



Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Facultad de Ciencias Químicas



Laboratorio de Microbiología General

# Búsqueda de parásitos intestinales en hortalizas

Integrantes: Canela Costilla Aaron Jared  
Gómez Hernández Christiane Lucille  
Castillo Guevara Diana Zuzim

Mtra: Q.F.B. Juana Tovar Oviedo  
Mtra: Rosa Elvia Noyola Medina

Días: Martes-Jueves Horario: 08:00-09:00 hrs  
05 de Abril de 2017



QUÍMICO  
FARMACO  
BIÓLOGO



# Objetivo

Realizar la búsqueda de formas parasitarias de protozoarios y helmintos intestinales en hortalizas expendidas en muestras caseras, mediante la técnica de centrifugación con solución salina, observación microscópica con objetivo 10X y 40X, utilizando lugol como colorante de contraste

# Introducción

- ▶ Los protozoos son microorganismos unicelulares que carecen de pared celular. Generalmente carecen de color y son móviles. Se distinguen de los procariotas por su mayor tamaño, de las algas por carecer de cloroplasto y clorofila, de las levaduras y hongos por ser móviles y de los hongos mucosos por su incapacidad para formar cuerpos fructíferos.





- Por su apreciable contenido de ácido ascórbico, carotenos y fibra dietética, los vegetales son ampliamente recomendados como parte de la dieta diaria. El apio, lechuga, repollo, coles de bruselas y otros vegetales que generalmente se consumen crudos han sido asociados con brotes epidémicos de diarrea e incluso listeriosis. Además, en este tipo de vegetales se ha encontrado contaminación con huevecillos de parásitos como *Ascaris lumbricoides*, *Trichocephalus trichiurus*, quistes de *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* y virus como hepatitis A.



# Colecta y conservación de las hortalizas

Las hortalizas deben estar frescas a la hora del muestreo

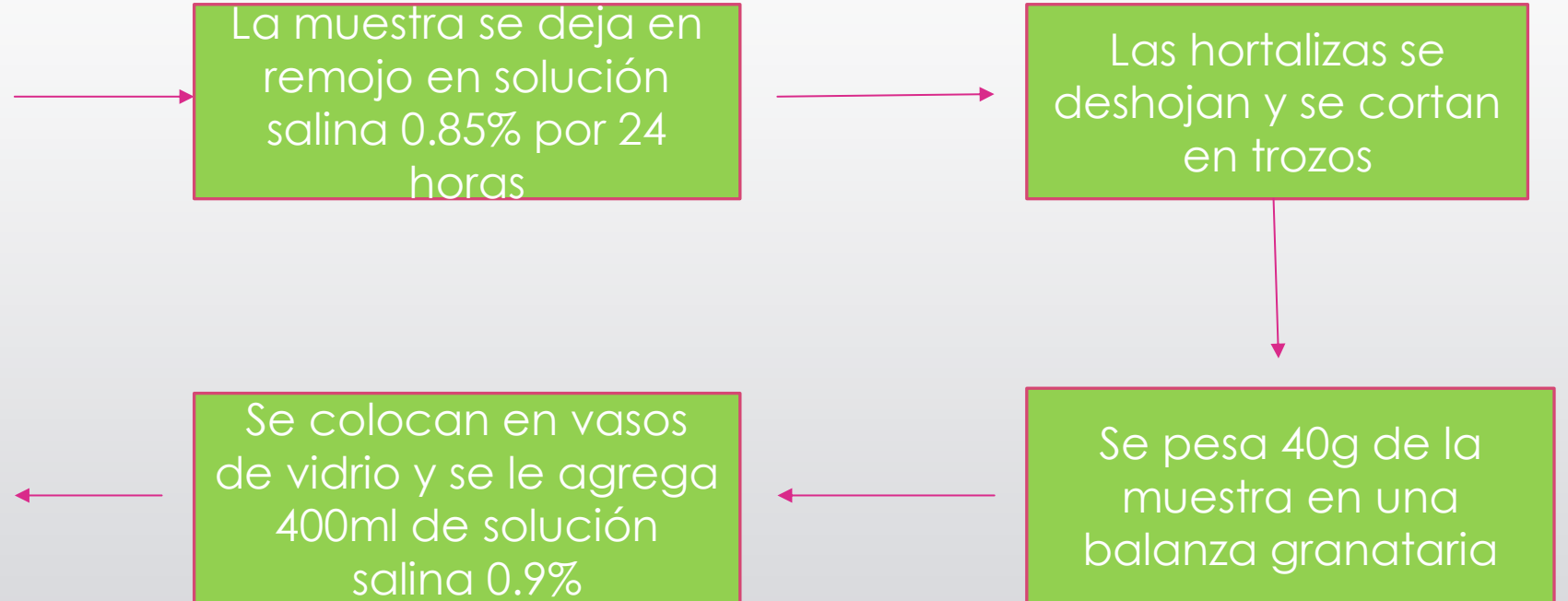
La muestra se deja en remojo en solución salina 0.85% por 24 horas

Las hortalizas se deshojan y se cortan en trozos

Se agita el contenido y se dejan en reposo 24 horas

Se colocan en vasos de vidrio y se le agrega 400ml de solución salina 0.9%

Se pesa 40g de la muestra en una balanza granataria



# Procedimiento



1. Se retiraran las muestras.



3. Decantar el agua 9/10 partes de la solución.



2. Dejar el agua en reposo una hora más.



4. Colocar el sedimento en tubos de ensayo.



5. Centrifugar a a 3000 rpm durante 10 minutos.



6. Se descarta sobrenadante.



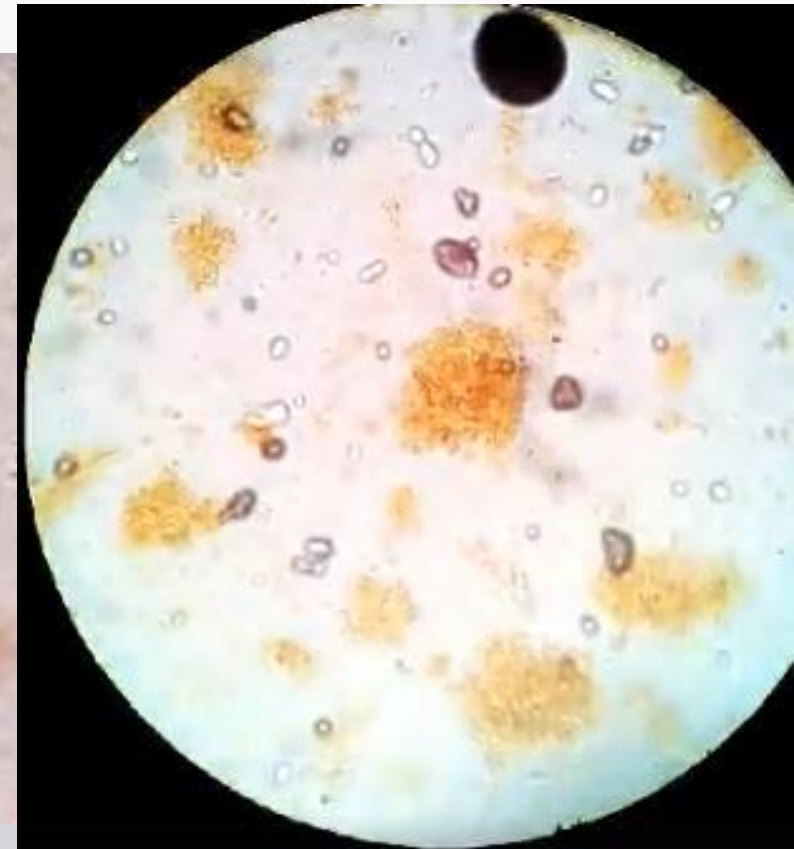
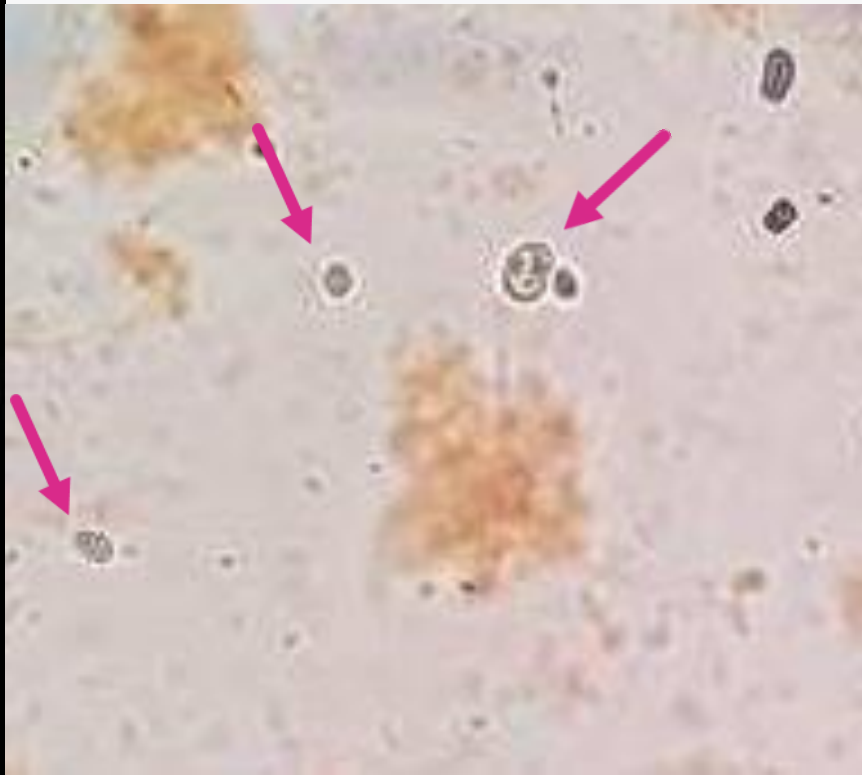
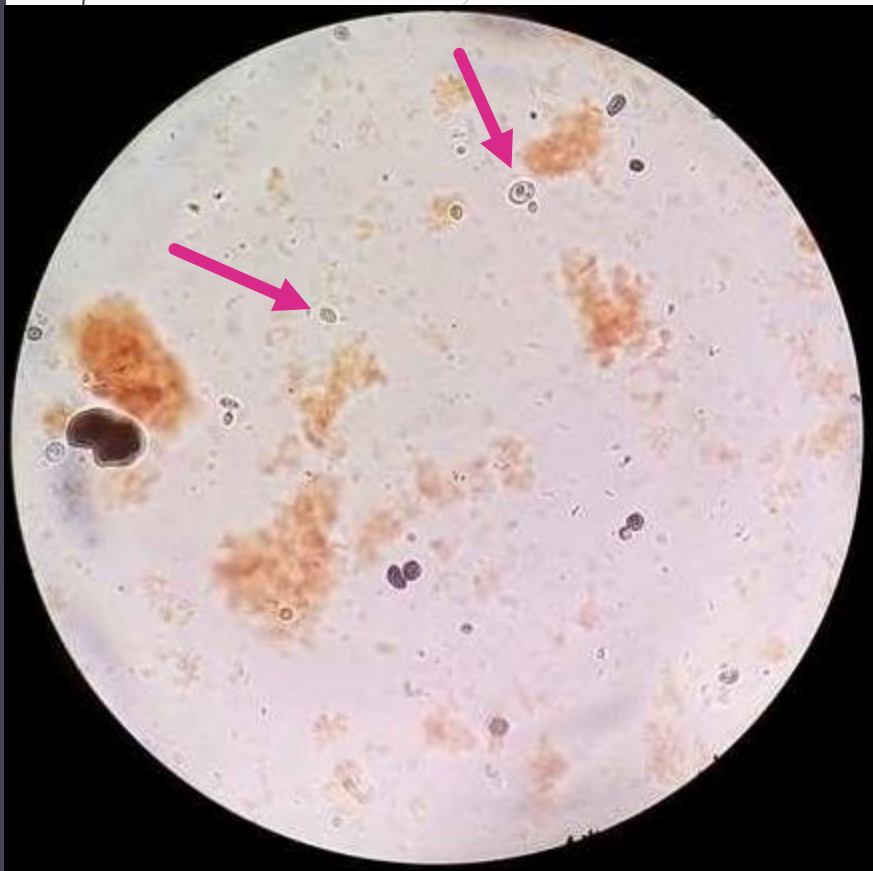
8. Con una pipeta tomar una cantidad del sedimento y colocar en un portaobjetos con una gota de lugol.

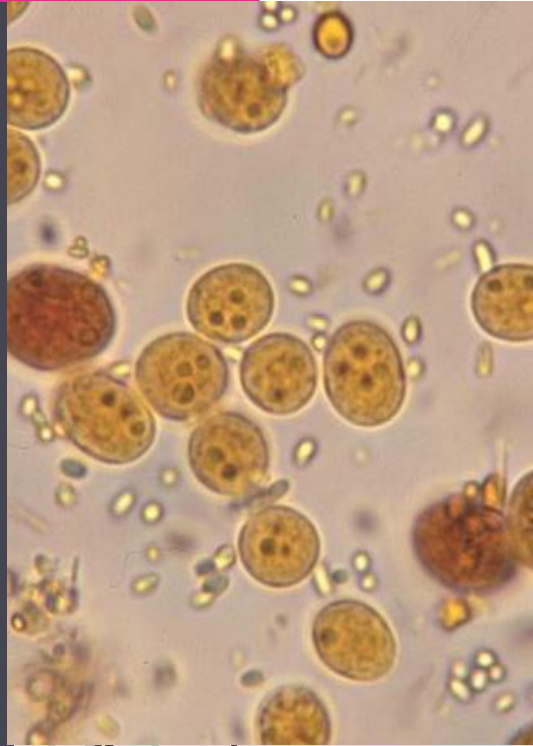


9. Colocar el cubreobjetos y observar en el microscopio a 10X y 40X.



# Resultados





Se recolectaron tres muestras de 40 g cada una; zanahoria, papa y cilantro obtenidas de mercados.

Se llevó a cabo el procedimiento correspondiente para la búsqueda de parásitos.

En papa y cilantro no se observaron parásitos de ningún tipo. Sólo bacterias.

En zanahoria se encontraron bacterias y parásitos, que, por su morfología, se dedujo que se trataba de *Endolimax nana*.



# Endolimax nana

Parásito comensal exclusivo del humano

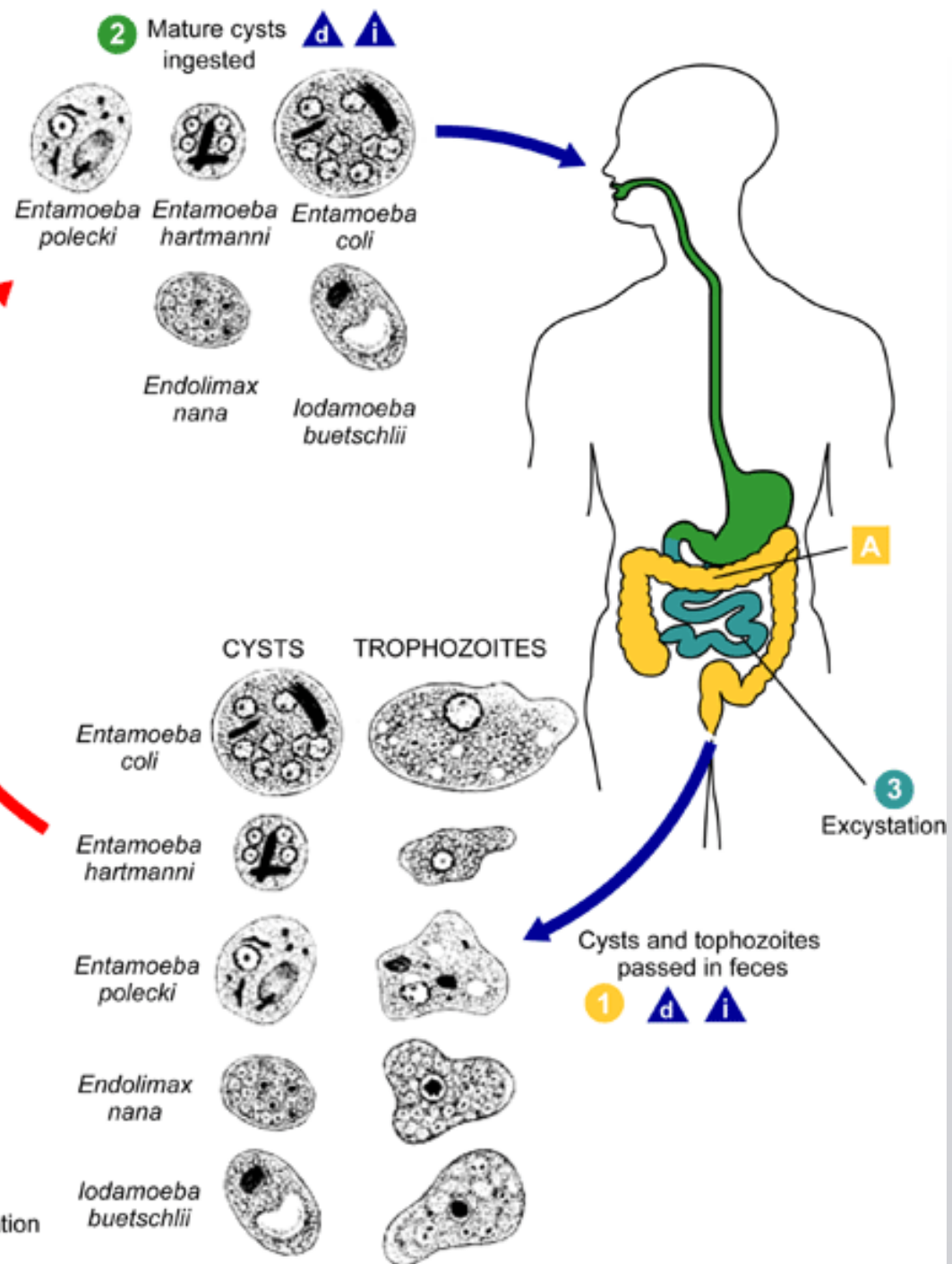
Infección: ingestión de quistes viables

Contaminación de alimentos y bebidas o mala higiene personal

Distribución elevada en climas cálidos, y poblaciones con eficiencia de higiene

Dos estadios de desarrollo: Quiste y Trofozoíto

Reino	Protista
Filo	Amoebozoa
Clase	Archamoebae
Orden	Mastigamoebida
Familia	Mastigamoebidae
Género	Endolimax
Especie	Endolimax nana



### Diagnóstico:

Mediante la demostración en las heces, el colon, la pared del absceso hepático o cualquier otra localización.

### Tratamiento:

Metronidazol (500 mg/6 hrs), durante 10 días

### Prevención:


Adecuado control sanitario de agua que se utiliza para fines de consumo.



# ARTICULO

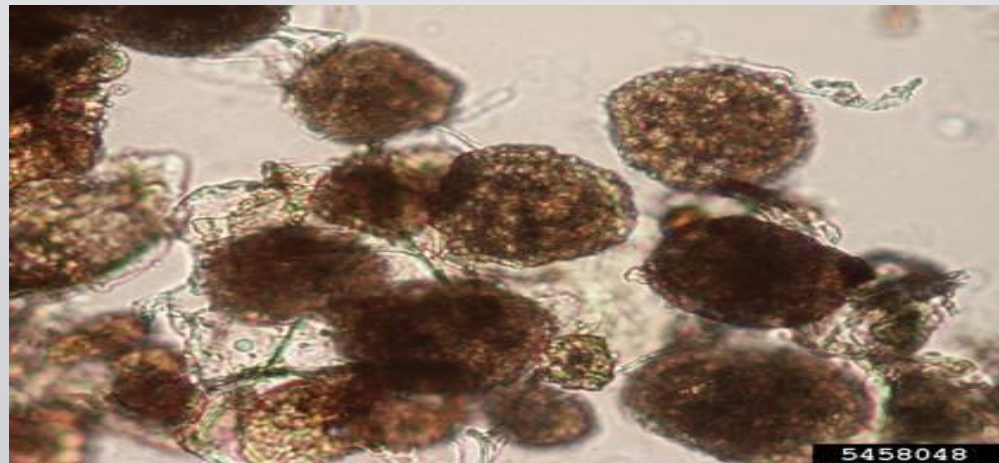
## Spongospora subterranea

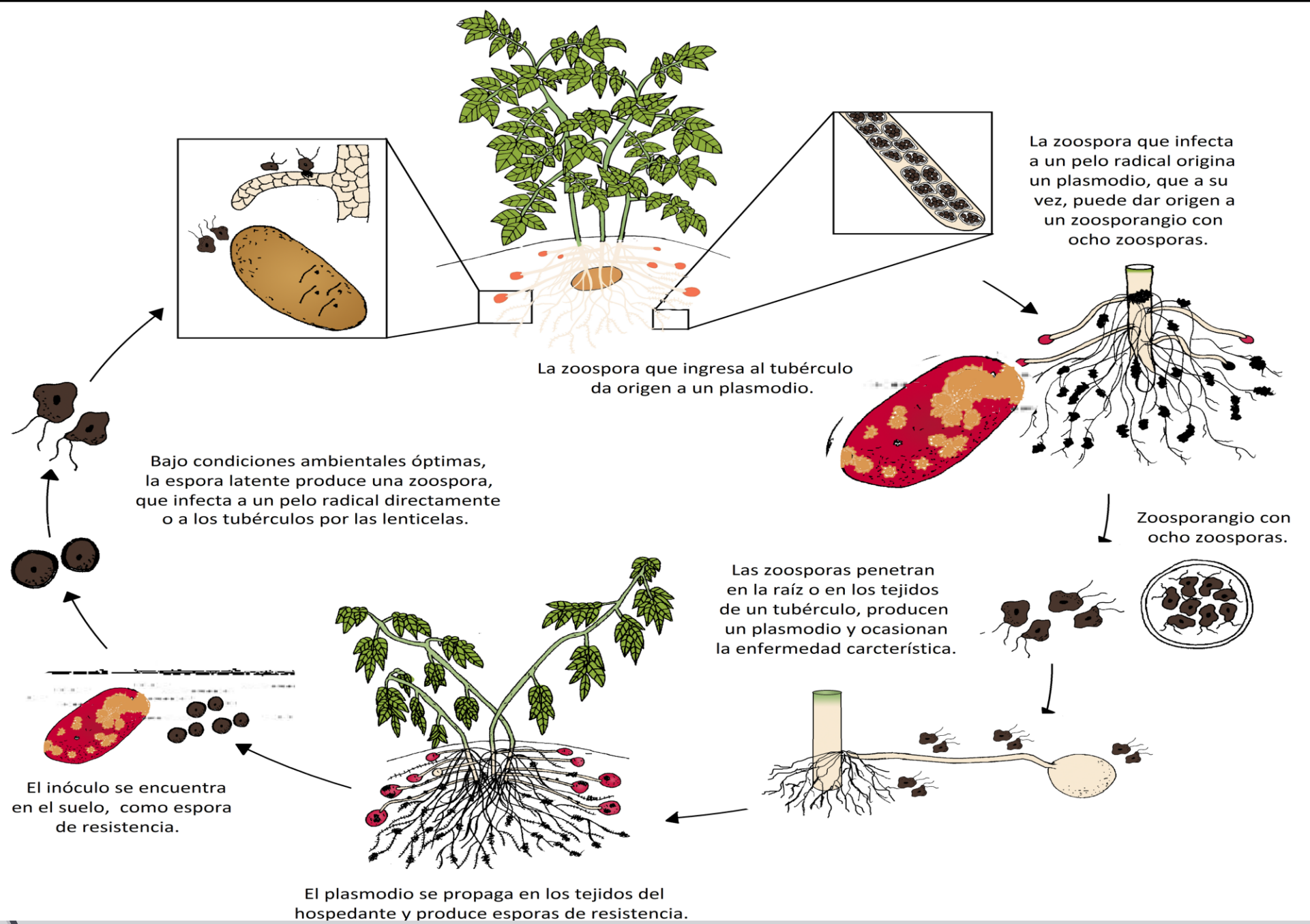
- ▶ Spongospora subterranea (Wallroth) Lagerheim f. sp. subterranea Tomlinson es el agente causal de la sarna polvosa de la papa. Este patógeno es un protozooario, su infección ocurre por medio de zoosporas las cuales se liberan a partir de quistosoros y son el principal modo de dispersión de la enfermedad.
- ▶ **MATERIALES Y MÉTODOS Obtención de quistosoros.** Para evaluar el mejor inóculo se establecieron tres fuentes de quistosoros a partir de agallas de raíces, pústulas de tubérculos y suelo colectados

- 
- ▶ **Estandarización de la concentración de quistosoros a utilizar en el experimento.** Se preparó una suspensión de quistosoros purificados en un solución de Tween 80 al 0,1% de 10 mg•ml de quistosoros aislados a partir de las tres fuentes y se realizaron conteos en cámara de Neubauer, siguiendo la metodología de Castaño (1994), para obtener una concentración estándar de  $2,4 \times 10^4$  quistosoros/ml de inóculo para todas las fuentes a utilizar
  - ▶ **Obtención de extractos de papa.** Los extractos se obtuvieron a partir de raíces sanas de papa (*Solanum tuberosum*), variedad Diacol Capiro, para lo cual se tomaron 75 g de peso fresco de raíz y se licuaron en 750 ml de agua destilada.



- ▶ En este trabajo, se evaluó el efecto de los exudados de raíz de papa, temperatura y fuente de inóculo con quistosoros aislados de suelo, raíz y tubérculo con el objetivo de verificar las condiciones en las cuales ocurre la liberación de zoosporas.
- ▶ Para tal fin se realizaron dos experimentos, en el primero se evaluó el efecto del agua y extracto de raíces y en el segundo el extracto de raíces y las diferentes fuentes de inóculo.
- ▶ Las evaluaciones se hicieron por conteo de zoosporas móviles durante **120 horas** cada **24 horas**. Se observó que el exudado de raíz tiene una alta influencia en la liberación de zoosporas, la cual ocurre entre los **15 y 23 °C** a partir de las **48** y hasta las **96 horas**, no se detectaron diferencias entre las fuentes de inóculo, lo que indica que independiente de su origen, si existen las condiciones ambientales adecuadas los quistosoros, tienen la capacidad de liberar un número suficiente de zoosporas que potencialmente pueden iniciar el proceso de infección en el hospedero.





## Artículo


# Análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano

### ■ MÉTODOS

Se recolectaron 10 muestras de lechuga, 10 de berro y 10 de rúcula en los mercados libres y supermercados en la región oeste de la ciudad de Sao Paulo. Los vegetales se habían envasado en bolsas individuales de plástico. Se enviaron al Laboratorio de Análisis Clínico. Fueron determinadas como unidad de muestra para los vegetales, hojas enteras, que en el laboratorio se separaron en 2 lotes, íntegras y fragmentadas.

### PROCEDIMIENTO

Fragmentación parcial de las 10 muestras de cada uno de los vegetales en duplicados, se terminó con 30 muestras para la técnica HPJ y 30 para la técnica F. Posteriormente, fueron sumergidos en agua destilada y dejados en reposo para la sedimentación durante un período de 24 h.<sup>2,15</sup>.

- 
- ▶ Se recogieron 10 mL de lo separado de cada una de las muestras, el material fue pasado a tubos de 13 x 100 mm y centrifugado a 2 500 rpm durante 1 min por 4 veces; la parte superior fue desechada. En el último lavado, se añadieron 3 mL de solución de sulfato de zinc (33 %).<sup>2,16</sup>
  - ▶ Poco después, se recogió con una espátula de platino una película que se formó en la superficie del tubo, para después pasarla a placas de vidrio y, a continuación, teñirla con lugol.<sup>2</sup>
  - ▶ Después de los procesos de separación y centrífugo-flotación, las muestras fueron numeradas e identificadas según el tipo de planta y técnica utilizada. Todas las muestras se analizaron por triplicado durante 3 min en un microscopio óptico, tanto las fragmentadas como las íntegras de las 2 técnicas llegaron a un total de 360 lecturas. Las muestras positivas fueron contadas en números de quistes, huevos y larvas, verificados por campo para los análisis estadísticos.



## ► ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los datos se agruparon y se analizaron mediante porcentajes. Una metodología gráfica de análisis propuesta por *Bland y Altman* (de Bland-Altman análisis gráfico)<sup>17</sup> fue utilizada para evaluar la concordancia entre los 2 métodos de análisis, que marcó las diferencias entre los valores obtenidos con las pruebas en contra de las medias de ambos valores.

## ► RESULTADOS

- De las muestras analizadas por triplicado (n= 120), 46,6 % presentó resultados positivos para algún tipo de parásito. Las muestras de lechuga fueron las más contaminadas con 52,5 % ,seguido por la rúcula con 45,0 % y, por último, el berro con 42,5 % . Entre los contaminantes observados, hubo un predominio de *Balantidium coli*, positivo en 24 muestras en total, que representa 20,0 % de la contaminación de los lotes en general y cuando se evaluaron por separado especies de plantas, el porcentaje resultó de 45,0 % de la contaminación de la lechuga, 15,0 % de la contaminación de la rúcula y 2,5 % de contaminación del berro.
- La presencia de quistes de *Entamoeba coli* fue encontrado en 21,6 % del total de los lotes (estructura más frecuente), con 12,5 % en la lechuga, 17,5 % en los berros y 27,5 % en la rúcula. La *Entamoeba histolytica* se detectó en 5 % de los lotes, con frecuencia de 7,5 % en la lechuga, 7,5 % en la rúcula y en el berro. En cuanto a los helmintos, el análisis reveló la presencia de huevos de *Trichuris trichiura* en 4 muestras de berro (3,3 % de los lotes y 10,0 % del total de la contaminación de ese vegetal), y larvas de *Strongyloides stercoralis* (identificados de acuerdo con la clave dicotómica de *Valada*<sup>18</sup>) se verificó también en las mismas muestras de berro (2,5 % del total).



# Artículo

Se pueden obtener cepas de paramecium de cáscaras de banano, peladura de papa, estiércol de bovinos, caprinos, cantidades pequeñas del horizonte orgánico de cualquier suelo

## ► **Obtención de la Población de microorganismos**

La obtención de la cepa de Paramecium Sp. se logra cogiendo el pasto que es sometido, a un proceso de deshidratación al medio ambiente. La obtención de paramecios se puede hacer directamente de pasto no deshidratado haciendo una infusión, pero la tasa de reproducción es muy baja con respecto al primer procedimiento.

## ► **Preparación del Medio de Cultivo**

Se llena el botellon con agua normal del acueducto y hay dos formas de eliminar las trazas de cloro que contiene esta: Una es dejando reposar el agua durante 48 horas para posteriormente verter el forraje deshidratado y la segunda es agregarle al agua del frasco un gramo de hiposulfito de sodio e inmediatamente introducir el pasto.



## ► Siembra

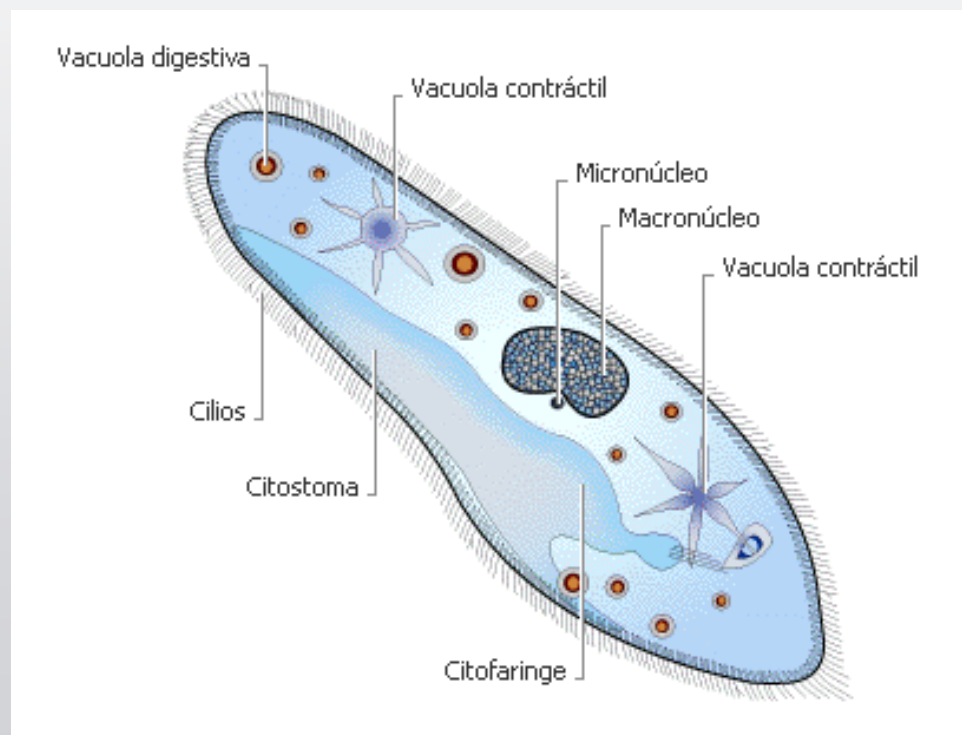
Una vez almacenada y acondicionada el agua se procede a introducir en los recipientes el pasto completamente deshidratado (previa exposición del forraje al sol durante 15 días). La cantidad de pasto a sembrar es de 7gr por cada 4litros de agua. concentraciones mayores de materia orgánica dentro de los frascos conduce a una mala fermentación y posterior pudrición del medio de cultivo.

## ► Nutrición y Alimentación del Cultivo

Durante los dos primeros días se produce un bloom de bacterias las cuales se alimentan de los detritus que están en suspensión en el liquido, sobre el tercer o cuarto día ya hay eclosión de paramecios y estos se alimentaran de las bacterias puesto que ellos son holozoicos; cuando el cultivo toma un color marrón transparente y no libere ningún olor, fenómeno que sucede alrededor del quinto o sexto día es el momento de empezar a nutrir y a alimentar la colonia de paramecios.

## ► Extracción de los Paramecios

La mayoría de los protozoarios entre ellos los paramecios tienen fototropismo positivo, esta particularidad nos sirve para que direccionando un haz de luz (una linterna) estos microorganismos se agrupen en grandes nubes de donde es muy fácil extraerlos con una jeringa o un gotero





# Artículo. Búsqueda de quistes y huevos de parásitos intestinales humanos en vegetales y frutas

## Muestreo

- Se investigaron dos mercados de la zona metropolitana (A y B)
- En cada mercado se tomaron 25 muestras de 25 gramos de cada fruta

- Se estudiaron muestras de apio, berro, cilantro, col jícama, fresas, lechuga, pápalo, pepino, rábano y zanahoria.
- Vegetal más contaminado: A: cilantro. B: apio

## Hallazgos

- Comensales: *Entamoeba coli* y ***Endolimax nana***
- Patógenos: *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Trichuris trichura*

I = Fruta o verdura sin lavar  
 II = Fruta o verdura lavada al chorro del agua  
 III = Fruta o verdura escaldada  
 IVa = Fruta o verdura tratada con Hidroclonazone  
 IVb = Fruta o verdura tratada con Microdyn  
 V = Fruta o verdura tratada con detergente

Eh = *Entamoeba histolytica*  
 G1 = *Giardia lamblia*  
 Tt = *Trichuris trichiura*  
 En = *Endolimax nana*  
 Ec = *Entamoeba coli*

### Resultados obtenidos según la variante aplicada Mercado "A"

VEGETALES	I	II	III	IVa	V	TOTAL
Apio	0	0	0	Eh	Eh	2
Berro	2 Ec, Eh	0	0	Ec, Eh	0	5
Cilantro	Ec, Tt, Eh	0	Eh, Ec	0	2 Ec	7
Col	0	0	0	0	0	0
Fresa	0	0	0	0	0	0
Jícama	0	0	0	0	0	0
Lechuga	0	3Ec, Eh	0	0	Ec	5
Pápalo	0	0	0	0	0	0
Pepino	0	0	0	0	0	0
Rábano	Ec	Ec	G1	0	0	3
Zanahoria	0	0	0	0	0	0
TOTAL	7	5	3	3	4	22

### Resultados obtenidos según la variante aplicada Mercado "B"

VEGETALES	I	II	III	IVb	V	TOTAL
Apio	0	G1, Ec	Ec	2 Eh	G1	6
Berro	0	Eh	0	0	Eh	2
Cilantro	0	0	0	Ec	0	1
Col	Ec, G1	0	Ec	Ec	0	4
Fresa	0	0	Ec	0	Eh, Ec	3
Jícama	Ec	0	0	0	0	1
Lechuga	0	Eh	0	Ec	0	2
Pápalo	0	0	0	0	0	0
Pepino	0	0	0	0	0	0
Rábano	Ec	0	0	0	0	0
Zanahoria	0	Eh	0	0	0	1
TOTAL	3	5	3	5	4	20

### Porcentaje de quistes y huevos de parásitos intestinales humanos, contaminantes de los vegetales estudiados

PARÁSITOS	Mercados	
	"A"	"B"
Entamoeba coli	50.0	50.0
Entamoeba histolytica	31.8	35.0
<i>Endolimax nana</i>	9.0	0.0
Giardia lamblia	4.5	15.0
Trichuris trichiura	4.5	0.0

# Interpretación de Resultados

- ▶ *Endolimax nana* es un parásito comensal, que se propaga a través del agua sucia que se usa inadecuadamente para lavar frutas y verduras.
- ▶ En otros estudios, al igual que en el laboratorio de Microbiología General, se han encontrado indicios de la presencia de *Endolimax nana*, en hortalizas como; zanahoria, apio, cilantro, entre otros. Se realiza la búsqueda de parásitos en diferentes muestras.
- ▶ Posteriormente se verifica al estudiar su morfología.
- ▶ El parásito que encontramos experimentalmente, coincide con el parásito (entre otros) que se ha encontrado en diversas muestras de hortalizas.
- ▶ Los artículos se redujeron solamente a nuestro país (México), para que no se presentaran variaciones por el clima, suelo, etc.
- ▶ Las bacterias que se encontraron en las hortalizas pueden causar daños a la salud de las personas, sobre todo por tratarse de una cantidad muy grande de bacterias.



# Conclusiones

- ▶ Se realizó la búsqueda de formas parasitarias de protozoarios y helmintos intestinales en las muestras de hortalizas compradas o expendidas en mercados o tiendas de abarrotes. Observamos como algunos protozoarios pueden estar presentes en las hortalizas y causar enfermedades intestinales, que se pueden evitar, lavando y desinfectando las hortalizas.
- ▶ La evidente presencia de parásitos intestinales en los alimentos analizados refuerza el tema en discusión como es la falencia que se presenta en los procesos agrícolas y la mala manipulación de los productos en los puntos de distribución, dado que este tipo de productos es de fácil acceso y son productos de consumo masivo por sus propiedades alimenticias, la vulnerabilidad de la población es más alta y la propensión al contagio de enfermedades de este tipo es alta, y así se convierte en un problema de salud pública. Los parásitos detectados son causantes de trastornos intestinales principalmente en la población infantil, personas de la tercera edad y pacientes inmunocomprometidos



# Bibliografía

- ▶ Clínica, F. M. (s.f.). Búsqueda de quistes y huevos de parásitos intestinales humanos en vegetales y frutas . Revista Mexicana de Patología Clínica .
- ▶ Gutierrez, E. O. (19 de Junio de 2013). Microbiología . Obtenido de Microbiología :  
<https://microbiologia.wordpress.com/2013/06/19/endolimax-nana/>
- ▶ <http://www.redalyc.org/pdf/1799/179915376004.pdf>
- ▶ [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602010000100004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602010000100004)