

Detección de protozoos parásitos entéricos, bacteriófagos de *E. coli* y organismos indicadores de contaminación en camarones comercializados en el estado Zulia

Detection of Enteric Protozoa Parasites, E. coli Bacteriophages and Fecal Pollution Indicator Organisms in Shrimp Sold in the State of Zulia

**Bracho, Mariángela^{1*}; Botero, Ligia¹;
Díaz-Suárez, Odelis²; Rivero, Zulbey³;
Freites, Azael²; García, María²
y Soler, Marycarmen²**

¹Centro de Investigaciones del Agua, Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

²Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

³Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

* mariangela.bracho@gmail.com

Resumen

Se determinó la presencia de *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium parvum*, bacteriófagos de *Escherichia coli* y organismos indicadores de contaminación (OIC), en muestras de camarones para el consumo humano comercializados en el estado Zulia. Los parásitos se concentraron a partir de sistemas digestivos de pools de camarones por la técnica de formol-éter y se cuantificaron por inmunofluorescencia directa. La concentración de los bacteriófagos de *E. coli* F+ y los OIC se evaluó por técnicas estándar. En este trabajo se detectó la presencia de *G. intestinalis*, *C. parvum*, bacteriófagos y *E. coli* en camarones comercializados en el estado Zulia que cumplían los criterios de la normativa venezolana de calidad sanitaria e inocuidad. Del total de muestras analizadas el 91,5% fueron positivas para *G. intestinalis* (promedio: 36,6 quistes/100g), 95,3% para *C. parvum*

Recibido: 29-01-13 / Aceptado: 11-03-13

(promedio: 32,8 ooquistes/100g), 100% para los bacteriófagos de *E. coli* F+ (promedio de $2,8 \times 10^3$ UFP/100 g) y 71,5% para *E. coli* (promedio de $4,3 \times 10^4$ NMP/g). Los resultados obtenidos indican que los camarones pueden convertirse en un vehículo para la transmisión de patógenos al hombre y dejan en evidencia la necesidad de la inclusión de un parámetro parasitológico y viral en el control de la calidad microbiológica de estos productos alimenticios.

Palabras clave: Camarones, *G. intestinalis*, *C. parvum*, Bacteriófagos, Organismos indicadores de contaminación.

Abstract

The presence of *G. intestinalis* and *C. parvum*, *E. coli* F+ bacteriophages and fecal pollution indicator organisms was determined in shrimp for human consumption marketed in the State of Zulia. Parasites were concentrated from the digestive systems of shrimp pools, detected by formalin-ether and quantified by direct immunofluorescence. *E. coli* F + bacteriophage and pollution indicator organism concentrations were determined by standard techniques. In this work, *G. intestinalis*, *C. parvum*, *E. coli* F + bacteriophages and *E. coli* were detected in shrimp for human consumption marketed in the State of Zulia that met the quality criteria of Venezuelan health and safety regulations. 91.5% of the samples analyzed were positive for *G. intestinalis* (average: 36.6 cyst/100g), 95.3% for *C. parvum* (average: 32.8 oocyst/100g), 100% for *E. coli* F + bacteriophages (average: 2.8×10^3 FPFU/100g) and 71.5% for *E. coli* (average: 4.3×10^4 MPN/g). Results of this research indicate that shrimp can become a vehicle for transmitting pathogens to humans and demonstrate the need for including a parasitic and viral parameter in microbiological quality control for seafood.

Key words: Shrimp, *G. intestinalis*, *C. parvum*, bacteriophages, fecal pollution indicator organisms.

Introducción

Los camarones poseen un alto valor nutritivo y además un excelente sabor, por lo que son ampliamente apetecidos en todo el mundo. Venezuela ocupa un sitio muy importante como país productor y exportador de este importante producto alimenticio (1).

Según cifras suministradas por el Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, Venezuela registró una producción total de camarones de más de 13.000 Toneladas Métricas en el año 2010 (2). De esta producción, más del 90% se destina a la exportación y abastecimiento de mercados internacionales, 80% a los Estados Unidos de Norteamérica y el 20% a la Unión Europea, en esta última a países como: Inglaterra, Alemania, España, Ita-

lia y Francia, lo que representa una importante entrada de divisas para el país (1).

En Venezuela, la producción nacional de camarón proviene en un 68% del cultivo en lagunas artificiales y el 32% restante de la pesca artesanal en sus bancos naturales de producción. Esta actividad se lleva a cabo en los estados costeros tales como: Zulia, Falcón, Anzoátegui, Sucre y Nueva Esparta, ubicándose el 90% de la producción nacional en el occidente del país, principalmente en el estado Zulia (Costa del Lago de Maracaibo), lugar donde se concentra el mayor asentamiento de hectáreas cultivadas, debido a que las aguas del Sistema del Lago de Maracaibo poseen condiciones muy favorables, para el desarrollo de estos organismos. Recientemente, a nivel gubernamental, se han venido des-

tinando nuevas áreas para proyectos de camaricultura, tal como es el caso de los estados centrales Miranda y Carabobo, donde anteriormente no se había desarrollado este tipo de actividad (1).

Durante su cultivo, en los tejidos de los moluscos y mariscos, tienden a acumularse microorganismos presentes en el medio en que se desarrollan, por lo que la contaminación biológica de los cuerpos de agua donde éstos habitan, ha despertado preocupación acerca de la posible acumulación de patógenos entéricos humanos en estos organismos acuáticos (3). El espectro de patógenos transmitidos por estos alimentos incluye una gran variedad de bacterias, tanto aerobias como anaerobias, parásitos y virus, así como, dinoflagelados marinos, priones y bacterias productoras de biotoxinas. Sin embargo, se estima que más del 80% de los brotes de enfermedades transmitidas por consumo de moluscos y mariscos se deben a su contaminación con virus y parásitos entéricos, frente a un 7% ocasionado por infecciones bacterianas y el resto debido a sustancias químicas y alérgenos (4).

Especies de parásitos entéricos frecuentemente reportados como causantes de enfermedades debido al consumo de alimentos contaminados son *G. intestinalis* y *C. parvum*. Se estima que al menos el 15% de la población de Latinoamérica está infectada con estos protozoarios, siendo la población infantil y la de bajos recursos la más afectada (5). En Venezuela, Barón y col., 2007 (6) y Freitas y col., 2009 (7) reportaron una frecuencia de infecciones por *G. intestinalis* de 28,8% y *Cryptosporidium* spp. de 11,8% respectivamente, siendo estos protozoarios intestinales uno de los más prevalentes en el país.

La transmisión al hombre de parásitos, virus y bacterias patógenas causantes de enfermedades por el consumo de moluscos contaminados, ha sido documentada en nume-

rosos brotes ocasionados en Europa (8-11) y los Estados Unidos de Norteamérica (12-14), sin embargo, todas estas investigaciones han sido llevadas a cabo en almejas, ostras y mejillones y no en camarones, importante recurso alimenticio y comercial en todo el mundo.

En este trabajo se determinó la presencia de los protozoos parásitos entéricos *G. intestinalis* y *C. parvum*, bacteriófagos de *E. coli* y organismos indicadores de contaminación, en muestras de camarones para el consumo humano comercializados en el estado Zulia, provenientes de sus zonas naturales de producción en el Sistema de Maracaibo y de Pescaderías.

Materiales y Métodos

Área de estudio y toma de muestra

Durante doce meses (septiembre 2009 – septiembre 2010), se colectaron un total de 130 muestras de camarones del género *Litopenaeus* sp provenientes tanto de sus zonas naturales de producción en el Sistema de Maracaibo ($n = 40$), como de un expendio comercial ubicado en el Municipio Maracaibo del estado Zulia ($n = 90$).

Las muestras de camarones del Sistema de Maracaibo fueron colectadas, con la ayuda de pescadores de la zona, en el Municipio Miranda de la costa nor-oriental del estado Zulia, en el Sector Ancón de Iturre de la Ciénaga de los Olivitos (latitud $10^{\circ}46'59''$, longitud $71^{\circ}26'1651''$). Mientras que las muestras provenientes del expendio comercial, fueron tomadas en una de las pescaderías de mayor afluencia de consumidores en la ciudad, la cual, y según información suministrada por sus propietarios, se abastece de camarones que también son extraídos del sistema del Lago de Maracaibo. En este lugar el producto se ofrecía al consumidor de forma cruda, sin ningún tratamiento, y era almacenado si-

guiendo las medidas adecuadas de higiene y seguridad alimentaria.

Todas las muestras de aproximadamente 300 g., fueron colocadas en bolsas plásticas con cierre hermético previamente rotuladas y fueron transportadas al laboratorio a 4°C para su inmediato procesamiento.

Análisis parasitológico

Previo a su procesamiento, se determinaron las características organolépticas de los camarones recomendadas en la norma COVENIN 453-93 (15), Posteriormente, los camarones fueron lavados y se les removió la cabeza, cola, y pleópodos (16). Inmediatamente, los sistemas gastrointestinales de un pool de 100 g. de camarones se homogeneizaron con 20 ml de buffer fosfato salino PBS 1X, en una licuadora durante 2 min. a máxima velocidad. El homogeneizado fue pasado por una malla de filtración de 15-45 µm, y se le agregaron 10 ml de Éter dietílico al 50%. Finalmente, se centrifugó la mezcla a 1.250 x g durante 15 min. y se eliminó el sobrenadante por succión, reservando el sedimento resultante para su posterior análisis al microscopio (17).

La visualización y cuantificación de las estructuras parasitarias se llevó a cabo a través de la técnica de Inmunofluorescencia directa, utilizando los anticuerpos monoclonales específicos marcados con isotiocianato de fluoresceína: A300FL Giardia-GloTM (Waterborne Inc, New Orleans, USA) para *Giardia intestinalis* y A400FL Crypto-a-GloTM (Waterborne Inc, New Orleans, USA) para *Cryptosporidium parvum*. Para ello, se hizo pasar 1 ml del concentrado obtenido anteriormente, a través de portafiltras de polialómero, que soportaban filtros de membrana de policarbonato de 13 mm de diámetro, con un tamaño de poro de 5 µm. para la enumeración de los quistes de *G. intestinalis* y de 1,2 µm para los ooquistes de *C. parvum*. El anti-

cuerpo monoclonal específico se empleó en volúmenes de 30 µl, y una vez aplicado se dejó en incubación a temperatura ambiente durante 30 min. Los lavados de la muestra se realizaron con PBS 1X.

La visualización de las láminas y cuantificación de las estructuras parasitarias se llevó a cabo en un microscopio de inmunofluorescencia (Zeiss, West Germany) a través de un filtro de luz azul (480 nm de excitación y 530 nm de emisión), empleando una magnificación de 400 X. Los parásitos se observaron como estructuras con fluorescencia verde manzana brillante. Los quistes de *G. intestinalis* de forma oval de 8 a 12 µm de diámetro y los ooquistes de *C. parvum* como estructuras redondeadas de 4 a 6 µm. La Concentración de quistes de *G. intestinalis* y ooquistes de *C. parvum* se reportó en número de quistes y ooquistes por 100 g de muestra.

Las muestras fueron procesadas junto con controles negativos de buffer fosfato salino estéril y controles positivos correspondientes a muestras de heces humanas y animales infectadas, con el fin de comprobar que no se produjo contaminación durante el procesamiento, que las soluciones se encontraron libres de contaminación con parásitos y que los anticuerpos lograron funcionar correctamente.

Análisis virológico

Para el análisis de la presencia de virus, se homogeneizaron 100 g. de la carne de camarón en una licuadora a máxima velocidad por 2 minutos, luego se agregó 200 ml de glicina estéril 0,25 N a pH 10. La mezcla resultante se centrifugó a 2.500 X g por 15 minutos, se colectó el sobrenadante y se le ajustó el pH a 7. Alícuotas de 9 ml se ultracentrifugaron a 229.600 X g por una hora a 4°C, se descartó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en 10 ml de PBS 1X. Esta suspensión se dispensó en viales estériles y se conservaron a -70°C (4).

La detección de virus bacteriófagos de *E. coli* F+ se realizó para cada muestra y por duplicado por la técnica de doble capa de agar utilizando como cepa hospedadora la cepa de *E. coli* ATCC 700891 ampicilina resistente, y según lo dispuesto en el procedimiento 9211 D de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) (18). La presencia de los fagos se evidenció por la aparición de zonas claras o placas de lisis bacteriana en el agar, las cuales se contaron y reportaron como Unidades Formadoras de Placas en 100 g. de la muestra (UFP/100 g). En cada ensayo de bacteriófagos se incluyó como control positivo una suspensión del bacteriófago MS2 (ATCC#15597-B1) y como control negativo solución salina fisiológica (Cloruro de sodio al 0,85 %).

Análisis bacteriológico

Para el análisis bacteriológico, se homogeneizaron 25 g. del tejido de los camarones en 225 ml de Buffer fosfato de Butterfield's en una licuadora durante 2 min a máxima velocidad (13). La cuantificación de la presencia de los organismos aerobios mesófilos (AM) se llevó a cabo utilizando la técnica de vaciado en placa (19) y la de los coliformes totales (CT) y coliformes fecales o termotolerantes (CTT) y *E. coli* siguiendo la técnica de número más probable (NMP) (19).

Análisis estadístico

Los resultados de la presencia y concentración de los microorganismos analizados en este estudio se presentan en términos de porcentajes de positividad, mínimos, máximos y medias aritméticas. Para determinar si había diferencias estadísticamente significativas entre los valores promedio para las variables peso y talla de los camarones provenientes del cultivo ambiente y de las pescaderías, así como para las concentraciones de quistes de *G. intestinalis* y ooquistes de *C. parvum* en función de la

procedencia de las muestras, se aplicó la prueba U Mann Whitney para muestras independientes. Así mismo, para establecer la existencia o no de una correlación lineal entre la presencia de los organismos indicadores de contaminación y la de los enteroparásitos y bacteriófagos, se llevó a cabo la prueba de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa SPSS (versión 17.0 para Windows) y se consideraron significativos cuando $p < 0,05$.

Resultados

Todos los camarones analizados en esta investigación cumplían con las características organolépticas establecidas en la norma Venezolana que establece los criterios morfológicos que deben presentar los camarones destinados al consumo humano (COVENIN 453-93) (15). Todos presentaban aspecto general brillante y húmedo, cuerpo en curvatura normal, rígida, firme y consistente, caparazón bien adherido al cuerpo, coloración y olor característico.

El rango del peso y la talla de los camarones fue de 12,4 -18,2 g. (promedio: 15,3 g.) y 10,6 - 18,1 cm (promedio: 14,4 cm), respectivamente (Tabla 1). A pesar de que el análisis estadístico reveló que no existían diferencias significativas en el peso de los camarones colectados en el Sistema de Maracaibo y en las pescaderías ($p=0,067$), si se encontró diferencias en relación a la talla ($p=0,008$), la cual fue mayor en los camarones provenientes de los expendios comerciales.

Se detectó la presencia de los protozoos parásitos entéricos *G. intestinalis* y *C. parvum* en el 96,9% (126/130) de las muestras de camarones para consumo humano analizados en esta investigación. Específicamente, se registró un 91,5% (119/130) de positividad para la presencia de *G. intestinalis*, con un

Tabla 1. Peso y talla de las muestras de camarones para consumo humano comercializados en el estado Zulia.

| Origen de la muestra | Peso (g) | Talla (cm) |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|
| Sistema de Maracaibo (n=40) | 12,8 - 18,2 15,3 | 10,9 - 17,1 14,4 |
| Pescadería (n=90) | 12,4 - 18,2 15,3 | 10,6 - 18,1 15,0 |
| Total (n=130) | 12,4 - 18,2 15,3 | 10,6 - 18,1 14,4 |

Los valores de peso y talla se presentan en términos de mínimo-máximo y promedio.

rango entre 11 y 64 quistes/100 g y una media geométrica de 34,64 quistes/100 g y un 95,3% (124/130) de positividad para la presencia de *C. parvum*, en un rango entre 13-64 ooquistes/100 g con una media geométrica de 32,8 ooquistes/100 g. (Tabla 2); Siendo significativamente mayor la concentración de quistes de *G. intestinalis* (p= 0,03) y ooquistes de *C. parvum* (p= 0,13) detectados en las muestras provenientes de las pescaderías en comparación con la de las muestras colectadas en el Sistema de Maracaibo.

Los análisis virológicos determinaron la presencia de bacteriófagos de *E. coli* F+ en el 100% (130/130) de las muestras de camarones analizadas, en concentraciones comprendidas entre $3,0 \times 10^1$ a $2,5 \times 10^4$ UFP/100 g con un valor promedio de $2,8 \times 10^3$ UFP/100 g (Tabla 3).

Tabla 3. Presencia y concentración de bacteriófagos de *E. coli* F+ en muestras de camarones para consumo humano comercializados en el estado Zulia.

| Origen de la muestra | Presencia | Concentración * UFP/100 g |
|---------------------------|-------------------|--|
| Sist. de Maracaibo (n=40) | 100% (40/40) | $3,1 \times 10^1 - 1,1 \times 10^4$ $2,6 \times 10^3$ |
| Pescaderías (n=90) | 100% (90/90) | $3,0 \times 10^1 - 2,5 \times 10^4$ $3,3 \times 10^3$ |
| Total (n=130) | 100% (130/130) | $3,0 \times 10^1 - 2,5 \times 10^4$ $2,8 \times 10^3$ |

* Los valores se presentan en términos de mínimo - máximo y promedio, y fueron estimados sin incluir las muestras negativas.

Del total de las muestras analizadas, el 100% (130/130) fueron positivas para la presencia de organismos mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales, en concentraciones promedio de $3,3 \times 10^6$ NMP/g, $3,5 \times 10^5$ NMP/g y $1,1 \times 10^5$ NMP/g respectivamente, así mismo, se detectó la presencia de *E. coli* en el 71,53% (93/130) de las muestras analizadas con una concentración promedio de $4,3 \times 10^4$ NMP/g (Tabla 4).

El análisis estadístico de estos datos indicó que no existe una correlación lineal positiva entre la presencia de los organismos indicadores de contaminación (MA, CT y CTT) y la pre-

Tabla 2. Presencia y concentración de quistes de *G. intestinalis* y ooquistes de *C. parvum* en muestras de camarones para consumo humano comercializados en el estado Zulia.

| Origen de la muestra | <i>Giardia intestinalis</i> | | <i>Cryptosporidium parvum</i> | |
|---------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| | Presencia | Concentración* Quistes/100 g | Presencia | Concentración* Ooquistes/100 g |
| Sist. de Maracaibo (n=40) | 72,5% (29/40) | 16 - 58 30,36 | 85% (34/40) | 15 - 47 32,34 |
| Pescaderías (n=90) | 100% (90/90) | 11 - 64 38,93 | 100% (90/90) | 13 - 64 35,51 |
| Total (n=130) | 91,53% (119/130) | 11 - 64 34,64 | 95,38% (124/130) | 13 - 55 32,85 |

* Los valores se presentan en términos de mínimo - máximo y promedio, y fueron estimados sin incluir las muestras negativas.

Tabla 4. Presencia y concentración de organismos indicadores de contaminación en muestras de camarones para consumo humano comercializados en el estado Zulia.

| Muestras | Presencia y Concentración (NMP/ 100 g) * | | | |
|---------------|--|--|--|--|
| | MA | CT | CTT | <i>E. coli</i> |
| S. M. (n=40) | 100% (40/40) 9,5x10 ⁴ - 2,3x10 ⁷ 3,2x10 ⁶ | 100%(40/40) 1,7x10 ³ - 1,6x10 ⁶ 4,5x10 ⁵ | 100% (40/40) 4,0x10 ² - 4,0x10 ⁵ 1,2x10 ⁵ | 70% (28/40) 4,0x 10 ¹ - 1,2x10 ⁵ 2,1 x10 ⁴ |
| Pescd. (n=90) | 100% (90/90) 9,5x10 ⁴ - 2,4x10 ⁷ 2,3x10 ⁶ | 100% (90/90) 2,3x10 ³ - 1,4x10 ⁶ 2,6x10 ⁵ | 100% (90/90) 4,0x10 ¹ - 7,0x10 ⁵ 1,1x10 ⁵ | 72,0% (65/90) 4,0x 10 ¹ - 9,3x10 ⁵ 6,5x10 ⁴ |
| Total (n=130) | 100% (130/130) 9,5x10 ⁴ - 2,3x10 ⁷ 3,3x10 ⁶ | 100% (130/130) 1,7x10 ³ - 1,6x10 ⁶ 3,5x10 ⁵ | 100% (130/130) 4,0x10 ¹ - 7,0x10 ⁵ 1,1x10 ⁵ | 71,5% (93/130) 4,0x 10 ¹ - 9,3x10 ⁵ 4,3x10 ⁴ |

S.M: Sistema de Maracaibo, Pescd: Pescadería, MA: mesófilos aerobios, CT: coliformes totales, CTT: coliformes termotolerantes.

* Los valores se presentan en términos de porcentaje de positividad, mínimo, máximo y promedio, y fueron estimados sin incluir las muestras negativas.

sencia de *G. lamblia* ($p= 0,039$), *C. parvum* ($p= 0,022$) y los bacteriófagos ($p= 0,0066$).

Discusión

La presencia de quistes de *G. intestinalis* y ooquistes de *C. parvum* en las muestras de camarones para consumo humano analizadas en esta investigación, puede considerarse como un indicador de la existencia de contaminación fecal de origen humano y/o animal (20) y un peligro potencial para la salud de los consumidores, si se toman en cuenta aspectos como: su transmisión por la vía fecal-oral, las bajas dosis infecciosas de estos protozoarios y los largos períodos de supervivencia de sus formas quísticas en el ambiente (3).

A pesar de que la metodología aplicada en esta investigación, no permite predecir las implicaciones que los resultados obtenidos pueden tener en términos de salud pública, es evidente que existe un alto riesgo de adquirir giardiasis o cryptosporidiosis por el consumo de estos camarones crudos o pocos cocidos.

Las diferencias observadas con relación a la talla de los camarones probablemente se deban a que generalmente son los ejemplares de mayor tamaño los que son seleccionados y destinados para su comercialización en los expendios comerciales. Sin embargo, es importante destacar que en ambos casos la talla de los camarones superaba ampliamente los criterios establecidos en la norma venezolana, la cual clasifica como grandes aquellos camarones que superen los 8 cm de largo (15).

Las elevadas concentraciones de quistes de *G. intestinalis* y ooquistes de *C. parvum* detectadas en las muestras del tracto gastrointestinal de los camarones analizados en esta investigación sugiere que la contaminación de los mismos se produjo desde el momento de su cultivo en aguas que presentaban un alto grado de contaminación fecal. Al respecto, Botero y col., 2007, en un estudio llevado a cabo en las mismas zonas de sistema de Maracaibo de donde fueron extraídos los camarones analizados en esta investigación, reportaron la presencia de *G. intestinalis* y *C. parvum* en el 100% de las muestras de

agua analizadas, en concentraciones promedio de 0,56 quistes/L y 0,54 ooquistes/L, respectivamente (21).

El hecho de que se hayan detectado concentraciones de *G. intestinalis* y *C. parvum* significativamente mayores en las muestras provenientes de las pescaderías, en comparación con las colectadas directamente del Sistema del Lago de Maracaibo, sugiere que también puede introducirse una carga contaminante adicional durante su manipulación a través de la cadena de comercialización (9, 13).

La presencia de los protozoos parásitos entéricos *Giardia* y *Cryptosporidium* ya ha sido reportada en muestras de moluscos y mariscos para consumo humano en Europa (8-11) y los Estados Unidos de Norteamérica (12-14), sin embargo, todas estas investigaciones han sido llevadas a cabo en almejas, ostras y mejillones. En Venezuela, el único trabajo disponible acerca de la presencia de parásitos en este tipo de alimentos es el realizado por Díaz y col., en el 2007 (22), quienes reportaron la presencia de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, *Giardia* sp., *Iodamoeba* sp., *Blastocystis* sp. y ooquistes de *Cryptosporidium* sp en muestras de la almeja *Polymesoda* sólida extraídas del Sistema de Maracaibo.

En este trabajo se reporta la presencia de los protozoarios enteropatógenos *G. intestinalis* y *C. parvum* en muestras de camarones provenientes del Sistema de Maracaibo, región considerada como la de mayor producción de camarones en Venezuela, y de la cual son extraídos para su comercialización y consumo humano, no solo en este país, sino en otros países donde son exportados (2).

A pesar de que los bacteriófagos de *E. coli* *per se* no son virus patógenos de humanos, su presencia en los camarones analizados en esta investigación puede considerarse

como un indicador de la posible presencia de otros virus entéricos patógenos para los humanos como el virus de la Hepatitis A, Adenovirus 40 y 41, Enterovirus, Calicivirus y Rotavirus (23,24).

En trabajos previos llevados a cabo en el estado Zulia, ya se ha demostrado la presencia de contaminación con los virus entéricos Enterovirus y Calicivirus en camarones extraídos del Sistema de Maracaibo (25). Estos resultados, aunado al 100% de positividad para la presencia de bacteriófagos demostrado en esta investigación, sugiere que la presencia de contaminación viral en los camarones del Sistema de Maracaibo, no son un evento aislado, sino que por el contrario, es un problema de contaminación diseminado, que puede involucrar más de un tipo de patógeno viral, con las consecuentes implicaciones que sobre la salud de la población esto puede tener.

Los resultados de los análisis bacteriológicos llevados a cabo en esta investigación demuestran que la ausencia de indicadores de contaminación fecal no indica necesariamente la ausencia de patógenos en este tipo de muestras, y que camarones que actualmente son clasificados como aptos para su comercialización y consumo humano, pueden representar una fuente potencial de infección por *G. intestinalis* y *C. parvum*, e incluso otros patógenos entéricos (virus y/o bacterias).

En Venezuela, la única norma relacionada con la calidad de camarones es la COVENIN 453-93 (15) la cual contempla los requisitos microbiológicos para camarones crudos y cocidos congelados, estableciendo valores máximos de 1×10^7 UFC/g de mesófilas aerobios y $5,0 \times 10^2$ NMP/g de coliformes fecales para camarones crudos congelados. De acuerdo a esta normativa el 94,6% (123/130) de las muestras analizadas incumplían los estándares de calidad sanitaria y solo el 5,3%

(7/130), eran aptas para el consumo humano. Sin embargo, es preciso destacar que en el 100% (130/130) de las muestras aptas se detectó la presencia de *G. intestinalis*, *C. parvum* y de bacteriófagos de *E. coli* F+.

Estos resultados concuerdan con lo ya reportado en diversos estudios llevados a cabo a nivel mundial, en los cuales se ha demostrado que los organismos indicadores de contaminación no son buenos indicadores de la presencia o ausencia de parásitos y virus entéricos en moluscos y otros alimentos (23,26-28) y dejan en evidencia la necesidad de la inclusión de un parámetro parasitológico y viral en el monitoreo de la calidad e inocuidad de los camarones destinados al consumo humano.

Teniendo en cuenta lo anterior, la calidad e inocuidad de alimentos como los camarones, no sólo dependerá del control de su procesamiento y comercialización, sino principalmente de la protección de los ecosistemas naturales que funcionan como bancos naturales de producción y fuentes de abastecimiento. Por lo tanto, para lograr el control de la transmisión de enfermedades por consumo de este tipo de alimentos, es necesario el establecimiento de un sistema de múltiples barreras, en el que se incluya además la vigilancia y monitoreo continuo de la presencia de parásitos y virus enteropatógenos.

Agradecimientos

Este trabajo de Investigación fue posible gracias al apoyo financiero otorgado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) y el apoyo logístico del Centro de Investigaciones del Agua de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Zulia.

Referencias

- (1) FAO. © 2006-2013. National Aquaculture Sector Overview. Visión general del sector acuícola nacional - Venezuela (República Bolivariana de). National Aquaculture Sector Overview Fact Sheets. *Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO* [en línea]. Roma. Actualizado 1 February 2005. [Consultado 22 de abril de 2013]. [Http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_venezuela/es](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_venezuela/es)
- (2) ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). 2012. Anuario FAO de estadísticas de Pesca y Acuicultura del año 2010. *Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO* [en línea]. Roma. Actualizado 2012. Disponible en línea ftp://ftp.fao.org/FI/CDrom/CD_yearbook_2010/root/aquaculture/yearbook_aquaculture.pdf, consultado 22 de abril de 2013
- (3) Dumètre A, Aubert D., Puech PH., Jeanne H., Asas N., Villena I. Interaction Forces Drive the Environmental Transmission of Pathogenic Protozoa. *Appl Environ. Microbiol.* 2012; 78:905-912
- (4) Pina S, Puig M, Lucena F, Jofre J, Girones R. Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. *Appl. Environ. Microbiol* 1998; 64(9): 3376-3382.
- (5) Valiente C., Mora D. El papel del agua para consumo humano en los brotes de diarrea reportados en el periodo 1999-2001 en Costa Rica. *Rev costarric de salud pública* 2002; 11 (20): 26-40.
- (6) Barón M., Solano L., Páez M., Pabón M. Estado nutricional de hierro y parasitosis intestinal en niños de Valencia, Estado Carabobo, Venezuela. *An Venez Nutr* 2007; 20 (1): 5-11.
- (7) Freitas A., Colmenares D., Pérez M., García M., Suárez-Díaz O. Infección por *Cryptosporidium* sp y otros parásitos intestinales en manipuladores de alimentos del estado Zulia, Venezuela. *Invest Clín* 2009; 50 (1): 13-21.

- (8) Gómez M., Ortega L., Tabares E., López V., Costas E. Detection of Infectious *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and Cockles (*Cerastoderma edule*). *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 1866–1870.
- (9) Gómez H., Freire F., Martínez J., García O., Ares M. Contamination of bivalve molluscs by *Cryptosporidium* oocysts: the need for new quality control standards. *Int J Food Microbiol* 2003; 87: 97-105.
- (10) Graczyk T., Conn D., Lucy F., Minchin D., Tamang L., Moura L., daSilva A. Human waterborne parasites in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) from the Shannon river drainage area, Ireland. *Parasitol Res* 2004; 93: 385-391.
- (11) Molini U., Traversa D., Ceschia G., Iorio R., Boffo L., Zentilin A., Capelli G., Giangaspero A. Temporal occurrence of *Cryptosporidium* in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* in northern Adriatic Italian Lagoons. *J Food Prot* 2007; 0: 494–499.
- (12) Fayer R., Trout J., Lewis E., Xiao L., Lal A., Jenkins M., Graczyk T. Temporal variability of *Cryptosporidium* in the Chesapeake Bay. *Parasitol Res* 2002; 88: 998–1003.
- (13) Fayer R., Trout J., Lewis E., Santin M., Zhou L., Lal A., Xiao L. Contamination of Atlantic coast commercial shellfish. *Parasitol Res* 2003 ; 89: 141–145.
- (14) Miller W., Miller M., Gardner I., Atwill E., Harris M., Ames J., Jessup D., Melli A., Paradis D., Worcester K., Olin P., Barnes N., Conrad P. New genotypes and factors associated with *Cryptosporidium* detection in mussels (*Mytilus* spp.) along the California coast. *Int J for Parasitol* 2005; 35: 1103–1113.
- (15) NORMA VENEZOLANA COVENIN 453-93. Camarones congelados. Comisión venezolana de normas industriales. Ministerio de Fomento. Fondonorma. 1993.
- (16) NORMA VENEZOLANA COVENIN 1126-89. Alimentos. Identificación y Preparación de Muestras para el Análisis Microbiológico (1^{era} revisión). Comisión Venezolana de Normas Industriales Ministerio de Fomento. Fondonorma. 1989.
- (17) Gómez H., Méndez F., Ares E. Levels of detection of *Cryptosporidium* oocysts in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) by IFA and PCR methods. *Vet Parasitol* 2006; 141: 60-65.
- (18) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”. 19th Edition. Washington, USA. APHA, AWWA, WPCF. Inc, 1998.
- (19) Wallace H., Geraldine A. Food and Drug Administration - Bacteriological Analytical Manual. AOAC. Chapter 1. 8^{ed}. Bethesda: AOAC International, 1995. 101-109.
- (20) Giangaspero A., Cirillo R., Lacasella V., Lonigro A., Marangi M., Cavallo P., Berrilli F., Di Cave D., Brandonisio O. *Giardia* and *Cryptosporidium* in inflowing water and harvested shellfish in a Lagoon in Southern Italy. *Parasitol Int* 2009; 58(1): 12-17.
- (21) Botero L, Grau de Marín C., Morillo N, Cavazza M., Montiel M, Bracho M. “Presencia de Bacterias Enteropatógenas indicadoras de contaminación y Virus entéricos en moluscos bivalvos, camarones, sedimento y aguas de los bancos de producción de estos organismos en el estado Zulia”. Informe final del proyecto del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de Venezuela FONACIT S-I 2002000375. 2007.
- (22) Díaz S., Cabrera L., García De Severyn Y., Estévez J. “Parásitos protozoarios en la almeja *Polymesoda solida* (*Bivalvia: Corbiculidae*) presente en el Lago de Maracaibo, Venezuela. *Ciencia* 2007; 15(2): 172-181.
- (23) Flannery J., Keaveney S., Rajko-Nenow P., O’Flaherty V., Doré W. Concentration of Norovirus during Wastewater Treatment and Its Impact on Oyster Contamination. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78:3400-3406.
- (24) Kenneth Baker, Jill Morris, Noel McCarthy, Luisa Saldana, James Lowther, Andrew Collinson, and Michael Young. An outbreak of norovirus infection linked to oyster consumption at a UK restaurant, February 2010. *J Public Health* 2011; 33(2): 205-211.
- (25) Botero, L.; Bracho, M.; Montiel, M. Virus Entéricos, Bacterias Enteropatógenas y Organismos Indicadores de Contaminación en

- Camarones y en el Agua y el Sedimento de sus Bancos Naturales de Producción. *Ciencia* 2009; 17(1), 14-24.
- (26) Gómez H., Freire S., Amar C., Grant K., Williamson K., Ares M., McLauchlin J. Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in molluscan shellfish by multiplexed nested-PCR. *Int J Food Microbiol* 2004; 91(3): 279-288.
- (27) Robertson L. The potential for marine bivalve shellfish to act as transmission vehicles for outbreaks of protozoan infections in humans: A review. *Int J Food Microbiol* 2007; 120(3): 201-216.
- (28) Smith H., Caccio S., Cook N., Nichols R., Tait A. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Vet Parasitol* 2007; 149(1-2): 29-40.