parasitológica de hortalizas comercializadas en Coro, estado Falcón, Venezuela. Bol Mal Salud Amb [revista en la Internet]. 2009 [citado 2010 feb 20]; 49(1): 117-125. Disponible en:[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-46482009000100008&lng=es](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482009000100008&lng=es).
17. Devera R, Blanco I, González H, García L. Parásitos intestinales en lechugas comercializadas en mercados populares y supermercados de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela. Rev. Soc Venez Microbiol 2006; 26: 100-107