

Investigación de *Blastocystis* spp, *Giardia* spp y *Cryptosporidium* spp en aguas de consumo en una comunidad de Caracas- Venezuela.

Reporte preliminar

Surveillance of Blastocystis spp, Giardia spp and Cryptosporidium spp in human consumption water in a community of Caracas-Venezuela

CARMEN T GUZMÁN DE R¹, ANABEL BANDES², JOHNNY URBINA¹, JESSICA CRUZ¹, ANAIBETH J NESSI P¹, MÓNICA V GALINDO P¹, CAROLINA M WAGNER A¹, MARÍA A VETHENCOURT Y¹, ANGELYSEB DORTA P¹, MARÍA V PÉREZ DE G¹

RESUMEN

Uno de los mecanismos de transmisión de protozoarios intestinales, es el consumo de agua contaminada con quistes y oocistos, cuya eliminación por cloración o filtración no resulta eficaz. En una comunidad de Caracas, se evaluó la posible contaminación del agua de consumo, con *Blastocystis* spp, *Giardia* spp y *Cryptosporidium* spp. El sedimento obtenido mediante filtración y separación inmunomagnética de 15 muestras de agua, se examinó microscópicamente al fresco, con coloraciones, inmunofluorescencia y cultivo en medio de Boeck-Drbohlav modificado (BDM). Se recopiló información sobre las condiciones de suministro, almacenamiento y consumo del agua, además del procedimiento utilizado para el lavado de frutas y vegetales. El único parásito observado fue *Blastocystis* spp (60%), mediante examen directo/cultivo (33%). Se observó un mayor consumo de agua filtrada que hervida ($p = 0,001$). Predominó el uso del agua de chorro para el lavado de vegetales y frutas, más que con agua y vinagre ($p = 0,011$). Se observó una mayor proporción de averías en los sistemas de recolección de aguas servidas (78,6%), más que en los sistemas de aguas blancas (28,6%, $p = 0,011$). El hallazgo de *Blastocystis* spp en el agua, se correlaciona con la prevalencia del parásito en habitantes de este sector. Destaca el papel del agua en la transmisión de *Blastocystis* spp, por lo cual se recomienda filtrarla y hervirla para prevenir la infección con este parásito.

Palabras clave: *Blastocystis*, *Giardia*, *Cryptosporidium*, contaminación del agua, transmisión de protozoarios.

ABSTRACT

Many intestinal protozoa are transmitted by contaminated water with cysts and oocysts and methods for their elimination as filtration or chlorination are not completely effective. We evaluated a possible consumption water contamination with *Blastocystis* spp, *Giardia* spp and *Cryptosporidium* spp in a community located in Caracas, Venezuela. The pellet obtained by immunomagnetic separation filtration of 15 water samples were examined by microscopic observation (direct examination), stain techniques, immunofluorescence and culture in Drbohlav Boeck-modified medium (BDM). We also collected information about consuming habits, water supply, storage and washing procedures of vegetables and fruits at assessed homes. The only parasite detected was *Blastocystis* spp (60%), by direct examination/culture (33%). A higher consumption of boiled filtered water ($p = 0.001$) was observed. The use of tub water for washing vegetables and fruits was predominant, instead of using water and vinegar ($p = 0.011$). We observed a higher proportion of nonfunctioning sewage collection (78,6%), rather than white water systems (28,6%, $p = 0.011$). Finding *Blastocystis* spp in water samples correlates with prevalence of this parasite in residents of this sector. The role of water in *Blastocystis* spp transmission is significant, so we recommend filtering and boiling it to prevent infection with this parasite.

Key words: *Blastocystis*, *Giardia*, *Cryptosporidium*, water contamination, protozoan transmission.

¹ Laboratorio de Amibiasis, Cátedra de Parasitología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

² Departamento de Microbiología de Alimentos, Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel".

Autor responsable de correspondencia: Carmen T. Guzmán de R. Teléfonos: 0212-6053312, 04241715404, correo electrónico: guzman.carmen@gmail.com. Los Chaguaramos. Ciudad Universitaria de Caracas. Av. Carlos Raúl Villanueva. Zona Este. Laboratorio de Amibiasis, Escuela de Bioanálisis.

INTRODUCCIÓN

El agua vehiculiza diferentes agentes nocivos para la salud, como agentes químicos y biológicos, entre estos últimos, virus, bacterias y parásitos pueden producir enfermedades entéricas^(1,2). Se ha reportado a escala mundial, que los brotes de diarrea de origen hídrico, son ocasionados principalmente por parásitos y virus, ya que el tratamiento de potabilización del agua y los criterios de calidad establecidos, han sido dirigidos a evitar principalmente las enfermedades bacterianas⁽³⁻⁵⁾. Estos agentes pueden afectar personas de cualquier edad, no obstante, los niños menores de 5 años, especialmente los menores de un año son los más afectados⁽¹⁾. Los viajeros a países en desarrollo, a menudo presentan diarrea asociada al consumo de agua contaminada, lo cual causa morbilidad importante^(1,6).

La principal fuente de contaminación del agua es la materia fecal de humanos o animales, lo cual le confiere características antroponóticas a las infecciones producidas por protozoarios y en algunos casos zooantroponóticas, es el caso de *Giardia* spp, *Cryptosporidium* spp y probablemente *Blastocystis* spp⁽⁷⁾. La transmisión oral, mediante la ingestión de agua y alimentos contaminados con formas infectantes de protozoarios y helmintos, como quistes, ooquistes, huevos y larvas, es una de las fuentes de infección más importante para estos organismos^(4,8,9). En la literatura están bien documentados brotes hídricos de giardiasis, criptosporidiosis y blastocystosis por la contaminación de las aguas^(3,5,6,10-14). En Venezuela existen reportes sobre el hallazgo de protozoarios entéricos en ambientes acuáticos^(6,15,16).

La transmisión de los protozoarios por el agua se ve favorecida por una baja dosis infectante, las pequeñas dimensiones de los quistes u ooquistes, el elevado número de formas infectantes eliminadas por los hospederos y su resistencia al tratamiento de desinfección del agua por filtración, ozonización o cloración^(4,5,8,17).

La infección por *Giardia* spp es cosmopolita, se adquiere mediante el consumo de aguas o alimentos contaminados con quistes y se presenta tanto de forma endémica, afectando fundamentalmente a la población infantil con frecuentes reinfecciones, como de forma epidémica, con brotes en comunidades cerradas. También es frecuente en viajeros que visitan zonas endémicas, encontrándose que un 2 a 3% de todas las diarreas

del viajero son causadas por *Giardia* spp. Los quistes de *Giardia* spp. son altamente infectantes, siendo suficiente 10 quistes viables para iniciar una infección^(8,11,18).

Cryptosporidium spp. infecta una amplia variedad de especies de animales domésticos y salvajes entre los cuales se pueden mencionar: gatos, perros, pavos, cerdos, terneros, corderos, cabras, conejos, monos, ratas, ratones, hámster, serpientes, conociéndose actualmente más de 20 especies del parásito. Se considera que *C. parvum* y *C. hominis* son las especies que infectan al humano con mayor frecuencia, produciendo diarrea acuosa, lo cual constituye un importante problema de salud pública^(15,19-21). En Venezuela se ha reportado *C. hominis* y *C. canis* en pacientes infectados con HIV⁽²²⁾. La transmisión ocurre por vía fecal-oral directa, de manera indirecta, mediante el consumo de aguas y alimentos contaminados y a través de aerosoles, reportándose que un solo ooquiste es suficiente para iniciar la infección en hospederos susceptibles^(11,13). Los factores que predisponen a la criptosporidiosis sintomática se encuentran relacionados con situaciones inmunosupresoras, por ejemplo en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA)^(20,21). La excreción de los ooquistes se prolonga durante dos semanas después de la desaparición de los síntomas, lo cual tiene relevancia epidemiológica, ya que el individuo se convierte en una fuente de infección para otros individuos susceptibles⁽²¹⁾.

Blastocystis spp. es un parásito intestinal de humanos y diversos animales, que exhibe una amplia variedad genética, habiéndose descrito diez genotipos diferentes. *Blastocystis hominis* es la especie clásicamente descrita para el humano. No obstante, se ha demostrado que el hombre puede ser infectado también por genotipos de origen zoonótico, por lo cual se ha llegado al consenso de reportar los hallazgos en el humano como *Blastocystis* sp^(23,24). Este parásito tiene una amplia distribución mundial y es el más frecuentemente encontrado en los estudios parasitológicos en poblaciones. La prevalencia varía entre 3 y 16% en los países desarrollados y hasta 50% en países en vías de desarrollo^(7,24-26). Pocos estudios reportan prevalencias bajas como en Japón (0,5%)⁽²⁷⁾. En Venezuela se han reportado prevalencias entre 23,5% a 51,6%⁽²⁸⁻³²⁾. Su transmisión, al igual que para otras parasitosis intestinales, está relacionada con condiciones higiénicas deficientes, condiciones de vida precarias, inadecuado saneamiento ambien-

tal y factores climatológicos^(8,9,24,33). El género *Blastocystis* tiene una acentuada diversidad morfológica, describiéndose cuatro variantes morfológicas del estado vegetativo y una forma de resistencia o quiste, responsable de la transmisión^(25,28,34).

La detección de protozoarios en el agua requiere la concentración de grandes volúmenes de agua por filtración o centrifugación. Para caracterizar la prevalencia de estos patógenos, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos desarrolló el Método EPA 1623 (US-EPA, Método1623)⁽³⁵⁾, y lo utiliza para controlar los niveles de estos organismos en el suministro de agua potable. En el método se recomienda la filtración de 10 litros de agua a través de una cápsula de muestreo, el aislamiento y concentración de los quistes de *Giardia* spp. y ooquistes de *Cryptosporidium* spp. por separación inmunomagnética (IMS) y la detección por inmunofluorescencia directa. Este método de filtración atrapa partículas mayores a una micra de diámetro, por lo que ha sido utilizado por varios autores para la concentración de protozoarios en el agua^(17,36,37).

En el marco del proyecto de Servicio Comunitario realizado por los estudiantes de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, intitulado: "Perfil de salud en sectores de la parroquia San Juan, Municipio Libertador", en 480 personas que habitan en esa comunidad, se ha detectado infecciones por protozoarios intestinales encontrando *Blastocystis* spp. (45,6%), *Giardia duodenalis* (4,0%), *Entamoeba coli* (3,6%) sin hallazgos de otros protozoarios ni helmintos intestinales (datos no publicados), lo cual junto a la observación de inadecuadas condiciones generales de saneamiento ambiental y de canalización de las aguas servidas en la comunidad, estimularon la investigación sobre la presencia de *Blastocystis* spp. y otros protozoarios como *Giardia* spp y *Cryptosporidium* spp. en el agua de consumo para determinar si ésta constituía una fuente importante de infección de estos parásitos intestinales, así como la correlación con los hábitos higiénicos relacionados con el consumo de agua y alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población

El estudio de las aguas fue realizado en las viviendas del Sector los "Eucaliptos", parroquia San Juan, Municipio

Libertador, Caracas. Para examinar las aguas se seleccionó un total de 14 viviendas, en las cuales por lo menos un habitante presentaba infección con *Blastocystis* spp. Este estudio fue realizado de enero a julio de 2008.

Aspectos bioéticos y sensibilización de la comunidad:

Este trabajo fue realizado cumpliendo con los procedimientos bioéticos de rigor, contemplados en las normativas y legislación nacional e internacional que rigen la materia. En cada una de las viviendas seleccionadas se conversó con el jefe de la familia y se le entregó por escrito, la información relacionada con el objetivo del estudio y los riesgos-beneficios individuales y para la comunidad. Para la toma de la muestra, se recogió su aceptación por escrito mediante el consentimiento informado. Se recopiló la información relacionada con datos socioeconómicos, condiciones de las tuberías que surten el agua potable a las viviendas, condiciones de los sistemas de canalización de aguas servidas en las zonas aledañas a las viviendas, los procedimientos de tratamiento del agua previo al consumo y los aspectos relacionados con el lavado de frutas y vegetales.

Muestras. Recolección y traslado

Se analizaron 15 muestras de agua de 10 litros cada una, provenientes de 14 viviendas. De éstas, 14 fueron recolectadas directamente del chorro del fregadero o del lavaplatos y una muestra fue tomada directamente del tanque en una de las viviendas, no siendo posible recolectar muestras de los tanques de las otras viviendas, por la dificultad en el acceso a ellos. Para la recolección y traslado de las muestras de agua se utilizaron envases plásticos con tapa de rosca de 5 litros de capacidad, previamente esterilizados. Antes de recolectar la muestra en cada vivienda seleccionada, el envase fue "curado" con el agua de chorro a procesar, se cerró bien la tapa para evitar la contaminación con el ambiente y prevenir un posible derrame.

Las muestras fueron trasladadas al Departamento de Microbiología de Alimentos del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INH"RR") y al Laboratorio de Amibiasis de la Cátedra de Parasitología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, UCV, para la investigación parasitológica de *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. y *Blastocystis* spp.

Análisis de las aguas

La evaluación de las muestras de agua fue realizada de acuerdo al método 1623 de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA, método 16239)⁽³⁵⁾, el cual se ejecuta en los siguientes pasos:

Filtración: Se hizo pasar 10 litros de agua a través de una cápsula de muestreo (filtro Envirocheck™) con la ayuda de una bomba de vacío, cuya membrana filtrante atrapa las partículas con un diámetro mayor de 1µm. Las partículas atrapadas en la membrana fueron despegadas mecánicamente agregando un buffer de elusión (Laureth-12-PPG; Tris HCl 1 M, pH 7.4; EDTA 0,5 M pH 8; Tritón X100) y agitación. Posteriormente se extrajo el líquido de la cápsula y se concentró el líquido de elusión por centrifugación seriada a 1.500 g por 15 minutos. Se descartó el sobrenadante hasta obtener 15 ml de sedimento, se utilizaron 10 ml para la concentración de los quistes de *Giardia* spp. y ooquistes *Cryptosporidium* spp., y el resto se utilizó para la investigación de *Blastocystis* spp.

Separación Inmunomagnética (IFD): El sedimento fue incubado con perlas inmunomagnéticas microscópicas que tienen adheridas en su superficie anticuerpos monoclonales específicos para quistes de *Giardia* spp. y ooquistes de *Cryptosporidium* spp. (Kit Dynabeads GC combo, Invitrogen), se formó el complejo "perla inmunomagnética-parásito", el cual fue separado utilizando dos concentradores de partículas (MPC-1 y MPC-S, Dynal), que permitieron disociar los quistes y ooquistes que estuvieran adheridos a las perlas.

Inmunofluorescencia directa: Para la detección de la presencia de quistes y ooquistes se usó una mezcla de anticuerpos monoclonales marcados con Isotiocianato de Fluoresceína, dirigidos contra antígenos de la pared quística de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. (Kit MeriFluor *Cryptosporidium* and *Giardia*, Meridian Bioscience).

Examen directo, coloraciones y micrometría: Estos métodos fueron realizados según el Protocolo de Investigación de Parasitosis Intestinales del Laboratorio de Amibiasis de la Cátedra de Parasitología de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina de la UCV⁽³⁸⁾. El

sedimento post-filtración fue examinado microscópicamente entre lámina y laminilla, al fresco y con lugol. Para las coloraciones se realizaron frotis del sedimento en láminas portaobjeto. Una vez secos y fijados con metanol, se colorearon con Kinyoun. Para la observación microscópica fue utilizado un microscopio binocular calibrado, marca Olympus (modelo CRX) realizándose micrometría a las formas de resistencia observadas.

Coloración de Hematoxilina Férrica (HF): Se mezcló una gota del sedimento post-filtración y una de fijador de Schaudin en una lámina portaobjeto y se dejó secar. Se colocó en jarras de koplín con líquido de Schaudin y después de 12 horas se procedió a realizar la coloración de hematoxilina férrica, de acuerdo al protocolo descrito⁽³⁸⁾. Se observó al microscopio con objetivo de inmersión.

Cultivo en medio de Boeck-Drbohlav (modificado): El sedimento fue sembrado en este medio de cultivo, el cual es bifásico, constituido por una fase sólida de huevo y sangre humana desfibrinada, que se esteriliza mediante tinalización y una fase líquida constituida por un ringer⁽³⁸⁾. Al momento de la siembra se adicionó 0,5 mL de suspensión de *Escherichia coli*, ajustada a la densidad óptica de un patrón de McFarland (Sulfato de Bario al 0,5%), que equivale aproximadamente a 10⁸ células/ml. Se sembró 1 ml del sedimento del agua y se incubó a 37 °C. La observación se realizó a las 24 horas y diariamente hasta 5 días. La verificación del crecimiento de *Blastocystis* spp., se realizó mediante observación microscópica del sedimento del cultivo entre lámina y laminilla, al fresco y con lugol, con objetivo de 40X.

Controles positivos: Para la obtención de quistes de *Blastocystis* spp., *Giardia* spp., y ooquistes de *Cryptosporidium* spp., se utilizaron muestras de heces de pacientes infectados con estos parásitos. Los quistes y ooquistes se concentraron a partir de las heces utilizando el método de Faust de alta densidad. Se realizó el recuento en cámara de Neubauer y se determinó su concentración por mililitro. El recuento permitió adicionar una cantidad conocida de los quistes y ooquistes en 10 litros de agua destilada estéril, y posteriormente corroborar su recuperación post-filtración, mediante la realización de las técnicas descritas en esta investigación.

Análisis estadístico

En este estudio descriptivo, los datos fueron expresados en porcentaje. Se analizaron estadísticamente con la Prueba exacta de Fisher, considerando como estadísticamente significativo, todo valor de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

El estudio microscópico de los sedimentos post-filtración de las muestras de agua, demostró solamente *Blastocystis* spp. en 60% (9/15). Hubo una coincidencia entre el examen directo y cultivo del 33% (3/9) y la identificación solo por cultivo en 66,6% (6/9).

En el examen microscópico directo de los sedimentos post-filtración, se evidenciaron estructuras redondeadas u ovals, refringentes, verdosas, con pared quística, con medidas entre 4 a 5 μm de diámetro (Fig.1A), compatibles con "quistes desnudos" de *Blastocystis* spp. La morfología de estos quistes en el examen directo coincide con los quistes desnudos de *Blastocystis* spp obtenidos a partir de muestras de heces humanas (control positivo) (Fig. 1B).

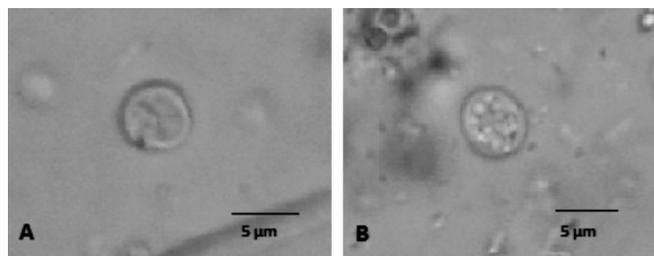


Figura 1. Quistes desnudos de *Blastocystis* spp, examen directo. 100x. A.- provenientes del sedimento post-filtración. B.- Control positivo: obtenidos a partir de heces humanas.

En relación al método de cultivo en el medio de Boeck-Drbohlav (modificado), no se observó el crecimiento de *Blastocystis* spp, ya que no se evidenció ninguna forma vegetativa característica de este parásito, como las formas con cuerpo central, granuloso, globuloso ni ameboides. Los quistes presentes en los sedimentos sembrados, permanecieron sin evolucionar en el medio de cultivo y en el examen microscópico realizado a las 24, 48 y 72 horas se pudo detectar aun la presencia de los mismos.

No se logró identificar ooquistes de *Cryptosporidium* spp. ni quistes de *Giardia* spp. mediante IFD en ninguno de los sedimentos de las aguas analizadas.

En este estudio se encontró que el 71,4% (10/14) de las personas filtraban el agua, lo cual fue significativamente mayor ($p= 0,001$) al 28,6% (4/14) que hervía el agua de consumo (Tabla 1).

Tabla 1

Tratamiento del agua previo al consumo en las 14 viviendas evaluadas en el Sector "Los Eucaliptos", Parroquia San Juan, Caracas. Enero-Julio 2008

Tratamiento del agua de consumo	n	%
Filtrada	10	71,4*
Hervida	4	28,6

* Prueba exacta de Fisher, $p= 0,001$

En relación al lavado de frutas y vegetales la mayoría de las personas (85,7%, 12/14) utilizaban agua de chorro, lo cual fue significativamente mayor ($p= 0,011$) a la proporción de personas (14,3%, 2/14) que los lavaban con agua de chorro y vinagre (Tabla 2).

Tabla 2

Procedimiento utilizado para el lavado de frutas y vegetales en las 14 viviendas evaluadas en el Sector "Los Eucaliptos", Parroquia San Juan, Caracas. Enero-Julio 2008

Procedimiento de lavado de frutas y vegetales	n	%
Lavado con agua de chorro	12	85,7*
Lavado con agua y vinagre	2	14,3

* Prueba exacta de Fisher, $p= 0,011$

En cuanto a las condiciones de los sistemas de distribución de agua potable y de canalización de las aguas servidas en las viviendas evaluadas y sus adyacencias, se encontró que un 78,6% (11/14) de las viviendas tenían cerca averías en los sistemas de canalización de aguas servidas con desagües al aire libre, lo cual fue significativamente mayor ($p= 0,011$) a la proporción de viviendas (28,6%, 4/14) que presentaban averías en el sistema de distribución de agua potable (Tabla 3).

Tabla 3
Condiciones de las tuberías de aguas blancas y aguas servidas en las 14 viviendas evaluadas y sus adyacencias. Sector "Los Eucaliptos", Parroquia San Juan, Caracas. Enero-Julio 2008

Condiciones	n	%
Averías en los sistemas de canalización de aguas servidas adyacentes a las viviendas (a)	11/14	78,6*
Averías en las tuberías de aguas blancas en las viviendas (b)	4/14	28,6
Viviendas con sistema de tuberías en buen estado (c)	10/14	71,4

Prueba exacta de Fisher, a vs b: $p=0,011$

DISCUSIÓN

La detección de quistes de *Blastocystis* spp. en el sedimento post-filtración del agua (60%), se correlaciona con una prevalencia de 46,5% de este parásito en personas de todas las edades en esta comunidad (datos no publicados), por lo cual se podría pensar que el agua sería una fuente de infección importante de este parásito, tal como lo reportan otros autores^(7,10,12,14,39).

En cuanto a la técnica de detección, el hallazgo de los quistes de *Blastocystis* spp. en el sedimento post-filtración, fue posible por la capacidad de concentración del filtro utilizado, ya que éste retuvo las partículas con un diámetro mayor de 1µm, permitiendo la retención de los quistes. En un estudio similar se han utilizado filtros con poros de igual tamaño o más pequeños (0,2 µm) y un mayor volumen de agua (20L), tratando luego los filtros con Tween 80 (0,1%)⁽⁴⁰⁾. En tal estudio, se encontró protozoarios como *Cryptosporidium* spp., *Blastocystis* spp, *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni* y *Giardia duodenalis*, a diferencia de los resultados obtenidos en el presente trabajo, en el cual sólo se encontró *Blastocystis* spp. Esta discrepancia podría deberse a las diferencias en las fuentes de agua ya que probablemente en esa región exista una mayor contaminación de las aguas con materia fecal, a la filtración de una mayor cantidad de agua o por razones técnicas en la investigación, como la utilización de filtros diferentes. Ya se ha realizado una modificación del método 1623 en la cual se ha utilizado otro tipo de filtro, reportándolo como más

eficiente y seguro para la recuperación de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp y quistes de *Giardia* spp⁽⁴¹⁾.

La utilización del medio de cultivo de Boeck Drbohlav (modificado) para la investigación de *Blastocystis* spp. en el sedimento de las aguas, fue posible porque al examinar el cultivo a las 24, 48 y 72 horas, son tres exámenes microscópicos adicionales que aumentan la probabilidad del hallazgo del parásito. Sin embargo, hay que destacar que no hubo crecimiento de *Blastocystis*, ya que los quistes no evolucionaron a formas vegetativas (forma con cuerpo central, forma granulosa, forma globulosa, forma ameboide) que son las que tienen la capacidad de reproducirse^(26,34,42), contrario a lo que ocurre en el cultivo de las muestras de heces, donde se aumenta la sensibilidad del diagnóstico, por la reproducción del parásito lo cual favorece el hallazgo^(26,28,34,42,43).

El resultado negativo en la investigación de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en este estudio, hace pensar que por lo menos en esta comunidad, el agua no es la principal fuente de infección para estos protozoarios, lo cual es congruente con los reportes a escala mundial^(8,11,17). Llama la atención además, que en este estudio no se detectó ningún otro parásito intestinal como ha sido reportado en otras investigaciones^(15,16,40).

En relación al lavado de frutas y vegetales la diferencia significativa encontrada entre el uso de agua de chorro solamente frente al uso de agua y vinagre, debería ser evaluado posteriormente, para conocer su relevancia en la transmisión de las parasitosis intestinales.

Aunque el agua de consumo es tratada por cloración antes de la distribución a las comunidades y gran parte de la población filtra el agua antes de su consumo, se ha demostrado que estos métodos no son los más adecuados para la eliminación de las formas parasitarias, especialmente se ha demostrado que los métodos comunes para el tratamiento del agua no son eficaces para la eliminación de *Blastocystis* spp, especialmente la forma quística⁽¹⁰⁾. La mayoría de esta población no hierve el agua, lo cual coincide con lo expresado por algunos autores en que éste es un factor de riesgo para la transmisión de *Blastocystis* spp^(10,42,44,45).

Se encontró que un 78,6% de las casas de donde se obtuvo las muestras de agua para el estudio, tenían cerca sistemas de canalización de aguas servidas con averías y desagües cuyo contenido era vertido al aire

libre, por lo cual se podría inferir el alto riesgo de contaminación del ambiente con los quistes provenientes de éstas, los cuales se podrían dispersar fácilmente por corrientes de aire, y ser adquiridos por inhalación, como está descrito para *Cryptosporidium* spp^(11,13,21). Otra posibilidad es la contaminación del agua potable con las aguas servidas por contaminación cruzada, ya que se encontró que un 28,6% de las casas presentaban averías en el sistema de aguas blancas. Esto podría conducir a una contaminación del agua de consumo con heces humanas, favoreciendo así la infección con *Blastocystis* spp y otros agentes contaminantes. En otros estudios se ha demostrado que la infección es más frecuente en individuos con viviendas insalubres, sin servicios básicos y de comunidades sin saneamiento ambiental básico⁽⁴⁶⁾.

La comprobación de la presencia de quistes de *Blastocystis* spp en el agua de esta comunidad, el consumo de agua sin hervir y su uso sin tratamiento previo para el lavado de los vegetales que se consumen crudos, son factores que explicarían la alta prevalencia de este parásito en los habitantes de esta comunidad, además del hallazgo de sistemas de canalización de aguas servidas que vierten su contenido al aire libre, que contribuye a la dispersión de las formas infectantes de los parásitos intestinales al ambiente y generan un potencial riesgo de transmisión a través de las vías respiratorias.

Se demostró la importancia del agua como vehículo de transmisión para *Blastocystis* spp, por lo cual se recomienda filtrarla, pero fundamentalmente, hervir el agua antes del consumo para la prevención de ésta y cualquier otra parasitosis intestinal y con base en estos hallazgos y los reportes existentes a escala mundial, sería conveniente recomendar que se investigue la contaminación del agua por *Blastocystis* spp, como parte de las evaluaciones de calidad del agua.

Estudios como éstos permiten evaluar las condiciones sanitarias de las comunidades y diseñar conjuntamente con sus miembros organizados, campañas de educación que permitan concientizar a la comunidad sobre el tratamiento que requiere el agua para ser apta para su consumo sin riesgo de transmitir enfermedades.

AGRADECIMIENTOS

A las personas de la comunidad de "Los Eucaliptus", Parroquia San Juan, Caracas, que contribuyeron con la

realización del proyecto de investigación dando su consentimiento para el análisis del agua y facilitaron el acceso a sus viviendas para la toma de las muestras.

Este Trabajo fue financiado con ingresos propios del Laboratorio de Amibiasis de la Cátedra de Parasitología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, UCV y gracias al Servicio de Análisis Especiales, del Departamento de Microbiología de Alimentos, Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Carvajal A, Oletta L JF. Noticias epidemiológicas N° 37. 4 de abril de 2012. Agentes bacterianos asociados al agua de consumo humano. Disponible en: www.rscmv.org.ve. Consultado el 12 de diciembre de 2012.
- (2) Poma HR, Gutiérrez Cacciabue D, Garcé B, Gonzo EE, Rajal VB. Towards a rational strategy for monitoring of microbiological quality of ambient waters. *Sci Total Environ* 2012; 433:98-109.
- (3) Kramer MH, Herwaldt BL, Craun GF, Calderon RL, Juranek DD. Surveillance for waterborne-disease outbreaks-United States, 1993-1994. *MMWR CDC Surveill Summ* 1996; 45:1-33.
- (4) Leclerc H, Schwartzbrod L, Dei-Cas E. Microbial agents associated with waterborne diseases. *Crit Rev Microbiol* 2002; 28:371-409.
- (5) Tunkay S, Delibas S, Inceboz T, Over L, Oral AM, Akisu C, Aksoy U. An outbreak of gastroenteritis associated with intestinal parasites. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2008; 32:249-52.
- (6) Betancourt W, Querales L. Parásitos protozoarios entéricos en ambientes acuáticos: métodos de concentración y detección. *Interciencia* 2008; 33:418-423.
- (7) Thompson RC, Smith A. Zoonotic enteric protozoa. *Vet Parasitol* 2011; 182:70-8.
- (8) Lynch V. Parasite transmission. *JAMA* 1972; 222:1309-1310.
- (9) Rey, L. Parasitología. Parásitos o doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. 2 ed. Guanabara Koogan; 1991. p. 57-8.
- (10) Leelayoova S, Rangsin R, Taamasri P, Naaglor T, Thathaisong U, Mungthin M. Evidence of waterborne transmission of *Blastocystis hominis*. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 70:658-62.
- (11) Brandonisio O. Waterborne transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Parassitologia* 2006; 48:91-4.
- (12) Leelayoova S, Siripattanapipong S, Thathaisong U, Naaglor T, Taamasri P, Piyaraj P, Mungthin M. Drinking water: a possible source of *Blastocystis* spp. subtype 1 infection

- in schoolchildren of a rural community in central Thailand. Am J Trop Med Hyg 2008; 79:401-6.
- (13) Smith S, Elliot AJ, Mallaghan C, Modha D, Hippisley-Cox J, Large S, Regan M, Smith GE. Value of syndromic surveillance in monitoring a focal waterborne outbreak due to an unusual *Cryptosporidium* genotype in Northamptonshire, United Kingdom, June - July 2008. Euro Surveill 2010; 15:19643.
- (14) Lee LI, Chye TT, Karmacharya BM, Govind SK. *Blastocystis* sp.: waterborne zoonotic organism, a possibility? Parasit Vectors 2012; 5:130-35.
- (15) Arcay L, Bruzual E. *Cryptosporidium* en ríos de Venezuela: encuesta epidemiológica de una población humana y fauna en convivencia. Parasitol día 1993; 17:11-18.
- (16) Mora L, Martínez I, Figuera L, Segura M, Del Valle G. Protozoans in superficial waters and faecal samples of individuals of rural populations of the Montes municipality, Sucre state, Venezuela. Invest Clin 2010; 51:457-66.
- (17) Feng Y, Zhao X, Chen J, Jin W, Zhou X, Li N, Wang L, Xiao L. Occurrence, source, and human infection potential of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in source and tap water in Shanghai, China. Appl Environ Microbiol 2011; 77:3609-16.
- (18) Yakoob J, Abbas Z, Beg MA, Naz S, Khan R, Islam M, Jafri W. Prevalences of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* infection in adults presenting with chronic diarrhoea. Ann Trop Med Parasitol 2010; 104:505-10.
- (19) Current, W. Cryptosporidiosis. JAMA 1985; 187:1334-38.
- (20) Freitas A, Colmenares D, Pérez M, García M, Díaz de S O. Infección por *Cryptosporidium* sp y otros parásitos intestinales en manipuladores de alimentos del estado Zulia, Venezuela. Invest Clin 2009; 50:13-21.
- (21) Dillingham RA, Lima AA, Guerrant RL. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. Microbes Infect 2002; 4:1059-66.
- (22) Certad G, Arenas-Pinto A, Pocaterra L, Ferrara G, Castro J, Bello A, Núñez L. Cryptosporidiosis in HIV-infected Venezuelan adults is strongly associated with acute and chronic diarrhea. Am J Trop Med Hyg 2005; 73:54-7.
- (23) Stensvold R, Suresh K, Tan K, Thompson A, Traub R, Viscogliosi E, Yoshikawa H, Clark G. Terminology for *Blastocystis* subtypes-a consensus. Trends Parasitol 2007; 23:93-6.
- (24) Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 2008; 21:639-65.
- (25) Boreham R, Benson S, Stenzel D, Boreham P. *Blastocystis hominis* infection. Lancet 1996; 348: 272-273.
- (26) Guzmán de Rondón C, Vethencourt MA, Galindo M, Chacón N, Wagner C, Nessi A. Comportamiento biológico de *Blastocystis hominis* en pacientes tratados con Secnidazol (Unidazol). RSVM 2008; 28: 66-71.
- (27) Horiki N, Maruyama M, Fujita Y, Yonekura T, Minato S, Kaneda Y. Epidemiologic survey of *Blastocystis hominis* infection in Japan. Am J Trop Med Hyg 1997; 56:370-74.
- (28) Pérez de Suárez E, Guzmán de Rondón C. La morfología del *Blastocystis hominis* en las heces y evaluación de métodos parasitológicos. GEN 1994; 48:226-31.
- (29) Chourio-Lozano G, Díaz I, Casas M, Sánchez M, Torres L, Luna M, Corzo G. Epidemiología y patogenicidad de *Blastocystis hominis*. Kasmera 1999; 27:77-102.
- (30) Devera R, Cermeño J, Blanco Y, Bello C, Guerra X, Sousa M, Maitan E. Prevalencia de blastocistosis y otras parasitosis intestinales en una comunidad rural del estado Anzoátegui, Venezuela. Parasitol Latinoam 2003; 58:95-100.
- (31) Velásquez V, Caldera R, Wong W, Cermeño G, Fuentes M, Blanco Y, Aponte M, Devera R. Blastocystosis: a high prevalence of cases found in patients from Health Center of Soledad, Anzoátegui State, Venezuela. Rev Soc Bras Med Trop 2005; 38:356-7.
- (32) Díaz I, Rivero Z, Bracho A, Castellanos M, Acurero E, Calchi M, Atencio R. Prevalencia de enteroparásitos en niños de la etnia Yukpa de Toromo, estado Zulia, Venezuela. Rev Med Chile 2006; 134: 72-78.
- (33) Chacín Bonilla L. El problema de las parasitosis intestinales en Venezuela. Invest Clin 1990; 31: 1-2.
- (34) Guzmán de Rondón C, Arrechdera H, Pérez de Suárez E. Estudio Ultraestructural de *Blastocystis hominis* en muestras de heces y cultivos. Vitae 2007; 30: 27-30.
- (35) Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by Filtration/IMS/FA December 2005. Disponible en: <http://www.epa.gov>.
- (36) Zarlenga DS, Trout JM. Concentrating, purifying and detecting waterborne parasites. Vet Parasitol 2004; 126:195-217.
- (37) Yang W, Lindquist HD, Cama V, Schaefer FW, Villegas E, Fayer R, Lewis EJ, Feng Y, Xiao L. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in water sample concentrates by real-time PCR. Environ Microbiol. 2009; 75:3477-83.
- (38) Pérez de Suárez E, Guzmán de RC. Protozoarios Intestinales: Agentes de enfermedad en el hombre. Criterios para su diagnóstico. Coedición: Fuvesin/Insalud. 1999; pag: 7-66.
- (39) Basualdo J, Pezzani B, De Luca M, Córdoba A, Apezteguía M. Screening of the municipal water system of La Plata, Argentina, for human intestinal parasites. Int J Hyg Environ Health 2000; 203:177-82.
- (40) Pérez-Cordón G, Rosales M, Valdez R, Vargas-Vásquez F, Córdoba O. Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2008; 25:144.

- (41) Rhodes ER, Villegas LF, Shaw NJ, Miller C, Villegas EN. A modified EPA Method 1623 that uses tangential flow hollow-fiber ultrafiltration and heat dissociation steps to detect waterborne *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. J Vis Exp. 2012; 65:4177.
- (42) Boreham P, Stenzel D. *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology and epizootiology. Adv Parasitol 1993; 32:1-70.
- (43) Zaman V, Khan K. A comparison of direct microscopy with culture for the diagnosis of *Blastocystis hominis*. South Asian J Trop Med Public Health 1994; 25:792-93.
- (44) Zierdt C. *Blastocystis hominis* past and future. Clin Microbiol Rev 1991; 4:61-79.
- (45) Barahona RL, Maguiña VC, Náquira V de C, Terashima I A, Tello R. Blastocystosis humana: estudio prospectivo, sintomatología y factores epidemiológicos asociados. Rev Gastroenterol Perú 2003; 23:29-35.
- (46) Torres P, Miranda JC, Flores L, Riquelme J, Franjola R, Pérez J, Auad S, Hermosilla C, Riquelme S. Blastocistosis y otras infecciones por protozoos intestinales en comunidades humanas ribereñas de la cuenca del Río Valdivia, Chile. Rev Inst Med Trop São Paulo 1992; 34:557-64.