

ARTÍCULO ORIGINAL / ARTICLE ORIGINAL


Evaluación de métodos diagnósticos tradicionales y moleculares para la detección e identificación de parásitos en hortalizas frescas comercializadas en un Mercado Municipal de Encarnación, Paraguay


Evaluation of traditional and molecular diagnostic methods for the detection and identification of parasites in fresh vegetables sold at a municipal market in Encarnación, Paraguay

Karina Cáceres-Fernández^{1,2}, Ramona Morales-Rivé¹, Mariana Villalba-Rinck¹, Thalissa Moreno-Pacheco¹

¹Universidad Autónoma de Encarnación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Itapúa, Paraguay.

²Laboratorio de Análisis Clínicos de Alta Complejidad RH+, Itapúa, Paraguay.

Autor correspondiente: Karina Cáceres Fernández , karina.caceres97@unae.edu.py, +595 991 621474.

Editor responsable: Macarena Morínigo Martínez , Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Instituto Nacional de Salud, Asunción, Paraguay.

Cómo citar este artículo: Cáceres-Fernández K, Morales-Rivé R, Villalba-Rinck M, Moreno-Pacheco T. Evaluación de métodos diagnósticos tradicionales y moleculares para la detección e identificación de parásitos en hortalizas frescas comercializadas en un Mercado Municipal de Encarnación, Paraguay. Rev salud publica Parag. 2025; 15(3): 45-52.

Recibido: 28/04/2025. **Aceptado:** 09/07/2025

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades parasitarias transmitidas por alimentos representan un importante problema de salud pública global, y las hortalizas de consumo crudo pueden contaminarse con parásitos durante su producción, manipulación y comercialización, constituyendo un riesgo para la salud humana. Ante esta problemática, el objetivo de este estudio fue detectar ADN de parásitos protozoarios en hortalizas de hoja verde comercializadas en mercados de Encarnación, Paraguay, mediante qPCR en tiempo real.

Materiales y métodos: Estudio observacional descriptivo-analítico de corte transversal. Se analizaron 60 muestras de hortalizas de hoja verde (lechuga, acelga, perejil, albahaca) recolectadas de 15 mercados municipales durante junio-agosto 2024. Se aplicaron tres métodos diagnósticos: sedimentación por hisopo de placa Jacobs (HPJ), flotación en solución salina saturada (SS) y qPCR en tiempo real para detección de *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica* y *Toxoplasma gondii*.

Resultados: El 71,7% (43/60) de las muestras resultaron positivas por qPCR. Se detectó *G. lamblia* en 33,3% (20/60), *Cryptosporidium* spp. en 30% (18/60), *E. histolytica* en 23,3% (14/60) y *T. gondii* en 1,7% (1/60). La lechuga presentó la mayor prevalencia de contaminación (84,6%; 22/26). La qPCR demostró significativamente mayor sensibilidad diagnóstica que los métodos microscópicos convencionales ($p < 0,001$).

Conclusión: Se evidenció alta presencia de parásitos protozoarios en hortalizas de hoja verde comercializadas en Encarnación, representando un riesgo significativo para la salud pública y evidenciando la necesidad urgente de implementar mejores prácticas de higiene en la cadena de producción y comercialización.

Palabras clave: enfermedades transmitidas por alimentos, inocuidad alimentaria, verduras, parásitos.

ABSTRACT

Introduction: Foodborne parasitic diseases pose a major global public health concern, and raw-consumption vegetables can become contaminated with parasites during production, handling, and marketing, thereby posing a risk to human health. In response to this issue, this study aimed to detect protozoan parasite DNA in leafy green vegetables sold in markets in Encarnación, Paraguay, using real-time qPCR.

Materials and methods: Descriptive-analytical cross-sectional observational study. Sixty samples of leafy green vegetables (lettuce, chard, parsley, basil) collected from 15 municipal markets during June-August 2024 were analyzed. Three diagnostic methods were applied: Jacobs plate swab sedimentation (HPJ), saturated saline solution flotation (SS), and real-time qPCR for detection of *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*, and *Toxoplasma gondii*.

Results: 71.7% (43/60) of samples tested positive by qPCR. *G. lamblia* was detected in 33.3% (20/60), *Cryptosporidium* spp. in 30% (18/60), *E. histolytica* in 23.3% (14/60), and *T. gondii* in 1.7% (1/60). Lettuce showed the highest contamination prevalence (84.6%; 22/26). qPCR demonstrated significantly higher diagnostic sensitivity than conventional microscopic methods ($p < 0.001$).

Conclusion: High prevalence of protozoan parasites was evidenced in leafy green vegetables commercialized in Encarnación, representing a significant public health risk and evidencing the urgent need to implement better hygiene practices in the production and commercialization chain.

Keywords: foodborne diseases, food safety, vegetables, parasites.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son los principales contaminantes de alimentos, del aire, del agua, de las superficies interiores de las casas, de las superficies de las industrias (farmacéutica, alimentos, cosméticos y veterinaria) y como patógenos importantes para la salud humana (1).

Existen alrededor de 250 agentes causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), entre los que se incluyen bacterias, hongos, parásitos, virus y priones; la ingesta de alimentos contaminados por estos agentes etiológicos representa un problema de salud a nivel mundial (2,3). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la falta de inocuidad alimentaria transmite alrededor de 200 enfermedades diferentes con síntomas leves hasta letales. Una de cada diez personas en todo el mundo enferma tras consumir alimentos contaminados, de las cuales mueren 420.000, incluidos 125.000 niños menores de 5 años (4).

En Paraguay, el mayor número de brotes y afectados se registró en 2019, con nueve brotes en seis regiones sanitarias y 166 casos. Ese año, en dos brotes se tomaron muestras: en Paraguarí se aisló *E. coli* en alimentos, y en la Región Sanitaria Capital se identificaron coliformes fecales, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*. En 2021, el brote de mayor magnitud afectó a 140 personas en Bahía Negra (Alto Paraguay), por consumo de agua no tratada, aislándose *Salmonella spp.* En 2022, en la mitad de los brotes investigados se obtuvieron muestras, detectándose *E. coli* en alimentos, *Salmonella enteritidis* en heces y *Salmonella spp.* en alimentos (5).

Las ETA mantienen su vigencia como entidades nosológicas en salud pública en diferentes partes del mundo; sin embargo, las especies de agentes patógenos varían respecto del lugar y época de estudio, causando infecciones, principalmente por la contaminación fecal de productos agrícolas, donde la mayoría de los enteroparásitos viven y se multiplican dentro de un reservorio animal, del cual dependen primordialmente para su supervivencia y, de esta manera, son transmitidos accidentalmente por contaminación orofecal, causando daños de importancia clínica (3,6,7).

A su vez, Ospina (8) expone que, debido al aumento demográfico, la tala indiscriminada y el calentamiento global, se ha disminuido la cantidad de agua potable a la que se puede acceder, lo que genera que el uso de aguas residuales como alternativa para riego sea más progresivo. Las granjas que utilizan heces de animales como abono sin tratamiento previo, corren el riesgo de incorporar formas parasitarias viables que resulten infectantes para los consumidores, tal como los géneros *Toxoplasma*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Entamoeba*, entre otros (9). Al igual que el abono, el agua sin el tratamiento adecuado significa la exposición a parásitos patógenos para el ser humano.

El consumo de vegetales crudos, como las hortalizas y frutas, sirven de vehículos de transmisión de parásitos intestinales de interés médico-zoonótico (10). La

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) publicó un documento que describe los principales parásitos transmitidos a las personas a través del consumo de carne de cerdo, pescado y crustáceos, verduras y agua contaminada, en los que las medidas de seguridad alimentaria desempeñan un papel importante para su prevención y control (11).

La variabilidad de los agentes patógenos, el porcentaje de contaminación en los vegetales y la diversidad de regiones afectadas indican que se trata de un problema con amplia distribución geográfica y afecta tanto a las zonas rurales como las metropolitanas, poniendo en riesgo todos los días la salud de cientos de personas (12).

Se ha descrito que los vegetales de superficies amplias y rugosas, como los de hojas y las plantas rastreras, son los que están más expuestos a la contaminación (13). Varios estudios coinciden en que la lechuga es la hortaliza con mayor índice de contaminación, con porcentajes diferentes, tanto de contaminación como del tipo de microorganismo en cada región; seguida de la espinaca y la acelga (13-15). Baculima Tenesaca et al. (16) realizaron un estudio sobre la presencia de parásitos en hortalizas de los mercados públicos de Cuenca y encontraron 44,4% de presencia de parásitos en perejil y 38,9% en lechuga. Así también, Falcone (17) analizó 5 variedades de hortalizas (lechuga, acelga, espinaca, rúcula y achicoria/radicheta) y reportó que todas presentaron contaminación parasitaria, de las cuales el 64,7% eran de lechuga.

En la ciudad de Encarnación, departamento de Itapúa, Paraguay al igual que otras ciudades del país y del mundo, existen conglomerados comerciales con venta masiva de productos agrícolas frescos, donde se visualizan condiciones de expendio precarias y medidas de salubridad rudimentarias, tal como se menciona en otras investigaciones realizadas en México, Colombia, Perú y Argentina, a lo largo de la última década (8,9,14,18,19).

Por ello, la detección oportuna de microorganismos con potencial patogénico es esencial para prevenir brotes, proteger la salud de los consumidores y mitigar pérdidas económicas en la industria alimentaria. En este contexto, los métodos diagnósticos tradicionales han demostrado ser limitados, mientras que las técnicas moleculares emergen como una solución innovadora, capaz de superar barreras históricas en la identificación precisa y rápida de microorganismos, por lo que han surgido como una alternativa revolucionaria. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) y sus variantes, como la PCR en tiempo real (qPCR), se destacan por su capacidad de detectar y cuantificar microorganismos patógenos con rapidez y alta especificidad. Estas herramientas no solo ofrecen una sensibilidad y especificidad superiores, sino que también permiten el análisis simultáneo de múltiples patógenos. Esto es crucial para optimizar los diagnósticos en entornos clínicos (20-22).

En paralelo, estudios centrados en la detección de parásitos en hortalizas, como el de Sena Barnabé et al. (23), ilustran la relevancia continua de métodos específicos como Hoffman, Pons y Janer (HPJ) y Faust (F). Estos métodos, aunque menos avanzados tecnológicamente, son esenciales en entornos con recursos limitados, donde la infraestructura necesaria para implementar técnicas moleculares aún no está disponible. Asimismo, ofrecen una alternativa efectiva para la detección de huevos, larvas y quistes en matrices vegetales, con resultados que complementan las capacidades moleculares en ciertas aplicaciones.

Como capital del departamento de Itapúa, Encarnación es un punto estratégico para la comercialización de productos hortícolas, tanto producidos a nivel local como desde otros puntos del departamento. El mercado municipal de Encarnación está ubicado en la zona céntrica de la ciudad y constituye una zona estratégica de comercialización de productos agrícolas frescos, proveniente de pequeños productores locales y de zonas periurbanas. Debido a su alta concurrencia diaria y a sus condiciones variables de manipulación y exposición de alimentos, representa un entorno relevante para evaluar el riesgo de contaminación parasitaria en productos hortícolas de consumo masivo.

Teniendo en cuenta las características descriptas, los antecedentes y considerando la importancia de la vigilancia epidemiológica como herramienta esencial para identificar problemas de saneamiento y prevenir riesgos para la salud pública, el objetivo de esta investigación fue comparar el porcentaje de detección de parásitos en hortalizas frescas comercializadas en un mercado municipal de Encarnación, Paraguay durante el primer semestre del 2024 por técnicas diagnósticas tradicionales versus técnicas moleculares, con el fin de evaluar su utilidad diagnóstica en contextos de vigilancia alimentaria. En este contexto, este estudio no solo aporta datos actualizados sobre la contaminación parasitaria de hortalizas frescas consumidas crudas, sino también evalúa el rendimiento diagnóstico de métodos convencionales y moleculares, lo que permite proponer enfoques integrados para mejorar la vigilancia sanitaria en productos vegetales. Esta aproximación representa un avance metodológico en el ámbito de seguridad alimentaria en Paraguay y puede servir como base para futuras políticas de control sanitario a nivel regional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional descriptivo-analítico de corte transversal, con muestreo no probabilístico por conveniencia según tipo de hortaliza (lechuga, repollo, perejil) y ubicación de comercialización (dentro y fuera del mercado municipal), recolectándose 60 muestras divididas entre muestras de adentro y afuera del mercado municipal de la ciudad de Encarnación durante el primer semestre del año 2024. Las hortalizas fueron puestas en bolsas de polietileno, etiquetadas y transportadas al laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas y

Farmacéuticas de la Universidad Autónoma de Encarnación.

Para el tratamiento de las muestras, se deshojaron y partieron en trozos 40 gramos. Se introdujeron en bolsa plástica con cierre hermético que contenían 400 ml de agua destilada y se rotularon con fecha, tipo de hortaliza y zona de muestreo. Las bolsas fueron agitadas vigorosamente por unos minutos y se dejaron en reposo por 24 horas. Cada muestra se trató por duplicado.

Transcurridas las 24 horas, se procedió mediante la técnica de sedimentación Hoffman, Pons y Janer (HPJ) con modificaciones (23), para la cual, se retiraron los restos de hojas dejando el agua resultante en reposo en vasos de precipitado durante una hora. Posteriormente, se decantó 9/10 partes de la solución y el sedimento fue colocado en tubos cónicos, se centrifugaron por 10 minutos a 3000 r.p.m. y se descartaron los sobrenadantes, quedando los sedimentos que se extendieron sobre portaobjetos por goteo sobre una gota de solución fisiológica al 0,95% y coloración con Lugol para la observación al microscopio óptico, con objetivos de 10X y 40X. Con esta técnica se identificaron como muestras positivas aquellas que contenían quistes, huevos o larvas de parásitos en diferentes estadios.

A partir de los sedimentos obtenidos con la técnica HPJ, se procedió a aplicar la técnica de flotación Sheather Sugar (SS) con modificaciones (24) para confirmar la presencia de huevos y quistes de parásitos. Se colocó en un tubo cónico 1/3 del sedimento y 2/3 de agua, se centrifugó a 1500 r.p.m. por 5 minutos hasta que el sobrenadante se observe limpio. Se eliminó el sobrenadante y se agregó solución saturada de sacarosa hasta 1 cm del borde del tubo. Nuevamente se centrifugó a 2500 r.p.m. por 5 minutos, se dejó reposar en una gradilla por 5 minutos y luego se tomó como muestra la película formada en la parte superficial del tubo. Esta se extendió sobre un portaobjeto con una gota de Lugol y se realizó la observación al microscopio óptico en 10X y 40X. Los parásitos observados al microscopio óptico fueron fotografiados para posterior identificación según el manual de la Organización Panamericana de la Salud (25).

Para la detección molecular se empleó la técnica de qPCR, para detectar e identificar la presencia de patógenos gastrointestinales a partir de los sedimentos restantes en el Laboratorio Privado de análisis clínicos RH Positivo. Primeramente, se realizaron extracciones y purificaciones para obtener ácidos nucleicos por medio de una extracción semiautomatizada utilizando kits comerciales. Posteriormente, se realizaron las qPCR basadas en 5' exonucleasa con sondas específicas marcadas con fluoróforos y quencher, donde cada producto de extracción fue amplificado mediante los fluoróforos específicos (FAM, HEX, Cy5, ROX) para la detección de los patógenos seleccionados, para lo cual, se utilizaron kits multiplex de la marca Viasure Panel Gastrointestinal I (26) que permiten la identificación simultánea de múltiples patógenos, incluyendo virus,

bacterias y parásitos. Este kit detecta los siguientes patógenos: *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella/EIEC*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, *Gardia lamblia*, Norovirus GI/GII, Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus y Sapovirus.

Las condiciones de ciclados fueron las siguientes:

1. Etapa: Activación inicial, Temperatura (°C): 95, Tiempo: 2 minutos, N° de ciclos: 1.
2. Etapa: Desnaturalización, Temperatura (°C): 95, Tiempo: 10 segundos, N° de ciclos: 45.
3. Etapa: Alineamiento y extensión, Temperatura (°C): 60, Tiempo: 50 segundos, N° de ciclos: 45.

Los datos de amplificación se analizaron en función de los valores de Ct (ciclo umbral) siguiendo los criterios del kit comercial, donde el punto de corte para los Ct de cada patógeno fue ≤ 40 . Los resultados fueron procesados mediante el software QGene9600, especializado para la detección y análisis de los datos de qPCR, y se utilizaron controles internos (CI) para validar la calidad técnica de las amplificaciones con valores de Ct ≤ 35 . Finalmente, los resultados obtenidos fueron comparados con los estándares de referencia y se realizó un análisis de los valores de Ct para evaluar la sensibilidad y fiabilidad de las detecciones en cada muestra.

Los datos fueron tabulados según los resultados obtenidos mediante un análisis estadístico utilizando estadística descriptiva e inferencial. La estadística descriptiva incluyó el cálculo de frecuencias absolutas, relativas y porcentuales para las variables: tipo de hortaliza (lechuga, repollo y perejil), lugar de comercialización (interior y exterior del mercado) y resultado diagnóstico (positivos y negativos) para cada técnica utilizada. Además, se realizaron análisis comparativos por estadística inferencial. Mediante la prueba de chi-cuadrado de independencia se analizaron las asociaciones entre muestras positivas y lugar de muestreo (interior/exterior) considerando significancia estadística un valor p menor a 0,05. Para comparar el nivel de detección de las tres técnicas utilizadas, se realizó la prueba binomial para evaluar la proporción de muestras positivas detectadas por cada técnica y si estas diferían en la detección del 50% del total de muestras recolectadas, y la prueba de McNemar para datos pareados que permitió evaluar las diferencias significativas entre dos métodos. Los análisis estadísticos fueron realizados por medio del software Jamovi versión 2.6.44.0. Por último, se identificaron cualitativamente los tipos de parásitos más frecuentemente observados/detectados.

El estudio se realizó con muestras de hortalizas comercializadas públicamente, por lo que no requirió aprobación de comité de ética institucional. Se respetaron los principios de buenas prácticas de laboratorio y se mantuvo la confidencialidad de los datos de los comerciantes.

RESULTADOS

De las 60 muestras analizadas, el 71,7% (n=43) presentó contaminación parasitaria (Tabla 1). De las 43 hortalizas contaminadas, la lechuga mostró el mayor porcentaje de

contaminación (37,2%), seguida por el repollo (34,9%) y el perejil (27,9%). Con respecto a la prevalencia de parásitos en estos productos comercializados en el interior y exterior del mercado municipal, se detectaron parásitos en un 44,2% de las muestras tomadas en el interior del mercado y del 55,8% de las muestras tomadas en el exterior (Tabla 2). La prueba de chi-cuadrado fue de 0,07 (p=0,96); valores que no alcanzan significancia estadística (p \geq 0,05), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las hortalizas contaminadas de acuerdo con el zona de comercialización.

Tabla 1. Resultados de detección parasitaria en hortalizas de hoja verde. Encarnación, Paraguay, 2024 (n=60)

Hortaliza	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Lechuga	16 (26,7%)	4 (6,7%)	20 (33,4%)
Repollo	15 (25%)	5 (8,3%)	20 (33,3%)
Perejil	12 (20%)	8 (13,3%)	20 (33,3%)
Total	43 (71,7)	17 (28,3%)	60 (100%)

Tabla 2. Frecuencias de contaminación según lugar de comercialización en el mercado municipal de Encarnación, Paraguay (n=43)

Hortaliza	Ubicación de venta	n	%
Lechuga (n=16; 37,2%)	Interior	7	16,3
	Exterior	9	20,9
Repollo (n=15; 34,9%)	Interior	7	16,3
	Exterior	8	18,6
Perejil (n=12; 27,9%)	Interior	5	11,6
	Exterior	7	16,3
Total		43	100%

En cuanto a las técnicas utilizadas para la detección e identificación de contaminación parasitaria, la técnica qPCR detectó 43 muestras positivas, que representa el mayor porcentaje de detección (71,7%), resultado que fue estadísticamente significativo (p=0,001). Mientras que por la técnica de sedimentación HPJ se detectaron e identificaron parásitos en un 38,3% (23) de las muestras y con la técnica de flotación de SS se pudo confirmar la presencia de parásitos en 26 muestras (43,3%). Sin embargo, en ambas técnicas los análisis estadísticos no evidenciaron diferencias significativas (p=0,092 y p=0,36, respectivamente) (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados positivos para presencia de parásitos en hortalizas por tipo de método

Técnica	Resultado	n	Proporción	p valor
qPCR	Positivo	43	0.717	0.001
Sedimentación HPJ	Positivo	23	0.383	0.092
Flotación SS	Positivo	26	0.433	0.366

Con la prueba de McNemar para muestras pareadas se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los resultados obtenidos con la técnica de qPCR y de sedimentación HPJ (p<0,001), así como entre la qPCR y flotación SS (p<0,001), confirmando que la qPCR detectó un número significativamente mayor de contaminación que los métodos tradicionales. En cambio, la comparación entre sedimentación y flotación no mostró diferencias estadísticamente significativas (p=0,083) mostrando capacidad de detección similar de ambas técnicas (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación de las técnicas utilizadas para la detección de parásitos en las hortalizas (n=60)

Comparación	Técnica	Negativo n	Positivo n	Total n	Prueba de McNemar		
					Estadístico	Valor	p valor
A. qPCR vs HPJ							
Sedimentación HPJ	qPCR Negativo	17	0	17	χ² (gl=1) N	20,00 60	<0,001 -
	qPCR Positivo	20	23	43			
	Total	37	23	60			
B. qPCR vs SS							
Flotación SS	qPCR Negativo	17	0	17	χ² (gl=1) N	17,00 60	<0,001 -
	qPCR Positivo	17	26	43			
	Total	34	26	60			
C. HPJ vs SS							
Flotación SS	HPJ Negativo	34	3	37	χ² (gl=1) N	3,000 60	0,083 -
	HPJ Positivo	0	23	23			
	Total	34	26	60			

n=frecuencia; HPJ=Hisopo de placa Jacobs; SS=Solución salina; qPCR=PCR cuantitativa en tiempo real; gl=grados de libertad.

Las clases de parásitos identificados al microscopio óptico más frecuentemente por las técnicas de HPJ y SS fueron trematodos y nematodos, sin embargo, se logró observar mayor cantidad de protozoarios en las muestras. Algunas especies identificadas en diferentes estadios fueron *Ascaris sp.*, *Strongyloides sp.*, *Entamoeba spp.*, *Shistosoma mansoni*, *Trichuris trichura*, *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, *Ancylostoma spp.* y *Paramecium spp.*

En cuanto a la identificación molecular, se analizaron los datos obtenidos de la amplificación por qPCR correspondientes a cada tipo de hortaliza (repollo, perejil y lechuga), detectándose en la muestra de repollo la presencia de *Campylobacter sp.* con un valor promedio de Ct de 40,96. Los controles internos de calidad (CI) presentaron valores de Ct consistentes, oscilando entre 20,86 y 22,55. En la muestra de perejil se detectaron *Campylobacter sp.* y *Entamoeba histolytica*, con valores de Ct promedio de 36,30 y 39,67, respectivamente. Los controles internos en esta muestra también mostraron valores de Ct entre 21,39 y 24,37. En la muestra de lechuga, se detectó la presencia de *Cryptosporidium sp.* con un valor de Ct de 37,48 y *Entamoeba histolytica* con un Ct de 35,56. Los valores de los controles internos en esta muestra oscilaron entre 21,3 y 23,6.

Estos resultados muestran una baja carga genética de los patógenos detectados en las muestras, lo que puede estar relacionado con la mínima cantidad de material genético presente o la posible degradación de este, sin embargo, los valores del CI confirman una adecuada calidad técnica de la amplificación y proporcionan la confiabilidad técnica del ensayo.

DISCUSIÓN

La prevalencia observada en este estudio (71,7%) en considerablemente mayor que las reportadas en investigaciones realizadas en otros países de América Latina. En Talca, Chile, en el año 2019 se encontró que, de las hortalizas analizadas, un 29% contenía parásitos, siendo las hortalizas de tallo corto las más contaminadas en comparación a los tomates y morrones, probablemente porque el agua no llega directamente al fruto (27). Mientras que, Cazorla et al. (10) en Coro, Venezuela ya habían detectado una prevalencia global del 32,28% (41/127), siendo el apio español, el repollo y la lechuga las hortalizas que presentaron mayores porcentajes de

contaminación parasitaria, del mismo modo que Rivera Jacinto et al. (28) ya en el año 2009, en su estudio realizado en Cajamarca, Perú, había encontrado mayor contaminación en perejil y lechuga.

Las hortalizas que han sido asociadas a agentes patógenos incluyen principalmente a las de tallo corto; lechuga, espinaca, perejil, cebolla, cilantro, repollo, rábano, etc. La lechuga es una de las verduras más consumidas en ensaladas frescas y son muy comunes dentro de la dieta, por lo tanto, es el cultivo de mayor preocupación, ya que reportes latinoamericanos indicaron que es una de las hortalizas de mayor susceptibilidad de contaminación, debido probablemente a que se riegan con aguas con cierto grado de descarga residual proveniente de las comunidades locales, lo que la hace una de las posibles causas de alta incidencia de enfermedades intestinales reportadas por las autoridades de salud (28,29). Varios estudios coinciden en que la lechuga es la hortaliza con mayor índice de contaminación, con porcentajes diferentes, tanto de contaminación como del tipo de microorganismo, en cada región; seguida de la espinaca y la acelga (13–17). En este estudio, se detectó mayor contaminación en la lechuga (37,2%).

Por otro lado, la ausencia de diferencias significativas (p = 0,96) en la contaminación de las muestras de hortalizas recolectadas dentro y fuera del mercado municipal coinciden con las observaciones hechas por Valdés Leite (27) y Cazorla et al. (10) quienes también concluyeron en sus investigaciones que no había una relación entre la presencia de parásitos y la procedencia de las hortalizas. Esto sugiere que uno de los posibles factores determinantes de contaminación se origina en el campo, durante el cultivo o el manejo previo a la comercialización, más que en las condiciones de venta, sugiriendo que la zona de venta no es un factor primario de contaminación.

En investigaciones acerca de la contaminación de aguas de uso agrícola en algunas zonas productivas periurbanas de Lima y de otras importantes regiones agrícolas, incluyendo Cajamarca, se encontraron que no sólo se presentan índices de coliformes fecales por encima de los estándares nacionales e internacionales para aguas de riego, sino que se reportan microorganismos entéricos como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Giardia lamblia*, *Ciclospora*

spp., *Cryptosporidium spp.* y otros potencialmente patógenos (29). Además, existen más de 15 géneros de protistas capaces de infectar el tracto digestivo humano, entre ellos, Amebozoa, siendo *la Entamoeba histolytica* la única especie que causa enfermedad en humanos, solamente un número limitado de infecciones por este parásito progresa hasta causar síntomas clínicos y, de las 15 especies de *Cryptosporidium* capaces de infectar humanos, *C. hominis* y *C. parvum* son responsables del 90% de los casos reportados globalmente, mientras que, existen más de 340 especies de helmintos asociadas a humanos, la mayoría son zoonóticos poco frecuentes y se destacan a *A. lumbricoides*, *A. duodenale*, *N. americanus* y *Strongyloides stercoralis* (clase Chromadorea) y *Trichuris trichiura* (clase Enoplea) como principales especies causantes de las geohelmintiasis en el ser humano, a través de la ingesta de huevos infectantes o por penetración de larvas infectivas a través de la piel. Al menos 80 especies de trematodos, muchos de ellos zoonóticos se pueden transmitir por alimentos crudos o poco cocinados que contienen las formas infectivas (metacercarias), destacando a la *Fasciola spp.* como una de las principales (22). En relación con los tipos de microorganismos identificados cualitativamente en las hortalizas analizadas, se observaron al microscopio óptico en diferentes estadios a *Ascaris sp.*, *Strongyloides sp.*, *Entamoeba spp.*, *Shistosoma mansoni*, *Trichuris trichiura*, *Cryptosporidium spp.*, *Gardia spp.*, *Ancylostoma spp.* y *Paramecium spp.*, lo que las vuelve vectores importantes en la transmisión de microorganismos patógenos, especialmente cuando no se realiza una higiene adecuada previa a su consumo.

En la detección molecular, los valores de Ct son indicativos de una baja carga genética de los patógenos detectados (*Campylobacter sp.*, *Cryptosporidium sp.* y *Entamoeba histolytica*) en las muestras analizadas, lo que podría estar relacionado con la baja concentración de material genético o su posible degradación debido al manejo de las hortalizas, sin embargo, confirma la presencia de microorganismos observados al microscopio y detecta otros que pasaron desapercibidos por las técnicas convencionales, respaldado por los valores de los controles internos de calidad (CI), que oscilaron entre 21,3 y 23,6, los que confirmaron que el ensayo se realizó correctamente y con una calidad técnica adecuada, validando la confiabilidad de los resultados obtenidos (30).

En cuanto a las diferencias entre las tres técnicas utilizadas para la detección e identificación parasitaria, los resultados confirmaron una alta sensibilidad diferencial superior de la qPCR frente a las técnicas tradicionales, resultados respaldados por estudios que destacan la sensibilidad de la qPCR para detectar protozoos como *Giardia spp.* y *Entamoeba spp.* en muestras de alimentos, debido a su capacidad para amplificar ADN en bajas concentraciones, incluso cuando la morfología está degradada (31,32). La microscopía depende de la integridad visual de los huevos o quistes y del conocimiento del analista, mientras que la qPCR, al

enfocarse en secuencias específicas, evita sesgos operativos (31). Además, la compleja matriz vegetal puede reducir la eficacia de los métodos tradicionales, mientras que la extracción de ADN adaptada a la qPCR mejoró la recuperación del material genético, ampliando su límite de detección (33).

En conclusión, se detectó una alta prevalencia de contaminación por parásitos en las especies de lechuga, repollo y perejil, siendo la lechuga la hortaliza con mayor porcentaje de muestras positivas. No se observaron diferencias significativas entre los comercios ubicados adentro y afuera del mercado, lo que sugiere que la contaminación parasitaria es un problema generalizado. Se confirmó estadísticamente que la técnica qPCR detectó mayor porcentaje de contaminación parasitaria frente a las técnicas tradicionales, sin embargo, la integración de las tres técnicas permitió identificar una amplia diversidad de parásitos, destacando la utilidad de cada una para el diagnóstico.

Es importante reconocer que el tamaño muestral pudo limitar análisis estadísticos más robustos para detectar diferencias menores de contaminación según zona de comercialización y el diseño transversal de estudio sin un análisis en diferentes estaciones del año contemplando otras variables como humedad y temperatura.

Estos resultados resaltan la necesidad de implementar medidas de inocuidad alimentaria y realizar estudios más amplios para reducir los riesgos de asociación de Enfermedades Transmitidas por Alimentos al consumo de hortalizas crudas. Además, sugieren la urgencia de fortalecer la vigilancia alimentaria por medio de la implementación de protocolos de buenas prácticas agrícolas y capacitaciones a productores y vendedores sobre prácticas de higiene durante la cosecha, el transporte y la comercialización de productos hortícolas.

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Financiamiento: Proyecto autofinanciado por el Consejo Superior de Gobierno de la Universidad Autónoma de Encarnación, Paraguay; según Resolución N° 26/2024.

Declaración: Las opiniones expresadas en este manuscrito son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente los criterios ni la política de la RSP y/o del INS.

Contribuciones de los autores: KCF: Concepción del tema de investigación, elaboración del protocolo de investigación, procesamiento, análisis de datos, redacción de resultados, redacción del manuscrito y aprobación de la versión final. RMR: Colaboración en la elaboración del protocolo de investigación, recolección de datos, procesamiento y aprobación de la versión final. TMP: Recolección de datos, procesamiento y redacción del manuscrito. MVR: Colaboración en la elaboración del protocolo de investigación y recolección de datos.

Agradecimientos: A los estudiantes del 4° año de la carrera de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas

y Farmacéuticas de la Universidad Autónoma de Encarnación, por haber colaborado en la recolección y pretratamiento de las muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Moreno Hernández NA. Comparación de tres desinfectantes de origen químico (Tego 51, Suredis y Timsem) con desinfectantes y extractos de origen natural (revisión bibliográfica) [tesis en Internet]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2014 [citado 2025 Abr 2]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10554/58036>
<https://bibliotecadigital.oducal.com/Record/ir-10554-58036>
- Fernández S, Jhunior M, Bu J, Baca Y, Chávez V, Montoya H, et al. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS): una alerta para el consumidor. *Cienc Lat Rev Científica Multidiscip.* 2021;5(2):2284-98. doi: 10.37811/cl_rcm.v5i2.433
- Benítez Sotelo A, Martínez C, Sánchez S. Características epidemiológicas y clínicas de las enfermedades transmitidas por alimentos. *Paraguay 2015-2016. Rev Salud Publica Parag.* 2019;9(1):33-40. doi: 10.18004/rspp.2019.junio.33-40
- Organización Mundial de la Salud. Inocuidad de los alimentos [Internet]. Ginebra: OMS; 2024 [citado 2025 Abr 2]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
- Paraguay, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Informe especial: Programa Nacional de Enfermedades Transmitidas por Agua y Alimentos en Paraguay, 2019-2023 [Internet]. Asunción: MSPBS; 2023 [citado 2025 Abr 2]. Disponible en: https://dgvs.mspbs.gov.py/wp-content/uploads/2023/08/14082023_INFORME-EPECIAL_ETA_2019_2023.pdf
- Quito López CA. Determinación de enteroparásitos en frutas, verduras y hortalizas como vehículo de infecciones en Pungal Grande y San Pedro, Guano [tesis en Internet]. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud; 2020 [citado 2025 Abr 2]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6659>
- Quispe SM, Dayane M, Caiza E, González C. Identificación de enteroparásitos en animales que actúan como reservorios en Pungal Grande y San Pedro, Cantón Guano, Chimborazo [tesis en Internet]. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud; 2020 [citado 2025 Abr 2]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6616>
- Ospina Santos D. Identificación y prevalencia de parásitos de interés en salud pública, en aguas de riego y hortalizas de la sabana occidental de Cundinamarca [tesis en Internet]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2022 [citado 2025 Jul 10]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/82912>
- Radman NE, Linzitto OR. Enfermedades parasitarias transmitidas por alimentos: EPTA. *REIE.* 2009;4:33-42. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/92682>
- Cazorla D, Morales P, Chirinos M, Acosta M. Evaluación parasitológica de hortalizas comercializadas en Coro, estado Falcón, Venezuela. *Bol Malariai Salud Ambient.* 2009;49(1):117-25. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482009000100008
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Parasites in foods: an invisible threat. Food safety technical toolkit for Asia and the Pacific, No. 7 [Internet]. Bangkok: FAO; 2020 [citado 2025 Abr 2]. Disponible en: <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cb1910en>
- Osorio Delgado L. Detección molecular de Giardia duodenalis, Blastocystis spp., Toxoplasma gondii y Cryptosporidium spp. en frutas y hortalizas comercializadas en la ciudad de Ibagué [tesis en Internet]. Ibagué: Universidad del Tolima; 2019 [citado 2025 Abr 3]. Disponible en: <https://repository.ut.edu.co/handle/001/3376>
- Puig Peña Y, Leyva Castillo V, Rodríguez Suárez A, Carrera Vara J, Molejón PL, Pérez Muñoz Y, et al. Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. *Rev Habanera Cienc Médicas.* 2014;13(1):111-9. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180431104013>
- Segura Panta CL. Identificación de Giardia spp. y Ascaris sp. en hortalizas Lactuca sativa (lechuga), Spinacea oleracea (espinaca) y Brassica oleracea (repollo) en los mercados de los distritos de Ferreñafe y Pueblo Nuevo, abril-diciembre 2017 [tesis en Internet]. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Facultad de Medicina Veterinaria; 2018 [citado 2025 Abr 3]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12893/2350>
- Benites Salcedo D, Castillo Valdivieso C, Jara Campos C. Contaminación parasítica de hortalizas de consumo humano expandidas en mercados de Trujillo, Perú. *REBIOL.* 2019;39(1):41-9. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/artic/e/view/2476>
- Baculima Tenesaca JM, Álvarez Serrano ME, Zeas Guzmán RC. Parásitos en expendedores y hortalizas de los mercados públicos Cuenca 2015. *Rev Fac Cienc Médicas Univ Cuenca.* 2019;37(1):21-30. Disponible en: <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/medicina/article/view/2467>
- Falcone AC. Parasitosis intestinales en poblaciones del Cinturón Hortícola Platense, Buenos Aires: factores socioeconómicos y ambientales en la evaluación de estrategias de control [tesis doctoral en Internet]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2021 [citado 2025 Abr 4]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/123113>
- Chávez Ruvalcaba F, Quezada JMA, Haro BD, Blanco IM. Enfermedades transmitidas por alimentos causadas por parásitos. *Jornadas de Investigación UAZ.* 2020;14(2). Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Francisca-Ruvalcaba/publication/371531038_Enfermedades_tra

- [nsmitidas_por_alimentos_causadas_por_parasitos/links/64888b8fd702370600ef790b/Enfermedades-transmitidas-por-alimentos-causadas-por-parasitos.pdf](https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81367929003)
19. Cortés-Higareda M, Bautista-Baños S, Ventura-Aguilar RI, Landa-Salgado P, Hernández-López M. Bacterias patógenas de los alimentos agrícolas frescos y mínimamente procesados. Estado actual en el control del género Salmonella. Rev Iberoam Tecnol Postcosecha. 2021;22(1). Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81367929003>
 20. Palomino C, Muñoz Y. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014;31(3):535-46. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300020
 21. Huertas-Caro C, Urbano-Cáceres E, Torres-Caycedo M. Diagnóstico molecular una alternativa para la detección de patógenos en alimentos. Rev Habanera Cienc Méd. 2019;18(3):513-28. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X20190003000513
 22. Dacal E, Köster PC, Carmena D. Diagnóstico molecular de parasitosis intestinales. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2020;38(Supl 1):24-31. doi: 10.1016/j.eimc.2020.02.005
 23. Sena Barnabé A, Ribeiro R, Ferraz N, De Carvalho Pincinato E, Clayton R, Gomes F, et al. Análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano. Rev Cubana Med Trop. 2010;62(1):24-34. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602010000100004
 24. Carrasco-Solano FA, Santa Cruz-López CY, Vergara-Espinoza MA, Sánchez-Fernandez M. Comparación de técnicas coproparasitológicas para el diagnóstico de geohelminthos intestinales en niños lambayecanos. Gac Med Bol. 2023;46(1):72-6. doi: 10.47993/gmb.v46i1.636
 25. Organización Panamericana de la Salud. Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales [Internet]. Washington, DC: OPS; 2020 [citado 2025 Abr 3]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52295>
 26. CerTest Biotec. VIASURE Hyperplex Gastrointestinal Panel I [Internet]. Zaragoza: CerTest Biotec; 2019 [citado 2025 Abr 3]. Disponible en: https://www.certest.es/wp-content/uploads/2019/02/VIASURE_Hyperplex_Gastrointestinal_Panel_I.pdf
 27. Valdés Leite HP. Detección de parásitos en verduras y frutas frescas en Talca, 2019 [tesis en Internet]. Talca: Universidad de Talca; 2019 [citado 2025 Abr 3]. Disponible en: <https://repositorio.utalca.cl/repositorio/handle/1950/12443>
 28. Rivera-Jacinto M, Rodríguez-Ulloa C, López-Orbegoso J. Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2009;26(1):45-8. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342009000100009
 29. Escartín E, León G, Arce B, Winkler R, Silvestre A, Gómez M, et al. Riesgos microbianos en la producción de alimentos frescos en áreas urbanas y periurbanas de América Latina [Internet]. México: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV); 2012 [citado 2025 Abr 3]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Sergio-De-Los-Santos-Villalobos/publication/233895830_RIESGOS_MICROBIANOS_EN_LA_PRODUCCION_DE_ALIMENTOS_FRESCOS_EN_AREAS_URBANAS_Y_PERIURBANAS_DE_AMERICA_LATINA/links/0fcfd50c9eb5a78805000000/RIESGOS-MICROBIANOS-EN-LA-PRODUCCION-DE-ALIMENTOS-FRESCOS-EN-AREAS-URBANAS-Y-PERIURBANAS-DE-AMERICA-LATINA.pdf
 30. Pfeifer J. Understanding Ct values in real-time PCR [Internet]. Waltham: ThermoFisher Scientific; 2022 [citado 2025 Abr 3]. Disponible en: <https://www.thermofisher.com/blog/behindthebench/understanding-ct-values/>
 31. Van den Bossche D, Cnops L, Verschueren J, Van Esbroeck M. Comparison of four rapid diagnostic tests, ELISA, microscopy and PCR for the detection of Giardia lamblia, Cryptosporidium spp. and Entamoeba histolytica in feces. J Microbiol Methods. 2015;110:78-84. doi: 10.1016/j.mimet.2015.01.016
 32. Weinreich F, Hahn A, Eberhardt KA, Kann S, Feldt T, Sarfo FS, et al. Comparative evaluation of real-time screening PCR assays for Giardia duodenalis and of assays discriminating the assemblages A and B. Microorganisms. 2022;10(7):1310. doi: 10.3390/microorganisms10071310
 33. Morisset D, Štebih D, Milavec M, Gruden K, Žel J. Quantitative analysis of food and feed samples with droplet digital PCR. PLoS One. 2013;8(5):e62583. doi: 10.1371/journal.pone.0062583