

Situación de la *Cyclospora cayetanensis* en Colombia: cadena productiva de la albahaca fresca de exportación

Piedad Lopera

Bióloga, Msc. Laboratorio de microbiología para el agro, Basil Farm SAS, Espinal, Tolima, Colombia
piceloye@gmail.com.

RESUMEN

La exportación de plantas aromáticas y medicinales está creciendo en el mundo. La albahaca fresca se vislumbra con gran potencial para la producción y comercialización en Colombia, debido a sus múltiples propiedades y gran demanda. Sin embargo, la cadena de custodia de los alimentos frescos es rigurosa ya que debe garantizar la inocuidad del producto, los microorganismos más buscados son los de la materia fecal como bacterias, levaduras y protozoos, dentro de estos últimos está *C. cayetanensis*, un enemigo latente por tener varios reportes ante la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). Debido a lo anterior, los controles aduaneros se han agudizado, con el agravante que no hay un solo laboratorio en Colombia que tenga una técnica validada por la FDA para su análisis. De igual manera, de las 29 albaqueras que hay, 23 están en el Tolima, departamento que no cuenta con entidades que puedan ofrecer el servicio por el método tradicional, lo que obliga a todos los productores a enviar sus muestras a Antioquia o Quindío. No obstante lo anterior, a través de Agrosavia y la empresa privada Basil Farm SAS se están implementando estrategias y soluciones a través de proyectos con Minciencias para tener métodos eficientes y homologables con el ente regulador, que permitan saber la presencia y riesgo de contaminación por el parásito a partir de las matrices suelo, agua y planta.

Palabras Claves:

albahaca, *Cyclospora cayetanensis*, cadena de custodia

ABSTRACT

The export of culinary and medicinal herbs is growing across the globe. Raw fresh basil is visualized as a high-quality product with great distribution and production potential in Colombia, owing to its multiple traits and constant demand. Albeit, the chain of custody of fresh food is rigorous, since food hygiene must always be met. The most common microorganisms to keep an eye out for are the ones found in feces like bacteria, as well as the ones found in yeast and finally the protozoa. Within this last category we have *C. Cayetanensis*, a concealed enemy for the country for having several alarming reports before the FDA. Due to these concerning reports, custom duties controls are being more strict, with the aggravation that there is no single lab in Colombia that has a certified and validated technique approved by the FDA for the analysis of *C. cayetanensis*. Likewise, out of the 29 Basil crops production companies existing in Colombia, 23 are located in Tolima, department that doesn't institutions that can to offer the service for the conventional detection technique, what forces our raw basil farmers to send their samples to Antioquia or Quindío. Notwithstanding the foregoing, through Agrosavia and the private company Basil Farm SAS, strategys and solutions are being implemented through projects with Minciencias with the goal to have efficient and standardized mtehods with the regulatory entity, wich allow knowing the presence and risk of cantamination by the parasite from soil, water and plant matrices.

Keywords: Fresh basil, *Cyclospora cayetanensis*, chain of custody

INTRODUCCIÓN

***C. cayetanensis*, ciclosporiasis y métodos de diagnóstico**

La *C. cayetanensis* es un parásito intracelular obligado del grupo de los coccidios, patógeno de humanos cuyo único hospedero es el hombre. Su ciclo de vida comienza con la ingesta del microorganismo en forma de ooquistes esporulados (esporocitos), una vez llegan al intestino delgado se desenguistan y liberan los esporozoítos, que invaden las células epiteliales de este órgano (Ortega et al, 1998; Chacín-Bonilla y Barrios, 2011). En la siguiente fase los esporozoítos rodeados de

una membrana parasitofora se ubican en el citoplasma cerca al núcleo y se convierten en trofozoítos, estos últimos sufren una serie de divisiones asexuales para dar origen a unas estructuras llamadas meromontes quienes inician el proceso de división sexual. En esta última, los meromontes dan origen a los merozoítos quienes a su vez dan origen a células diferenciadas en estados masculinos y femeninos, llamadas microgametocitos y macrogametocitos, respectivamente. El primero forma numerosos microgametos flagelados, el segundo se transforma en cigoto, el cual desarrolla una pared

gruesa y resistente, y se convierte en un ooquiste inmaduro no esporulado, seguidamente, ambos salen con las heces al exterior. El parásito necesita condiciones ambientales específicas para esporular y volverse perjudicial, bajo condiciones experimentales se requirió una combinación de un tiempo entre 7 y 15 días y una temperatura de 23° a 25°C para que *C. cayetanensis* fuera infeccioso (Ortega y Sánchez, 2010).

La forma en que se contagia el parásito es por la vía oral al beber agua o comer alimentos contaminados con los esporositos que están en la materia fecal. La enfermedad que produce se llama cyclosporiasis, los síntomas pueden ser de leves a severos e incluye diarreas acuosas y algunas veces explosivas, náuseas, anorexia, calambres abdominales, flatulencia, hinchazón, dolor de cabeza, fiebre y puede tener complicaciones severas en pacientes inmunodeprimidos o niños menores a dos años (Ortega et al, 1998; FDA, 21 CFR 112; Bastidas P.G et al, 2018). Los síntomas pueden desaparecer y luego regresar una o más veces, si no se trata, la enfermedad puede durar de unos días a un mes o más, mientras que algunas personas infectadas son asintomáticas. La infección se trata con antibióticos y la mayoría de las personas responden rápidamente al tratamiento (FDA, 21 CFR 112). A pesar de que la cyclosporiasis se ha reportado en la mayoría de los países conocidos, es más común en aquellos que están en vías de desarrollo, con una mayor incidencia en los meses calurosos que siguen a las épocas de lluvia (Bastidas P.G et al, 2018). Una de las razones para que haya una mayor prevalencia de la enfermedad en estas regiones es que casi todas están ubicadas en zonas tropicales, donde las condiciones climáticas favorecen la presencia del patógeno todo el año, contrario a los lugares que presentan estaciones, donde se convierte en un parásito de temporada. Adicionalmente, en los países en vías de desarrollo, las condiciones higiénicas, el hacinamiento, el presupuesto para investigar enfermedades con índices de mortalidad bajo y el desconocimiento clínico por parte del personal médico, favorecen el desarrollo de la enfermedad (Bastidas P.G et al, 2018).

A pesar de que el patógeno fue catalogado como parásito intracelular obligado en 1977 y como agente de infección en el año 1979, aún hay muchos aspectos del microorganismo que dificultan su estudio. Uno de ellos son las múltiples formas en que se encuentra en el ambiente y en su único hospedador, el hombre. Adicionalmente, es parecido a otros organismos del mismo género y se sugiere por diversidad en sus esporozoitos que está emparentado con el género isospora (Bastidas P.G et al, 2018). Las técnicas que se han usado para su detección son microbiológicas y moleculares. Las primeras pueden utilizar métodos de tinción a partir de colorantes como la safranina el cual tiñe los ooquistes de forma regular en un 98% cuando las muestras son calentadas en microondas.

También se utilizan tinciones ácido-resistentes de Ziehl Neelsen, la cual tiñe los ooquistes de formas variables, que van desde el rojo claro, el rosa pálido o no toman la coloración (Ortega y Sánchez, 2010). Sin embargo, estas técnicas no son específicas para el parásito en cuestión y pueden ser utilizadas para teñir otro tipo de células, además no permiten confirmar la detección de esporoquistes y otras estructuras del patógeno (Bastidas P.G et al, 2018). Otra técnica que se ha usado es la microscopía óptica, mediante el microscopio de campo claro o el de contraste de fases para determinar la presencia de ooquistes, los cuales miden de 8 a 10 µm y tienen microgametos flagelados. Si la muestra se almacena entre 23 y 30°C, durante 7 a 15 días los ooquistes se convertirán en ooquistes esporulados y podrán ser confirmados al microscopio porque presentan dos esporoquistes (Ortega y Sánchez, 2010). El microscopio de fluorescencia también ha sido usado en la detección de otros coccidios y se sugiere como una buena opción para el procesamiento de varias muestras de *C. cayetanensis* en caso de un brote, cabe la pena resaltar que la técnica de detección no es específica para el patógeno (Ortega y Sánchez, 2010). Recientemente se han utilizado métodos más sensibles para la identificación del parásito como la PCR anidada dirigida al fragmento 18s del gen ARN ribosomal (posiciones 685 a 798), sin embargo, esta técnica no puede diferenciar a *Cyclospora* del género *Eimeria*. No obstante, la digestión de los productos amplificados utilizando la enzima de restricción MnlI, seguido de visualización en gel de electroforesis (PCR-RFLP), da como resultado patrones, que pueden distinguir estos dos géneros. Vale la pena resaltar, que diferentes investigadores han hecho en los mismos pacientes y con las mismas muestras, ensayos de detección por varias técnicas, los resultados varían según la muestra utilizada y en todos los casos siempre se reportan más casos positivos para *C. cayetanensis* cuando se utilizan métodos moleculares (Ortega y Sánchez, 2010).

Exportaciones de plantas aromáticas y medicinales en el país: panorama de la albahaca

Colombia registró en el 2020 un ingreso per cápita en las exportaciones de US\$610, donde el 7.6% de su composición sectorial industrial fueron la agricultura, la ganadería y la pesca (DANE - DIAN, 2021). En cuanto al panorama de plantas aromáticas y medicinales, el ministerio de agricultura para el año 2017 registró una cantidad de hectáreas sembradas de 3.478 Ha y un peso total de 17.051 Toneladas, siendo los departamentos que más exportan, en su orden, Antioquia, Cundinamarca y Valle del Cauca (Minagricultura, 2018).

Aunque el mercado específico de la albahaca apenas si hace eco en los listados oficiales, con un total para el país de 95 Ha cultivadas y un

producido de 273 Tn, el 3 de agosto de 2021, se reunió en la cámara de comercio del espinal - Tolima los principales productores de albahaca. El motivo del encuentro fue formalizar el gremio y conformar la asociación de albaqueros de Colombia (Albacol). Allí estuvieron presentes además de los productores, Crispin Cartagena, miembro de la junta directiva de la cámara de comercio y experto en el tema de agremiaciones y el Dr. Luis Cossio del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Se reportó una cantidad aproximada de área sembrada de 150 Ha en 29 predios, ubicados en los departamentos de Cundinamarca, Atlántico, Magdalena, Bolívar, Antioquia y Tolima. Si bien este último, no aparece en los listados de los principales exportadores, es el principal productor y exportador con 23 predios, vale la pena resaltar, que la razón para que esto suceda, es porque la mayoría del producto se vende por comercializadoras de Cundinamarca y Bogotá, lo que infla las cifras para esos departamentos y saca a Tolima del primer puesto (Exposición magistral Dr. Luis Cossio, 2021).

Con respecto a las plantas aromáticas y medicinales el ministerio de agricultura dice -Este cultivo se ha convertido en un importante componente del ingreso de la población rural, especialmente de pequeños y medianos productores y grupos de mujeres, por lo tanto, la cadena productiva sirve como escenario para diseñar estrategias encaminadas a proteger éste subsector productivo naciente y lo preparen para insertarse en los nuevos escenarios de comercialización, los cuales se están generando bajo las expectativas de una potencial de exportación a países de economías desarrolladas- (Minagricultura, 2021).

Considerando lo anterior, se sabe que es un momento de crecimiento y auge para la exportación y el fortalecimiento de economías locales que contribuyan al desarrollo de la región y el país. De igual manera, considerando las tendencias de la alimentación saludable, sabemos que las plantas aromáticas frescas que tengan además usos culinarios van a ser cada vez más demandadas, siendo la albahaca una de las más apetecidas por su exquisito sabor y poder aromatizante (Reyes P, 2011).

Presencia de *C. cayetanensis* en alimentos frescos de exportación y medidas de la FDA

El organismo que regula y controla la presencia de *C. cayetanensis* en productos de exportación para Estados Unidos es la FDA (por sus siglas U.S. Food and Drug Administration). La norma que rige la inocuidad en los productos frescos agrícolas es la 21 CFR 112, en la cual hay una hoja de asistencia técnica exclusiva para el microorganismo en cuestión. Esta ficha habla de las cuestiones más relevantes del parásito, la enfermedad que produce, las posibles fuentes de contaminación y los métodos de prevención que pueden usar los agricultores, para evitar la contaminación de los productos (FDA, 21 CFR 112). Sin embargo, en el encuentro de la cámara y comercio del espinal (Tolima, 2021), el Dr. Luis Cossio dirigió una conferencia en la cual mostró

un video de la FDA que contenía la información acerca de los exámenes diagnósticos que son válidos para el ente regulador y de las medidas impuestas en caso de la presencia del parásito. Dice el video de forma textual y reiterativa -Lo grave para la FDA en el hallazgo de *C. cayetanensis* es que esto es un indicador de que hay un problema mayor dentro de la finca e indica, además, que, si el parásito logró estar presente en el producto, es porque la concentración del patógeno es muy alta en el predio productor. Las medidas que puede tomar la FDA solamente pueden tener dos direcciones, castigar la comercializadora responsable de la venta o castigar la exportación para el país. La FDA no puede tomar medidas directas sobre los productores ya que no existe con ellos un convenio legal- El Dr. Cossio recalca que es un deber de los productores tener una cadena de custodia que garantice la exportación de productos confiables y que el único método de diagnóstico válido para la detección temprana del patógeno son los análisis moleculares por PCR o PCR-RFLP. En esta misma charla se expone, además, que en Colombia el primer reporte del parásito se hizo hace 15 años sobre Frambuesa y desde entonces se viene detectando en cilantro y albahaca. La alerta roja que hay en el gremio de albaqueros es porque en los últimos tres años se han reportado para el Tolima dos predios con la presencia del parásito y para Cundinamarca uno. Esto deja una advertencia, que debe ser atendida con urgencia para que los mercados de exportación emergentes sigan creciendo, más aún con el potencial de Colombia para la producción de plantas aromáticas y medicinales y de la región para la producción de albahaca (Exposición magistral Dr. Luis Cossio, 2021).

El departamento y su compromiso con la cadena de custodia

Debido a la inminente preocupación del gremio y a la necesidad de buscar soluciones que mitiguen los reportes del parásito, se han venido adelantando acciones, peticiones y proyectos dentro de los organismos estatales y privados. Las soluciones inmediatas son el monitoreo regular (por lo menos 4 veces al año) de las aguas de riego, de fumigación, de lavado de manos y al producto listo para la exportación. Las entidades que prestan el servicio son la Universidad del Quindío, por técnica de PCR y el laboratorio de Jose Barguil en Medellín y el de la UdeA, por métodos microbiológicos tradicionales. Debido a los costos de la primera técnica, normalmente los análisis se hacen por la segunda como control de rutina y una vez al año, o cuando sea requerido, por un laboratorio en Estados Unidos que cuente con la metodología válida para la FDA.

De igual manera, La Corporación colombiana de investigación agropecuaria, Agrosavia, el año pasado se ganó un proyecto dentro de la convocatoria de regalías de minciencias, Titulado: 'Implementación de alternativas de manejo agronómico, postcosecha y de inocuidad en el

sistema productivo de Albahaca (*Ocimum basilicum* L.) para el cierre de brechas en los municipios de Honda, Mariquita y Espinal en el departamento del Tolima. Uno de los objetivos específicos contempla el desarrollo de una metodología homologable por la FDA para el diagnóstico de *C. cayetanensis*, y la generación de un documento que nos permita saber la presencia y riesgo de contaminación por el parásito a partir de las matrices suelo, agua y planta (Ángela María Vargas, socialización del proyecto, Agrosavia, 2022).

En esta misma dirección, la empresa Basil Farm SAS (Mayacert), ubicada en el municipio de Flandes con 16 Ha cultivadas, ha sido pionera en encontrar estrategias que permitan mejorar la calidad del producto. Una de las más destacadas es la implementación de un laboratorio de microbiología para el Agro, el cual está destinado en un corto plazo a ofrecer servicios y productos a la compañía y en un mediano a largo plazo al público en general. Es así, como la empresa teniendo claro el panorama de inocuidad del producto, decidió a través del laboratorio aplicar, a la convocatoria 2021 de miniciencias en el marco de crédito fiscal y fue ganadora de un proyecto que se titula: "Laboratorio de microbiología en BASIL FARM S.A.S, para el diagnóstico temprano de microorganismos de importancia clínica en alimentos frescos de exportación". Lo anterior, involucra como parte del objetivo general, la implementación de una metodología tradicional, que permita indicar de manera temprana, al menos, si hay presencia de ooquistes en las muestras que se analizan de rutina. Lo anterior, abre una real posibilidad de tener una cadena de custodia en el día a día y un potencial enorme para prestar servicios a muchas empresas que lo requieren. La idea es hacer alianzas estratégicas que permitan tener acceso a los servicios de forma confiable, oportuna y económica.

Para terminar, es importante decir que otra acción en la que se deben dirigir los esfuerzos, es en buscar proyectos que permitan generar la potabilización del agua que tiene contacto con el producto terminado o con el personal que lo manipula. Pues aún no existe para el gremio de albaqueros de la región, plantas potabilizadoras de agua y aún hay muchos vacíos frente a la cantidad y variedad de microorganismos patógenos que se pueden encontrar en todo el ciclo del cultivo. Los reservorios de los productores para el riego salen casi en su totalidad de aguas subterráneas que son concentradas en aljibes, lo que aumenta la posibilidad de contaminación de las fuentes por escorrentías. El tratamiento de las aguas de riego se hace por métodos físico-químicos que no garantizan todavía la sanidad.

CONCLUSIONES

La *C. cayetanensis*, ha generado inquietud en el gremio de productores de albahaca debido a los hallazgos Recientemente reportados por la FDA para los predios productores de la región, a las

sanciones impuestas por el organismo regulador y al aviso de un posible cierre en las exportaciones.

Si bien en el país no tenemos la metodología que valida la FDA, se recomienda utilizar las herramientas de diagnóstico que tenemos de forma regular, para al menos detectar estructuras como ooquistes que puedan dar una alerta de forma inmediata.

La principal región productora y exportadora de albahaca en Colombia, es el Tolima con 23 de los 29 predios existentes. En esta región se vienen adelantando dos proyectos a través del Ministerio de Ciencia y Tecnología para la detección temprana del parásito. Uno a través de Agrosavia, el cual tendría un método homologado por la FDA y otro a través de una empresa del sector privado, el cual permitiría al gremio tener un análisis de rutina sin tener que enviar las muestras a otros departamentos.

REFERENCIAS

1. Bastidas, P. G. et al. (2018). "Una mirada actual sobre *Cyclospora* spp. y ciclosporiasis". Biosalud, Volumen 17 No. 2. págs. 91 - 101
2. Chancin-Bonilla, L. y Barrios, F. (2011). "*Cyclospora cayetanensis*: biología, distribución ambiental y transferencia", Biomédica vol.31 no.1 Bogotá Jan./Mar.
3. Cossio, L. (2021). "La *Cyclospora cayetanensis* en los productos de exportación", Conferencia magistral en la Cámara de Comercio del espinal Tolima. ICA, Ibagué, Tolima - Colombia.
4. DANE - DIAN, (2021). "Perfiles económicos departamentales, Perfil económico: Departamento del Tolima", Ministerio de comercio colombiano. URL: <https://www.mincit.gov.co/getattachment/ed a93571-34c2-48d8-956e-6cffb358d488/Tolima>
5. Ortega, et al. (1998). "*Cyclospora cayetanensis*", Advances in Parasitology, Volumen 40, páginas 399-418.
6. Ortega, Y. y Sánchez, R. (2010). "Update on *Cyclospora cayetanensis*, a Food-Borne and Waterborne Parasite", Clinical Microbiology Reviews. Jan; 23(1):218-234.
7. U.S. Food and Drug Administration. (2021). "HOJA DE ASISTENCIA TÉCNICA DE LA FDA. Norma de la Inocuidad para los Productos Agrícolas Frescos (21 CFR 112). Cyclosporiasis y los Productos Agrícolas Frescos". URL: <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/cyclospora>
8. Ortega, et al. (1998). "Detection of *Cyclospora cayetanensis* in wastewater", Appl. Environ. Microbiol.64:2284-2286.
9. Reyes Pinilla, G. M. (2011). "Identificación de los requisitos indispensables para la exportación de albahaca (*Ocimum Basilicum*) al mercado de los Estados Unidos". Retrieved from

https://ciencia.lasalle.edu.co/administracion_agronegocios/72

10. Vargas, A. (2022). "Implementación de alternativas de manejo agronómico, postcosecha y de inocuidad en el sistema productivo de Albahaca (*Ocimum basilicum* L.) para el cierre de brechas en los municipios de Honda, Mariquita y Espinal en el departamento del Tolima". Socialización del proyecto, Agrosavia, Nataima, Espinal, Tolima - Colombia.