



UNIVERSIDAD ESTATAL DE CUENCA

MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL

**Prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en terneros,
como contaminante de los recursos hídricos y su efecto en la
población infantil en el Cantón San Fernando.**

**Tesis previa a la obtención del título
de Magister en Toxicología
Industrial y Ambiental**

AUTOR: Dr. Teófilo Estuardo Palacios Ordóñez

DIRECTOR: Dr. Ermes Ramiro Rodas Carpio Mg. Sc.

CUENCA, ECUADOR

2014



RESUMEN

Los entero parásitos *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* se estudiaron con el objeto de determinar su prevalencia en terneros que contaminan la zona de captación de agua para el consumo humano y riego en el Cantón San Fernando, provincia del Azuay. La metodología se basó en un estudio epidemiológico de corte transversal-descriptivo. Este estudio se realizó durante el período comprendido entre septiembre del 2013 y abril del 2014. Para la determinación de *Cryptosporidium spp.* en los terneros se utilizó la técnica de coloración de Ziehl-Neelsen la cual estima una prevalencia del 91.70%; mientras que la técnica de Ritchie para *Giardia spp.*, permitió determinar una prevalencia del 76.70%. Para el análisis del agua cuyas muestras fueron tomadas en la zona de captación; se utilizó el método EPA 1623.1 mediante el cual se encontraron 5 ooquistes de *Cryptosporidium spp.* x 100 ml y 10 quistes de *Giardia lamblia* x 100 ml. Por su parte, el estudio de la presencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia lamblia* en niños fue realizado en la población infantil menor de 6 años perteneciente al área geográfica de estudio que acudió al Centro de Salud del Cantón San Fernando, con algún problema de salud, durante el periodo noviembre 2013 – abril 2014; es así que se determinó un 14,29% de casos positivos para *Cryptosporidium spp.* y 33,33% para *Giardia lamblia*. La prueba de asociación de acuerdo a la procedencia de los niños, no muestra diferencias significativas para *Cryptosporidium spp.* pero sí lo hace para *Giardia lamblia*.

Palabras claves: *Cryptosporidium spp.*, *Giardia lamblia*, ooquistes, quistes, terneros, agua, niños, Cantón San Fernando.



ABSTRACT

Enteric parasites *Cryptosporidium spp.* and *Giardia spp.* were studied with the purpose of determining their prevalence in calves, which contaminates the water catchment for human consumption and irrigation of San Fernando Canton, Azuay province. The methodology was based on an epidemiologic cross-section descriptive study. This study was carried out from September 2013 to April 2014. For studying the calves Ziehl Neelsen dye technique was used, which values the prevalence of *Cryptosporidium spp.* in 91.70% whereas Ritchie's technique finds 76.70% of *Giardia spp.* prevalence. For analysis of water, samples were taken in the catchment area. EPA 1623.1 method was used, the finding was 5 oocysts of *Cryptosporidium spp.* x 100 ml, and 10 cysts of *Giardia lamblia* x 100 ml. Meanwhile, the prevalence of *Cryptosporidium spp.* and *Giardia lamblia* in children was performed in child population under 6 years old from the area of study that came to the Health Center of San Fernando Canton with some health problem from November 2013 to April 2014. We obtained 14.29% of positive infections for *Cryptosporidium spp.* and 33.33% for *Giardia lamblia*. An association test according to the origin of children does not evidence significant differences for *Cryptosporidium spp.* but it definitely does for *Giardia lamblia*.

Key words: *Cryptosporidium spp.*, *Giardia lamblia*, oocysts, cysts, calves, water, children, San Fernando Canton.



ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
AGRADECIMIENTOS	8
DEDICATORIA	9
LISTA DE TABLAS	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA	12
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	13
Objetivo general	15
Objetivos específicos	15
Hipótesis	15
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. Enfermedades zoonóticas	16
2.2. Cryptosporidium spp. y Giardia spp.	18
2.2.1. Cryptosporidium spp.	18
2.2.1.1. Generalidades.....	18
2.2.1.2. Taxonomía	19
2.2.1.3. Ciclo biológico	19
2.2.1.4. Epidemiología: distribución geográfica y prevalencia	21
2.2.1.5. Patogenia.....	26
2.2.1.6. Síntomas.....	27
2.2.1.7. Diagnóstico	28
2.2.1.8. La enfermedad en el humano	31
2.2.1.9. La enfermedad en los animales	32
2.2.1.10. Tratamiento	32
2.2.1.11. Control	34
2.2.2. Giardia spp.....	35
2.2.2.1. Generalidades.....	35
2.2.2.2. Taxonomía.	36
2.2.2.3. Ciclo biológico y morfología	37

2.2.2.4. Epidemiología: distribución geográfica, transmisión y prevalencia	41
2.2.2.5. Patogenia.....	42
2.2.2.6. Síntomas.....	43
2.2.2.6.1. Asintomática.....	43
2.2.2.6.2. Infección aguda.....	44
2.2.2.6.3. Infección crónica	44
2.2.2.7. Diagnóstico	45
2.2.2.8. La enfermedad en el humano	46
2.2.2.9. La enfermedad en los animales	47
2.2.2.10. Tratamiento	48
2.2.2.11. Control	49
2.3. Cryptosporidium spp. y Giardia spp. en el agua.....	50
2.4. Contaminación del agua por actividad de la industria, minera y agropecuaria	52
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	54
3.1. Metodología.....	54
3.1.1. Tipo de estudio.....	54
3.1.2. Descripción de la zona de muestreo	54
3.1.3. Población y muestra.....	55
3.1.3.1. Unidades muestrales de terneros	55
3.1.3.2. Unidades muestrales de agua.....	55
3.1.3.3. Unidad muestrales de niños.....	55
3.1.4. Toma de la muestra.....	55
3.1.5. Análisis estadístico.....	56
3.2. Materiales.....	57
3.2.1. Campo	57
3.2.2. Laboratorio.....	57
3.2.3. Procesamiento de la muestra.....	57
3.2.3.1. Coloración de Ziehl-Neelsen modificada para Cryptosporidium spp.....	58
3.2.3.2. Técnica de centrifugación con formol-éter (Método de Ritchie) para Giardia.....	59
3.2.3.3. Métodos para el análisis del agua	60
3.2.3.3.1. Toma de la muestra	60
3.2.3.3.2. Procedimiento.....	60



3.2.3.3.3. Seguridad para el manejo de la muestra	62
3.2.3.3.4. Fundamento del método	62
CAPITULO IV: RESULTADOS	65
4.1. Presencia de <i>Cryptosporidium</i> spp. y <i>Giardia</i> spp. en heces de terneros	65
4.2. Presencia de <i>Cryptosporidium</i> spp. y <i>Giardia lamblia</i> en el agua	67
4.3. Presencia de <i>Cryptosporidium</i> spp. y <i>Giardia lamblia</i> en niños	67
4.4. Asociación de <i>Cryptosporidium</i> spp. de acuerdo a procedencia de los niños.	68
4.5. Asociación de <i>Giardia lamblia</i> de acuerdo a la procedencia de los niños	69
CAPITULO V: DISCUSIÓN	71
5.1. <i>Cryptosporidium</i> spp	71
5.1.1. <i>Cryptosporidium</i> spp. en terneros	71
5.1.2. <i>Cryptosporidium</i> spp. en el agua.....	72
5.1.3. <i>Cryptosporidium</i> spp. en los niños	73
5.2. <i>Giardia</i> spp.....	74
5.2.1. <i>Giardia</i> spp. en terneros	74
5.2.2. <i>Giardia lamblia</i> en el agua	75
5.2.3. <i>Giardia lamblia</i> en los niños	76
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	78
CONCLUSIONES.....	77
RECOMENDACIONES.....	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
ANEXOS.....	86
Anexo 1: Datos de trabajo de tesis.....	86
Anexo 2: Datos del Centro de Salud de San Fernando	89
Anexo 3: Cuadros por edades y resultados de los análisis coprológicos.....	91
Anexo 4: Fotografías del trabajo de campo y laboratorio	92
Anexo 5: Resultados del análisis del agua (EPMAPS-Quito).....	98
Anexo 6: Microcuencas hidrográficas en el Cantón San Fernando.....	99
Anexo 7: Uso del suelo en el Cantón San Fernando en el año 2011.....	100
Anexo 8: Delimitación Parroquial y recintos existentes en el Cantón San Fernando	101

CLÁUSULA DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, TEÓFILO ESTUARDO PALACIOS ORDÓÑEZ, autor de la tesis “*Prevalencia de Cryptosporidium spp. y Giardia spp. en terneros, como contaminante de los recursos hídricos y su efecto en la población infantil en el Cantón San Fernando*”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de *Magister en Toxicología Industrial y Ambiental*. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 29 de septiembre de 2014



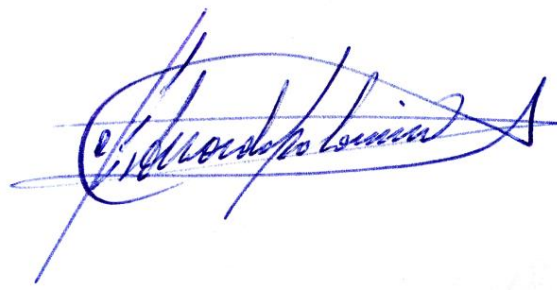
TEÓFILO ESTUARDO PALACIOS ORDÓÑEZ

C.I: 010133057-9

CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Yo, TEÓFILO ESTUARDO PALACIOS ORDÓÑEZ, autor de la tesis “*Prevalencia de Cryptosporidium spp. y Giardia spp. en terneros, como contaminante de los recursos hídricos y su efecto en la población infantil en el Cantón San Fernando*”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 29 de septiembre de 2014



TEÓFILO ESTUARDO PALACIOS ORDÓÑEZ

C.I: 010133057-9

AGRADECIMIENTOS

Quiero empezar agradeciendo a Dios por su generosidad en darme salud y vida para cumplir una de mis metas trazadas.

A la Universidad de Cuenca y docentes de la Maestría en Toxicología Industrial y Ambiental, por darme la oportunidad de enriquecer mi formación profesional en los niveles intelectuales e investigativos.

A mi director de tesis Dr. Ramiro Rodas Carpio, quién con sus conocimientos y su motivación ha logrado que pueda culminar mis estudios de maestría con éxito.

Al GAD de San Fernando, en la persona del Ing. Marco Peña, Alcalde del Cantón por su apoyo y colaboración al autorizar y permitirme realizar la investigación de campo.

Al Centro de Salud del Cantón San Fernando en la persona de la Dra. Eva Astudillo, Directora y Lcda. Marcia Tapia, Laboratorista; por su ayuda en la realización de los exámenes coprológicos a los niños y facilitar datos de los mismos, para cumplir los objetivos propuestos.

Un agradecimiento imperecedero a todos mis familiares, amigos y compañeros que me supieron apoyar y animar la culminación de este trabajo de investigación.

Estuardo



DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón a mi amada esposa Diana Elisabeth, por su comprensión y apoyo durante las horas de estudio y la realización de esta investigación.

A mis queridos y adorados hijos Diana Mariela, Diego Estuardo y Camila Andrea, por su impulso y cariño, que a la vez me han inspirado fortalezas para culminar mis estudios.

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar”. Thomas Chalmers

Estuardo



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies descritas y hospedadores habituales.	25
Tabla 2. Brotes de Criptosporidiosis, agentes transmisores y especies responsables.	25
Tabla 3. Especies/conjuntos de Giardia	37
Tabla 4. Agentes patógenos y organismos productores de toxinas en aguas superficiales.....	53
Tabla 5. <i>Cryptosporidium</i> spp. de acuerdo a procedencia	65
Tabla 6. <i>Giardia</i> spp. de acuerdo a procedencia	66
Tabla 7. <i>Cryptosporidium</i> spp. y <i>Giardia</i> spp. de acuerdo a la edad	66
Tabla 8. Presencia de <i>Cryptosporidium</i> spp. y <i>Giardia lamblia</i> en el agua de la zona de captación	67
Tabla 9. Prevalencia de <i>Cryptosporidium</i> spp. y <i>Giardia lamblia</i> en los niños de acuerdo a su procedencia	67
Tabla 10 <i>Cryptosporidium</i> spp. de acuerdo a procedencia de los niños	68
Tabla 11 Estadísticos de prueba de hipótesis para <i>Cryptosporidium</i> spp.	68
Tabla 12 <i>Giardia lamblia</i> de acuerdo a procedencia de los niños	69
Tabla 13 Estadísticos para prueba de hipótesis para <i>Giardia lamblia</i>	70



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>Cryptosporidium</i>	20
Figura 2. Morfología de <i>Giardia lamblia</i> (García, 1991).....	39
Figura 3. Ciclo biológico de <i>Giardia lamblia</i> (CDC, 2009).	40
Figura 4. Recipientes utilizados en el transporte de las muestras de agua.....	61
Figura 5. Filtration Systems for Filtia-Max® filters (unpressurized source - top, pressurized source - bottom)	63
Figura 6. Method 1623.1 Microscopy Visual Guide	64



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

AMPc: Adenosin monofostato cíclico

ATPasa: Adenosin trifosfatasa

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CEPIS: Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente

DNA: Desoxyribonucleic acid

EFSA: Autoridad Europea de seguridad alimentaria

ELISA: Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas

EPA: Environmental Protection Agency (Agencia de protección del medio ambiente)

EPMAPS: Empresa pública municipal de agua potable y saneamiento

EUA: Estado Unidos de América

FDA: Food and Drug Administration

IgA: Inmunoglobulina A

OPS: Organización Panamericana de la Salud

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

POE: Procedimientos Operativos Estándar

PSA: Planes de seguridad del agua

PVA: Acetato de polivinilo

RAPD: Randon amplificatios of polymorfic DNA fragments

RNA: Ribonucleic acid

SAF: Sistema de administración forestal

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

UE: Unión Europea

UPA: Unidad productiva agropecuaria

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

Las zoonosis y las enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales han sido en los últimos años objeto de atención a nivel mundial; los cambios sociales y demográficos son factores que han intensificado la importancia de adquirir y difundir el conocimiento sobre las zoonosis. En tal sentido, a medida que los individuos irrumpen en ecosistemas con los cuales tenían poco contacto y cuya fauna no resulta bien conocida, aumenta su exposición a los animales, así como a las infecciones que estos transmiten; es decir el incremento de la frontera agropecuaria trae graves consecuencia en demografía y procesos infecciosos desconocidos. Por otra parte se tiene conocimientos que “protozoarios como *Cryptosporidium* y *Giardia* con distribución mundial, infectan a todos los mamíferos de sangre caliente y son considerados problema importante en Salud Pública causando epidemias de diarrea” (Acha & Szyfres, 2003).

La fuente más común de transmisión zoonótica por estos parásitos está relacionada con el contacto con materia fecal, por la cual se eliminan los quistes y ooquistes, con lo cual se contaminan las fuentes de agua destinada a consumo humano o animal. También se relaciona el contacto con heces infectadas hacia la leche y/o algún otro producto pecuario destinado a consumo humano en el que no se hayan tenido los cuidados sanitarios pertinentes durante la producción.

Desde la antigüedad, los parásitos fueron identificados como la causa de enfermedades en el ser humano, a su vez, su impacto en la salud mundial sigue siendo hoy en día muy importante. Pueden, así mismo, causar enfermedad aguda o leve en población sana, y llega a ser más grave, agresiva y en ciertos momentos mortal en pacientes inmunocomprometidos, trasplantados, neutropénicos o, sobre todo, en los infectados con VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana).

Barbosa *et al.* (2013), recuerdan que las infecciones resultantes de agentes parasitarios oportunistas se han incrementado en los últimos años. Muchos de los brotes epidémicos se originaron debido a una reducida vigilancia epidemiológica, a errores en las medidas de control, al desconocimiento de la fuente y, en algunos casos, al de la vía que la enfermedad toma para transmitirse. Especies de protozoos,



como *Cryptosporidium* spp. y *Giardia lamblia*, y el hongo *Encephalitozoon intestinalis*, están reconocidos mundialmente como responsables de brotes epidémicos después de ingestión de agua contaminada. El ingerir este tipo de parásitos trae como consecuencia distintos grados de enfermedad, y resultando la más común la diarrea aguda y/o crónica. En razón de sus grandes potenciales patogénicos, *Cryptosporidium* spp. y *Giardia lamblia* están incluidos en la lista de contaminantes microbianos del agua potable por la EPA (Environmental Protection Agency).

Debido a que no se cuenta con información sobre la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en el ganado lechero en la provincia del Azuay y en el país en general, el presente estudio resulta de gran importancia, además de pertinente para saber la prevalencia actual en la cuenca lechera del cantón San Fernando, ya que ésta es una zona de alta producción láctea. A su vez, todas las fincas productivas están cerca de la cabecera cantonal, y el agua para riego y abastecimiento al proceso de potabilización son tomadas de la misma captación en el sector del Hato de la Virgen. Es necesario que, con los resultados obtenidos en este estudio y una vez determinada la prevalencia, se establezcan sus posibles factores de riesgo, esto con la finalidad de conocer fallas existentes en el manejo de las fincas y contribuir a la preservación de la salud humana y las medidas de mitigación.

Diversos estudios epidemiológicos (García et al, 2011) demuestran que existe una clara relación entre la aparición de los brotes de Giardiasis y Criptosporidiosis y la presencia de quistes u ooquistes en el agua de abastecimiento. La detección de tasas por encima de los niveles endémicos indica que la epidemia está significativamente ligada a una transmisión hídrica.

Pérez *et al.* (2008), han señalado lo esencial que resulta el estudio de las enfermedades transmitidas por alimentos acompañado de su vigilancia en general. Esto con el fin de determinar la dinámica epidemiológica y tutelar los planes de control, tácticas y políticas de prevención. Son, así mismo, instrumentos importantes para estimar el impacto de los programas de inocuidad de los alimentos e identificar aquellos espacios que demandan de una investigación inminente.

Objetivo general

- Determinar la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en terneros en la cuenca lechera del Cantón San Fernando, y la asociación de infección por estos endoparásitos en la población humana infantil.

Objetivos específicos

- Estudiar la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en terneros de 0 a 2 y 2 a 4 meses de edad, mediante exámenes coprológicos.
- Analizar la presencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en las fuentes de agua para consumo de la población, por el método EPA 1623.1.
- Analizar la incidencia de esta enfermedad en los niños menores de 6 años, procedentes de las comunidades de las cuencas hídricas del Cantón San Fernando, mediante el análisis de las fichas médicas que poseen en el Centro de Salud del Cantón.
- Estimar los factores de riesgo en la producción ganadera en relación a buenas prácticas de manejo que puedan incurrir en la infestación de personas y animales.

Hipótesis

- La prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en las heces de terneros de 0-4 meses de edad, es un agente contaminante de los recursos hídricos de consumo de la población humana de 0-6 años de edad, en el Cantón San Fernando.



CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Enfermedades zoonóticas

A lo largo de la historia los animales han desempeñado un papel fundamental en el desarrollo de la humanidad, por ejemplo: como fuente de alimento, compañía, fuerza de trabajo, como apoyo invaluable ante situaciones de desastre e, incluso, como instrumento de guerra o de conquista.

Como apuntan Jaramillo y Martínez (2010), la globalización trajo una progresiva demanda de mercancías y servicios y, por lo tanto, devino en un mayor intercambio de tales recursos; en tal razón, los animales y los productos que de ellos se derivan resultan del interés de la sociedad en general, sea como bienes de consumo, uso o producción. En tal caso, si no se toman en consideración medidas sanitarias adecuadas, empezarán a presentarse problemas de salud o enfermedades zoonóticas.

Los mismos autores (Jaramillo & Martínez, 2010) recuerdan que, según la OMS (Organización Mundial de la Salud), la salud está sujeta del equilibrio biológico, psicológico y social de la persona con el ambiente en el que se desenvuelve; esta relación de interdependencia armónica incluye la participación dinámica de varios elementos en el ecosistema, cuya sobrevivencia depende de la interacción entre las unidades biológicas y su ambiente. Cuando este equilibrio (homeostasis) se sesga contra el hospedador la enfermedad se origina.

Las zoonosis son enfermedades que se pueden transmitir de forma directa o indirecta de animales a personas. Esta infección tiene su origen en el consumo de agua y alimentos contaminados o debido al contacto directo de animales infectados; en este tipo de contaminación entran en juego patógenos bacterianos (*Campylobacter*, *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Yersinia*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* y *botulinum*), virus (*Calicivirus*, *Rotavirus*, Virus de la hepatitis A) y parásitos (*Trichinella*, *Toxoplasma*, ***Cryptosporidium*** y ***Giardia***), la



mayoría de los cuales se localizan en el tracto intestinal de los animales, según lo señalado por Chavarías (2012).

En las enfermedades zoonóticas, los medios de transmisión más frecuentes de *Cryptosporidium* y *Giardia* son los alimentos y aguas contaminadas con materias fecales que tengan quistes procedentes de humanos o animales. En el caso de la *Giardia* se considera que es el parásito intestinal patógeno más frecuente en el mundo, con reinfecciones frecuentes (Botero & Restrepo, 2012).

La clave para evitar las zoonosis radica en la prevención y control en toda la cadena alimentaria; según información de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), un tercio de todas las enfermedades infecciosas humanas tienen su origen zoonótico, es decir, se transmiten a través de los animales. Por tal motivo la Unión Europea (UE) ha adoptado un enfoque integrado de seguridad alimentaria “de la granja a la mesa”; siendo una herramienta fundamental en la recopilación de datos, análisis y gestión de riesgo, para la aplicación de medidas legislativas (Chavarrías, 2012).

También se relaciona el contacto con heces infectadas que llegaron a la leche y/o algún otro producto pecuario destinado a consumo humano, y en los que no se hayan tenido los cuidados sanitarios y de higiene en labores para la obtención de productos pecuarios; esto es muy común en los países en vías de desarrollo donde la práctica de producción pecuaria es todavía artesanal y tecnificada en un bajo porcentaje (Henrández & Cortés, 2012).

Como apuntan Beck y Pantchev (2010) los cryptosporidios tienen una especial importancia como agente zoonótico, ya que estos patógenos influyen decisivamente en la morbilidad y mortalidad de las personas inmunodeprimidas.

A pesar de que se consideró a la criptosporidiosis como una enfermedad zoonótica que se originó a través de la transmisión de *Cryptosporidium parvum* del ganado bovino a otros animales de granja, ahora se sabe que pueden producirse varios tipos de ciclos de transmisión, predominando la transmisión de persona a persona como son los casos analizados en los Estados Unidos, sin descartar la transmisión zoonótica (Ash & Orihel, 2011).

Es importante definir y conceptualizar a los protozoarios zoonóticos objeto de la investigación. En tal razón se los define como organismos unicelulares, con una amplia distribución en los cuerpos acuáticos. La mayor parte de los protozoarios son benéficos, pues contribuyen a preservar el equilibrio de los ecosistemas acuáticos. Su incremento anormal puede ocasionar alteraciones en el ecosistema acuático; otro grupo de protozoarios son parásitos y causan enfermedades en el hombre y en los animales (Aurazo, 2009).

2.2 Cryptosporidium spp. y Giardia spp.

2.2.1. Cryptosporidium spp.

2.2.1.1. Generalidades

Cryptosporidium es un parásito intestinal que puede ocasionar diarrea, náusea, calambre y otros síntomas; en su etapa contagiosa vive en formas microscópicas que se conocen como ooquistes, los mismos que se pueden encontrar en desperdicios sanitarios de personas o animales infectados. Las lluvias y las aguas negras pueden llevar estos desperdicios sanitarios a los ríos, quebradas, lagos, etc., y así contaminar las fuentes de agua potable (Arizona, 1995).

El género *Cryptosporidium* junto con *Isospora*, *Cyclospora*, *Sarcocystis* y *Toxoplasma*, son protozoos que pertenecen al grupo de las coccidias, en el filo Apicomplexa; antes llamado Esporozoa (Acha & Szyfres, 2003).

Fayer Santín y Xiao, (2005), citados en (Bowman, 2011) manifiestan que en los últimos años el género *Cryptosporidium* ha sido objeto de una fuerte proliferación de especies que tiene su relevancia en medicina veterinaria; es así que se reconocen a *Cryptosporidium parvum* en terneros menores de 30 días, *C. bovis* en bovinos adultos, *C. suis* en cerdos, *C. canis* en perros, *C. felis* en gatos, *C. meleagridis* y *C. baileyi* en aves, *C. wairi* en cobayas, *C. muris* en estómago de ratones, *C. serpentis* en serpientes, *C. andersoni* en abomaso de vacunos; y en el humano la especie más importante es sin duda el *Cryptosporidium hominis*.

Peng, MM, (1997) y Morgan-Ryan (2004), citados en (Botero & Restrepo, 2012), manifiestan que actualmente el *Cryptosporidium parvum* se ha dividido en dos especies separadas: *Cryptosporidium hominis* (anteriormente llamada *C. parvum* genotipo 1) y *Cryptosporidium parvum* (llamada *C. parvum* genotipo 2), ya que la especie *hominis* aparentemente afecta solo a los humanos. Mientras que el *C. parvum* se encuentra en humanos y en varios mamíferos, viviendo en el intestino delgado donde forma ooquistes que salen del huésped (Acha & Szyfres, 2003).

2.2.1.2. Taxonomía

El género *Cryptosporidium* que está considerado como un protozoo, está incluido en:

- Phylum: Apicomplexa
- Clase: Sporozoa
- Subclase: Coccidia
- Orden: Eucoccidiida
- Suborden: Eimeriina
- Familia: Cryptosporidiidae
- Género: *Cryptosporidium*
- Especies: *nasurum* (peces), *serpentis* (reptiles), *meleagridis* (intestino de las aves), *baileyi* (tráquea, bolsa de Fabrizio y cloaca de aves), *muris* (estómago de mamíferos), *parvum* (intestino de mamíferos) (Cordero & Rojo, 2002) y *hominis* (humanos) (Botero & Restrepo, 2012).

Los ooquistes de *C. hominis* y *C. parvum* son esféricos u ovales, miden entre 4 a 6 μm , y son esporulados cuando se elimina en las heces (Ash & Orihel, 2011).

2.2.1.3. Ciclo biológico

El género *Cryptosporidium* igual que todas las coccidias, posee un ciclo de vida asexuado y otro sexuado en el mismo huésped (Cordero & Rojo, 2002), los cuales suceden en el interior de los enterocitos en las infecciones intestinales (Botero & Restrepo, 2012). Este ciclo se inicia con la reproducción asexual, cuando el ooquiste infectante que mide 5 a 8 μm de diámetro (Bowman, 2011) se desenquista y libera cuatro esporozoítos móviles, que liberados alcanzan el borde luminal de los



enterocitos mediante movimientos de contracción, extensión y deslizamiento, en donde se invaginan y se encapsulan en el interior de una vacuola parasitófora (Cordero & Rojo, 2002); realizando en estas vacuolas las fases de esquizogonia, gametogonia, fecundación y esporogonia. Algunos ooquistes experimentan una exquistación interna, lo que constituye un mecanismo de autoinfección que explica la cronicidad de hospedadores inmunocompetentes, así como la hiperinfección letal en hospedadores inmunodeficientes (Bowman, 2011).

Este protozooario es un parásito monógeno y heterogenético; monógeno porque todos los estadios de desarrollo se llevan a cabo en un mismo hospedador (ciclo directo) y heterogenético porque el parásito tiene fases de reproducción asexual y sexual, las que culminan con la formación de un ooquiste que corresponde al elemento infectante de esta parasitosis, según lo señalado por Morales (2011).

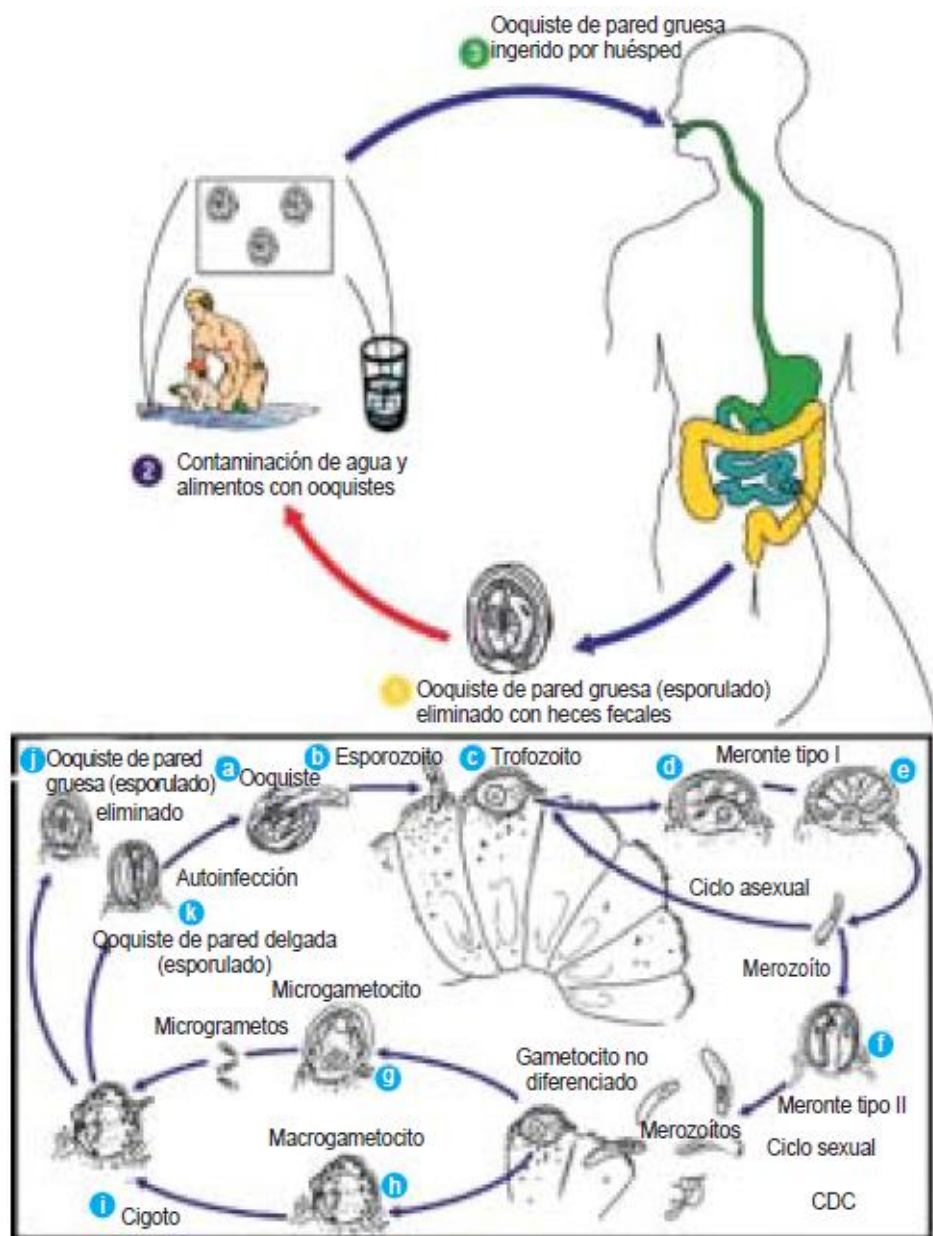
Los ooquistes permanecen viables de 2 a 6 meses a 4°C y durante varios meses a temperatura corporal con la ayuda de las sales biliares y posiblemente la tripsina (Cordero & Rojo, 2002), mientras que a temperaturas por debajo de 0°C o por encima de 65°C, y sometidos a desinfectantes como el amonio al 5% o formol al 10% son lábiles (Bowman, 2011).

La formación de la pared del ooquiste ocurre antes que la esporulación, presentándose en un 80% de ooquistes una doble pared que constituye las formas de resistencia para el ambiente y a la vez son los responsables de la transmisión entre hospedadores ya que son eliminados en las heces; mientras que los de pared fina que son un 20% están rodeados de una sola membrana y son los responsables de la autoinfección, este ciclo de autoinfección perpetúa e incrementa el número de microorganismos en los huéspedes definitivos (Ash & Orihel, 2011).

Los detalles del desarrollo de estos parásitos derivan de los estudios ultraestructurales y de su observación en cultivos de tejidos humanos; los merozoítos que son el resultado del ciclo biológico del *Cryptosporidium*, forman microgametocitos (célula macho) y macrogametocitos (célula hembra) que llevan a la formación de un cigoto, alrededor del cual se desarrolla la pared resistente del

quiste, siendo la esporogonia que está dentro del quiste la que da como resultado la producción de los cuatro esporozoítos (Ash & Orihel, 2011).

Figura 1. Ciclo biológico de *Cryptosporidium*



Fuente: (Doménech, 2003)

2.2.1.4. Epidemiología: distribución geográfica y prevalencia

La distribución geográfica de *Cryptosporidium* como agente causal y Criptosporidiosis como enfermedad en los rumiantes domésticos y el hombre es cosmopolita (Beck & Pantchev, 2010), (Cordero & Rojo, 2002) y mundial (Acha & Szyfres, 2003), (Ash & Orihel, 2011).

Cryptosporidium parvum posee un alto potencial reproductivo y los ooquistes infectantes una alta propagación a través del agua potable o por contacto directo hombre con hombre o animal con hombre. Las personas de todas las edades, cuidadores de animales, estudiantes de veterinaria, profesionales agropecuarios que están en contacto con los animales infectados, están en especial situación de riesgo, así como los seres humanos, bóvidos, otros animales domésticos y mamíferos salvajes, se consideran los reservorios de criptosporidiosis (Beck & Pantchev, 2010).

En el ganado bovino, el resultado de descripciones puntuales, brotes en explotaciones y estudios epidemiológicos regionales (España), muestran que la Criptosporidiosis afecta tanto a razas de carne como de leche y que la prevalencia de la infección por *Cryptosporidium parvum* en terneros con diarrea es del 10-80%. La prevalencia de rebaños se ha calculado en un 59% y el número de terneros infectados alrededor del 22% (Cordero & Rojo, 2002).

El concepto de transmisión horizontal por ingestión de ooquistes de pared gruesa eliminados con las heces es el que comúnmente se acepta. En los rumiantes domésticos la principal fuente de infección son las heces excretadas por los animales neonatos con diarrea; aunque también hay que considerar la eliminación de ooquistes por los animales adultos que actúan como portadores asintomáticos; los animales mamíferos domésticos como perros y los silvestres también juegan un papel importante como fuentes de infección (Cordero & Rojo, 2002).

La transmisión indirecta por los alimentos y el agua contaminados con ooquistes, también deben considerarse un punto importante desde la salud pública, ya que cada vez son más frecuentes los hallazgos de *Cryptosporidium* en aguas para consumo humano y su asociación con diarreas en la población inmunocompetente, por lo que evidencia que los métodos habituales de filtración, floculación,

sedimentación y desinfección no son completamente confiables y eficaces en la separación o inactivación de los ooquistes (Cordero & Rojo, 2002).

Los brotes de criptosporidiosis se han asociado fundamentalmente al agua de bebida o por contacto con aguas de recreo; existe un caso por consumo de jugo fresco de manzana en Maine, EE.UU, y pocos brotes alimenticios, lo que se implica a los manipuladores de los alimentos. La transmisión de *C. parvum* desde becerros es inequívoca; se estima que el 50% de ellos excretan ooquistes y que el parásito está presente en más del 90% de los establos. La alta prevalencia de animales infectados recomienda ser cautelosos en la ingesta de leche no pasteurizada, incluso en población sana (García, Fernández, López, García, & Casanova, 2006). Estos mismos autores agregan:

“*Cryptosporidium hominis* afecta únicamente al hombre, y es el responsable de muchos brotes en todo el mundo, mientras que *C. parvum* que parece ser el principal implicado en Europa, es capaz también de infectar a todas las especies de mamíferos recién nacidos; otras especies de *Cryptosporidium* no se consideraban hasta hace poco tiempo patógenas para el hombre. Sin embargo en los últimos años, se han descrito más de 40 casos de infección en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), en los cuales se han aislado especies como el *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. muris* y *C. baileyi*”.

Los gastrópodos silvestres como son los caracoles (*Helix aspersa*) y las babosas (*Deroce-rasreticulatum*) pueden actuar como reservorios y vectores mecánicos del *Cryptosporidium* para los seres humanos y los animales. Si bien los caracoles y sus huevos se consumen cocidos o en conserva, *C. parvum* corresponde a una especie que parasita a hospedadores vertebrados, lo que implica que los gastrópodos usados con frecuencia para el consumo humano por su gran valor nutricional en Francia y España, deberían someterse a pruebas para descartar la presencia de este parásito (Neira, Muñoz, Stanley, Gosh, & Rosales, 2010).

Desde la aparición del SIDA, la criptosporidiosis ha cobrado importancia como primera causa de diarrea en pacientes con esa enfermedad y con otras

inmunodeficiencias. La transmisión se hace a través de materias fecales humanas o de animales. En la población general se encuentra una frecuencia de 10% a 20% y en inmunocomprometidos puede llegar hasta el 50% (Botero & Restrepo, 2012).

Está demostrado que los ooquistes de este endoparásito es 14 veces más resistente a la cloración y 30 veces más al ozono frente a otros quistes entero patógenos como la *Giardia duodenalis* (Cordero & Rojo, 2002).

El período de prepatencia (tiempo entre la infección y la eliminación de ooquistes) varía de 2 a 14 días, en la mayoría de animales domésticos; mientras que el período de patencia (duración de la excreción de ooquistes) es variable, pudiendo durar días hasta meses. En humanos inmunocompetentes se ha calculado un periodo de prepatencia entre 5 a 28 días y un periodo de patencia entre 8 y 31 días, tomando en consideración que en pacientes con SIDA, la eliminación de ooquistes puede ser indefinida, citado en (Parte, Bruzual, & Brito, 2005).

Este período en los rumiantes domésticos es de 3-4 días, aunque dependiendo de la edad y dosis infectante puede prolongarse hasta 6-7 días (Cordero & Rojo, 2002), en algunos casos llegar a 14 días (Ash & Orihel, 2011).

En las guarderías se produce la contaminación de una persona a otra por vía fecal-oral y en muchos brotes ocurridos a gran escala la transmisión es por agua contaminada; a su vez, en el brote de Milwaukee (Wisconsin-EE.UU) se infectaron aproximadamente 400.000 personas, falleciendo 7, convirtiéndose en la epidemia más importante transmitida por agua en los EE.UU.; se estima que es posible encontrar ooquistes de *Cryptosporidium spp.* en el 90% de las muestras de aguas residuales, en el 75% de las aguas fluviales y en el 28% del agua potable (Parte et al, 2005).

En Latinoamérica existe un incremento de morbilidad debido a la alta prevalencia en pacientes infectados por el virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). De igual manera se puede decir que a nivel mundial se ha registrado epidemias causadas por *Cryptosporidium parvum* como consecuencia del consumo de aguas provenientes de plantas de tratamiento con una incidencia del 28% en países como Estados Unidos, Brasil, Argentina, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, Haití y

Colombia, obteniendo una alta tasa de mortalidad afectando en su mayoría a niños (Medina, Moncada, González, Rueda, & Rojas, 2012)

El Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, CEPIS, según Del Coco *et al* (2009), citado por (Medina *et al.*, 2012), manifiesta que la criptosporidiosis es actualmente considerada una enfermedad emergente y representa uno de los principales problemas parasitarios en ambientes acuáticos a nivel mundial. La transmisión se daría de forma indirecta debido al consumo de alimentos, especialmente de hortalizas y legumbres contaminadas a través del riego con aguas residuales (Medina *et al.* 2012).

El ganado vacuno produce 21 veces más residuos (materia fecal y orina) que el ser humano. A diferencia de una ciudad en donde la regulación le exige la instalación de una planta de tratamiento de efluentes cloacales, a un campo con ganado no se le impone ningún tipo de tecnología para tratar sus residuos. En consecuencia, al no ser manejados correctamente, terminan en el suelo y en el agua, con la consiguiente contaminación, lo cual se traduce en un significativo daño al ambiente y problemas de salud para la población. Un gramo de materia fecal de ganado vacuno contiene aproximadamente un millón de estos parásitos. (Modini *et al.* 2010).

Tabla 1. Especies descritas y hospedadores habituales.

Especie	Detección en:
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Rumiantes y humanos
<i>Cryptosporidium hominis</i>	Humanos
<i>Cryptosporidium muris</i>	Roedores, otros mamíferos
<i>Cryptosporidium andersoni</i>	Ganado vacuno
<i>Cryptosporidium wrairi</i>	Cobayas
<i>Cryptosporidium felis</i>	Gatos
<i>Cryptosporidium canis</i>	Perros
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	Pavos, aves y humanos
<i>Cryptosporidium baileyi</i>	Pollos y pájaros
<i>Cryptosporidium galli</i>	Pájaros
<i>Cryptosporidium serpentis</i>	Lagartos y serpientes
<i>Cryptosporidium saurophilum</i>	Lagartos y serpientes
<i>Cryptosporidium molnari</i>	Peces

Fuente: (García, 2012).

Tabla 2. Brotes de Criptosporidiosis, agentes transmisores y especies responsables.

AÑO	CIUDAD/ESTADO	PAIS	TRANSMISIÓN	ESPECIE
1993	Milwaukee, Wis.	EE.UU.	Agua	C. hominis
1993	Maine,	EE.UU.	Alimentos	C. parvum
1996	British Columbia	Canadá	Agua	C. parvum, C. hominis
1997	Pennsylvania	EE.UU.	Contacto con animales	C. parvum
1998	Washington	EE.UU.	Alimentos	C. hominis
2000	Irlanda del Norte	Reino Unido	Agua	C. parvum y C. hominis
2002	Queensland	Australia	Alimentos	C. parvum
2003	Francia		Agua	c. hominis

Fuente: De Thompson (14, 15) y Xiao et al. (16) (con ligeras modificaciones) citados por (Sanz, 2010).

2.2.1.5. Patogenia.

El intestino delgado, de manera principal en el yeyuno, es la localización inicial de donde parte la diseminación a las vísceras, en especial en pacientes inmunodeficientes, además se puede encontrar la diseminación hacia otros órganos del sistema digestivo (faringe, esófago, estómago, duodeno, íleon, colédoco, apéndice, colon y recto) en pacientes inmunodeprimidos y la diseminación en pulmones encontrándose los ooquistes en el esputo (Botero & Restrepo, 2012).

El desarrollo endógeno del parásito, implica una secuencia de eventos como son, en primer lugar, la formación de la vacuola parasitófora, desarrollo de la organela nutricia, multiplicación sexual y asexual (Sanz, 2010).

La invasión de los enterocitos por el parásito daña y destruye las células absorbentes y ocasiona su extensión al lumen intestinal, produciendo atrofia parcial de las vellosidades y fusión de éstas, quedando la superficie de absorción claramente disminuida. La malabsorción que originan estos procesos puede hacerse patente incluso antes de que se produzca atrofia de vellosidades debido a la reducción de las enzimas especialmente la lactasa unida a la membrana, rompiendo el equilibrio entre absorción y secreción (Cordero & Rojo, 2002).

En el caso de presencia de *Cryptosporidium*, existe respuesta humoral y celular; en la humoral existe respuesta específica de anticuerpos IgG, IgM e IgA, y en la celular



se presenta alteración en las células T en pacientes VIH positivos (Botero & Restrepo, 2012), y los neutrófilos polimorfonucleares, pueden activar la síntesis de prostaglandinas y bradiquinas que estimulan la secreción de inmunoglobulinas, teniendo como resultado el efecto de las sales biliares en el colon, que al no ser absorbidos por el íleon dañaría el epitelio del colon y estimularía la secreción de fluidos y electrolitos por activación del AMP cíclico (Cordero & Rojo, 2002).

El *Cryptosporidium*, provoca una diarrea de tipo secretor, al estimular el AMP para convertirlo en AMPc, y este a su vez, estimula la pared baso lateral del enterocito a nivel de la bomba sodio potasio ATPasa y así producir pérdida de electrolitos en materia fecal (Velasco, 2013).

2.2.1.6. Síntomas

El periodo de prepatencia o incubación depende del estado del animal, edad y dosis infectante. Así mismo no existen signos patognomónicos que diferencien a la criptosporidiosis de procesos causados por otros enteropatógenos (Cordero & Rojo, 2002).

Aproximadamente la tercera parte de los individuos con *Cryptosporidium* son asintomáticos; en los inmunocompetentes los síntomas principales son gastrointestinales con diarreas no disintéricas, por lo regular de carácter crónico o agudo (cinco a diez episodios diarreicos al día) y después de un tiempo puede seguirle un cuadro de estreñimiento; ocasionalmente se presenta desnutrición. En los inmunodeficientes la sintomatología digestiva es más intensa y de larga duración, presentando además malestar, anorexia y fiebre; acompañada de pérdida de líquidos y electrolitos que pueden producir la muerte por deshidratación y un signo de mala absorción que compromete seriamente al aspecto general, también se puede presentar invasión extraintestinal, afectando con mayor frecuencia a los pulmones (Botero & Restrepo, 2012).

Cuando se trata de infecciones naturales, los síntomas y la eliminación de ooquistes pueden comenzar en la primera o segunda semana de vida, notándose variación en la consistencia y color de las heces, con una duración entre 3 a 5 días en casos leves y de 1 a 2 semanas en casos más graves. La excreción de ooquistes se eleva



de 1 a 2 días después de iniciados los síntomas; alcanzando un máximo en los brotes de campo en la segunda semana y luego disminuye progresivamente según avanza la edad. (Cordero & Rojo, 2002)

La criptosporidiosis se vuelve sintomática únicamente en ausencia de los mecanismos normales de defensa, es decir, con un sistema inmune inmaduro, debido a esto los terneros enferman por lo regular entre los 5 y 35 días de edad. El principal signo clínico es la diarrea no hemorrágica, heces amarillentas, olor pútrido, teniendo como causa situaciones de estrés como temperaturas bajas, falta de refugio, hacinamiento. Dependiendo de otros factores como la edad, el estado inmunitario y las condiciones medio ambientales, se pueden generar otros signos clínicos como anorexia, dolor abdominal, pérdida de peso, postración y fiebre (Morales, 2011).

De igual manera puede presentarse asintomática o con diarrea debilitante durante las tres primeras semanas de vida, o cuadros graves de criptosporidiosis asociada con estados de inmunocompromiso inducida por virus de la Leucemia felina en gatos (Bowman, 2011).

En pacientes con SIDA, se da una infección crónica con la sintomatología general ya descrita, pero acompañada de malabsorción y deshidratación grave, con 5-20 deposiciones diarias y a veces pérdida de hasta 20 litros al día. En ocasiones, la diarrea coleriforme se prolonga durante semanas o meses, provocando hasta el 50% de pérdida de peso. La persistencia de la diarrea por *Cryptosporidium* durante más de 30 días en los pacientes infectados por el VIH es un criterio para diagnóstico seguro de SIDA. En estos pacientes, *Cryptosporidium* puede producir infecciones extraintestinales como las que afectan a la vía biliar (dilatación biliar intrahepática o extrahepática y colangitis esclerosante). El reservorio biliar contribuye a la cronicidad de la infección y a la incapacidad de erradicar el microorganismo. En estos pacientes puede también producir hepatitis o pancreatitis aguda y afectación respiratoria (laringotraqueítis, sinusitis, tos o disnea) (García, Fernández, López, García , & Casanova, 2006).

2.2.1.7. Diagnóstico

Para tener éxito en el diagnóstico, a más de los signos clínicos que presenta el paciente, es necesario recurrir al diagnóstico etiológico mediante la observación microscópica de los parásitos y pruebas específicas de gabinete.

El diagnóstico se basa en la comprobación de la presencia de ooquistes en las heces, esto se determina mediante extensiones teñidas por Giemsa, Ziehl-Neelsen modificado o técnicas de flotación como la de Sheater. Por biopsia del intestino o histología en donde se puede comprobar los diferentes estadios de desarrollo del protozooario y las lesiones sobre las vellosidades (Acha & Szyfres, 2003).

El mejor procedimiento es realizar análisis coprológicos de heces de terneros de 1 a 3 semanas de edad, y una vez que se han visualizado los ooquistes de *Cryptosporidium* se establecerá un diagnóstico preciso. Existen análisis diseñados para la detección de antígenos de *C. parvum* en heces humanas, y son también de utilidad para las muestras de ganado bovino (Bowman, 2011).

El número de quistes se relaciona, por lo general, con la consistencia de las heces, es decir, a más diarrea más ooquistes. Cuando la diarrea es acuosa se recomienda recoger las partes mucosas, particularmente ricas en quistes. Pueden así mismo observarse los quistes en biopsias gastrointestinales, en bilis o en muestras respiratorias. En los enfermos infectados por el VIH con diarrea, los ooquistes eliminados en las muestras son infecciosos, por lo tanto se recomienda el uso de un fijador como el SAF (acetato de sodio, ácido acético, formol) o el PVA (alcohol polivinílico), aunque este puede que interfiera en el método de concentración formol-éter. Para el resto de las muestras (biopsias, secreciones respiratorias y bilis), se aconseja una solución salina formolada al 5 ó 10%. Así lo recomienda *García et al.* (2006).

Las técnicas de detección de *Cryptosporidium* mediante inmunoensayos son más sensibles y específicas que la microscopía. Alcanzan hasta un 100% de sensibilidad y de especificidad y el límite de detección son 10.000 ooquistes/g de heces diarreicas o 50.000/g de heces consistentes. Las de enzimoimmunoanálisis, EIA, alcanzan del 66,3 al 100% de sensibilidad y del 93 al 100% de especificidad. Algunas de estas técnicas, particularmente las que combinan la identificación de *C.*

parvum y *G. lamblia*, pueden resultar de gran utilidad en los laboratorios (García, s.f.).

Las técnicas de biología molecular son mucho más sensibles y específicas que las precedentes (hasta 1-10 ooquistes/g de heces, según algunos estudios), permiten identificar especies y genotipos, cuantificar y analizar de una vez lotes de muestras, analizar tejidos, realizar estudios retrospectivos sobre muestras de archivo y, sobre todo, caracterizar brotes epidémicos, pero no son técnicas prácticas para el diagnóstico clínico por su complejidad y por la presencia de inhibidores en las heces. Se han empleado métodos de hibridación con sondas de DNA y de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de diversos fragmentos de ácidos nucleicos, como RNA ribosómico, los genes HSP70 y COWP y técnicas de RAPD (random amplification of polymorphic DNA fragments) (García, s.f.).

Conceptualmente la reacción en cadena de la polimerasa -PCR- incluye un conjunto de técnicas en apariencia simples, de tal modo que algunas de sus variantes como la detección múltiple lucen atractivos para el campo de la microbiología asistencial. Sin embargo, su aplicación de manera rutinaria se ve restringida por la necesidad de numerosos y necesarios protocolos de estandarización y optimación para determinaciones particulares (Bolívar, Rojas, & García-Lugo, 2014).

El advenimiento del cultivo de los microorganismos y la aplicación de técnicas de diagnóstico molecular para la detección y la identificación de los parásitos, hicieron que en los últimos años se cuestionara la taxonomía y la clasificación del género *Cryptosporidium* (Ash & Orihel, 2011).

Como lesiones encontradas en la necropsia en animales fallecidos y que han dado positivo al examen microscópico de las heces, podemos advertir que en la mayoría de rumiantes neonatos infectados se producen diversos grados de caquexia y deshidratación, atrofia de grasa mesentérica, infartos ganglionares; por lo general en el abomaso se encuentra leche sin digerir formando coágulos, olor muy fuerte por la no digestión y en el intestino delgado enteritis congestiva con las mucosas hiperémicas pero no hemorrágicas (Cordero & Rojo, 2002).



En biopsia del intestino se puede observar la atrofia de las vellosidades y la hipertrofia de las criptas, en donde se localizan los parásitos. Se logra definir distintos estadios mediante las coloraciones comunes de hematoxilina-eosina, Giemsa, Kinyoun y la inmunoperoxidasa (Botero & Restrepo, 2012).

2.2.1.8. La enfermedad en el humano

En los humanos, la criptosporidiosis es considerada una zoonosis re-emergente debido al considerable aumento en su prevalencia; es así que en el año 1993 se registra la mayor epidemia de criptosporidiosis la cual tuvo lugar en la ciudad de Milwaukee, EUA donde más de 400.000 personas enfermaron (Morales, 2011).

Los primeros casos clínicos de criptosporidiosis se identificaron en 1976 en dos pacientes inmunodeficientes, luego se presentaron y reconocieron muchos casos y numerosas epidemias como la ocurrida en el año 1993 en Milwaukee, Estados Unidos. En individuos inmunológicamente sanos, la criptosporidiosis puede ser asintomática o cursar como una enfermedad autolimitante caracterizada por diarrea acuosa y profusa, que comienza una o dos semanas después de la infección y dura de 8 a 20 días (Acha & Szyfres, 2003).

La prevalencia estimada de *Cryptosporidium* en personas con diarrea es del 1 al 3% en países desarrollados y alrededor del 10% en países en vías de desarrollo. En niños con diarrea, el 7% en países desarrollados, mientras que la proporción es mayor al 12% en países en vías de desarrollo. En Córdoba, Argentina, se ha estimado una prevalencia de 24 a 31,2% en pacientes con diarrea. En los países en vías de desarrollo es difícil estimar la prevalencia de criptosporidiosis, debido a que la infección no es de notificación obligatoria y los datos epidemiológicos existentes son escasos (DelCoco & Basualdo, INTA, 2008).

La prevalencia de ooquistes según encuestas realizadas en Europa está entre el 1 y 2%, en América del Norte del 0.6 al 4.3% y en países en desarrollo entre el 10 y 20% (Acha & Szyfres, 2003).

En estudios realizados en países industrializados en pacientes con diarrea y positivos a VIH se encontró un valor entre el 14 y el 24%, mientras que los

asintomáticos no superan el 5%. En Alemania en el año 2001 se declararon 1481 casos entre soldados del ejército y niños de 1 a 3 años, motivo por el cual se creó la Ley de protección contra infecciones (IfSG), notándose una baja de casos en los años siguientes (Beck & Pantchev, 2010).

2.2.1.9. La enfermedad en los animales

Se presenta con cierta frecuencia en terneros jóvenes, encontrándose un primer caso de criptosporidiosis clínica en el año 1971, luego se fue desarrollando la enfermedad hasta que se pudieron encontrar infección hasta un 80% de terneros menores de un mes y un 62% en bovinos adultos aparentemente sanos. En equinos también se desarrolla la enfermedad encontrándose un 15 a 31% de infección en potrillos en periodo de lactancia, pero solo 0.6% en caballos adultos (Acha & Szyfres, 2003).

Eckert et al. (2005), señala que en Europa Central entre un 20 y 80% de los terneros de aspecto sano pueden eliminar ooquistes; igualmente Uehlinger et al. (2005), manifiesta que en heces de bovinos adultos analizados mediante PCR se encontró solamente un 46% de *C. andersoni*, que no es una especie de riesgo zoonótico (Beck & Pantchev, 2010).

2.2.1.10. Tratamiento

Las diferencias en el desarrollo del parásito, la morfología de los quistes, la autoinfección, la resistencia a las quimioterapias, el fracaso al uso secundario de anticoccidiales son razones para mantener y reafirmar la teoría filogénica y el criterio de que los *Cryptosporidium* están estrechamente relacionados con las gregarinas que los demás parásitos coccidios (Ash & Orihel, 2011), (DelCoco & Córdova, 2008).

No existe tratamiento específico que sea eficaz frente a la infección por *Cryptosporidium* en animales, de igual manera describe que la Food and Drug Administration (FDA) ha aprobado el uso de nitazoxanidol (grupo de los thiazólidos) en suspensión oral para el tratamiento de la diarrea producida por *Cryptosporidium* y *Giardia* en humanos (Bowman, 2011).

Se han realizado estudios de campo con terneros en donde se ha demostrado que Halocur (lactato de halofuginona) administrado durante 7 días por vía oral, impide el crecimiento de *Cryptosporidium* y disminuye la incidencia de diarrea en animales positivos (Medicamentos Veterinarios, 2007).

También podemos mencionar el uso de sulfaquinoxalina, sulfadimidina, sulfadimetoxina durante 8 a 10 días, siempre acompañado de complejo vitamínico B (Bowman, 2011). Sulfato de paramomicina es un antibiótico aminoglucósido que presenta un efecto antiparasitario en contra de protozoarios como *Cryptosporidium spp.* (Ocampo, Sumano, & Gutiérrez), aunque según Botero (2012) es poco absorbible por el intestino y la administración es por el espacio de catorce días en dosis de 25 a 35 mg/kg/día.

Los anticoccidiales tales como el Amprolio, Decoquinato que se utilizan como preventivos, el Lasalocide, la Monensina y el Toltrazuril -15 mg/kg- directos para control están disponibles en los lactorreemplazantes (Mundt et al., 2005; Fajt, 2007; Stronberg & Moon, 2008). Para el tratamiento contra *Cryptosporidium parvum* se sugiere administrar: 1.500 mg de Azitromicina, una vez al día, vía oral, durante 7 días en terneros (Elitok et al., 2005) o Paramomicina a dosis de 50 a 100 mg/kg, dos veces al día durante 11 días (Fayer & Ellis, 1993) o 1,5 gr de Nitazoxanida 2 veces al día durante 5 días (Ollivett et al., 2009). De igual modo, la administración de lactato de Halofuginona (124 microgramos, vía oral, diariamente durante 7 días) es bien tolerado, mientras que el Decoquinato (2,5 mg/kg) incrementa la ganancia de peso diaria en terneros (Lallemant et al., 2006), aunque en el lactorreemplazador a dosis de 2 mg/kg ([0,9 mg/ lb por día]) no afecta la excreción o los signos clínicos asociados con Criptosporidiosis (Moore et al., 2003), (Baquero, 2008).

En el tratamiento sintomático la primera medida es la administración de soluciones isotónicas de electrolitos que contengan suficiente cantidad de glucosa, aminoácidos, sodio, potasio y cloruros; pueden ser administrados por vía oral o parenteral (Cordero & Rojo, 2002).

Las medidas profilácticas son de gran importancia en el control de la infección, debido a que la transmisión se produce principalmente a través del contacto directo



y el consumo de agua contaminada, las medidas generales de higiene y el tratamiento del agua de consumo constituyen las principales medidas de prevención (DelCoco & Basualdo, INTA, 2008).

No podemos olvidar que es una enfermedad de carácter zoonótico, por lo tanto ganaderos estudiantes de veterinaria y veterinarios tomar medidas de protección en zonas endémicas; además como prevención general podemos anotar lo siguiente: destrucción de los ooquistes mediante aplicaciones de desinfectantes eficaces en las zonas donde viven los animales, separar animales enfermos de los sanos, las hembras a parir deben ser ubicadas en lugares que no hayan estado neonatos infectados, evitar la exposición de los animales enfermos a condiciones extremas de temperatura y humedad, evitar el ingreso de otros animales portadores como son perros, gatos, ratones y asegurarse que la ingestión del calostro sea lo más adecuada para levantar defensas e incrementar inmunidad (Cordero & Rojo, 2002).

2.2.1.11. Control

El control y prevención de la criptosporidiosis consiste en evitar la ingestión de agua o alimentos crudos que puedan estar contaminados con heces humanas o de animales, y evitar el contacto con las mismas. A más de practicar las medidas de higiene personal y saneamiento ambiental. La alimentación con leche materna por medio de la IgA, protege a los lactantes (Botero & Restrepo, 2012).

El tratamiento del agua para beber debe ser realizado en plantas bien operadas y que poseen filtros adecuados, ya que ellos remueven aproximadamente al 99.9% de los ooquistes (Acha & Szyfres, 2003).

Los ooquistes son destruidos por la ebullición y la congelación, pero son resistentes a los procesos de cloración (Botero & Restrepo, 2012). De ahí que la mejor protección es evitar la contaminación, poniendo en vigor programas que protejan las cuencas, además mejorar y operar las plantas purificadoras de agua para que funcionen a la perfección (Arizona, 1995).



2.2.2. Giardia Spp.

2.2.2.1. Generalidades

Giardia fue el primer protozoo parásito visto en 1681 por Antony van Leeuwenhoek, quién fue además el inventor del microscopio; su importancia en la medicina se demostró 178 años después cuando se detectó el parásito en materia fecal de un niño sintomático (Botero & Restrepo, 2012).

La *Giardia spp*, es un parásito con mucha presencia en los carnívoros, parasitan a rumiantes especialmente jóvenes con una presentación entérica o, a veces, asintomática. Existen altas incidencias del parásito en Suiza entre el 20 y 30%, en Canadá 27% en bovinos y 35% en ovinos y entre el 4 a 5% en mataderos en España; encontrándose un periodo de prepatencia de 4 días y con afecciones desde los 4 días hasta 8 semanas de edad (Cordero & Rojo, 2002).

Las especies de Giardia que afectan a los humanos y a los animales son *G. lamblia*, *G. duodenalis*, *G. intestinalis*, *G. entérica*, *G. muris*, *G. agilis*, *G. psittaci*; discutiéndose en la actualidad por medio de estudios de biología molecular a los genotipos; siendo de esta forma considerados los genotipos A y B para los humanos, genotipos C y D para perros, genotipo E en ganado bovino, ovinos, caprinos, cerdos, caballos, genotipo F en gatos y el G en ratas (Bowman, 2011).

Savioli *et al* (2006) manifiestan que Giardia es el parásito protozoario flagelado entérico más frecuente en el mundo, afectando a su vez al humano y también a animales domésticos como el ganado, los perros y los gatos. La morbilidad y la mortalidad asociadas son elevadas, con más de 58 millones de casos de diarrea protozoaria infantil por año, con respecto a lo cual, los costes directos del tratamiento se estiman en el orden de 150 millones de USD; por este motivo en septiembre del 2004, Giardia fue incluida en la iniciativa de enfermedades desatendidas de la OMS, según lo señalado por Thompson (2008).



2.2.2.2. Taxonomía.

Giardia es un protozoo flagelado, presenta estadio de quiste y trofozoíto en su ciclo vital; es considerado un flagelado de gran importancia clínica por su capacidad de causar infección en el hombre, el cual es su reservorio principal, así como los animales domésticos y silvestres.

Reino: Protista

Subreino: Protozoa

Filo: Sarcomastigophora

Subfilum: Mastigophora

Clase: Zoomastigophorea

Orden: Diplomonadida

Familia: Hexamitidae

Género: Giardia

Especie: *Giardia lamblia* (Vargas, 2013).

Bowman (2011), señala otras especies de Giardia:

- *Giardia duodenalis*, *intestinalis* y *enterica* en humanos.
- *Muris* en ratones.
- *Agilis* en anfibios.
- *Psittaci* y *ardeae* en aves (garzas y pericos)

Giardia lamblia además de afectar al humano lo hace también a especies domésticas (bovinos, ovinos, caninos, felinos) (Fonte Galindo & Ali Almannoni, 2010).

Tabla 3. Especies/conjuntos de *Giardia*

Especie/conjunto	Hospedador
<i>Giardia duodenalis</i> /conjunto A	Humanos y otros primates, perros, gatos, ganadería, roedores y otros mamíferos salvajes
<i>Giardia duodenalis</i> /conjunto B (<i>Giardia</i> entérica)	Humanos y otros primates, perros
<i>Giardia agilis</i>	Anfibios
<i>Giardia muris</i>	Roedores
<i>Giardia psittaci</i>	Aves
<i>Giardia ardeae</i>	Aves
<i>Giardia duodenalis</i> /conjunto C/D (<i>G. canis</i>)	Perros
<i>Giardia duodenalis</i> /conjunto F (<i>G. cati</i>) ¹	Gatos
<i>Giardia duodenalis</i> /conjunto E (<i>G. bovis</i>)	Ganado vacuno y otra ganadería ungulada
<i>Giardia duodenalis</i> /conjunto G (<i>G. simondi</i>)	Ratas

Fuente: (Thompson, 2008).

2.2.2.3. Ciclo biológico y morfología

Como otras especies de este género, el ciclo biológico de *Giardia intestinalis* incluye dos fases o estadios: el trofozoíto (forma vegetativa), cuyo hábitat es el intestino delgado, siendo responsable de las manifestaciones clínicas, y el quiste (forma de resistencia e infecciosa) responsable de la transmisión del parásito (Henrández & Cortés, 2012).

Los trofozoítos de *Giardia* están adaptados para adherirse a las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado mediante los discos de succión, tiene forma de lágrima y suelen transformarse en quistes infectantes antes de salir con las heces (Bowman, 2011).

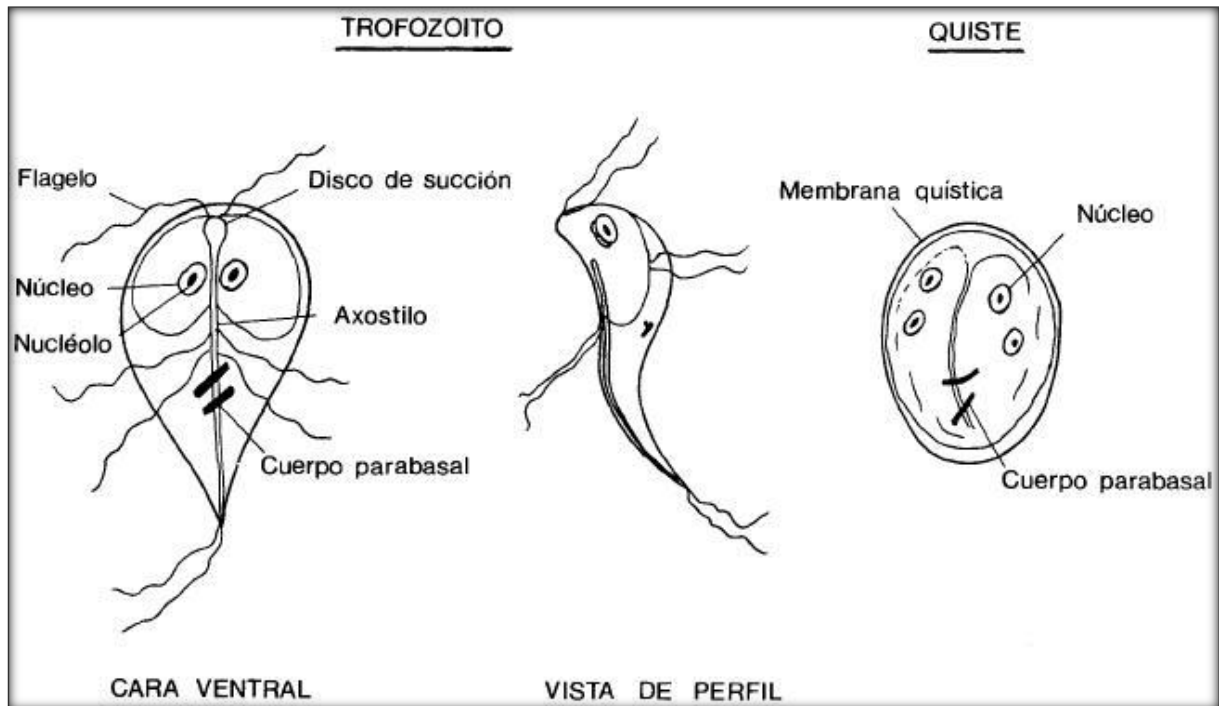
Al ser eliminados al exterior pueden permanecer en el suelo húmedo o en el agua por varios meses; posteriormente, al ser ingeridos nuevamente por el hospedador tienen resistencia a los jugos gástricos y se rompen en el intestino delgado para dar origen a cuatro trofozoítos por cada quiste; los mismos que no son infectantes cuando ingresan al organismo por vía oral y cuando son eliminados en las heces diarreicas, mueren en el exterior (Botero & Restrepo, 2012).

Los trofozoítos son de aspecto piriforme y miden de 10 a 20 μm de largo, 5 a 12 μm de ancho y 2 a 4 μm de espesor, tienen cuatro pares de flagelos dirigidos hacia atrás, dos núcleos, dos cuerpos medianos en forma de garras en el medio del cuerpo y un disco ventral convexo en la mitad anterior del cuerpo que es la que le sirve para adherirse a la mucosa intestinal, según Acha & Szyfres (2003); se desplazan por movimientos de rotación u ondulantes, estos protozoos poseen flagelos, los mismos que son vistos en el trofozoíto vivo pero no en preparaciones teñidas. Los quistes son ovalados o elípticos y miden de 8 a 19 μm ; cuando están maduros tienen cuatro núcleos y los inmaduros dos (Ash & Orihel, 2011).

Barriga (1997) y Meyer (1990), manifiestan que existen tres formas morfológicas aceptadas, ellas son: *Giardia intestinalis* en el hombre, animales domésticos y otros mamíferos; *Giardia muris* en aves, roedores y reptiles; *Giardia agilis* en anfibios (Acha & Szyfres, 2003).

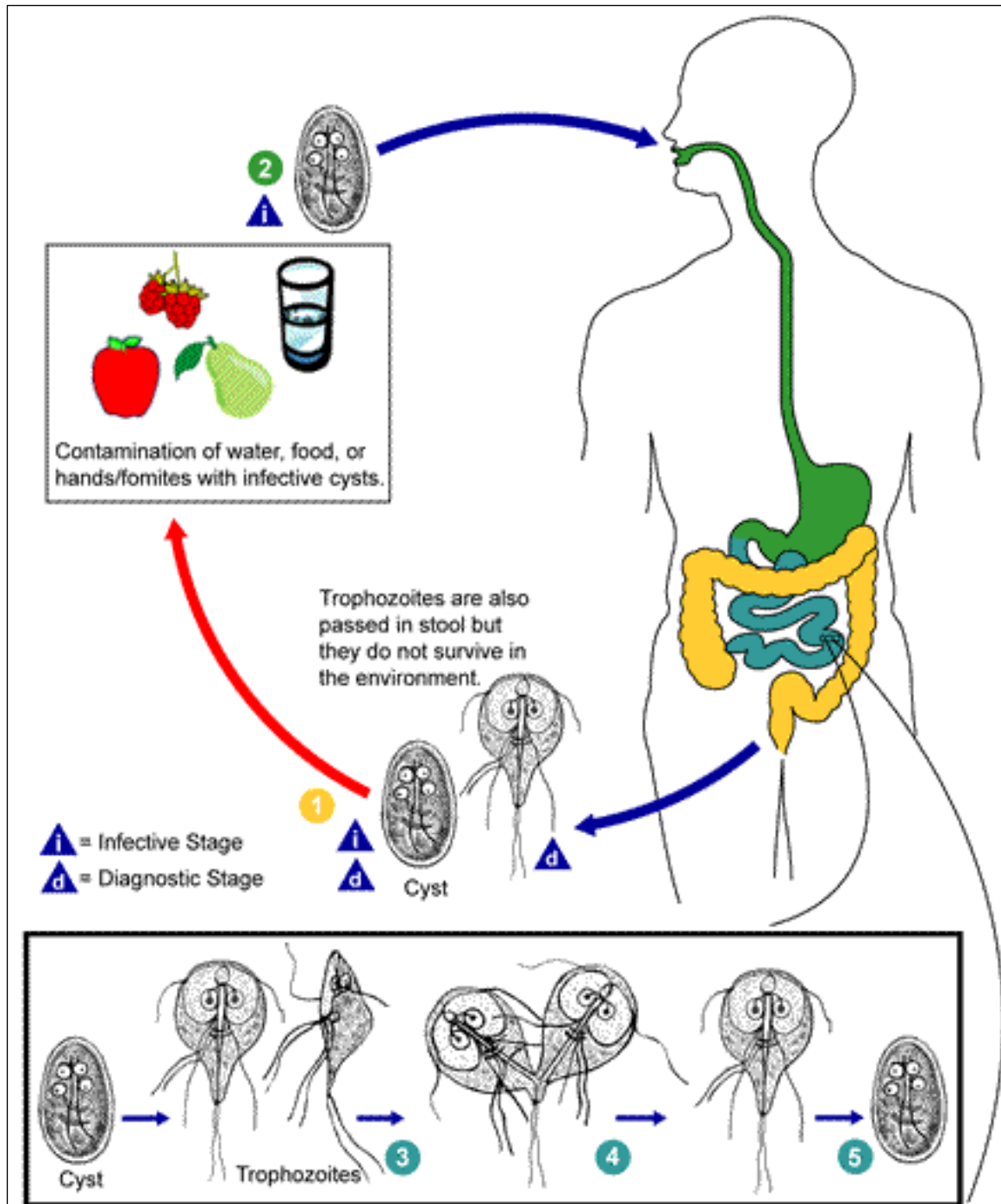
Se sabe que algunos animales actúan como reservorio de la infección humana; las giardias del hombre y de los animales domésticos y silvestres son morfológicamente iguales y en varios experimentos se ha demostrado la posibilidad de infecciones cruzadas; se ha podido infectar con quistes de *Giardia intestinalis* de origen humano a varias especies animales como perros, mapaches, ratas, cobayos, carneros y antílopes (Acha & Szyfres, 2003).

Figura 2. Morfología de Giardia lamblia



Fuente: García, 1991.

Figura 3. Ciclo biológico de *Giardia lamblia*



Fuente: (CDC, 2009).

2.2.2.4. Epidemiología: distribución geográfica, transmisión y prevalencia.

La giardiasis es de distribución mundial (Acha & Szyfres, 2003), (Ash & Orihel, 2011), (Botero & Restrepo, 2012), (Soulsby, 1987). Su forma de transmisión más frecuente es por medio de la ingestión de quistes en alimentos o aguas contaminadas con materiales fecales procedentes de humanos o animales infectados; por esto se considera que es el parásito intestinal patógeno más frecuente en el mundo, con alta incidencia en las reinfecciones (Botero & Restrepo, 2012). A esta transmisión se la denomina oro-fecal y su nivel de infección es proporcional al estado higiénico sanitario de los animales (Cordero & Rojo, 2002).

Las infecciones individuales suelen extinguirse espontáneamente en unos meses, pero continúa la transmisión a otros huéspedes en áreas endémicas; de igual manera, la presencia de infectados asintomáticos, enfermos crónicos y factores medioambientales son puntos importantes para considerar la epidemiología (Acha & Szyfres, 2003).

Al hablar de la transmisión, se menciona que la más importante y principal fuente de endemias y epidemias de giardiasis es la transmisión por el agua (Botero & Restrepo, 2012), o transmisión hídrica por acceso a las fuentes contaminadas provenientes de la propia actividad del hombre, prácticas ganaderas o proximidad a sitios de animales salvajes; de igual forma, indirectamente contaminan los alimentos por las prácticas de riego (Fonte Galindo & Ali Almannoni, 2010).

Perros y gatos son animales que con mayor probabilidad están implicados en la transmisión directa de *Giardia*, alcanzando en los últimos años una alta significación epidemiológica. En estudios de epidemiología molecular llevada a cabo a aborígenes de Australia, en donde la transmisión de genotipos zoonóticos y no zoonóticos es alta y donde los perros suelen permanecer en manadas, el genotipo D es el predominante; de igual manera, entre cultivadores de té en la región de Assam en la India donde los perros duermen con los dueños, solo el 20% de los perros estaban infectados pero todos con el genotipo zoonótico A (Fonte Galindo & Ali Almannoni, 2010).

De acuerdo a lo expuesto por Gross (1986) y Kuhls (1994), esta parasitosis intestinal ha aumentado en los últimos años en los países desarrollados, debido a la frecuencia de los viajes turísticos y estudio a zonas endémicas, razón por la cual es considerada una de las causas de la diarrea de los viajeros y en niños adoptados procedentes de países tropicales (Botero & Restrepo, 2012).

La infestación se ha comprobado a nivel mundial en mamíferos domésticos, es así que Xiao (1994) manifiesta que la prevalencia en perros jóvenes es de 20 a 35%, en gatos jóvenes de 10 a 15%, en potrillos de 17 a 32%, en cerdos jóvenes de 7 a 44%, los mayores porcentajes tenemos en terneros de 5 a 90% y en corderos de 6 a 80% (Acha & Szyfres, 2003).

La prevalencia en humanos en países industrializados descrita por Acha (2003) es de 2 a 4 %, pero llega hasta el 15% o más. Botero (2012) señala que la prevalencia en niños está entre 20 y 30% en países en vías de desarrollo, datos tomados especialmente de Sudamérica a niños preescolares y escolares de zonas rurales; Soulsby (1987) señala que la prevalencia varía del 2 al 60% o más.

El brote más fuerte de giardiasis humana que es atribuido a una fuente animal se produjo en Camas, (Washington-Estados Unidos) en 1976, comprobándose 128 casos positivos; de donde se pudo observar que el abastecimiento de agua para la población provenía de arroyos de montañas que eran contaminados por castores infectados; esto se corroboró la infección de cachorros de perros con los quistes encontrados en los castores (Acha & Szyfres, 2003).

2.2.2.5. Patogenia

La patogenia específica por la que el protozoo causa enfermedad no se ha identificado con exactitud, pero se habla de una patogenia multifuncional en la que se involucran factores dependientes del parásito y del hospedador. Estos factores dependientes pueden ser ciertas alteraciones histoquímicas de la mucosa intestinal, debido a la activación de los linfocitos T por la presencia de proteínas variantes de superficie (VSP), produciendo atrofia de las microvellosidades intestinales, acarreando una disminución de la actividad de las disacaridasas (lactasa, maltasa, sacarosa), disminución de la absorción de la vitamina B12 y una alteración en el



transporte de glucosa-sodio y en la absorción de D-xilosa y una reducción de la absorción de solutos (Soriano, 2006).

La patogenicidad es debida a la acción de los parásitos sobre la mucosa intestinal, principalmente duodeno y yeyuno; debido a la fijación de los trofozoítos por medio de la ventosa, dando origen a la inflamación catarral, produciendo un síndrome de mala absorción. Así mismo, existe una hipogamaglobulinemia congénita ligada al cromosoma X, y deficiencia de la IgA secretoria que afecta aproximadamente al 10% de la población (Botero & Restrepo, 2012).

Influye además el tipo de cepa, la cantidad de quistes ingeridos, edad del hospedador (siendo la edad más común los 1 a 8 meses entre los animales), estado sanitario y nutricional, situación inmunológica, humedad y temperatura del medio (Cordero & Rojo, 2002).

Trastornos en el metabolismo de las grasas podría producir una deficiencia en la absorción de vitaminas liposolubles; a la vez brotes de giardiasis de origen hídrico, pueden ocasionar infecciones epidémicas, las mismas que están asociadas con defectos en los sistemas de tratamiento y conducción del agua potable (Soulsby, 1987).

Guk *et al* (2003), manifiestan que la Giardia induce una apoptosis de los enterocitos asociada a desorganizaciones de las proteínas citoesqueléticas y de la unión de una forma dependiente de cada una de las cepas (Thompson, 2008).

2.2.2.6. Síntomas

Las manifestaciones clínicas se presentan en todas las especies animales y en el hombre bajo tres formas; estas son la asintomática, aguda y crónica.

2.2.2.6.1. Asintomática

En adultos el porcentaje de casos asintomáticos es mayor que en niños, encontrándose en zonas endémicas la intensidad de los síntomas menores que en visitantes de zonas no endémicas que padecen de giardiasis; además, se encuentra en niños escolares de zonas endémicas de Colombia, donde el 50% de los que



tienen quistes de Giardia al examen coprológico, no tienen síntomas (Botero & Restrepo, 2012).

También se encuentra en personas inmunocompetentes, en quienes, por regla general, se da solo una colonización del epitelio del intestino delgado, la infección ocurre con frecuencia de forma leve o totalmente asintomática (Beck & Pantchev, 2010).

En el caso de asintomáticos se puede decir que los animales afectados actúan como reservorios para el resto del colectivo (Cordero & Rojo, 2002).

2.2.2.6.2. Infección aguda

En el humano es más común una infección en viajeros no inmunes, quienes se afectarían al llegar a zonas endémicas, y presentan de una a dos semanas después de su llegada diarrea acuosa, que puede cambiar a esteatorrea y heces lientéricas de olor muy fétido, náuseas, distensión abdominal con dolor, vómito y ocasionalmente pérdida de peso (Botero & Restrepo, 2012).

En animales domésticos como perros y gatos el signo clínico principal es la diarrea que puede comenzar al quinto día post infección como consecuencia del síndrome de mala absorción; en terneros la giardiasis se ha asociado con diarrea crónica caracterizada por alta morbilidad y baja mortalidad (Bowman, 2011).

Algunas veces las diarreas pueden alternar con períodos de estreñimiento o heces normales, fiebre, anorexia, pérdida de apetito, distensión y dolor abdominal, pelo sin brillo, ojos hundidos, deshidratación fatiga; todo caracterizado por un proceso de malabsorción con un importante retraso en el desarrollo (Cordero & Rojo, 2002).

2.2.2.6.3. Infección crónica

Se conoce que del 30 al 50% de los casos sintomáticos se convierten en crónicos; especialmente en los niños la diarrea persiste por mayor tiempo o se presentan heces blandas, dolor abdominal, náuseas, vómito, flatulencia, pérdida de peso, malestar, fatiga y deficiencias nutricionales. Esta forma crónica de giardiasis es más intensa en pacientes de países desarrollados (Botero & Restrepo, 2012).



Con respecto a los animales, transcurridos los 30 días el proceso se vuelve crónico sin presentar manifestaciones clínicas en los animales portadores asintomáticos, tomando en consideración que es concomitante con otros procesos de origen bacteriano, viral o parasitario, que enmascaran y agravan el proceso (Cordero & Rojo, 2002).

Al realizar un examen hematológico se aprecia hemoconcentración, linfocitosis y ligera eosinofilia que no suele sobrepasar el 12 al 15%, aunque se producen altos niveles de anticuerpos en sangre, los que no protegen totalmente a los animales, por lo que transcurridos algunos meses se podría volver a adquirir la enfermedad en forma más leve: A su vez, en necropsias se puede percibir un fuerte proceso inflamatorio de tipo mucoide, infiltración de linfocitos, macrófagos y eosinófilos (Cordero & Rojo, 2002).

2.2.2.7. Diagnóstico

Para tener seguridad en el diagnóstico, se recomienda hacer un diagnóstico clínico diferencial con otras enfermedades que producen diarrea y malabsorción, pero un diagnóstico seguro se puede realizar únicamente con la identificación del parásito en muestras fecales o sus antígenos (Botero & Restrepo, 2012).

Por eso es que la microscopía óptica sigue siendo el medio más práctico para el diagnóstico de *Giardia* en un entorno clínico, mediante técnicas de concentración como son la centrifugación con sulfato de zinc para concentrar los quistes en las muestras fecales (Thompson, 2008), o la técnica de Ritchie o centrifugación con formol-éter. En razón que la eliminación de los parásitos no es constante y la cantidad de éstos en materia fecal varía mucho, es recomendable efectuar varios exámenes coprológicos en días diferentes (Botero & Restrepo, 2012).

La ventaja que ofrece la microscopía es que no es específica, y se puede, por lo tanto, encontrar otros parásitos que serían de importancia en la determinación de la causa de síntomas inespecíficos como la diarrea. Conviene recordar que la *Giardia* suele presentarse en chaparrón, es decir numerosos microorganismos que pueden ser observados en las heces de un día o un número escaso o ausencia en las heces del día siguiente; por esta razón nunca debemos aceptar un único análisis negativo



como concluyente, por lo que conviene realizar una muestra de heces por tres días seguidos (Maldonado & Arias Cortéz, 2006).

Existen otros métodos de diagnóstico como son ELISA, para lo cual se utiliza anticuerpos monoclonales y policlonales; que según el Instituto Nacional de Salud de Colombia obtuvo una sensibilidad del 100% y especificidad del 95%, el inconveniente, no obstante, es su costo elevado, por lo que no se puede trabajar con personas de bajos recursos económicos. Ocasionalmente se pueden identificar los parásitos en biopsias de tejido intestinal (Botero & Restrepo, 2012).

Por todo lo expuesto actualmente existen otras formas de diagnóstico, utilizando la inmunofluorescencia y la cromatografía o PCR, métodos que tienen buena sensibilidad y especificidad, los que resulta recomendable emplear en casos de estudios epidemiológicos (Thompson, 2008).

2.2.2.8. La enfermedad en el humano

La giardiasis es endémica en todo el mundo; su prevalencia en los países industrializados va de 2 a 4%, pero puede llegar hasta 15% en niños de países en desarrollo; a la vez, esta enfermedad es más común en niños que en adultos y puede transformarse también en una epidemia (Acha & Szyfres, 2003).

Como ejemplo de la presentación de la enfermedad existen datos epidémicos de los años 1993-1994 y 1995-1996 en los Estados Unidos fruto del consumo de agua de bebida o uso recreativo, los cuales produjeron la enfermedad a 2.366 y 2.567 personas respectivamente, siendo *Giardia intestinalis* conjuntamente con *Cryptosporidium spp.* los que causaron la primera epidemia en asociación con el 40% de los casos y en la segunda el 9% de los casos fue con *Shigella sonnei*, según lo señalado por autores como Kramer et al. (1996) y Levy et al. (1998) y Acha & Szyfres (2003).

En un estudio de prevalencia parasitaria en niños preescolares de las comunidades rurales quechuas de la provincia de Chimborazo, donde fueron analizadas 112 muestras fecales de los 149 niños residentes en las comunidades del proyecto de higienización y protección del agua potable, y de 91 niños de los 144 de las

comunidades sin ese tipo de proyectos; se encontró que el 85.7% de las muestras presentaban al menos diez de los parásitos estudiados y 63.4% presentaban dos o más especies de parásitos. Se encontraron protozoos en el 78.3% de las muestras y helmintos en el 42.4%; de los protozoos encontrados el 21.1% corresponde a *Giardia intestinalis (lamblia)* y el 8.9% a *Cryptosporidium parvum*. Como conclusión se planteó que el suelo sucio fue un factor de riesgo de la infección de Giardia, por lo que los resultados indican que la instalación de fuentes limpias de agua potable y las instalaciones sanitarias no garantizan por sí solas cambios significativos en la conducta higiénica y las prácticas sanitarias de la comunidad, razón por la cual es necesario implementar un componente educativo-sanitario si se desea reducir la diarrea y el parasitismo intestinal en estas comunidades (Jacobsen, Ribeiro, Quist, & Rydbeck, 2008).

Rajeshwari et al. (1996) citados en Acha & Szyfres (2003), señalan que la respuesta humoral es el factor determinante para que la infección sea o no sintomática en los niños, demostrando además que ni el zimodema (conjunto de cepas de microorganismos) del parásito ni la presencia de infecciones bacterianas asociadas influían en la presencia o la patogenicidad de la infección en los niños.

2.2.2.9. La enfermedad en los animales

La infección se ha comprobado en una gran variedad de especies de mamíferos domésticos y silvestres; según lo manifestado por Xiao (1994), en encuestas realizadas a nivel mundial se han encontrado prevalencias de 20 a 35% en perros jóvenes, 10 al 15% en gatos jóvenes, 5 a 90% en terneros, 6 al 80% en corderos, 17 al 32% en potrillos y 7 a 44% en cerdos jóvenes (Acha & Szyfres, 2003).

La infección por *Giardia duodenalis* es frecuente en bovinos, es así que en Alemania Central se encontró un 14 a 50% de terneros comprendidos en edades entre 2 y 10 semanas provenientes de diferentes explotaciones positivas a Giardia; a pesar de este hallazgo no existe relación entre la diarrea de los terneros y la detección del parásito, según Keidel y Talvik (2006) citados en Beck & Pantchev (2010).

O'Handley et al. (2007) realizó un estudio en Canadá en 922 bovinos adultos y 183 terneros procedentes de once localidades diferentes, al tener un resultado positivo

se determinó el genotipo de los aislados; obteniéndose 39% en bovinos adultos (15% ensamblaje A y 85% ensamblaje E), y en ternero un 51% de positividad, (29% ensamblaje A y 71% ensamblaje E). Todos los aislados zoonóticos procedían de vacunos adultos, de un rebaño utilizado para prácticas en una Facultad de Veterinaria. En base a estos resultados, y tomando en cuenta el estrecho contacto con personas, se deduce que, probablemente, no se trataría de una zoonosis clásica, sino de una antropozoonosis (Beck & Pantchev, 2010).

2.2.2.10. Tratamiento

El tratamiento tiene como objetivo alterar los potenciales de óxido; la reducción de las membranas del parásito y los medicamentos de elección en la giardiasis son los derivados nitroimidazólicos (5-nitroimidazoles), los mismos que erradican la parasitosis en un 90 a 96%, con una sola cura de 1 a 5 días por vía oral. La quinacrina se reporta como muy eficaz en una dosis de 6.6 mg/kg dos veces al día por cinco días; sin embargo, por sus efectos secundarios de anorexia, fiebre, aletargamiento es poco recomendado. El más usado es metronidazol con una dosis de 22 mg/kg dos veces al día durante cinco días o el tinidazol con una dosis de 44 mg/kg una vez al día durante tres días. La Nitazoxanida es un nitrotizólico de espectro amplio 100% eficaz en el tratamiento de la giardiasis (Tananta, 2002).

Algunos Benzimidazoles (fenbendazole, albendazole) demostraron ser efectivos contra *Giardia* in vitro e in vivo. En becerros, la administración oral de fenbendazole mostró una reducción significativa de quistes de *Giardia* en las heces; aunque el tratamiento no impactó sobre la producción, y la reinfección ocurrió rápidamente, pero sí disminuyó la duración de la diarrea en los becerros. El uso de agentes quimioterapéuticos para el control de la giardiasis en bovinos provee la oportunidad de mejorar los parámetros de producción, reducir los signos clínicos y prevenir la contaminación ambiental, según lo apuntado por Díaz (2010).

El fenbendazole vía oral en dosis de 10 mg o 20 mg durante tres días, o 0.833 mg diarios durante seis días han demostrado eficacia en el tratamiento de giardiasis; igual que el albendazole en dosis de 20 mg diarios por tres días, fue altamente eficaz en terneros. De igual manera, en los tratamientos con dimetridazol por vía oral

en dosis de 50 mg/kg durante 5 días, se observó reducción de los quistes y la diarrea cesó a las 48 horas (Bowman, 2011).

En humanos se maneja los mismos principios activos, lógicamente con variación de dosis.

El uso de la ozonoterapia es efectivo en controlar la giardiasis, ya que favorece el metabolismo del hematíe al aumentar su elasticidad; lo que permitirá una mayor penetración a través de los capilares sanguíneos, porque estos son tan estrechos que los glóbulos rojos deben circular en "fila india", lo que mejora el intercambio de sustancias entre la sangre y los tejidos corporales. Esto permite que lleguen al tejido dañado las células y los componentes humorales necesarios para reparar y/o controlar la inflamación in situ. Puesto que el ozono tiene afinidad con el grupo sulfhidrido, característico de los aminoácidos esenciales como son la cisteína y metionina, éste permitirá intervenir en el metabolismo de las proteínas al contribuir a incrementar la producción de citosinas (proteínas moduladoras del sistema inmunitario), lo que demuestra su papel inmunoregulatorio e inmunorrestaurador (Méndez et al, 2003).

2.2.2.11. Control

El control de la infección por *Giardia* conlleva a la prevención de la contaminación fecal de alimentos y el suministro de agua, la limpieza y desinfección del ambiente con sustancias químicas como es el hipoclorito de sodio al 1% (Bowman, 2011).

No es posible erradicar los parásitos de las explotaciones ganaderas y puesto que debemos resignarnos a convivir con ellos, las medidas óptimas de control serían aquellas que lograsen mantener niveles tolerables de infección que permitan a los animales desarrollar inmunidad frente a los parásitos sin afectar a sus características productivas. Por lo tanto es muy difícil definir con precisión un umbral óptimo de infección; no obstante, la realización de análisis laboratoriales y el conocimiento del ciclo biológico de los parásitos, así como de los factores que influyen en su epidemiología, nos ayudarán a tomar decisiones y establecer programas más racionales de tratamiento y control, siempre teniendo en cuenta las características de cada explotación (Castro, González, & Mezo, 2007).



2.3. *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en el agua

La presencia de barreras entre el medio natural y el humano en forma de plantas potabilizadoras no ha eliminado totalmente el riesgo de determinadas enfermedades de transmisión hídrica. Más bien al contrario, hay determinadas patologías en las que se aprecia un aumento de casos por la ineficacia de los métodos actuales de tratamiento. Entre ellas encontramos criptosporidiosis y giardiasis, consideradas ambas enfermedades emergentes (Doménech, 2003).

Hay tres grupos diferentes de microorganismos que son potencialmente transmisibles a través del agua potable: bacterias, virus y protozoos. Los sistemas que se han desarrollado para el tratamiento de agua de consumo humano han logrado con éxito la eliminación de las bacterias, pero no se puede afirmar lo mismo para un buen número de los virus y de los protozoos, fundamentalmente en su estado de quiste. Hay dos protozoos cuya presencia en el agua potable es motivo de preocupación de las autoridades sanitarias norteamericanas desde hace ya algunos años y que empieza a preocupar a las europeas en vista de los casos y epidemias que se presentan (Doménech, 2003).

La capacidad que tienen los protozoarios *Giardia* y *Cryptosporidium* de infectar una amplia diversidad de animales domésticos, aumenta las posibilidades de contaminación de las fuentes de agua superficiales y subterráneas con estos dos enteropatógenos. El ganado vacuno, especialmente los animales jóvenes, son uno de los principales reservorios de ooquistes de *Cryptosporidium*. El Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables de Venezuela, por ejemplo, desde hace ya varios años ha reportado que en las inmediaciones de los embalses, así como en la cercanía de los pozos de extracción de agua subterránea que son utilizados como fuentes de abastecimiento existen asentamientos humanos donde se llevan a cabo explotaciones pecuarias de ganado bovino y porcino, así como la cría de animales de granja. La descarga directa de las excretas de estos animales a estas fuentes, representa una fuente de contaminación del agua con estos parásitos, señalan Betancourt & Rose (2004), citados en Bracho et al (2007).



A nivel mundial se han registrado epidemias causadas por *Cryptosporidium parvum* como consecuencia del consumo de aguas provenientes de plantas de tratamiento con una incidencia de 28% en países como Estados Unidos, Brasil, Argentina, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, Haití, y Colombia, obteniendo una alta tasa de mortalidad afectando en su mayoría a niños (Medina et al, 2012).

Bukhari y Smith (1995), señalan que el *Cryptosporidium spp.* es introducido en las aguas por medio de las excretas contaminadas de animales, como aves y reptiles, que se encuentran en las plantas de tratamiento. Esta es otra posible fuente de infección que podrían tener los afluentes de salida, lo que, a su vez, explicaría las concentraciones de ooquistes encontrados a este nivel, junto con un tratamiento poco eficiente para su remoción. El tratamiento de las aguas residuales da como resultado la eliminación de microorganismos patógenos, evitando así que estos microorganismos lleguen a ríos o a otras fuentes de abastecimiento. Específicamente el tratamiento biológico de estas aguas es considerado un tratamiento secundario ya que está ligado íntimamente a dos procesos microbiológicos, los cuales pueden ser aerobios y anaerobios, menciona (León, 1995), citado en (Medina et al, 2012).

La mayoría de los parásitos intestinales se transmiten por contaminación del ambiente, por lo tanto el agua y los alimentos están al frente de este problema de salud. Se estima que el 4% del total de muertes en el mundo se debe a problemas relacionados con el agua, desagües e higiene (Medina et al, 2012).

En un estudio desarrollado en el Perú (Pérez et al, 2008), en los distritos La Esperanza, El Porvenir, y Buenos Aires, se comprobó que en el primero sólo el 48,8% de la población contaba con agua potable, el 68,2% en el segundo y el 69% en el tercero, el resto se abastecía de agua de fuentes públicas o camiones cisterna. De igual forma en los tres distritos más de la mitad de la población carecía de servicio higiénico conectado a la red pública o desagües haciendo uso el resto de pozos ciegos o letrinas. El análisis de agua de pozos y acequias de riego destinada al consumo y al riego de cultivos permitió identificar los siguientes protozoos parásitos: ***Giardia lamblia***, *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli*, *Cyclospora*



cayetanensis, ***Cryptosporidium spp.*** y *Balandidium coli* (Pérez, Rosales, Valdez, Vargas, & Córdova, 2008).

2.4. Contaminación del agua por actividad de la industria, minera y agropecuaria

Las aguas superficiales se exponen a una gran cantidad de factores que pueden modificar su calidad biológica y producir cambios simples o complejos y con variados niveles de intensidad. Esta alteración se origina en eventos naturales o en actividades antropogénicas, como el empleo del agua en el hogar y la consiguiente producción de aguas residuales, de la industria, minería y agricultura (Aurazo, 2009).

Entre los problemas más significativos en los países en vías de desarrollo se destaca la contaminación fecal de las fuentes de aguas superficiales para abastecimiento de consumo humano. Esta contaminación se debe principalmente al vertimiento de los desagües sin ningún tratamiento. A su vez, la contaminación fecal es intensa en las zonas de arrastre provenientes de los criaderos de bovinos, porcinos y avícolas (Aurazo, 2009).

Este tipo de contaminación es la que ocasiona la agricultura y la ganadería mediante el uso de suelo con fines de cultivos agrícolas y siembra de pastos para la ganadería, consecuentemente con el uso de abonos, fertilizantes y pesticidas inorgánicos, así como el uso de aguas residuales y abonos orgánicos. Todos estos productos se incorporan al suelo y contaminan los caudales de agua (Aurazo, 2009).

Por otra parte, el empleo de la gallinaza como fertilizante en el mejoramiento de los pastizales constituye el principal contaminante del territorio (agua, suelo, subsuelo); a su vez, la progresiva contaminación de agua producto de la erosión dada por la invasión de la actividad pecuaria a suelo no apto, conlleva al acarreamiento de materia orgánica hacia ríos y quebradas. La ausencia de tratamiento de los fertilizantes orgánicos “gallinaza” tiene repercusiones inmediatas en la calidad de aire, en razón que genera olores muy concentrados que lo contaminan.

Aunque sin existir relación directa con la contaminación, es necesario señalar que la expansión de la frontera para actividad pecuaria trae consigo la reducción de caudal

hídrico por afección a bosques y destrucción de la vegetación endémica (Domínguez, 2012).

Craun (2001), señala la presencia de patógenos en aguas superficiales, así como su relación con los brotes epidémicos de Giardia, Cryptosporidium y fiebre tifoidea. En algunos casos no se ha detectado la fuente de origen pero, por las características del brote, se presume que su transmisión ha ocurrido por la vía hídrica; en la actualidad se presta mayor atención a la remoción de Cryptosporidium del agua para consumo humano, ya que los ooquistes son muy resistentes a los desinfectantes comunes y por lo tanto tienen mayor potencial para contaminar el agua a través de heces de los animales; de igual manera presentan tasas muy altas de infección a la población expuesta (Solarte, Peña, & Madera, 2006).

Con esto se puede deducir de que los brotes cada vez más frecuentes en Estados Unidos, Inglaterra y otros países en desarrollo, demuestran la hipótesis de que el agua microbiológicamente segura no es una condición suficiente para garantizar la ausencia de patógenos en el agua para consumo (Solarte et al, 2006).

Tabla 4. Agentes patógenos y organismos productores de toxinas en aguas superficiales

Bacterias	Escherichia coli, Salmonella, Shigella, Vibrio cholerae, Yersinia enterocolitica, Campylobacter jejuni.
Virus	Enterovirus, Rotavirus, Adenovirus.
Protozoos	Giardia, Cryptosporidium, Entamoeba histolytica, Balantidium coli.
Helmintos	Áscaris, Trichuris, Taenia.
Cyanobacterias	Anabaena, Microcystis.

Fuente: (Aurazo, 2009).

CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Metodología

3.1.1. Tipo de estudio

El presente estudio epidemiológico es de carácter observacional, de acuerdo al número de veces que se estudió las unidades muestrales es transversal, según la planeación se considera prospectivo pues no existen mediciones previas de estas variables en todas las tres unidades de estudio. Según las variables de interés, este estudio es de carácter descriptivo pues presenta los valores de la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en tres unidades distintas como son: terneros de 0-4 meses de edad, agua de los tanques de captación para el sistema de potabilización y riego y niños de 0-6 años. Sin embargo, en estos últimos se realiza un análisis explicativo para determinar la asociación entre la procedencia y la presencia de estos parásitos en los niños.

3.1.2. Descripción de la zona de muestreo

El Cantón San Fernando está ubicado al oeste de la provincia del Azuay, latitud sur 30°, 6 min. 14 seg., longitud oeste 79°, 15 min. 12 seg. Su temperatura habitual oscila en los 12,8°C pues su altitud es de 2.665 msnm. En la actualidad el Cantón San Fernando limita al norte con el Cantón Cuenca, al sur y al este con el Cantón Girón, al oeste con el Cantón Santa Isabel. Se divide en dos parroquias: la parroquia San Fernando, dentro de la cual se ubica la cabecera Cantonal y la parroquia rural Chumblín (Domínguez, 2012). De acuerdo con el III Censo Nacional Agropecuario (INEC), se conoce que existen 1.640 Unidades Productiva Agropecuaria (UPA) en las comunidades de María Auxiliadora, Quimaputo, Calluco, Pircapamba, Shuno, Turupamba, Pallca, San Sebastián, Siguilla, Corraluco, Siguin, Mamayacu, Hato de la Virgen, Hierba buena, cabe destacar que la raza predominante de animales es la Bos Taurus mestizas (Holstein, Brown Suis y Jersey). La pluviosidad es de 750ml por año, a partir de la cual se genera el agua para el cantón. El número de la población humana es de 3.993 y su actividad económica principal es la ganadería y la producción de sus derivados lácteos, el 10% de esta población pertenece a niños menores de 6 años.



3.1.3. Población y muestra

3.1.3.1. Unidades muestrales de terneros

La población bovina de terneros entre 0 y 4 meses de edad, según los controles de vigilancia y seguridad alimentaria de Agrocalidad-Azuay con respecto a la fase de vacunación contra la Fiebre Aftosa (Mayo del 2012), fue de 120 animales. Se decide abarcar a todos los terneros de esta edad, encontrándose coincidentalmente este mismo número, por lo que tiene un perfil censal.

3.1.3.2. Unidades muestrales de agua

El agua para riego y consumo humano proviene del páramo y del bosque altoandino ubicados en los 2.700 a 3.700 msnm, sin embargo antes de llegar a los tanques de captación, sus afluentes atraviesan centenares de UPA ubicadas en las comunidades de María Auxiliadora, Quimaputo, Calluco, Pircapamba, Shuno, Turupamba, Pallca, San Sebastián, Siguilla, Corraluco, Siguin y Mamayacu. En tal razón, la muestra de agua se tomó en dos recipientes estériles con capacidad de 20 litros cada uno, en los tanques de captación del sector Hato de la Virgen, lugar donde converge lo anteriormente señalado.

3.1.3.3. Unidad muestrales de niños

Por su parte, la población infantil comprendida entre 0-9 años según el CENSO del 2010 fue de 673 niños. Debido a que no se tiene acceso directo a las personas de esta población, se decide, de común acuerdo con el Centro de Salud del Cantón, realizar un muestreo consecutivo bajo el criterio de inclusión de todos los sujetos, del rango de edad de 0 a 6 años, que acudieron al Centro de Salud en el periodo comprendido entre noviembre del 2013 - abril del 2014. El número de niños entre 0 a 6 años de edad que acudieron al Centro de Salud fue de 87, de los cuales solamente 42 presentaron problemas digestivos. Estos 42 niños constituyen la muestra a la que se aplicó el estudio. Por lo tanto, se trata de una muestra no probabilística consecutiva, a decir de Senra (2008), es un muestreo al azar "...casi tan eficaz como el probabilístico" (pág. 26).

3.1.4. Toma de Muestras

Las muestras de materia fecal de los terneros fueron tomadas directamente de la ampolla rectal de cada uno de los terneros. Éstas fueron recolectadas en fundas plásticas estériles en una cantidad aproximada de 40 g; inmediatamente, se procedió a rotular y colocar en un termo refrigerante a 4°C con la finalidad de proteger de la luz solar y mantener en un estado fresco. Se llenaron las hojas de campo con los siguientes datos: fecha, número de identificación del ternero, edad, sector y nombre de la finca. Luego fueron trasladadas al Laboratorio Clínico Veterinario de la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Cuenca en donde se procedió a realizar las técnicas para el análisis microscópico de los quistes y ooquistes de los parásitos protozoarios en estudio.

El agua se tomó de la captación en el sector del Hato de la Virgen en dos recipientes estériles con capacidad de 20 litros cada uno, se colocaron en sus respectivos culés refrigerantes, los mismos que fueron llevados al laboratorio de EPMAPS en la ciudad de Quito, con las respectivas seguridades de protección en la conservación y preservación necesarias para el análisis.

En el caso de los niños no intervino el investigador directamente pues el médico tratante fue quien emitió la orden para el examen coproparasitario de cuya toma de muestras se encargaron los padres de familia de los menores quienes, a su vez, las remitieron al Laboratorio del Centro de Salud. El personal del laboratorio realizó su trabajo sin ninguna novedad respecto al estudio de Giardia, sin embargo, en lo que se refiere a Cryptosporidium, el laboratorio no tenía los reactivos para realizar el respectivo estudio, razón por la cual el investigador proveyó de estos insumos. Solucionado este pequeño impase, al investigador se le permitió el acceso a los resultados de las pruebas coprológicas y, en coordinación con la directora del Centro de Salud, al historial clínico de cada menor.

3.1.5. Análisis estadístico

De acuerdo a los objetivos propuestos, principalmente se aplicó una estadística descriptiva con la ayuda del software SPSS versión 20 y de manera particular se hizo una prueba de asociación inferencial. La descriptiva permitió determinar la



prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* tanto en los niños y el agua, como en los terneros; es así que, se presenta los resultados a través de la media ($\bar{X}$) y su respectiva desviación típica con el objeto de medir la variabilidad de los resultados de *Cryptosporidium spp.* por un lado y por otro los de *Giardia spp.*

Una vez expuestos los resultados descriptivos de prevalencia en terneros, el agua y los niños, se procedió a realizar tablas de contingencia para determinar si los endoparásitos están asociados con la procedencia urbana o rural de los niños, ello permitió establecer si hubo contacto directo o indirecto con dichos animales. Finalmente, se formularon hipótesis (H_1 y H_0) con un nivel de significancia de 0.05, las cuales fueron verificadas mediante los estadísticos de prueba Chi-cuadrado y V de Cramer cuyas decisiones fueron sometidas a las reglas formuladas para cada una (Si p es <0.05 se acepta H_1 , si p es >0.05 se acepta H_0 .).

3.2. Materiales

3.2.1. Campo

Biológicos: muestras fecales de terneros comprendidos entre 0 y 4 meses de edad.

Físicos: equipo de protección personal (overol, botas, guantes descartables), agua, recipiente plástico estériles con capacidad de 20 litros para recolección y transporte del agua, termos refrigerantes, fundas de polietileno para las muestras de heces, cinta adhesiva, marcadores, termo para transporte de las muestras de heces, hojas de campo, esferos y cámara fotográfica.

3.2.2. Laboratorio

Físicos: refrigerador, portaobjetos, cubreobjetos, microscopio óptico, gasa, tubos de ensayo simples y cónicos, gradillas, centrífuga, palillos mondadientes, vasos de precipitación, agitadores, esferos, hoja de resultados de laboratorio.

Químicos: metanol, carbol-fucsina concentrada (fucsina básica: 1 g, etanol: 10 ml y fenol al 5%: 90 ml), ácido sulfúrico al 7%, verde de malaquita al 5% (verde



malaquita: 5 g; etanol al 10%: 100 ml), azul de metileno, formol al 10%, éter y solución salina.

3.2.3. Procesamiento de las muestras

Una vez en el laboratorio se procedió a preparar el material y los equipos para verificar la presencia de los endoparásitos.

3.2.3.1. Coloración de Ziehl-Neelsen modificada para *Cryptosporidium spp.* (modificación Kinyoun).

La muestra de materia fecal se extiende en el porta-objetos, en un área de aproximadamente 1,5 cm de diámetro; luego se deja secar el frotis al ambiente y se fija con metanol por el tiempo de 10 minutos. La coloración se hizo con carbol-fucsina concentrada, con este colorante se dejó 20 minutos; luego se lavó con agua corriente durante 2 minutos aproximadamente; a continuación se procedió a decolorar con ácido sulfúrico al 7% y posteriormente se procedió a lavar por el tiempo de 2 minutos con agua corriente. El colorante de contraste utilizado fue de color verde de malaquita al 5% al cual se lo dejó actuar por 2 minutos. Finalmente, se lavó con agua corriente durante un minuto y se dejó secar a temperatura ambiente.

Las placas secas y coloreadas fueron llevadas al microscopio y con el lente 40X con el cual se observó a los ooquistes teñidos de rojo brillante sobre fondo verde, los mismos que fueron redondeados u ovalados de 3 a 5 μm de diámetro. En algunos ooquistes se puede ver corpúsculos internos teñidos más oscuros que corresponden a los esporozoítos (Botero y Restrepo, 2003).

Los resultados se reportaron de la siguiente manera:

- Al no observar ooquistes de *Cryptosporidium spp.* la muestra se considera negativa (-).

En caso de observar ooquistes de *Cryptosporidium spp.*, se evaluó la carga parasitaria de forma cualicuantitativa, de acuerdo a los procedimientos operativos estándar (POE) del LPV-UN para la coloración de Ziehl-Neelsen modificada, observando el número de ooquistes por campo, en donde:

- Una cruz (+) significa una carga baja = menos de 5 ooquistes por muestra.
- Dos a tres cruces (++ a +++) una carga media = de 5 a 10 ooquistes por muestra.
- Cuatro cruces (++++) una carga alta = 11 o más ooquistes por muestra (Hernández & Cortés, 2012)

3.2.3.2. Técnica de centrifugación con formol-éter (Método de Ritchie) para Giardia

Es el procedimiento más utilizado para concentrar quistes de protozoos, huevos y larvas de helmintos. El método se desarrolló siguiendo los pasos sugeridos por (Botero & Restrepo, 2012), de la siguiente manera:

- Se evaluó la consistencia de la materia fecal y si era dura se la mezclaba con solución isotónica hasta que quede líquida, en una cantidad aproximada de 10 ml.
- Se pasó por una gasa doble y húmeda, aproximadamente 10 ml de la materia fecal líquida, a un tubo de centrifuga de 15 ml.
- Se centrifugó a 1.500-2.000 rpm por dos minutos, y se decantó el sobrenadante.
- Se diluyó el sedimento en solución salina, y se repitió el procedimiento anterior.
- Se agregó al sedimento 10 ml de formol al 10%, se mezcló y dejó reposar por 5 minutos.
- Se agregó 3 ml de éter, se tapó el tubo y se mezcló fuertemente durante 30 segundos, luego se destapó cuidadosamente.
- Se volvió a centrifugar a 1.500 rpm por 2 minutos, y se encontró cuatro capas distribuidas de la siguiente manera: un sedimento pequeño que contenía los huevos, quistes, etc.; una capa de formol; un anillo con restos de materias fecales y el éter o gasolina en la superficie.
- Con un palillo se aflojó, de las paredes del tubo, el anillo con restos de materia fecal y se decantó las tres capas superiores.



- Se mezcló el sedimento con la pequeña cantidad de líquido que bajaba por las paredes del tubo y se hizo preparaciones en fresco, colocando una gota de lugol, y observando en el microscopio con el lente de 40X.

Los resultados se reportaron de la siguiente manera:

- No se observaron quistes de *Giardia spp.* cuando la muestra fue negativa (-)

En el caso positivo se evalúa la carga parasitaria de forma cualicuantitativa de acuerdo a los Procedimientos Operativos Estándar (POE) del LPV-UN para la técnica de Ritchie observando el número de quistes por campo, en donde:

- Una cruz (+) significa una carga baja,
- De ++ a +++ cruces, una carga media.
- Más de +++ cruces, una carga alta (Henrnández & Cortés, 2012).

3.2.3.3. Métodos para el análisis de agua

Para la detección de quistes de *Giardia* y ooquistes de *Cryptosporidium*, entero parásitos presentes en aguas superficiales crudas y tratadas, se requirió de un método especial que requiere de un volumen mayor que para los análisis microbiológicos de rutina; ya que los quistes y ooquistes se encuentran dispersos en los cuerpos del agua superficial y sistemas de agua potable, la mayoría de investigadores recomiendan 10 litros para aguas sin tratar y 100 litros para aguas tratadas (Aurazo, 2009).

El método recomendado para el análisis y determinación de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* es el EPA 1623.1, para ello se procedió a llevar 40 litros de agua tomados del sistema de captación en el sector del Hato de la Virgen; de donde se reparte el agua para el sistema de riego y tratamiento mediante potabilización para el Cantón San Fernando.

3.2.3.3.1. Toma de la muestra

Para los análisis de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* se tomaron dos muestras, una para muestra matriz y otra para el análisis de los parámetros, de acuerdo a lo solicitado por la EPMAPS.

3.2.3.3.2. Procedimiento

- La muestra se recolectó directamente de la zona de captación que está ubicada en el río Hato de la Virgen en dos recipientes estériles con capacidad de 20 litros cada uno, las mismas que para eliminar detritos o residuos grandes se utilizó un colador igualmente estéril.
- Una vez colectada la muestra se procedió a sellar herméticamente para evitar fugas del agua.

Figura 4. Recipientes utilizados en el transporte de las muestras de agua



- Se procedió a refrigerar las muestras para evitar proliferación de otros gérmenes, de acuerdo a las especificaciones del departamento de control de calidad del agua de la EPMAPS.
- El proceso de refrigeración se realizó colocando los recipientes dentro de un termo refrigerante, cubierto con polietileno para evitar el contacto del material refrigerante (fundas de hielo y geles) con la muestra, con esto se mantuvo durante el viaje a Quito a una temperatura de 4°C.
- Se procedió a rotular, sellar y asegurar el termo con cinta de embalaje.



- Por tratarse de una muestra para hacer determinaciones biológicas y evitar su alteración, fue llevada personalmente y entregada en el laboratorio al personal que llevó a cabo la prueba.
- Se entregó la información detallada de la muestra que consistió en: día, hora, lugar, cantidad y características del lugar.

3.2.3.3.3. Seguridad para el manejo de la muestra

El peligro biológico asociado con el riesgo de infección con ooquistes de *Cryptosporidium spp.* y quistes de *Giardia spp.* para este método es alto ya que se manipulan organismos vivos, por tal razón todos los procedimientos se llevaron a cabo de la siguiente manera:

- Se manipuló todas las muestras con guantes de látex o equivalentes.
- Se usó el equipo de protección personal (tapabocas, gafas, mandil).
- Se realizó el lavado de manos antes de iniciar cualquier procedimiento y después de estar en contacto con las muestras o de manipular objetos contaminados así como antes y después de colocarse los guantes.

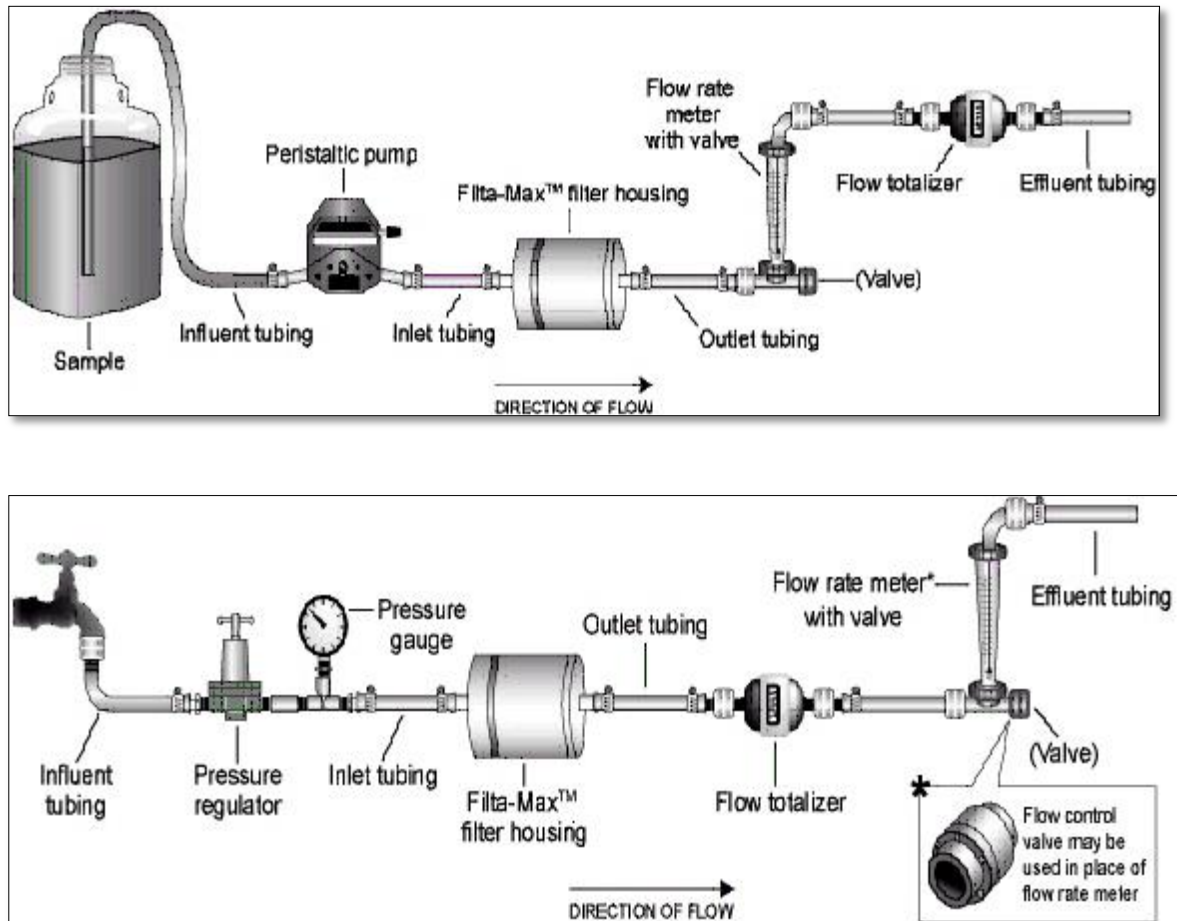
3.2.3.3.4. Fundamento del método inmunológico EPA 1623.1

El método EPA 1623.1, es un método inmunológico de reacción específica antígeno anticuerpo, de tal forma que luego de la filtración que se hace con el filtro de espuma y con la membrana filtrante, se obtuvo los protozoarios, pero mezclados con toda clase de interferencias de tamaño mayor a 1 micra, de tal forma que se recuperó únicamente los protozoarios. Para ello se usó los reactivos anti crypto y anti giardia, los cuales son anticuerpos monoclonales (específicos) y están "marcados con perlas magnéticas", es decir, la adición de este reactivo permitió hacer un complejo antígeno (crypto o giardia presente en la muestra), más anticuerpo marcado (reactivo anti crypto y anti giardia). Esta reacción se produjo mediante rotación a 19 rpm por el tiempo de una hora.

Luego se evidenció mediante una tinción, que también es un método inmunológico, solo que en este caso el anticuerpo fue marcado con isotiocianato de fluoresceína, el

cual puede verse con una luz fluorescente en el microscopio (Agency, Environmental Protection, 2012).

Figura 5. Filtration Systems for Filta-Max® filters (unpressurized source - top, pressurized source - bottom)

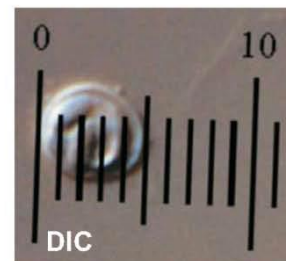


Fuente: (Agency, Environmental Protection, 2012)

Method 1623.1 Microscopy Visual Guide

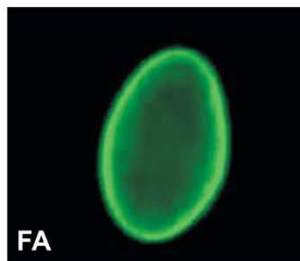
Cryptosporidium oocyst criteria:

- Brilliant apple-green fluorescence
- 4 – 6 μm size
- No atypical characteristics by FA, DAPI fluorescence or DIC microscopy
- Brightly highlighted edges
- Spherical to ovoid shape



Giardia cyst criteria:

- Brilliant apple-green fluorescence
- 8 – 18 μm long by 5 – 15 μm wide
- No atypical characteristics by FA, DAPI fluorescence or DIC microscopy
- Brightly highlighted edges
- Spherical to ovoid shape



DIC
image

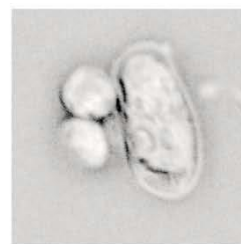


Image
not in DIC

Figura 6. Method 1623.1 Microscopy Visual Guide

Fuente: Photographs courtesy of The City of San Diego Water Quality Laboratory; Texas Agri Life Research Center at El Paso, Texas A&M University System; University of Iowa Hygienic Laboratory (Agency, Environmental Protection, 2012)

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1. Presencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en heces de terneros

Tabla 5. *Cryptosporidium spp.* de acuerdo al sector (Anexo 1)

Sector	+	-	Prevalencia	Media	Desv. típ.
Cachi	5	0	100,0%	1,00	,000
Calluco	6	0	100,0%	1,00	,000
Corraluco	3	0	100,0%	1,00	,000
H. Virgen	17	1	94,4%	,94	,236
M. Auxiliad.	4	0	100,0%	1,00	,000
Mamayacu	15	1	93,8%	,94	,250
Pallca	4	2	33,3%	,33	,516
Pirapamba	3	0	100,0%	1,00	,000
Quimaputo	9	0	100,0%	1,00	,000
San Sebas	1	0	100,0%	1,00	,000
Shuno	14	1	93,3%	,93	,258
Siguilla	19	2	90,5%	,90	,301
H. Buena	6	0	100,0%	1,00	,000
Siguin	3	0	100,0%	1,00	,000
Turupamba	3	1	75,0%	,75	,500
Total	112	8	91,7%	,92	,278

El estudio descriptivo para *Cryptosporidium spp.* reporta una prevalencia del 91,70% en los terneros para todo el Cantón San Fernando, lo que equivale a 112 casos positivos y únicamente 8 casos negativos. En los sectores de Cachi, Calluco, Corraluco, María Auxiliadora, Pirapamba, Quimaputo, San Sebastián, Hierba Buena y Siguin la presencia de *Cryptosporidium spp.* es de un 100%, mientras que en los restantes sectores se registran casos negativos. El sector que reporta la prevalencia más baja es Pallca (33%).

Tabla 6. *Giardia spp.* de acuerdo al sector (Anexo 1)

Sector	+	-	Prevalencia	Media	Desv. típ.
Cachi	5	0	100,0%	1,00	,000
Calluco	5	1	83,3%	,83	,408
Corraluco	2	1	66,7%	,67	,577
H. Virgen	8	10	44,4%	,44	,511
M. Auxiliad.	4	0	100,0%	1,00	,000
Mamayacu	14	2	87,5%	,88	,342
Pallca	6	0	100,0%	1,00	,000
Pirapamba	3	0	100,0%	1,00	,000
Quimaputo	7	2	77,8%	,78	,441
San Sebas	1	0	100,0%	1,00	.
Shuno	14	1	93,3%	,93	,258
Siguilla	12	9	57,1%	,57	,507
H. Buena	5	1	83,3%	,83	,408
Siguin	3	0	100,0%	1,00	,000
Turupamba	3	1	75,0%	,75	,500
Total	92	28	76,7%	,77	,425

La presencia de *Giardia spp.* tiene una prevalencia de 76,70% en los terneros para el Cantón San Fernando, ello implica un total de 92 casos positivos y 28 casos negativos. Los sectores que mantienen una constante del 100% son Cachi, María Auxiliadora, Pallca, Pirapamba, San Sebastián y Siguin. El sector con menor presencia de *Giardia* es Hato de la Virgen, la cual tiene un 44,4%.

Tabla 7. *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* de acuerdo a la edad

Parásitos-protozoario	Edad	-	+	++	+++	TOTAL
<i>Cryptosporidium spp.</i>	0 a 2 meses	4	17	27	12	60
	2 a 4 meses	6	20	21	13	60
<i>Giardia spp.</i>	0 a 2 meses	11	32	15	2	60
	2 a 4 meses	17	26	10	7	60

Los resultados de acuerdo a la edad de los terneros no muestran diferencias significativas entre uno u otro parásito con respecto a la carga parasitaria.

4.2. Presencia de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia lamblia* en el agua

Tabla 8. Presencia de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia lamblia* en el agua de los tanques de captación para consumo y riego (Anexo 5)

Parásitos	Presencia de parásitos
<i>Cryptosporidium</i> spp.	5 ooquistes/100 ml de agua
<i>Giardia lamblia</i>	10 quistes/100 ml de agua

Tanto el *Cryptosporidium* spp. como la *Giardia lamblia*, se encuentran presentes en el agua proveniente de la zona de captación del Cantón San Fernando; ello ha sido corroborado con la prueba de laboratorio que demuestra la existencia de 5 ooquistes/100 ml en el caso de *Cryptosporidium* spp. y 10 quistes/100 ml en el caso de *Giardia lamblia*.

4.3. Presencia de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia lamblia* en niños

Tabla 9. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia lamblia* en los niños de acuerdo a su procedencia (Anexo 2)

Procedencia	Parásito	+	-	Prevalencia	Media	Desv. típ.
Rurales	<i>Cryptosporidium</i> spp.	4	21	16,00%	0,1600	0,37417
	<i>Giardia lamblia</i>	4	20	16,66%	0,1667	0,38069
Urbanos	<i>Cryptosporidium</i> spp.	2	15	11,76%	0,1176	0,33211
	<i>Giardia lamblia</i>	10	8	55,56%	0,5556	0,51131
Total	<i>Cryptosporidium</i> spp.	6	36	14,29%	0,1429	0,35417
	<i>Giardia lamblia</i>	14	28	33,33%	0,3333	0,47712

La prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en los niños, está presente mayormente en la zona rural, pues ahí alcanza una prevalencia de 16% (4 casos positivos y 21 negativos), mientras que en la zona urbana alcanza un 11,76% (2 casos positivos y 15 negativos). De su parte, la prevalencia de *Giardia lamblia* es más común en la zona urbana, donde alcanza un 55,56% de prevalencia (10 positivos y 8 negativos), mientras que en la zona rural sólo es de 16,66% (4 positivos y 20 negativos).

4.4. Asociación de *Cryptosporidium* spp. de acuerdo a la procedencia de los niños

- **Planteamiento de hipótesis:** H_1 La presencia de *Cryptosporidium* spp. en los niños menores de 6 años está relacionada con la procedencia de los niños. H_0 La presencia de *Cryptosporidium* spp. en los niños menores de 6 años no está relacionada con la procedencia de los niños.
- **Nivel de significancia:** El nivel de significancia elegido para esta hipótesis es de 0,05.
- **Estadístico de prueba:** El estadístico de prueba seleccionado es el Chi-cuadrado y la V de Cramer. En caso de que Chi-cuadrado no cumpla con las frecuencias mínimas esperadas, se recurrirá al estadístico exacto de Fisher para concluir parcialmente.
- **Regla de decisión:** Si p es $<0,05$ se acepta H_1 , si p es $>0,05$ se acepta H_0 .

Tabla 10. *Cryptosporidium* spp. de acuerdo a procedencia de los niños

			Procedencia		Total
			Rurales	Urbanos	
Cryptos.	Negativo	F	21	15	36
		%	84,0%	88,2%	85,7%
	Positivo	F	4	2	6
		%	16,0%	11,8%	14,3%
Total		F	25	17	42
		%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 11. Estadísticos de prueba de hipótesis para *Cryptosporidium* spp.

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)	Sig. Aprox.
Chi-cuadrado de Pearson	,148 ^a	1	,700			
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,534	
V de Cramer	,059					,700
N de casos válidos	42					

a. 2 casillas (50,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 2,43.

- **Toma de decisión:** El valor p calculado, tanto para la prueba de Chi-cuadrado de Pearson así como para V de Cramer, es de $0,700 > 0,05$, por lo que se acepta H_0 y se rechaza H_1 , sin embargo, las condiciones muestrales presentan dos casillas con frecuencias esperadas inferiores a 5, por lo que, se recurre al estadístico exacto de Fisher, el cual también muestra un valor de $p > 0,05$, por lo que definitivamente se concluye que “la presencia de *Cryptosporidium spp.* en los niños menores de 6 años no está relacionada con la procedencia de éstos, pues se presenta por igual en niños de la zona urbana y rural.”

4.5. Asociación de *Giardia lamblia* de acuerdo a la procedencia de los niños

- **Planteamiento de hipótesis:** H_1 La presencia de *Giardia lamblia* en los niños menores de 6 años está relacionada con la procedencia de los niños. H_0 La presencia de *Giardia lamblia* en los niños menores de 6 años no está relacionada con la procedencia de los niños.
- **Nivel de significancia:** El nivel de significancia elegido para este contraste de hipótesis es de 0,05.
- **Estadístico de prueba:** El estadístico de prueba seleccionado es la prueba de Chi-cuadrado y la V de Cramer.
- **Regla de decisión:** Si p es $< 0,05$ se acepta H_1 , si p es $> 0,05$ se acepta H_0 .

Tabla 12. *Giardia lamblia* de acuerdo a procedencia de los niños

			Procedencia		Total
			Rurales	Urbanos	
Giardia	Negativo	f	21	7	28
		%	84,0%	41,2%	66,7%
	Positivo	f	4	10	14
		%	16,0%	58,8%	33,3%
Total		f	25	17	42
		%	100.0%	100.0%	100.0%

Tabla 13 Estadísticos para prueba de hipótesis para *Giardia lamblia*

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)	Sig. Aprox .
Chi-cuadrado de Pearson	8,351 ^a	1	,004			
Estadístico exacto de Fisher				,007	,005	
V de Cramer	,446					,004
N de casos válidos	42					

a. 0 casillas (0,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 5,67.

- **Toma de decisión:** El valor p calculado tanto para la prueba de Chi-cuadrado de Pearson así como para V de Cramer es de $0,004 < 0,05$, por lo que se acepta H_1 y se rechaza H_0 , en consecuencia se concluye que “la presencia de *Giardia lamblia* en los niños menores de 6 años está relacionada con la procedencia de los niños pues se presenta mayormente en aquellos casos provenientes de la zona urbana (cabecera cantonal) del Cantón San Fernando”.

CAPITULO V: DISCUSIÓN

La presencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en ganado bovino (terneros), en el hombre y en el agua, se ha reportado en muchos países, teniendo altas prevalencias; en tal sentido, confirman que la infestación por estos endoparásitos está ampliamente distribuida en los hatos lecheros, lo que hace relevante y que sea de mucho interés la presente investigación.

5.1. *Cryptosporidium spp.*

5.1.1. *Cryptosporidium spp.* en terneros

De acuerdo a lo que cita Modini *et al.* (2010), en trabajos realizados en granjas lecheras de los Estados Unidos, con un 90% de positividad existe una prevalencia cerca del 50%; Del Coco y Córdova (2008) señalan que en Argentina la prevalencia va entre el 17% y 29.6%; Cano-Romero *et al.* (2011) demuestran que en la región del centro de Veracruz-México la prevalencia es del 42.9% en terneros menores a cuatro meses. En México se evidenció 25% de prevalencia, en Brasil observaron prevalencia del 27.8%, en Canadá prevalencia del 63%, en Venezuela prevalencia del 18%, datos citados por Fitz-Sánchez *et al.* (2013). En la cuenca lechera de la sabana noroccidental de Bogotá, Hernández y Cortéz (2012) obtuvieron una prevalencia del 4.9%; y en la sabana centro Avandano *et al.* (2010) obtuvieron el 22%. Estos datos citados por diferentes autores frente a los obtenidos en la presente investigación, que fue de 91.7% de prevalencia, y tomando en consideración con una confianza del 95% según Modini *et al.* (2010) la prevalencia de terneros positivos de *Cryptosporidium spp.* estaría comprendida entre el 74% y el 91% en San Fernando, lo que indica que la prevalencia en esta localidad está en el rango máximo encontrado en la literatura investigada.

Los datos bibliográficos frente a los obtenidos, pueden estar relacionados a factores como son condiciones epidemiológicas, zona geográfica estudiada, edad, historia clínica del hato o rebaño, sistema de explotación, prácticas de higiene. Tomando en cuenta que la excreción de ooquistes en las heces ocurre con relativa frecuencia en terneros de rebaños lecheros, se puede mencionar que, en nuestro caso, un factor importante es que los pastizales permanecen ocupados por más tiempo y el manejo



al sogueo (animales que permanecen en estaca) ayuda o favorece a la continua acumulación de ooquistes y, por ende, a la contaminación del medio ambiente.

Una variable zootécnica considerada como factor de riesgo es el lavado de ubre, Fitz-Sánchez *et al.* (2013) consideran que el 83% de las muestras positivas provienen de ranchos en los que no se realiza la actividad antes mencionada o el agua utilizada en la labor de higiene es la misma de las fuentes producto del arrastre de los potreros y sin ningún tratamiento de potabilización.

En los resultados obtenidos se ve que la edad no muestra diferencias significativas entre los 0 a 2 meses y de 2 a 4 meses, tampoco entre uno u otro parásito; pero según Modini *et al.* (2010), las infestaciones en los bovinos son edad-dependientes, ya que el *Cryptosporidium parvum* ha sido encontrado en el 85% de las infestaciones en terneros previo al destete y luego reemplazados por otras especies de *Cryptosporidium* como son el *andersoni* y el *bovis*.

5.1.2. *Cryptosporidium* spp. en el agua

Al hacer referencia al recurso hídrico, se conoce que diversos estudios demuestran los niveles de contaminación por parásitos en aguas superficiales por arrastre, es así que Aurazo (2009) cita que en investigaciones realizadas en los Estados Unidos en aguas superficiales, se encontró en 86 muestras ooquistes de *Cryptosporidium*, lo que corresponde al 87% de positividad y con la presencia de 2.7 ooquistes por litro de agua; de igual manera Solarte *et al.* (2006) en otro estudio en los Estados Unidos en muestras de aguas de manantiales y aguas tratadas para consumo humano señala que existían cantidades muy variables de ooquistes, las mismas que iban desde 0.002 hasta 65.1 ooquistes por litro, lo que daba una positividad entre el 3.5% y 61% de las muestras evaluadas; siendo la mayor concentración de ooquistes en aguas de libre circulación procedentes de zonas con una alta influencia de la ganadería, encontrándose entre 1.5 y 1.9 ooquistes por litro; los mismos autores señalan que los análisis estadísticos, realizados en diferentes estudios, demostraron que existe una correlación entre ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia*, lo que evidencia en este estudio, la posibilidad de contaminación de una misma fuente.



De igual manera, un estudio del año 2011 de las aguas que entran a la planta de tratamiento de aguas residuales del estado de Aragua en Venezuela, da valores promedio de 10 ooquistes/L (encontrándose dentro del rango 1 – 10 ooquistes), lo que se conoce como nivel riesgo para infectar animales y seres humanos; trayendo como consecuencia un riesgo para la salud pública debido al uso de estas aguas para fines agrícolas y/o consumo humano, así lo señalan Medina *et al.* (2012).

Los datos citados por los diferentes autores, frente a los encontrados en la presente investigación que son de 5 ooquistes/100 ml de agua, nos indica que existe una alta prevalencia de ooquistes, siendo éste un factor determinante para la infestación de los humanos y animales aguas abajo.

En estudios realizados en las aguas no tratadas o crudas de nuestra provincia, ningún autor señala porcentajes o datos de la existencia de *Cryptosporidium*; solamente manifiestan la contaminación por coliformes totales y fecales en un porcentaje del 90.91% de la muestra, lo que a su vez indican, que superan los valores de 2.2 NMP/ml, según mantienen Cajamarca y Contreras (2011).

5.1.3. *Cryptosporidium spp.* en los niños

Se puede empezar manifestando que lo relacionado a datos o información sobre *Cryptosporidium* en niños es muy pobre en nuestra región, incluso en el Cantón San Fernando a raíz de la investigación se tomó en consideración este endoparásito de carácter zoonótico para llevar a cabo exámenes coprológicos a los niños.

De acuerdo a lo que manifiestan Del Coco y Basualdo (2008), en los países en vías de desarrollo es difícil estimar la prevalencia de Criptosporidiosis, debido a que la infestación no es de notificación obligatoria y los datos epidemiológicos existentes son escasos.

La prevalencia de ooquistes según encuestas realizadas en Europa está entre el 1 y 2%, en América del Norte del 0.6 al 4.3% y en países en desarrollo entre el 10 y 20%. Acha y Szyfres (2003)

En Ciudad Juárez, Chihuahua, se han desarrollado algunos estudios, como el de Cruz (2005) quien muestreó niños escolares de dos áreas carentes de agua potable,

en la periferia y en el Valle de Juárez, demostrando la presencia de *Cryptosporidium parvum* en el 85.7% de los niños estudiados, según establece García *et al.* (2010).

Un estudio realizado en el año 2007 en niños procedentes de las zonas rurales en la provincia de Chimborazo, encontraron prevalencias de 8.9%, según Jacobsen *et al.* (2008).

Con los datos encontrados sobre éste enteroparásito, y según lo expuesto por Acha y Szyfres (2003), quienes manifiestan que la prevalencia de ooquistes en países en desarrollo está en promedio del 15%, se evidencia una coincidencia con la prevalencia de *Cryptosporidium* encontrada en San Fernando, ya que existe presencia en la zona rural con una prevalencia de 16%, mientras que en la zona urbana alcanza un 11,76%, teniendo como promedio el 14.29%.

Por lo tanto en este caso, el valor p calculado tanto para la prueba de Chi-cuadrado de Pearson así como para V de Cramer es de $0,700 > 0,05$, por lo que se acepta H_0 y se rechaza H_1 , sin embargo, las condiciones muestrales presentan dos casillas con frecuencias esperadas inferiores a 5, por lo que, se recurre al estadístico exacto de Fisher, el cual también muestra un valor de $p > 0,05$, por lo que definitivamente se concluye que “la presencia de *Cryptosporidium* en los niños menores de 6 años no está relacionada con la procedencia de éstos pues se presenta por igual en niños de la zona urbana y rural.”

En este sentido es aceptable la recomendación de Sarmiento y Pereira (2011) en un estudio que realizan en niños de una escuela del Sector de Minas, parroquia Baños, Provincia del Azuay; que recomienda realizar exámenes tanto en agua como en los niños para determinar prevalencia de *Cryptosporidium*, ya que se ha realizado solamente en *Giardia*.

5.2. *Giardia spp.*

5.2.1. *Giardia spp.* en terneros

La presencia de *Giardia spp.* en terneros como en otros mamíferos domésticos viene tomando cada vez más importancia desde el punto de vista zoonótico; es así que la infección se ha comprobado a nivel mundial, según cita Acha y Szyfres (2003),



quienes manifiestas que la prevalencia en perros jóvenes es de 20 a 35%, en gatos jóvenes de 10 a 15%, en potrillos de 17 a 32%, en cerdos jóvenes de 7 a 44%, los mayores porcentajes están en corderos de 6 a 80% y en terneros de 5 a 90%.

En estudios en Alemania Central se ha podido encontrar de 14 a 50% de prevalencia en terneros comprendidos en edades entre 2 y 10 semanas, a su vez, Beck y Pantchev (2010), manifiestan que en este hallazgo no existe relación entre la diarrea y la detección de los parásitos en los terneros. De igual manera, en Canadá, en 183 terneros procedentes de once localidades diferentes, al tener el resultado positivo, se determinó el genotipo de los aislados, obteniéndose en terneros un 51% de positividad (29% ensamblaje A y 71% ensamblaje E).

Otro dato que se puede citar es el encontrado por Hernández y Cortez (2012), en la cuenca lechera del noroccidente de Bogotá con una prevalencia del 37.3% en terneros de 0 a 2 meses de edad.

Los valores de prevalencia expuestos por Acha y Szyfres (2003), se confronta con la prevalencia de 76,7% encontrada en el Cantón San Fernando, esto nos indican que la prevalencia es alta y, por lo tanto, tiene efecto zoonótico en la zona en estudio. De igual forma se puede notar que los resultados de acuerdo a la edad no muestran diferencias significativas de acuerdo a la carga parasitaria.

5.2.2. *Giardia spp.* en el agua

Brito (2010), en un estudio realizado en las aguas crudas que ingresan a la planta de potabilización de Sustag, ha encontrado 102 quistes de *Giardia lamblia* x m³ de agua, que representan el 12.06%.

Aurazo (2009), manifiesta que LeChevalier detectó en los ríos de Ottawa quistes de *Giardia* en 81% de las muestras de agua superficiales y observó niveles de 2.4 quistes por litro.

Estudios realizados en la ciudad de Armenia (Colombia), Solarte *et al.* (2006) señalan que en pruebas estadísticas existe una correlación entre ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia*, evidenciando la posibilidad de una misma fuente de contaminación o reservorio.



Al no tener datos muy concretos sobre la presencia de quistes de *Giardia* en el agua y sosteniendo valores de la investigación que es de 10 quistes/100 ml, se puede considerar que el agua sí es una potencial fuente de contaminación, considerando que en el campo, a más de los bovinos, existen también otros mamíferos como son los perros, que actúan como portadores del parásito.

5.2.3. *Giardia spp.* en los niños

La prevalencia en humanos en países industrializados descrita por Acha y Szyfres (2003), es de 2 a 4 %, pero llega hasta el 15% o más. Botero y Restrepo (2012), señalan que la prevalencia en niños está entre 20 y 30% en países en vías de desarrollo, datos tomados especialmente de Sudamérica a niños preescolares y escolares de zonas rurales. Soulsby (1987), señala que la prevalencia varía del 2% al 60% y de acuerdo a las condiciones puede superar este porcentaje.

En estudios realizados en las ciudades de Armenia y Arboleda (Colombia), se determinaron prevalencias de 60.4% y 7% respectivamente, mencionando como factores de riesgo una relación directa con la calidad del agua, así lo registra (Solarte *et al*, 2006).

En Ciudad Juárez (México) un estudio en niños efectuado en un área con agua potable entubada, demostró que estaban parasitados con *Giardia lamblia* el 37.75%; en cambio, en un área sin agua potable entubada, los niños parasitados con *Giardia lamblia* llegaron al 56.03%, según describe (García *et al*, 2010).

Estudios realizados por (López, 2013), en la parroquia Cunchibamba perteneciente a la ciudad de Ambato, encontraron una prevalencia del 16.5% de *Giardia lamblia*, por lo que el autor del estudio manifiesta que se debe tomar en cuenta que la presencia de este endoparásito reportado en la investigación orienta hacia el consumo de agua no tratada de parte de los sujetos participantes; además señala que el resultado fue similar al obtenido por (Serrano E. y Cantillo A., 2001), quienes analizaron muestras de heces de 2.123 niños, de los cuales 1.478 (69.62%) presentaron protozoarios; dentro de estos los más frecuentemente encontrados fueron *E. histolytica*, *E. coli* y *Giardia lamblia*.



En un estudio realizado por (Sarmiento y Román, 2011), en la comunidad de Minas, perteneciente a la parroquia Baños, se encontró una prevalencia del 19.69%. Y (Jacobsen *et al*, 2008) en niños rurales del Chimborazo encontró prevalencia de 21.1%.

Tomando en consideración los resultados de diversas investigaciones, frente a la realizada en San Fernando con un promedio de prevalencia del 36.11%, se determina que la prevalencia de *Giardia lamblia* es alta, además, se evidencia mayor prevalencia en la zona urbana; pues ahí alcanza un 55,56%, mientras que en la zona rural sólo es de 16,66%.

Con los resultados obtenidos, se interpreta que:

El valor p calculado, tanto para la prueba de Chi-cuadrado de Pearson así como para V de Cramer es de $0,004 < 0,05$, por lo que se acepta H_1 y se rechaza H_0 ; en consecuencia se concluye que “la presencia de *Giardia lamblia* en los niños menores de 6 años está relacionada con la procedencia de los niños, pues se presenta mayormente en aquellos casos provenientes de la zona urbana (cabecera cantonal) del Cantón San Fernando” ya que se supone que los niños procedentes de las zonas rurales tienen mayor inmunidad y, por lo tanto, más resistencia al parásito.

CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

En el presente trabajo de investigación realizado en la cuenca lechera del Cantón San Fernando, existe un foco de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia lamblia*, del cual se desconocía anteriormente. Por lo tanto este estudio se constituye en una línea base para profundizar en la investigación sobre protozoarios en el ganado bovino, ya que las enfermedades producidas por los endoparásitos en estudio, han sido reportadas como zoonóticas en otras latitudes.

Al considerar el objetivo de la investigación, se ve claramente que la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en terneros, están en los límites máximos que señala la bibliografía, esto nos indica que la criptosporidiosis y la giardiasis enfermedades producidas por los protozoarios, podrían ser consideradas como enfermedades reemergentes en este Cantón de la provincia del Azuay.

Tomando en consideración la presencia de ooquiste de *Cryptosporidium spp.* y quistes de *Giardia lamblia* en las fuentes de agua por efecto del arrastre desde los potreros hasta los tanque de captación, se estima un efecto de alto riesgo no solo para la población infantil, sino para todos los habitantes, viajeros y personas inmunodeficientes del Cantón, que pueden consumir el agua o alimentos manipulados y lavados con estas aguas sin tratar, pudiendo a lo mejor producirse una epidemia de gran magnitud.

La prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia lamblia* en los niños menores a 6 años que acudieron al centro de Salud, y revisadas las fichas médicas, nos da a entender que si existe una incidencia de los protozoarios en estudio y a la vez los niños que no presentaron cuadros diarreicos, pero si positividad al examen; se consideran como portadores de *Cryptosporidium spp.* y *Giardia lamblia*.

Analizando los resultados y considerando el planteamiento de uno de los objetivos, se puede también concluir, que los factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium spp.* y *Giardia spp.* en las fincas ubicadas en la cuenca lechera del el Cantón San



Fernando, dependen directamente de la aplicación de las buenas prácticas ganaderas.

RECOMENDACIONES

Con las prevalencias halladas es necesario empezar a tomar medidas, en razón de que los datos presentan desafíos para todas y cada una de las instituciones gubernamentales y no gubernamentales, gobiernos seccionales, GADs y demás personas involucrados en el quehacer diario del cantón.

Lógicamente, dentro de los objetivos trazados el primer paso ya está dado, es decir, se ha identificado la fuente de contaminación; ahora será necesario elaborar estrategias para reducir los factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium spp.* y *Giardia lamblia* en las fincas de la cuenca lechera del Cantón, siendo éstas dependientes de las buenas prácticas ganaderas, como son:

- Conocer el origen del agua que se utiliza para riego y abrevaderos
- Manejo de los animales de compañía
- Adecuado manejo de las excretas en las fincas y granjas, ya que las mismas se reutilizan como abonos sin previo tratamiento o compostaje
- Un sistema adecuado de manejo de los terneros, en cuanto a su salud y alimentación
- Mantener asistencia técnica profesional veterinaria con frecuencia.

Al hacer referencia al agua, es primordial poner en práctica las guías de calidad para aguas de consumo humano de la OMS, las mismas que indican que “no es práctico monitorear cada agente patógeno que está en el agua, sino que el enfoque más lógico es detectar organismos que por lo general se encuentran en las heces de los seres humanos y de los animales de sangre caliente; paso fundamental para el desarrollo y la buena salud de la población”. Tales guías estarían vinculadas directamente con el buen vivir y la seguridad alimentaria.

La forma más eficaz de garantizar sistemáticamente la seguridad de un sistema de abastecimiento de agua de consumo es aplicando un plan integral de evaluación de los riesgos y gestión de los riesgos que abarque todas las etapas del recorrido del

agua, esto es; desde las fuentes de abastecimiento a la cuenca de captación, hasta su distribución al consumidor. Este tipo de estrategias se denominan “planes de seguridad del agua” (PSA) (Bartram J, y otros, 2009).

Además cumplir con la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 1 108:2011), cuarta revisión, publicada en el registro oficial N° 481 de 2011-06-30, que en el numeral 5.1.2. dice: “El agua potable debe cumplir con los siguientes requisitos microbiológicos”

Requisitos microbiológicos

	Máximo
Coliformes fecales:	
- Tubos múltiples NMP/100 ml	< 1.1
- Filtración por membrana UFC/100 ml	< 1
Cryptosporidium, número de ooquistes/100 litros	Ausencia
Giardia, número de quistes/100 litros	Ausencia

Finalmente se recomienda realizar más estudios epidemiológicos, que amplíen el conocimiento en la problemática de los niños del Cantón, esto es ampliando el número de muestras y otros parásitos; con la finalidad de determinar factores de riesgo y a la vez estudiar el comportamiento de nuevos agentes biológicos contaminantes del agua a lo largo de un periodo mayor de tiempo.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acha, P. N., & Szyfres, B. (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (3ra. Ed.). Washington: OPS.
- Agency, Environmental Protection. (2012). Method 1623.1: *Cryptosporidium* and *Giardia* in Water by Filtration/IMS/FA.
- Arizona, D. d. (1995). *Cryptosporidium y el agua potable*. Arizona: Departamento de Calidad Ambiental de Arizona.
- Ash, L., & Orihel, T. (2011). *Atlas de parasitología humana*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A.C.F.
- Aurazo, M. (2009). *Aspectos biológicos de la calidad del agua*. Recuperado el 26 de Enero de 2014, de <http://cdam.minam.gob.pe:8080/bitstream/123456789/109/3/CDAM0000012-3.pdf>
- Avendaño, C., Amaya, Á., & Bayona, M. (2010). Caracterización epidemiológica de la criptosporidiosis en bovinos en la región Sabana Centro (Cundinamarca). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 13(2), 109-116.
- Baquero, J. R. (2008). Diarrea neonatal indiferenciada en terneros: consideraciones sobre su prevención en campo. *vet.zootec.* 2(2): 59-68, 2008, 64.
- Barbosa, J., Espinar, M. J., Goncalves, A., & Pina-Vaz, C. (2013). *Cryptosporidium* spp., *Giardia lamblia* y *Encephalitozoon intestinalis*, oportunistas emergentes. *Revisiones*, 117-118.
- Bartram J, Corrales , L., Davison, A., Deere, D., Drury, D., Gordon, B., . . . Stevens, M. (2009). *Manual para el desarrollo de planes de seguridad del agua: metodología pormenorizada de gestión de riesgos para proveedores de agua de consumo*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- Beck, W., & Pantchev, N. (2010). *Zoonosis parasitaria de animales destinados a la producción de alimentos y de animales de renta*. Barcelona: Servet.
- Bolívar, A. M., Rojas, A., & García-Lugo, P. (2014). PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización . *Avances en Biomedicina*, 25.
- Botero , D., & Restrepo, M. (2012). *Parasitosis humanas, incluye animales venenosos y ponzoñosos*. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas.



- Bowman, D. (2011). *Goergis parasitología para veterinarios*. Barcelona: Elsevier.
- Bracho, M., Sarcos, M., Reyes, P., & Botero, L. (2007). Presencia de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en agua potable. *Ciencia*.
- Brito, L. (2010). *Calidad bacteriológica y parasitológica del agua cruda de la planta de tratamiento de agua de Sustag*. Recuperado el 1 de Junio de 2014, de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2443/1/tq1084.pdf>
- Cajamarca, B. E., & Contreras Álvarez, L. A. (2011). *Control microbiológico del agua potable de uno de los sistemas de abastecimiento del cantón Cuenca, a través de microorganismos indicadores*. Recuperado el 2 de Junio de 2014, de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2450/1/tq1094.pdf>
- Cano-Romero, P., Alonso-Díaz, M. Á., Figueroa-Castillo, J. A., & Trigo-Tavera, F. J. (2011). Prevalence and incidence of *Cryptosporidium* spp. in calves from the central region of Veracruz, Mexico. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 567.
- Castro, J. A., González, M., & Mezo, M. (2007). *Principales parasitosis en el ganado vacuno lechero: pautas racionales de control*. Recuperado el 30 de Mayo de 2014, de <http://mail.ciam.es/pdf/Parasitologia.pdf>
- CDC. (2009). *Centers for Disease Control and Prevention*. Recuperado el 12 de Junio de 2014, de https://www.google.es/search?tbm=isch&q=CENTERS+FOR+DISEASE+CONTROL+AND+PREVENTION&hl=es&gws_rd=ssl
- Chavarrías, M. (29 de noviembre de 2012). *Google*. Recuperado el 19 de mayo de 2014, de <file:///E:/ANEXOS/enfermedades%20zoon%C3%B3ticas.htm>
- Compán, M. D., Llopis González, A., & Morales Suarez-Varela, M. (2008). Consideraciones epidemiológicas sobre Criptosporidiosis. *Revista española de salud, higiene y salud ambiental*, 368.
- Cordero, M., & Rojo, F. (2002). *Parasitología Veterinaria*. Madrid: McGraw Hill-Interamericana.
- DelCoco, V. F., & Basualdo, J. B. (2008). *INTA*. Recuperado el 24 de Febrero de 2014, de <http://cnia.inta.gob.ar/helminto/zoonosis%20v/Cap%C3%ADtulo%205%20Estado%20actual%20del%20tratamiento%20de%20la%20infeccion%20por%20cryptosporidium.pdf>
- DelCoco, V., & Córdova, M. A. (2008). *cnia.inta.gob.ar*. Recuperado el 20 de Enero de 2014, de



- <http://cnia.inta.gob.ar/helminto/zoonosis%20v/Cap%C3%ADtulo%205%20Estado%20actual%20del%20tratamiento%20de%20la%20infeccion%20por%20Cryptosporidium.pdf>
- Díaz, A. (2010). *Protozoosis gastroentéricas emergentes en el ganado bovino*. Recuperado el 30 de Mayo de 2014, de http://www.avpa.ula.ve/libro_desarrollosost/pdf/capitulo_26.pdf
- Doménech, J. (2003). Cryptosporidium y Giardia, problemas emergentes en el agua de consumo humano. *Sanidad ambiental*, 112.
- Domínguez, E. (2012). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial, Cantón San Fernando*. Cuenca.
- Fitz-Sánchez, E., Rosario-Cruz, R., Hernández-Ortíz, R., Hernández-Castro, E., Rodríguez-Bataz, E., & García- Vásquez, Z. (2013). Cryptosporidium parvum: prevalencia y factores de riesgo en becerros del municipio de Cuajinicuilapa, Guerrero, México. *Veterinaria y Zootecnia*, s.n.
- Fonte Galindo, L., & Ali Almannoni, S. (2010). Giardiasis ¿Una zoonosis? *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*.
- García Tapia, A., Fernández, C., López, C., & García , P. (2011). *Brotos epidémicos de criptosporidiosis*. Recuperado el 2 de Julio de 2014, de www.seimc.org: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/Brotcripto.pdf>
- García, A. M., Fernández, C., López, C., García , P., & Casanova, P. (2006). *Brotos de Criptosporidiosis*. Recuperado el 7 de marzo de 2014, de www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/Brotcripto.pdf
- García, J. L., Salazar Sosa, E., Orona Castillo, I., Fortis Hernández, M., & Trejo Escareño, H. I. (2010). *Agricultura Orgánica*. Durango, Mex. : Universidad Juárez del estado de Durango.
- Henrnández, N., & Cortés, J. (2012). Prevalencia y factores de riesgo de Cryptosporidium spp. y Giardia spp. en terneros de ganado lechero de la zona noroccidental de la Sabana de Bogotá. *Rev. salud pública*. 14 (1): 169-181, 2012, 171.
- Jacobsen, K., Ribeiro, P., Quist, B., & Rydbeck, B. (2008). Prevalencia de parasitismo intestinal en niños quechuas de zonas rurales montañosas de Ecuador. *Revista panamericana de Salud Pública-OPS*.



- Jaramillo, C. J., & Martínez, J. J. (2010). *Epidemiología Veterinaria*. México: Manual Moderno.
- López, N. K. (2013). *Influencia de la calidad de agua de consumo humano en la presencia de parasitosis intestinal en niños de 5 a 9 años de la parroquia Cunchibamba durante el periodo Marzo-Agosto 2012*. Ambato: UTA.
- Maldonado, A., & Arias Cortéz, J. P. (2006). *Control y profilaxis de las enfermedades causadas por parásitos animales y de las transmitidas por vectores de esta misma naturaleza*. Cuenca: Universidad de Cuenca.
- Medicamentos Veterinarios, E. M. (2007). Recuperado el 17 de Mayo de 2014, de <http://www.emea.europa.eu>
- Medina, C., Moncada, E., González, A., Rueda, M., & Rojas, G. (2012). Detección de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en la planta de tratamiento de aguas residuales "Taiguaiguay" del Estado Aragua, Venezuela año 2011. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.*, 84.
- Méndez, N. I., Calunga Fernández, J., & Menéndez Cepero, S. (2003). Ozonoterapia en el síndrome de malabsorción intestinal secundario a parasitismo por *Giardia lamblia*: estudio preliminar. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*.
- Modini, L., Otero, J., Carrera, E., Zerbato, M., Eliggi, S., & Abramovich, B. (2010). *Cryptosporidium* spp. en ganado bovino: su potencial como contaminante de los recursos hídricos. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias* 9 (1) 2010, 2-5.
- Morales, G. d. (28 de Septiembre de 2011). *cybertesis.uach.cl*. Recuperado el 20 de Abril de 2014, de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2011/fvm828d/doc/fvm828d.pdf>
- Neira, P., Muñoz, N., Stanley, B., Gosh, M., & Rosales, M. J. (2010). *Cryptosporidium parvum* en gastrópodos silvestres como bioindicadores de contaminación fecal en ecosistemas terrestres. *Revista Chilena de Infectología*.
- Ocampo, L., Sumano, H., & Gutiérrez, L. (s.f.). *Síndrome diarreico neonatal*. Recuperado el 26 de Enero de 2014
- Parte, M. A., Bruzual, E., & Brito, A. (2005). *Cryptosporidium* spp. y Criptosporidiosis. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 7.
- Pérez, G., Rosales, M. J., Valdez, R., Vargas, F., & Córdova, O. (2008). Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*.



- Reyes, J. A. (Septiembre de 2012). *Evaluación del RT-PCR en el diagnóstico de 6 parásitos intestinales en un área con parasitismo de baja intensidad en el Trópico, Ecuador*. Recuperado el 20 de Mayo de 2014, de <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/2043/1/104370.pdf>
- Reyes, K. Y. (Mayo de 2009). *Calidad microbiológica del agua doméstica mediante los indicadores Cryptosporidium parvum y Giardia lamblia en el valle de Juárez, Chihuahua*. . Recuperado el 27 de Marzo de 2014, de http://virtual.cocef.org/discos_documentos_consultores/Disco_431/Tesis_Karla_Reyes_2009.pdf
- Sanz, B. (2010). *Cryptosporidium y Toxoplasma. Dos importantes protozoos parásitos transmisibles por los alimentos y el agua*. Recuperado el 31 de Mayo de 2014, de <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1113/1130>
- Sarmiento, J. B., & Román Pereira, V. F. (2011). *Control de la calidad microbiológica del agua y determinación de la prevalencia parasitológica intestinal en los alumnos de la Escuela Fiscal Mixta "Segundo Espinoza Calle" Minas- Baños*. Recuperado el 30 de Mayo de 2014, de <http://dSPACE.ucuenca.edu.ec:8080/bitstream/123456789/2459/1/tq1102.pdf>
- Senra, A. (2008). *La tesis doctoral de medicina*. Madrid: Díaz Santos.
- Solarte, Y., Peña, M., & Madera, C. (2006). Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colombia Médica*, 76-80.
- Soriano, M. J. (2006). *Giardia y giardosis*. Recuperado el 03 de Mayo de 2014, de <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/Giardia.pdf>
- Soulsby, E. (1987). *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. México: Interamericana.
- Tananta, I. V. (2002). *Presencia de enteroparásitos en lechuga (Lactuca sativa) en establecimientos de consumo público de alimentos del distrito de cercado de Lima*. Recuperado el 30 de Mayo de 2014, de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3121/1/tananta_vi.pdf
- Thompson, A. (Octubre de 2008). *Giardiasis: Conceptos modernos sobre su control y tratamiento*. Recuperado el 24 de Febrero de 2014, de http://www.nestlenutrition-institute.org/intl/es/resources/library/Free/anales/a66_1/Documents/04%20Giardiasis%20Conceptos%20modernos%20sobre%20su%20control%20y%20tratamiento.pdf



- Vargas, K. (17 de Junio de 2013). *Giardia lamblia*. Recuperado el 17 de Marzo de 2014, de
file:///C:/Documents%20and%20Settings/usuario/Escritorio/TRABAJOS%20P
ARA%20TESIS/Giardia%20lamblia%20%20Clasificaci%C3%B3n%20taxon%C3%B3mica.htm
- Velasco, C. A. (2013). *Cryptosporidium spp.*: ¿usual o emergente? *Revista Gastrohnup*, 59.

ANEXOS

Anexo 1: Datos de trabajo de la tesis

Resultados de los exámenes coproparasitarios en heces de terneros

N° Muestra	Sector	N° arete	Edad Meses	Cryptos-Poridium spp.	Giardia spp.	Observ. * de 0 a 2 meses
1	María Auxiliadora		3	++	++	
2	M. Aux.		2	+	+	*
3	Quimaputo		4	+	++	
4	Quimaputo		4	++	++	
5	Quimaputo		2	+++	-	*
6	Quimaputo		2	+++	+	*
7	Quimaputo		2	+++	-	*
8	Calluco		3	+++	-	
9	Pirapamba		1	+++	++	*
10	Pirapamba		3	+++	++++	
11	Pirapamba		2	+++	+++	*
12	Shuno		1	++	+	*
13	Shuno		1	+++	++	*
14	Shuno		3	+++	+++	
15	Shuno		4	++	++	
16	Shuno		3	++	+	
17	Shuno		2	++	-	*
18	Shuno		2	++	+	*
19	Shuno		2	++	+	*
20	Shuno		2	+	++	*
21	Shuno		2	++	+	*
22	Turupamba		2	+	-	
23	Turupamba		1.5	+	+	
24	Turupamba		3	+	+	
25	Turupamba		3	-	+	
26	M. Aux.		2	++	++	*
27	M. Aux.		3	+	+++	
28	Calluco		3	+	+++	
29	Calluco		3	+++	+++	
30	Calluco		1	+	++	*
31	Calluco		1.5	++	++	*
32	Calluco		2	++	+++	*
33	Pallca		3	++	+++	
34	Pallca		4	-	+	
35	Pallca		4	-	+++	
36	Pallca		4	-	++	

37	Pallca		2	+	++	*
38	Pallca		0.5	-	+	*
39	Shuno		3	-	++	
40	Shuno		2	++	++	*
41	Shuno		4	+++	+	
42	Shuno		3	+++	+	
43	Shuno		2	+	+	*
44	Quimaputo		3	++	+	
45	Quimaputo		1	++	+	*
46	Quimaputo		4	+++	+	
47	Quimaputo		3	+	+	
48	Cachi		2	++	+	*
49	Cachi		2	+	++	*
50	Cachi		3	+	++	
51	Cachi		3	+++	+	
52	Cachi		2	++	++	*
53	San Sebas		2	++	++	*
54	Siguillo		1.5	+	-	*
55	Siguillo		1	+	+	*
56	Siguillo		3	++	++	
57	Siguillo		3	++	+	
58	Siguillo		1.5	++	+	*
59	Siguillo		3	++	+	
60	Carraluco		1.5	+	+	*
61	Carraluco		4	++	++	
62	Carraluco		4	++	-	
63	Siguin		1.5	++	++	*
64	Siguin		1	++	++	*
65	Siguin		2	++	+	*
66	Mamayacu		1.5	++	+	*
67	Mamayacu		3	++	+	
68	Mamayacu		3	++	+	
69	Mamayacu		2	+	+	*
70	Mamayacu		2	+	++	*
71	Mamayacu		4	-	+	
72	Mamayacu		3	+	++	
73	Mamayacu		2	++	+	*
74	Mamayacu		4	++	+	
75	Mamayacu		1	+++	+	*
76	Mamayacu		2	+++	+	*
77	Mamayacu		3	+	+	
78	Mamayacu		1	+	+	*
79	Mamayacu		4	+	-	
80	Mamayacu		4	+	-	
81	Mamayacu		3	+	+	
82	Siguilla		2	+	+	*
83	Siguilla		2	++	-	*

84	Siguilla		2	++	+	*
85	Siguilla		2	-	-	*
86	Siguilla		3	+	-	
87	Siguilla		2	++	+	*
88	Siguilla		2	++	+	*
89	Siguilla		2	++	+	*
90	Siguilla		3	++	-	
91	Siguilla		2	-	-	*
92	Siguilla		4	+	+	
93	Siguilla		4	+	-	
94	Siguilla		3	++	+	
95	Siguilla		3	+	+	
96	Siguilla		3	+	-	
97	Siguilla		2	++	+	*
98	Siguilla		2	++	++	*
99	Siguilla		2	+	-	*
100	Siguilla		4	+	-	
101	Siguilla		2	+	+	*
102	Siguilla		3	+	+	
103	Hato de la Virgen		3	+++	-	
104	H. Virgen		3	++	-	
105	H. Virgen		3	+++	-	
106	H. Virgen		0.5	+	+	*
107	H. Virgen		0.5	+++	-	*
108	H. Virgen		0.5	+	-	*
109	H. Virgen		4	++	-	
110	H. Virgen		2	+++	+	*
111	H. Virgen		2	++	+	*
112	H. Virgen		3	+++	+	
113	H. Virgen		4	++	-	
114	H. Virgen		4	+	+	
115	H. Virgen		4	++	+	
116	H. Virgen		0.5	-	+	*
117	H. Virgen		2	+++	-	*
118	H. Virgen		3	+++	-	
119	H. Virgen		3	+++	-	
120	H. Virgen		0.5	+++	+	*



Anexos 2: Datos del Centro de Salud de San Fernando

Historias Clínicas de los niños que acudieron al Centro de Salud de San Fernando, con problemas gastrointestinales.

FECHA	NÚMERO DE HISTORIA CLÍNICA	CRYPTOSPORIDIUM SPP.	GIARDIA LAMBLIA	OTROS (entoamebas, áscaris, etc.)	SECTOR
04/11/13	5542	-	-	+	Nova
08/01/14		-	+	-	Centro
09/01/14	6013	-	-	-	Centro
16/01/14	6022	-	-	-	Centro
22/01/14	5894	+	-	++	San Carlos
24/01/14	5770	-	-	-	San Carlos
24/01/14	5865	-	-	++	María Auxiliadora
28/01/14	5443	++	-	-	Centro
28/01/14	1897	-	-	-	Nieves
29/01/14	3838	-	-	-	Centro
29/01/14	1346	++	-	-	El Carmen
29/01/14	5390	+	+	-	Centro
29/01/14	5913	-	-	+	San Alfonso
05/02/14		-	-	-	
05/02/14		-	-	+	
06/02/14	3946	-	+	-	Centro
10/02/14	2896	-	++	+	Centro
11/02/14	5436	-	-	-	Pacay
12/02/14	5487	+	-	-	
18/02/14	175	-	-	-	Centro
05/03/14	2008	+	+++	-	San Carlos
08/03/14	5969	-	-	-	Centro
17/03/14	5943	-	-	+	Centro
17/03/14	5862	-	-	+	Quimaputo
18/03/14	5977	-	-	-	San Isidro
20/03/14	6029	-	+	-	San Sebastián
24/03/14	5908	-	-	-	Pacay
24/03/14		-	++	-	
25/03/14		-	+	+	
26/03/14	614	-	+	++	
04/04/14	5542	-	-	-	Nova
04/04/14	1656	-	+	++	Nova
07/04/14		-	-	-	
08/04/14	3945	-	+	-	Centro
11/04/14		-	-	-	
17/04/14	6102	-	+	-	Centro



22/04/14	5536	-	++	+	Centro
28/04/14	6044	-	-	-	Buza
28/04/14	5719	-	-	-	El Cisne
28/04/14	5767	-	-	++	
29/04/14	5750	-	+	++	San Vicente
29/04/14	5624	-	-	-	San Pedro

Anexo 3: Cuadros por edades y resultados de los análisis coprológicos

El trabajo de campo (toma de muestras) se realizó en un total de 120 terneros, 60 de 0 a 2 meses y 60 de 2 meses a 4 meses de edad.

CRYPTOSPORIDIUM SPP.	-	+	++	+++	TOTAL
0 a 2 meses	4	17	27	12	60
2 a 4 meses	6	20	21	13	60
GIARDIA SPP.					
0 a 2 meses	11	32	15	2	60
2 a 4 meses	17	26	10	7	60

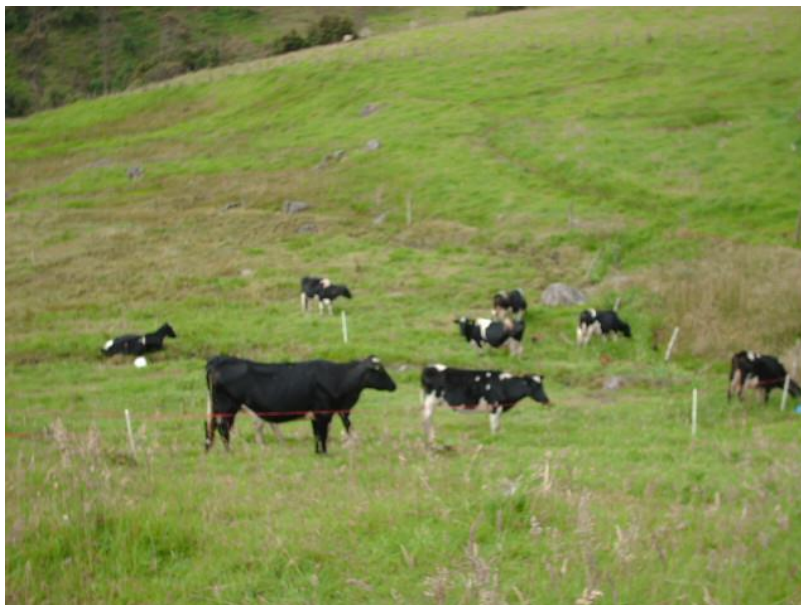
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL AGUA

CRYPTOSPORIDIUM SPP.	5 ooquistes/100 ml de agua
GIARDIA LAMBLIA	10 quistes/100 ml de agua

RESULTADOS DE LAS FICHAS MÉDICAS DE LOS NIÑOS MENORES DE 6 AÑOS

	-	+	++	+++	TOTAL
CRYPTOSPORIDIUM SPP.	36	4	2	0	42
GIARDIA LAMBLIA	28	10	3	1	42

Anexo 4: Fotografías del trabajo de campo y laboratorio



Hato de la Virgen (sector de la toma de muestras)



Sector de Quimaputo



Muestras de heces de terneros en el laboratorio para el estudio de protozoarios



Homogenización y dilución de las muestras de heces



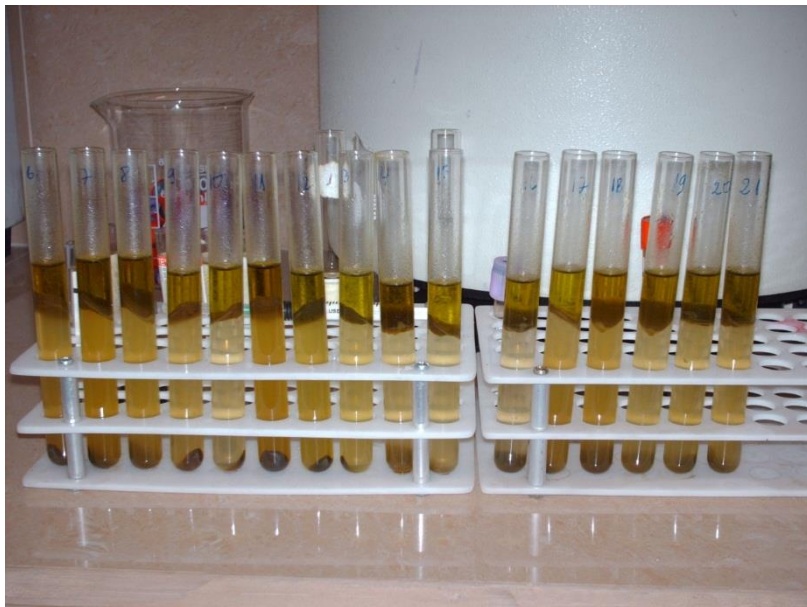
Preparación del frotis para identificar *Cryptosporidium spp.*



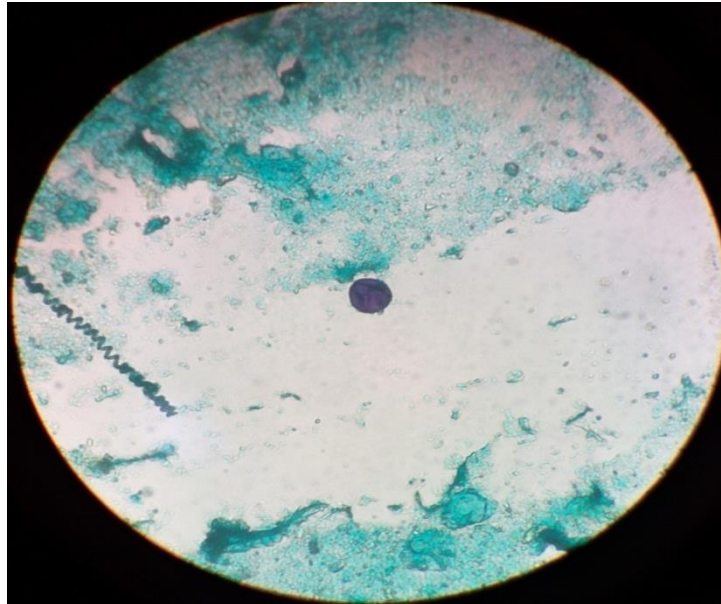
Mezcla de reactivos y centrifugación para la identificación de *Giardia spp.*



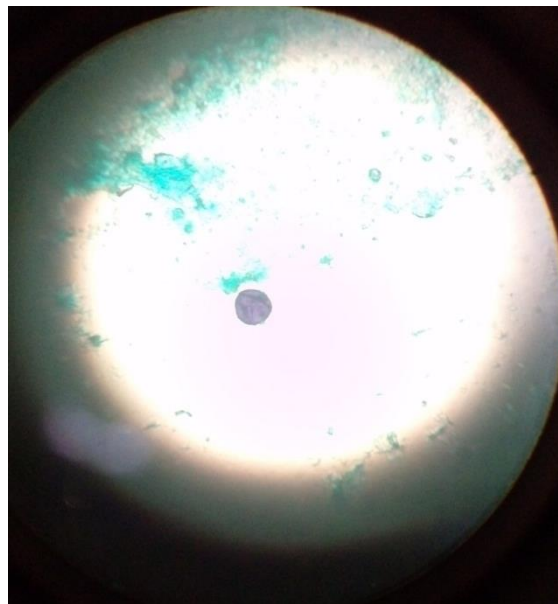
Reactivos y materiales utilizados en el análisis de heces para la identificación de protozoarios



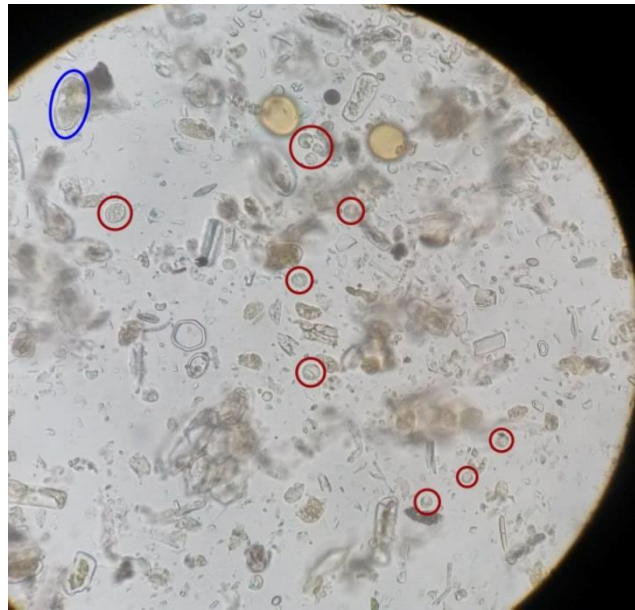
Muestras centrifugadas para identificar *Giardia spp.*, mostrando las 4 capas (un sedimento pequeño que contiene los quistes; una capa de formol; un anillo con restos de materias fecales y el éter en la superficie)



Ooquiste de *Cryptosporidium* lente 40X (autor)



Ooquiste de *Cryptosporidium* lente 40X (autor)



Quiste (rojo), Trofozoíto (azul) Giardia spp. lente 40X (autor)



Quiste (rojo) Giardia spp. lente 40X (autor)

Anexo 5: Resultados de los análisis del agua en EPMAPS-Quito

ISO/IEC
17025

REV 02
PAGINA 1 DE 1
Reg 5.10.1

EMPRESA PUBLICA METROPOLITANA DE AGUA POTABLE Y SANEAMIENTO
LABORATORIO CENTRAL DE CONTROL DE CALIDAD
INFORME DE RESULTADOS

INF. NUMERO: 14 - 0067

CLIENTE:	DR. ESTUARDO PALACIOS
DIRECCION DEL CLIENTE:	DIEGO DE TAPIA Y AVENIDA 12 DE OCTUBRE (ANTIGUO COLEGIO ORIENTALISTA) FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
TIPO DE MUESTRA:	AGUA CRUDA - R3
FECHA MUESTREO:	06/03/2014
FECHA INICIO ANALISIS:	06/03/2014
FECHA TERMINO DE ANALISIS:	21/03/2014 7:02
PLAN DE MUESTREO:	S/N
N° ORDEN DE TRABAJO:	C-00151

1. Resultados:

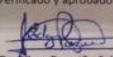
Parámetros	Unidad	CODIGO DE LA MUESTRA	OCEXX-00731
		Nombre del Método/Referencia	CANTON SAN FERNANDO PROVINCIA DEL AZUAY
MICROBIOLOGICOS			
*GIARDIA LAMBLIA	quistes/100 l	9711B SM 21 ED	10
*CRYPTOSPORIDIUM	O-O Quistes/100 l	9711B SM 21 ED	5

2. Responsables:

Muestreo: CC
Análisis: MG

Nota:
El L3C se encuentra acreditado por el OAE bajo la Norma ISO/IEC 17025, OAE LE C 08-010
El L3C garantiza los resultados obtenidos de las muestras que han sido ensayadas
Los ensayos marcados (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE
(---) No se solicitó análisis en este punto
Incertidumbres: As(U) 18%; Fe(U) 18%; Mn(U) 23%; Co(U) 12%; Cu(U) 6%; Li(U) 6%; Ag(U) 8%; Zn(U) 6%
Benzo(a) pireno(U) <30%; Benzo(k) fluoranteno(U) <30%; Benzo(b) fluoranteno(U) <30%; indeno(1,2,3-cd) pireno(U) <30%

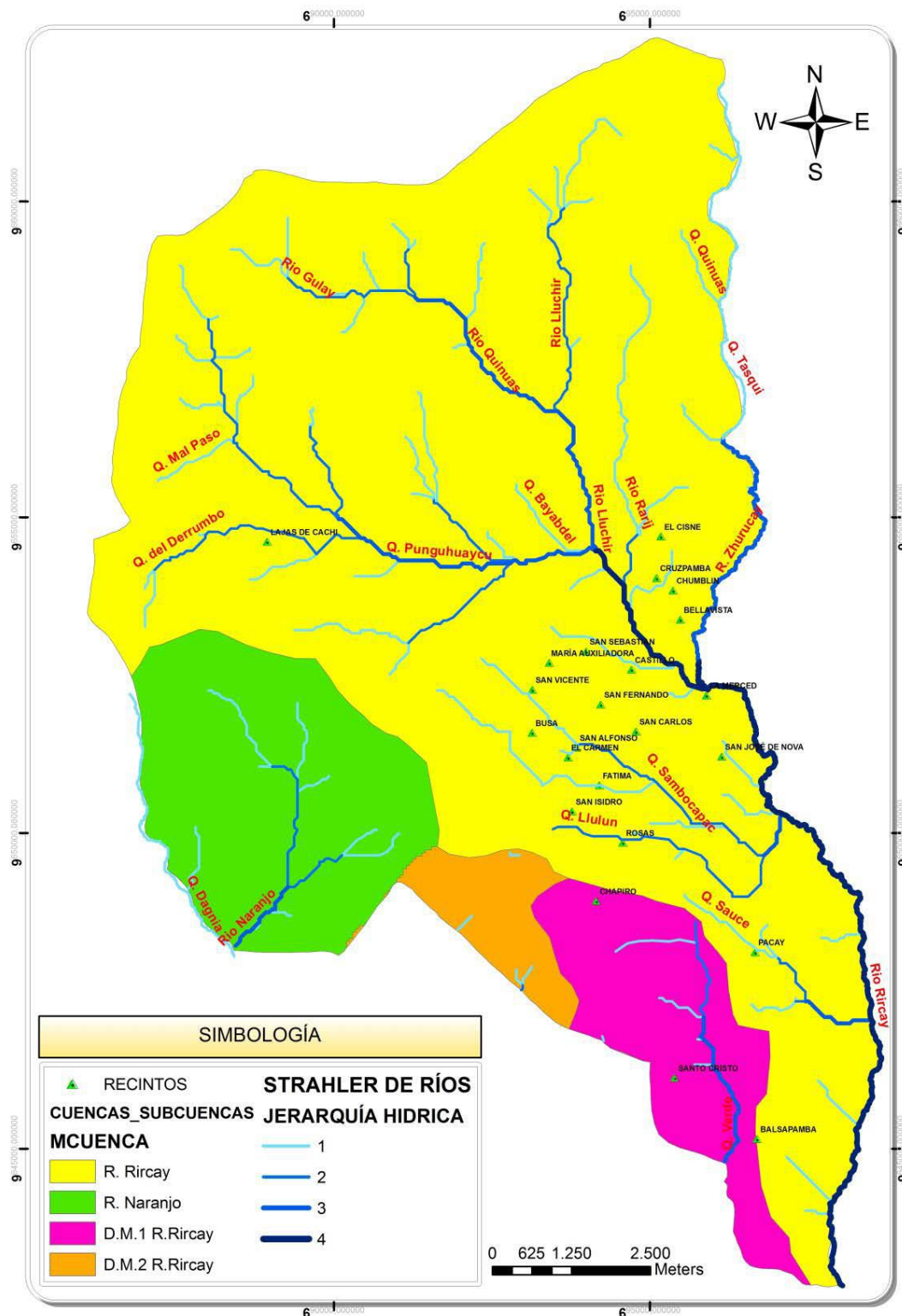
Verificado y aprobado por:


Dr. Edgar Pazmiño Salazar
JEFE CONTROL DE LA CALIDAD DEL AGUA (E)
Dirección L3C: Sector El Batán, Parque Metropolitano Planta de Tratamiento Bellavista
Telefax: (593) 02 2247997

Av. Mariana de Jesús entre Italia y Alemania | 2994 400 / 2994 500 / 2998 500 / 3954 700 / 3954 800 | www.aguaquito.gob.ec

Quito
DISTRITO METROPOLITANO

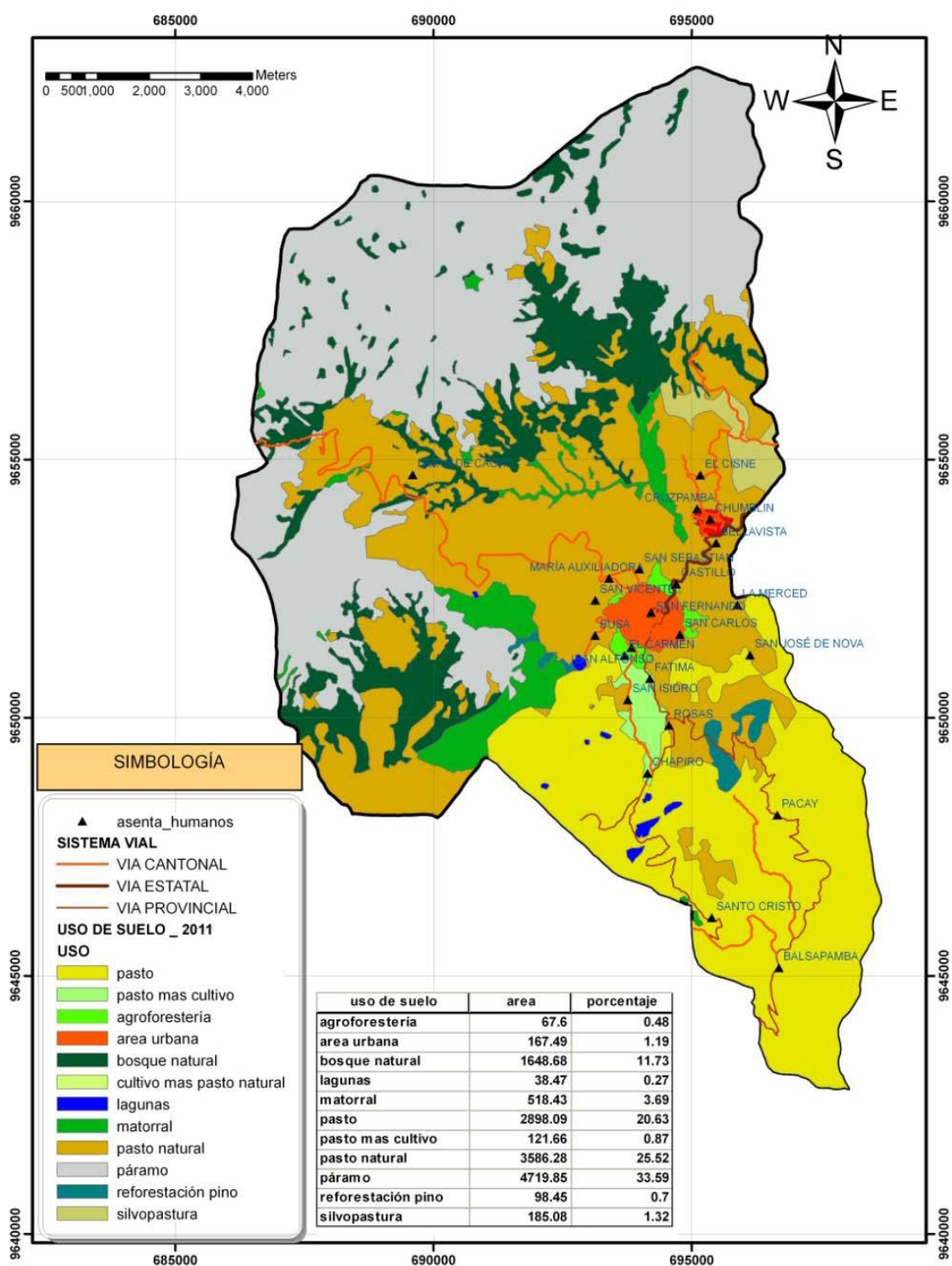
Anexo 6: Microcuencas hidrográficas en el Cantón San Fernando



Fuente: Consultoría-PDOT. **Elaboración:** Consultoría-PDOT

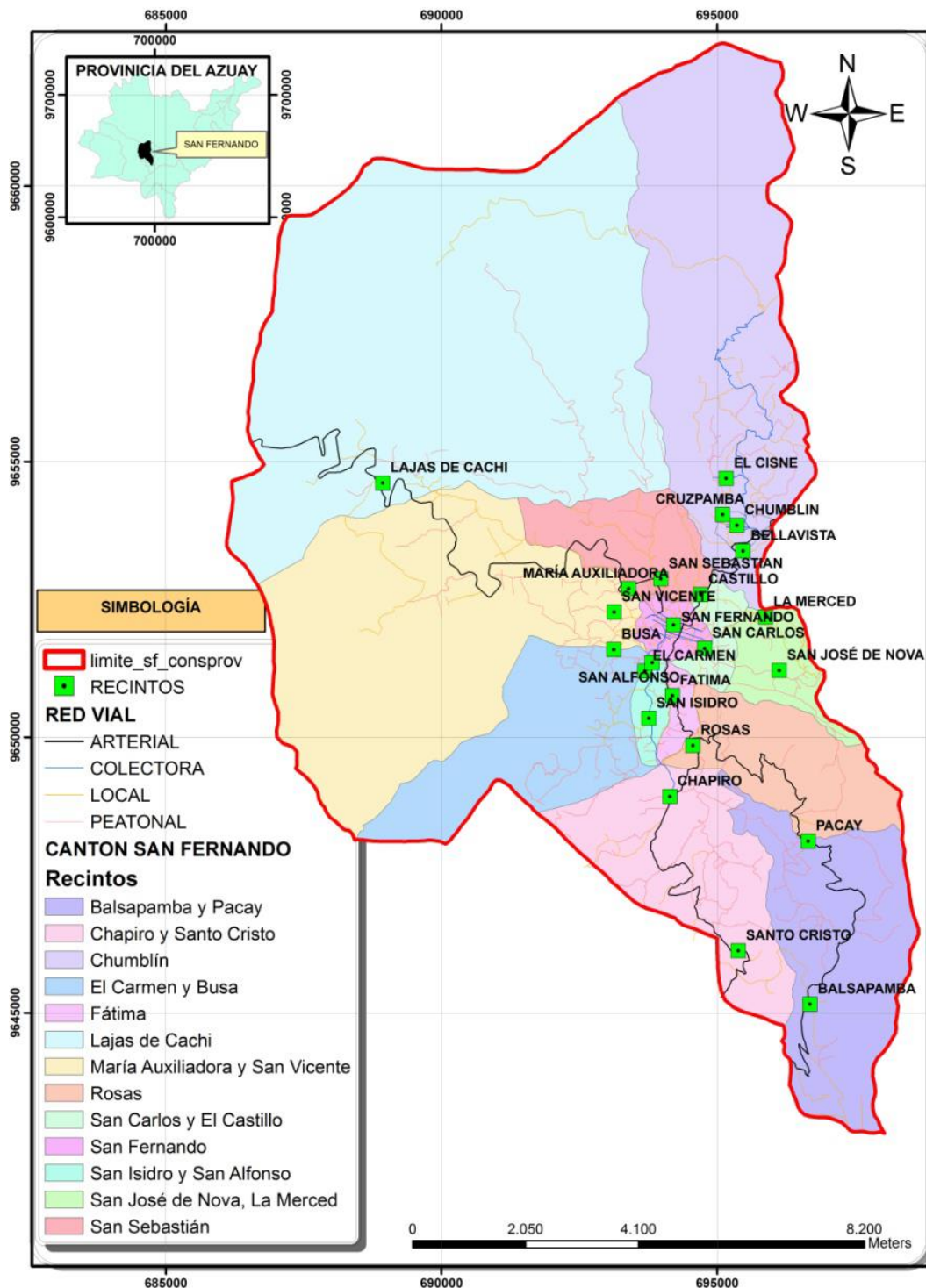
Consultora: Arq. Elisabeth Domínguez B.

Anexo 7: Usos de suelo en el Cantón San Fernando en el año 2011



Fuente: Consultoría-PDOT/2012. **Elaborado:** Consultoría-PDOT
 Consultora: Arq. Elisabeth Domínguez B.

Anexo 8: Delimitación Parroquial y recintos existentes en el Cantón San Fernando



Fuente: Información de la SENPLADES **Elaboración:** Consultoría- PDOT San Fernando
Consultora: Arq. Elisabeth Domínguez B.