

## Recuperación de huevos de *Ascaris lumbricoides* del follaje de hortalizas intencionalmente contaminadas

José V. Scorza<sup>1</sup> & Migdalys Vilchez<sup>1</sup>

Se evalúa una técnica estándar de lavado y sedimentación de follaje de hortalizas de consumo crudo, intencionalmente contaminadas con huevos de *Ascaris lumbricoides*, en localidades endémicas como indicador de calidad sanitaria en ascariasis.

**Palabras claves:** huevos de *Ascaris*, hortalizas, contaminación inducida.

### INTRODUCCIÓN

El altiplano andino-venezolano es subregión con vocación para la horticultura con una producción para 1998, de más de un millón de toneladas métricas de hortalizas (Camejo & Gómez, 2005).

El estudio parasitológico de algunas de estas hortalizas de consumo crudo, adquiridas en expendios y mercados del occidente y oriente de Venezuela, revela contaminaciones con quistes o huevos de parásitos intestinales con importancia sanitaria (Castro, 2004; Devera *et al.*, 2006; Traviezo *et al.*, 2004).

Los métodos de análisis parasitológicos de muestras frescas de hortalizas se han basado en el lavado del follaje, la filtración y centrifugación de sus sedimentos y su examen microscópico, siguiendo en líneas generales las técnicas de Marzochi (1977) y de Oliveira & Germano (1992).

Hasta el presente, ninguna de tales técnicas ha sido evaluada en su sensibilidad y rendimiento para detectar y cuantificar huevos de parásitos en hortalizas contaminadas.

En este trabajo nos proponemos evaluar una técnica de lavado y sedimentación de hojas frescas de hortalizas contaminadas experimentalmente con huevos de *Ascaris lumbricoides*, parásito prevaleciente en 29% de 100.000 personas examinadas coproscópicamente entre 1989 y 1992, que son residentes en cien localidades de las veintitrés entidades federales de Venezuela, incluyendo diecisiete en los estados andinos, productores de hortalizas (Morales *et al.*, 1999).

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### *Huevos de A. lumbricoides*

Proviene de una mezcla de heces de 32 niños infestados, de uno y otro sexo, menores de doce años de edad, residentes en la localidad hortícola de La Lagunita, en la Parroquia La Puerta del Municipio Valera, 1300 m.s.n.m. Las heces fueron examinadas por la técnica de Kato-Katz (Martin & Beaver, 1968) y se hallaron intensamente parasitadas en un 63%, principalmente por *A. lumbricoides* en un 65%.

#### *Obtención de huevos de A. lumbricoides*

20gr. de heces conteniendo numerosos huevos de *A. lumbricoides*, fueron suspendidos y homogenizados con 1000 mL de solución salina isotónica fenolada al 0,5% para tamizarlas a través de un cedazo de 0,5mm de porosidad y separar las

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones "José Witremundo Torrealba". Núcleo Universitario "Rafael Rangel", Universidad de Los Andes, Trujillo-Venezuela.

\*Autor de correspondencia: bmsave@yahoo.com

partículas gruesas. El filtrado se dejó sedimentar en un vaso cónico durante una hora eliminando el sobrenadante. El sedimento se resuspendió en solución salina hasta un volumen de 1000 mL y se volvió a sedimentar durante otra hora para filtrarlo a través de un cedazo 250 $\mu$ m de porosidad.

El tamizado así obtenido se dejó sedimentar repetidamente en un cilindro de 500 mL reponiendo el líquido sobrenadante con solución salina hasta transparencia, conservándose el sedimento a 4°C durante no más de 15 días. Para la cuenta de los huevos, se agita la suspensión del sedimento y se toman 20 $\mu$ L sobre porta-objeto, añadiendo 20 $\mu$ L solución de Lugol fuerte, moviendo la gota con una aguja en forma de L antes de cubrirla con laminilla 22x22.

Se cuentan los huevos bajo 100x en 50 campos. Para el estimado de los huevos contados en los 20 $\mu$ L de suspensión, se multiplica la media del número de campos bajo la laminilla, por un factor que se calcula dividiendo 484mm<sup>2</sup>, área de la laminilla, entre área del campo x 100, calculado por un micrómetro de platina y estimar así el número de huevos por  $\mu$ L.

#### Contaminación de follaje de hortalizas con huevos de *A. lumbricoides*

Del área central de un huerto regada por aspersión se recogen matas de lechuga romana y criolla (*Lactuca sativa*), escarola (*Cicholirium endivia*), perejil (*Petroselinum sativum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*), por duplicado, para ser contaminadas intencionalmente con suspensiones de huevos de *A. lumbricoides*. Las hojas más internas se separan y lavan en solución salina con Tween 80 al 1% para eliminar impurezas examinando los sedimentos para asegurar que no contienen huevos de nemátodos, escurriendo 20grs. de cada follaje con papel absorbente antes de extenderlas separadamente sobre bandejas de propileno.

Como contaminante se utilizan tres suspensiones de huevos de *A. lumbricoides* en 90mL equivalentes a 6x10<sup>4</sup>, 3x10<sup>5</sup> y 6x10<sup>5</sup>, para utilizar 3,0mL de cada una como volumen contaminante para cada muestra. Para ello usamos un nebulizador doméstico (Plasta-hogar, spray con 90mL de capacidad) que dispersa 3,0mL tras 20 presiones de émbolo,

suficiente para humedecer cada 20grs de follaje. De este modo, cada muestra de hortaliza recibiría, aproximadamente, 2x10<sup>3</sup>, 1x10<sup>4</sup> y 2x10<sup>4</sup> huevos de *A. lumbricoides*. Las muestras de follaje de hortalizas, contaminadas con las respectivas suspensiones de huevos, se dejan secar a temperatura ambiente abierto durante una hora, para posteriormente recuperar los huevos.

#### Recuperación de huevos de *A. lumbricoides* de follajes contaminados

Las hojas de hortalizas se lavan separadamente con 50mL de solución acuosa de Tween al 1% y el lavado se centrifuga con tubos cónicos a 3000rpm durante 5 minutos. De cada tubo, súbitamente se vierte la solución detergente sobrenadante para dejar el sedimento en el fondo.

Trás homogenizar el sedimento con una varilla de vidrio, se estima su volumen final y de él se toman 20 $\mu$ L para contar por duplicado los huevos extraíbles en cada una de las suspensiones ensayadas y estimar su cantidad en el volumen residual de cada centrifugado. Se entiende que los lavados no son completamente extractivos y que al centrifugarlos tampoco se extraen todos los huevos del centrifugado.

## RESULTADOS

En la Tabla I, se ilustran los promedios redondeados y porcentajes de huevos de *A. lumbricoides* extraídos de 20gr. de cada follaje de hortalizas contaminadas con las respectivas cantidades de huevos.

A despecho de las cantidades de huevos contaminantes, desde 2000 hasta 20000, para cada 20gr de follaje de las diferentes hortalizas, los porcentajes de recuperación son relativamente bajos, desde tres hasta doce por ciento. Se observa proporcionalidad entre estos porcentajes y la cantidad de huevos contaminantes, sugiriendo ello que la técnica empleada es útil para detectar contaminaciones y también es apropiada para estimar la cuantía de la contaminación que arrojaría un factor de recuperación equivalente a un 5% aproximado, con valores extremos entre tres y doce por ciento. Considerando que el área del follaje es similar para las cinco hortalizas,

**Tabla I. Promedios redondeados y porcentajes de huevos de *A. lumbricoides* extraídos de 20gr.**

Huevos en la suspensión contaminante	Lechuga romana		Lechuga criolla		Escarola		Cilantro		Perejil	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
2 x 10 <sup>3</sup>	120	6	180	9	100	5	240	12	160	8
1 x 10 <sup>4</sup>	500	5	500	5	400	4	800	8	700	7
2 x 10 <sup>4</sup>	1200	6	800	6	1000	5	600	3	600	3

es presumible suponer que las hojas retienen casi el 90% de la contaminación introducida. En todo los casos se separó una alícuota del contaminante, lo cual permite inducir que sometiendo 20grs de follaje al lavado con solución detergente y tras el centrifugado del sedimento extraído, es posible detectar huevos de *A. lumbricoides* contaminantes y hasta estimar cualitativamente la intensidad de la contaminación.

## DISCUSIÓN

La ingestión de hortalizas crudas y contaminadas con heces humanas, constituye un riesgo de salud pública. Recientemente se publicaron comunicaciones que revelan la presencia de huevos o quistes de parásitos intestinales en hortalizas cosechadas en la región de Los Andes venezolanos (Travieso *et al.*, 2004; Castro, 2004; Devera *et al.*, 2006). No obstante, entre los detectados no se señala en todos la presencia de huevos de *Ascaris* sp., parásito de muy alta y extendida prevalencia en el territorio venezolano (Morales *et al.*, 1999); los huevos de *Ascaris* sp. han sido señalados como contaminantes de hortalizas de huertos y expendios en São Paulo (Brasil) (Marzochi, 1977; Oliveira & Germano, 1992). *Ascaris lumbricoides* es un parásito exclusivamente humano cuyos huevos son indistinguibles de los *A. suuum* (Crompton *et al.*, 1989). La producción y eliminación de huevos por *A. lumbricoides* es excesiva, alcanzando 250.000 huevos por gusano hembra por día (Sinniah, 1982). En condiciones higiénicas desfavorables, la contaminación de suelos peridomésticos por huevos de *A. lumbricoides* alcanza al centenar por gramo de tierra (Wong & Bundy, 1990) y la duración de su infectividad hasta quince años (Storey & Phillips, 1985). La morfología de los huevos de *A. lumbricoides*, comparada con otra de Ascarididae de animales domésticos ha sido estudiada por Volcan (1995) y revela caracteres inconfundibles que nos permiten utilizarla como un indicador confiable e inequívoco para detectar contaminación fecal humana en localidades endémicas para ascariasis.

Nuestros hallazgos arriba reportados, a la luz de estas consideraciones, hacen concluir que la técnica ensayada para recuperar huevos de *A. lumbricoides* en follaje de hortalizas intencionalmente contaminadas, permite detectar huevos de este helminto con un rendimiento entre tres y doce por ciento de la contaminación introducida y que el follaje de las cinco hortalizas utilizadas, de consumo como ingesta cruda, retiene similares cantidades de huevos. Los huevos de *A. lumbricoides*, de esta manera, constituyen un indicador confiable para evidenciar contaminación fecal humana en localidades endémicas con bajo nivel de higiene. La utilización de estos mínimos recursos de laboratorio, para estimación de contaminación fecal humana, hacen del lavado del follaje de hortalizas con solución salina y un detergente muy diluido, seguidamente sedimentado, un recurso de análisis de laboratorio económico, expedito y de fácil interpretación para el estudio de contaminación de hortalizas con heces fecales humanas.

## Recuperation of *Ascaris lumbricoides* eggs from vegetables intentionally contaminated

### SUMMARY

We evaluated a technical standard of washing and sedimentation of the foliage of vegetables for crude consumption, intentionally contaminated with eggs of *Ascaris lumbricoides* in endemic localities, as an indicator of the sanitary quality for ascariasis.

**Key words:** *Ascaris lumbricoides* eggs, vegetable, induced contamination.

### REFERENCIAS

Camejo G. J. & Gómez E. A. (2005). *Geografía Económica de Venezuela*. Fundación Edit. Salesiana, Caracas, Venezuela. 215 pp.

- Castro T. A. (2004). Los vegetales de consumo humano como vehículo de parásitos. Univ. Los Andes, Mérida, Fac. Farm. & Bioanálisis, Mimeogr., 8 pp.
- Crompton D., Nesheim M. & Pawlowski Z. (1989). *Ascariasis and its prevention and control*. Eds. Taylor & Francis, London, 69 pp.
- Devera R., Blanco I., González H. & García L. (2006). Parásitos intestinales en lechugas comercializadas en mercados populares y supermercados de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela. *Rev. Soc. Venez. Microbiol.* **26**: 100-107.
- Martín L. & Beaver P. (1968). Evaluation of Kato thiksmear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* **17**: 382-391.
- Marzochi M. C. (1977). Estudo dos fatores envolvidos na disseminação dos enteroparasitas. II.-Estudo da contaminação de verduras e solo de hortas na cidade de Ribeirão Preto. São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* **19**: 148-155.
- Morales G., Pino L., Arteaga C., Matinetla L. & Rojas H. (1999). Prevalencias de las geohelminthiasis intestinales 100 municipios de Venezuela (1989-1992). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **32**: 263-270.
- Oliveira C. A. & Germano P. M. (1992). Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitanas de São Paulo, Brasil. I.- Pesquisa de Helmintos. *Rev. Saúde Pùb. S. Paulo.* **26**: 283-289.
- Sinniah B. (1982). Daily egg production of *Ascaris lumbricoides*: The distribution of eggs in faeces and the variability of eggs counts. *Parasitol.* **84**: 167-175.
- Storey G. & Phillips R. (1985). The survival of parasite eggs throughout the soil profile. *Parasitol.*, **91**: 585-590.
- Traviezo L., Dávila J., Rodríguez R., Perdomo O. & Pérez J. (2004). Contaminación enteroparasitaria de lechugas expedidas en mercados del Estado Lara, Venezuela. *Parasitol. Latinoamer.*, **59**: 167-170.
- Volcan G. (1995). *Consideraciones sobre similitudes y diferencias a nivel ovalar en Ascaris lumbricoides, Toxocara canis, Toxocara cats y Lagochilascaris minor (Nematodo: Ascarididae), parásitos del hombre y animales domésticos*. Univ. Oriente, Venezuela. Esc. Medicina, Mimeogr., 187 pp.
- Wong M. S. & Bundy D. A. (1990). Quantitative assessment of contamination of soil by the eggs of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, **84**: 567-570.

Recibido el 02/06/2007  
Aceptado el 28/07/2007