

1994

082321322

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



“DETECCION DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium spp* EN
FUENTES DE ABASTECIMIENTO DE AGUA PARA USO
Y CONSUMO HUMANO EN LA ZONA METROPOLITANA
DE GUADALAJARA, JALISCO”.

TESIS PROFESIONAL
PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
SUSANA CAMELIA ANDRADE SIERRA
GUADALAJARA, JAL. FEBRERO 1994

C. DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS

Director de la Facultad de Ciencias Biológicas
de la Universidad de Guadalajara

P R E S E N T E.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el (la) Pasante ANDRADE SIERRA SUSANA CAMELIA código número 082321322 con el título "DETECCION DE OOCISTES DE Cryptosporidium spp EN FUENTES DE ABASTECIMIENTO DE AGUA DE USO Y CONSUMO HUMANO EN LA ZONA METROPOLITANA DE GUADALAJARA" consideramos que reúne los méritos necesarios para la impresión de la misma y la realización de los exámenes profesionales respectivos.

Comunicamos lo anterior para los fines a que haya lugar.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. a 7 de Diciembre 1993.

~~EL DIRECTOR DE TESIS~~

~~M. en C. EDUARDO VAZQUEZ VALLS.~~

SINODALES

1. BIOL. AGUSTIN CAMACHO RODRIGUEZ

Nombre completo

Camacho
Firma

17/01/99
10/12/93

2. QFB. ADOLFO CARDENAS ORTEGA

Nombre completo

Adolfo Cardenas
Firma

3. QFB. CYNTHIA TEMORES RAMIREZ

Nombre completo

Cynthia Temores
Firma

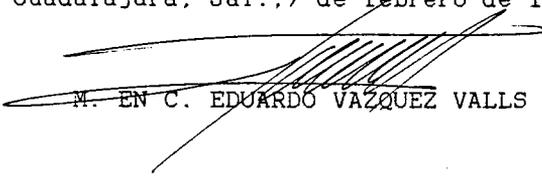
C. DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS
Director de la Facultad de Ciencias Biológicas
de la Universidad de Guadalajara.

P R E S E N T E.

De la manera más atenta me dirijo a usted para informarle que una vez hecho el seguimiento al trabajo de Tesis titulado: " Detección de ooquistes de Cryptosporidium spp en fuentes de abastecimiento de agua de uso y consumo humano en la zona metropolitana de Guadalajara." que desarrolló la C. Susana Camelia Andrade Sierra, y después de revisar el documento final no tengo inconveniente en su impresión, para que con ello pueda presentar sus Exámenes Profesionales respectivos.

Sin más por el momento aprovecho la oportunidad para enviarle un afectuoso saludo.

A T E N T A M E N T E
Guadalajara, Jal., 7 de febrero de 1994



M. EN C. EDUARDO VAZQUEZ VALLS

AGRADECIMIENTOS:

A la Universidad de Guadalajara por darme la oportunidad de ser una persona útil a mi país, mi eterno agradecimiento.

A todos mis maestros de la Facultad de Ciencias Biológicas por compartir conmigo todas sus experiencias y conocimientos.

Al Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO) por darme la oportunidad de realizar mi tesis.

A el Dr. Eduardo Vazquez Valls por darme siempre su apoyo para la realización de mi tesis.

A la Dra. Patricia Campos por su ayuda en computación.

A la Dra. Blanca Torres por la valiosa ayuda que me brindo.

A todos mis amigos que siempre me estuvieron apresurando especialmente a Ana Lilia que fue la que más me apoyó en la realización de mi tesis.

DEDICATORIAS:

A mis padres por siempre confiar en mi, y darme todo su apoyo.

A Sergio por darme todo su apoyo y por no dejarme sola en los momentos más difíciles de mi vida.

A todos mis hermanos
especialmente a Rosa y Luis
por su cariño.

A mis amigas Lili y Gaby
por toda la ayuda que me
brindaron siempre.

CONTENIDO:

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
CONTENIDO.....	iii
INDICE DE FIGURAS. GRAFICAS Y CUADROS.....	iv
RESUMEN.....	v
I. INTRODUCCION.....	1
ANTECEDENTES.....	4
2.1 Antecedentes históricos de <u>Cryptosporidium</u> spp.....	4
2.2 Importancia del organismo en México.....	7
2.3 Clasificación taxonómica.....	8
2.4 Descripción taxonómica del microorganismo.....	9
2.5 Ciclo biológico de <u>Cryptosporidium</u> spp.....	11
II.-JUSTIFICACION.....	14
IV.- HIPOTESIS.....	16
V.- OBJETIVOS.....	17
VI.- MATERIAL Y METODOS.....	18
6.1 Toma de la muestra.....	18
6.2 Obtención de la muestra.....	25
6.3 Proceso de la muestra.....	26
6.4 Tinción de la muestra.....	26
6.5 Diagrama del método de muestreo.....	27
VII.- RESULTADOS.....	29
VIII.-DISCUSION.....	35
IX.- CONCLUSIONES.....	37
X.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	38

INDICE DE FIGURAS, GRAFICAS Y CUADROS

CUADRO 1.-CLASIFICACION TAXONOMICA DE <u>Cryptosporidium</u> spp.....	10
FIGURA 1.-CICLO BIOLOGICO.....	12
FIGURA 2.-UBICACION DEL CANAL DE ATEQUIZA.....	19
CUADRO 2.-MUESTREO DE LA PLANTA POTABILIZADORA.....	20
CUADRO 3.-DIAGRAMA DEL METODO DE MUESTREO.....	25
CUADRO 4.-DESVIACION ESTANDAR Y MEDIAS DE LAS MUESTRAS.....	30
FIGURA 3.-UBICACION DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN EL SECTOR REFORMA DURANTE LAS 4 ESTACIONES DEL AÑO.....	21
FIGURA 4.-UBICACION DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN EL SECTOR JUAREZ DURANTE LAS 4 ESTACIONES DEL AÑO.....	22
FIGURA 5.-UBICACION DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN EL SECTOR HIDALGO DURANTE EL AÑO.....	23
FIGURA 6.-UBICACION DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN EL SECTOR LIBERTAD DURANTE EL AÑO.....	24
GRAFICA 1 NUMERO DE OOQUISTES POR MUESTRA DE <u>Cryptosporidium</u> spp DURANTE EL AÑO EN AGUA DEL CANAL DE ATEQUIZA.....	31
GRAFICA 2 PROMEDIO DE OOQUISTES DE <u>Cryptosporidium</u> spp DUARANTE UN AÑO EN LA PLANTA POTABILIZADORA.....	32
GRAFICA 3 PROMEDIO DE OOQUISTES DE <u>Cryptosporidium</u> spp DURANTE UN AÑO EN LA ZONA METROPOLITANA	33
GRAFICA 4 PROMEDIO DE OOQUISTES DE <u>Cryptosporidium</u> spp EN LOS SECTORES DE LA ZONA METROPOLITANA.....	34
CUADRO 5.-MUESTREO EN 6 RIOS DE LOS ESTADOS UNIDOS.....	35
CUADRO 6.- <u>Cryptosporidium</u> spp POSITIVO SEGUN LOS GRUPOS DE EDAD.....	36

R E S U M E N

RESUMEN

El Cryptosporidium spp. es un protozooario perteneciente al Phylum apicomplexa compuesto por parásitos tanto de vertebrados como de invertebrados. en los primeros produce una diarrea copiosa en las personas inmunodeprimidas y con menor severidad en los inmunocompetentes, ocasiona pérdida de peso, dolor abdominal, nauseas, vómitos y fiebre de poca magnitud.

Este trabajo se llevo a cabo entre población de la zona metropolitana de Guadalajara, la que está expuesta a ooquistes de Cryptosporidium spp. mediante un muestreo al azar en los cuatro sectores de la ciudad y durante todas las estaciones del año.

Los sectores Reforma, Libertad, Hidalgo y Juárez mostraron, en ese orden la frecuencia mayor de ooquistes de Cryptosporidium spp.

Las estaciones del año en que se notó un incremento del parásito en las muestras de agua estudiadas, fueron verano y otoño respectivamente.

Se concluye que en los lugares en donde se encontraron ooquistes, la cantidad de ellos en la mayoría de los casos fué mayor a la dosis de infección conocida. Se sugiere contrastar este estudio con nuevas investigaciones de prevalencia del Cryptosporidium spp. entre personas asintomáticas y población en general.

I N T R O D U C C I O N

INTRODUCCION

Esta investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Biomédicas de Occidente (CIBO) de Marzo de 1991 a Mayo de 1992, y su objetivo fundamental fue realizar un seguimiento durante un año de la presencia de oocistos de Cryptosporidium spp en agua de uso y consumo humano en la zona metropolitana de Guadalajara.

El estudio comprendió el canal de Atequiza, la planta potabilizadora del SIAPA No. 1 ubicada en la Av. Gobernador Curiel, y en la zona metropolitana en la que se tomaron muestras de los cuatro sectores de la ciudad (Reforma, Juárez, Hidalgo, Libertad) durante las cuatro estaciones del año (Primavera, Verano, Otoño, Invierno). Se cubrieron dos áreas de trabajo: de campo: ubicación y obtención de las muestras; y de laboratorio: procesamiento de las muestras de agua, para establecer la frecuencia de Cryptosporidium spp en la ciudad de Guadalajara.

En América destacan los Estados Unidos, en donde se han hecho estudios diversos, sobre todo aquellos relacionados con el tratamiento del agua con cloro (1), métodos de filtración (2); uso de coccidiostáticos, estudios de prevalencia (3,4,5,6, 7,8,9), así como diversas técnicas de identificación como la inmunofluorescencia indirecta (10,12,19), y la tinción de Kinyoun modificada, que son específicas para Cryptosporidium spp, incluyendo a la técnica de carbol Fucsina Kinyoun que es la que se utilizó en este estudio (13).

Las investigaciones existentes hasta la fecha en México. están relacionados con la identificación del parásito en muestras de heces fecales tomadas de niños con diarrea. por ejemplo un estudio realizado en el poblado de la Soledad de San Luis Potosí. en donde se tomaron solo cinco muestras de aguas negras. de las cuales solo una fue positiva para Cryptosporidium spp (8). En el Estado de México. también se han hecho estudios de la prevalencia de este parásito en niños. que son los más afectados en nuestra población: en el mundo aproximadamente 5 millones de niños sufren de diarrea por Cryptosporidium spp cada año (15. 17. 19): en Guadalajara. en la clínica 45 del Instituto Mexicano del Seguro Social. se investigó la frecuencia de este protozoario y se confrontaron dos técnicas de detección del parásito. es decir. bajo el método directo y el método de concentración (técnica de Faust). ambas teñidas con la técnica de Safranina-azul de Metileno (14. 19).

Como se puede observar no se han hecho estudios que indiquen la prevalencia de Cryptosporidium spp. a la que esta expuesta la población. en la zona metropolitana de Guadalajara lo que es de suma importancia. ya que en los humanos la dosis de infección es baja. es decir. que se requieren. de 1 a 10 ooquistes los cuales habitan en las células epiteliales de la mucosa del aparato digestivo. en especial las vellosidades de la parte más baja del intestino delgado. las personas que presentan un alto riesgo son aquellas que presentan alteraciones de las defensas. muy jóvenes o muy viejos. (10.11).

Considerando los datos anteriores. realizamos en la zona

metropolitana en Guadalajara, un estudio de detección de oocistos de Cryptosporidium spp en el agua de uso y consumo humano esperando que sus resultados contribuyan con el conocimiento biológico, epidemiológico y de la educación sanitaria de esta parasitosis.

A N T E C E D E N T E S

ANTECEDENTES

Se ha publicado información sobre Cryptosporidium spp. relacionada con estudios epidemiológicos en diversas poblaciones de todo el mundo, su estrecha vinculación con la infección del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y sobre el uso y consumo de agua en humanos, sin embargo, se sigue desconociendo muchos aspectos de la forma de transmisión, epidemiología, patogenicidad y tratamiento del Cryptosporidium spp.

Este parásito fue descrito desde 1885 por Clarke, quién fue el primero en observarlo y describir pequeños cuerpos minúsculos a los que llamo " enjambre de esporas " viviendo libres sobre el epitelio gástrico del ratón, probablemente se trataba de estados endógenos de C. muris, (16); por otra parte de acuerdo a la parasitología americana E.E. Tyzzer en 1907 describió claramente el protozoario, fundamentando su presencia en las glándulas gástricas del ratón de laboratorio, por lo que propone el nombre de C. muris, (10,16,17,18,20,21). Fue hasta 1910 cuando al usar un microscopio de resolución menos limitado, Tyzzer observó las etapas de desarrollo asexual, sexual y de esporogonia sugiriendo que los esporozoitos liberados de oocistos que maduran en las glándulas gástricas puede originar la autoinfección: una segunda especie C. parvum se encontró en el intestino delgado del ratón de laboratorio, Tyzzer describió un organismo similar en el intestino delgado del conejo que es un huésped de la especie en descripción y denominada posteriormente C. parvum, mismo al que Levine en 1961, lo nombró C. tyzzeri.

La morbilidad y mortalidad de aves por criptosporidiosis fue descrita por Slavin en 1955. y al agente causal lo denominó C. melagridis: entre 1968 y 1981 se refieren otras especies de Cryptosporidium spp en peces, reptiles, pájaros y mamíferos que reciben su nombre de acuerdo a la especie que parasitan. (16,17,18).

En 1971 se iniciaron estudios de interés veterinario que originaron reportes de varios casos en una gran variedad de animales domésticos tales como: gallinas, perros, gatos, y ratones de laboratorio.

El primer caso de criptosporidiosis en humanos se reportó en 1976. y desde entonces fueron relativamente pocos los diagnósticos con criptosporidiosis. hasta que la infección severa estimuló estudios experimentales tales como: pequeños modelos in vitro en donde se examinan: desinfectantes, agentes quimioterapéuticos, la infectividad, prevalencia, métodos microbiológicos para el estudio del Cryptosporidium spp. Este parásito produce diarrea copiosa en los inmunodeprimidos, por lo general no contiene moco y rara vez sangre o leucocitos. También se presenta pérdida de peso, dolor abdominal, náuseas, vómitos y fiebre de poca magnitud, generalmente menor de 39°C. Ocasionalmente se presentan síntomas inespecíficos como anorexia, mal estado general, mialgias y cefalea (17, 22,23,24,25). El papel del Cryptosporidium spp ha sido asociado a diarrea en animales y esta ha sido inducida experimentalmente en diversas especies. la excreción de ooquistes en las heces coincide en animales infectados y de experimentación con la

enfermedad clinica y el daño de la mucosa (26).

Los diagnósticos del Cryptosporidium spp inicialmente se hacían por biopsia intestinal. Posteriormente nuevas y variadas técnicas de concentración y de tinción, demostraron los parásitos (ooquistes) en heces, eliminando la necesidad de biopsia (27). En 1983 García y Col. confrontaron 15 técnicas del diagnóstico, estableciendo que las mejores eran concentración con formol al 10% y tinción de Ziehl Neelsen modificada (28). A partir del estudio de García y col. se ensayaron otras técnicas de concentración, tanto de flotación como de sedimento con modificaciones en su diseño, todas ellas tratando de concentrar la mayor cantidad de ooquistes y reducir así las posibilidades de encontrar falsos negativos (27, 29). El método de Faust con sulfato de zinc es una técnica de concentración por flotación que se utiliza habitualmente, pero poco evaluada para el Cryptosporidium spp. Casemore en 1985 (29) la comparó con otras 5 técnicas y obtuvo resultados relativamente buenos, pero con una recuperación de ooquistes considerablemente menor a otras técnicas: sin embargo, Soave en 1984 la aplicó en México (8) obteniendo un porcentaje alto de positivos. Por otro lado, el método directo ha sido empleado también para investigación de ooquistes con buenos resultados (30,31,32). Todas estas metodologías han dado como resultado estudios de prevalencia a nivel mundial encontrándose en algunos países una frecuencia de: 1.4 % en Inglaterra; 2 % en Dinamarca; 4.1% en Australia; 10.4 % en Ruanda (Africa), Estados Unidos 2.8 % y Chile 7.2 % (4,5).

Como se puede observar, los países desarrollados presentan

un porcentaje de incidencia muy bajo comparado con los países en vías de desarrollo, aunque también la incidencia y prevalencia del parásito va asociada con el clima, ya que en los climas cálidos y de preferencia durante el verano, ve favorecido su desarrollo (2), afectando con mayor frecuencia a los niños. Las características clínicas de esta infección varían en duración e intensidad según el estado inmunológico de los portadores (18). La diarrea es un signo de la infección, es más copiosa en los inmunodeprimidos que en los inmunocompetentes, en estos últimos, es limitada y con duración menor de dos semanas, (22) si se prolonga por más tiempo, frecuentemente es por complicación de algún otro patógeno. El papel de Cryptosporidium spp como agente causal de enfermedad no es del todo claro, pero este ha sido asociado con diarreas espontáneas e inducidas experimentalmente en diversos animales. la excreción de los oocistos en la heces coinciden en los animales infectados y de experimentación con la enfermedad clínica y el daño de la mucosa. (23).

En México son pocos los estudios que se han hecho con relación a este protozooario por lo que es interesante definir su incidencia y prevalencia entre la población Mexicana.

DESCRIPCION TAXONOMICA DEL MICROORGANISMO

El Cryptosporidium spp fue descrito por primera vez en 1907 por Tyzzer, es un protozoario perteneciente al Phylum Apicomplexa, cuyos organismos son parásitos de vertebrados e invertebrados, con ciclo biológico complejo y alternancia de generaciones.

Clase Sporozoa: la característica principal es que los ooquistes contienen generalmente los esporozoitos que son la forma infectiva. En varias especies los esporozoitos se transmiten de un hospedero a otro en el interior de una espora (esporoquistes), mediante diferentes mecanismos; los esporozoitos desnudos se transmiten por medio de hospederos intermediarios, llamados vectores.

Subclase Coccidia: Son citozoicos, los gametos son marcadamente desiguales (Anisogametos). De manera característica, el ciclo de vida pasa por tres etapas del ciclo general de los esporozoarios (esquizogonia, gamogonia, esporogonia.)

Orden Eucoccidia: durante su ciclo de vida presentan esquizogonia.

Suborden Eimeriina: se encuentran en el tracto digestivo de vertebrados e invertebrados, el cigoto no es móvil, los esporozoitos típicamente están encerrados en esporoquistes dentro de los ooquistes. La familia Cryptosporidae, tiene los ooquistes más pequeños dentro del phylum Apicomplexa, la morfología de los ooquistes es de esférica a ovoide, y por lo menos esporulan 50 ooquistes de 7.4 por 5.6 micras; en C. parvum. Aunque muchos estudiosos de este protozoario dicen que no hay diferencias,

solo en la especie que parasitan. Tyzzer en su descripción original claramente demostró C. muris y C. parvum son diferentes en su estructura y desarrollo, y ocupan además sitios separados en el tracto digestivo del huésped muriano.

Afortunadamente se ha encontrado en estudios recientes formas grandes de C. muris y estructuralmente distintas en ganado vacuno. Por lo que ahora se sabe que las formas grandes corresponden a C. parvum según la descripción de Tyzzer. (16.17.35).

CLASIFICACION TAXONOMICA

CLASIFI- CASION	NOMBRE	CARACTERISTICAS BIOLOGICAS
Phylum	Apicomplexa	Todas las especies comprendidas son parásitos de vertebrados y de invertebrados. presentan por lo menos en un estadio de su ciclo de vida un complejo de orgános polares (conoide, anillos apicales, corpusculos alargados: taxonema, sarconema, roptria, micronema y organitos polares.
Clase	Sporozoea	La locomoción de los trofozoitos se realiza por medio de flexiones del cuerpo, por deslizamiento o por ondulaciones de los pliegues longitudinales.
Subclase	Coccidia	Su ciclo de vida pasa por tres etapas del ciclo general de los esporozoarios.
Orden	Eucoccidia	Durante su ciclo vida pasa por tres etapas del ciclo general de los esporozoarios.
Suborden	Eimerina	El cigoto no es móvil, los esporozoitos típicamente están encerrados en esporoquistes dentro de los oocistos.
Familia	Cryptosporidae	Desarrollo justo debajo de la superficie de la membrana de la célula huésped.

CICLO BOLOGICO

El ciclo vital comienza con la ingestión por parte del huésped de ooquistes esporulados del parásito, la cual es la forma infectiva; se menciona que al alcanzar el estómago y tras la ruptura del ooquiste, se liberan los esporozoitos que evolucionan a trofozoitos estimulados por la tripsina, la bilis y la temperatura a 37° C. que favorece este cambio. Los trofozoitos se adhieren estrechamente a las células del epitelio gastrointestinal especialmente en las vellosidades del intestino delgado bajo, posteriormente el trofozoito se transforma originándose una estructura llamada esquizonte o célula dividida, que son de primera generación y contienen ocho merozoitos, resultantes de divisiones celulares del trofozoito; los merozoitos se liberan del esquizonte y se implantan de nuevo en el epitelio gastrointestinal formando esquizontes con cuatro merozoitos, esto es antes de que evolucionen a macrogametos y microgametos. Un microgameto fecunda a un macrogameto, originándose así un cigoto y luego el ooquiste esporulado que puede ser de dos tipos: de pared gruesa y pared fina, este último autoinfectivo y explica así la cryptosporidiosis crónica observada en pacientes inmunodeprimidos: los ooquistes de pared gruesa son los que transmiten la infección a nuevos huéspedes susceptibles. (16, 17, 18).

CICLO BIOLÓGICO:

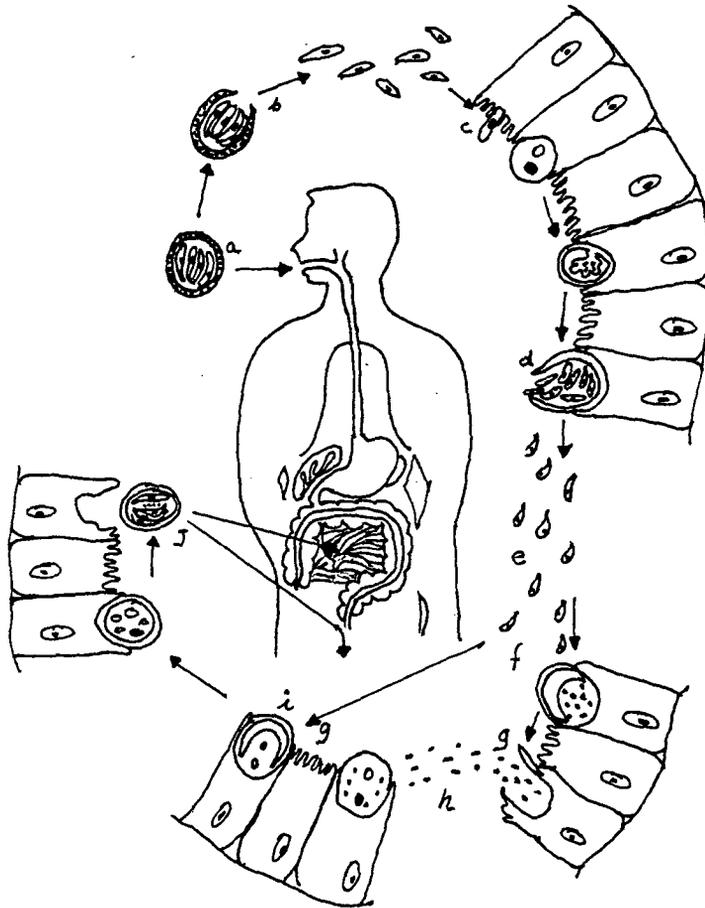


Figura 1: Ingestión del parásito por vía oral. b) Se liberan los esporozoitos. c) Se introduce al epitelio gástrico transformándose en trofozoitos. d) Evolucionan a esquizontes con 8 merozoitos. e) Liberación de los merozoitos. f) Se implanta de nuevo en el epitelio gastrointestinal. g) Evolucionan a macro y microgametocitos. h) Un microgameto fecunda a un macrogameto. i) Se forma el huevo o cigoto. j) oocistos esporulados que se pueden liberar dentro del organismo o salen por medio de las heces fecales.

J U S T I F I C A S I O N

JUSTIFICACION

El Cryptosporidium spp es un protozoario que pertenece a la familia Criptosporidae. cuya distribución es mundial y puede infectar a mamíferos, pájaros y reptiles (16, 17, 18). Causa diarrea grave e incluso mortal en neonatos y jóvenes pero en adultos se le considerará importante como agente etiológico de patología en humanos debido a la presencia de diarrea en enfermos inmunodeprimidos, ya que la diarrea por criptosporidiasis en estos pacientes es muy severa y en algunos casos ha sido causa de muerte. (17, 36, 37, 38, 40). La Cryptosporidiasis es un problema de salud mundial que en Costa Rica durante Febrero y Marzo de 1986, se encontró entre el 3 y 4 % en niños con diarrea y en Ruanda hasta el 10.4 % , siendo el período de incubación de 4 a 12 días (4.5).

Los estudios de frecuencia de este protozoario en niños con diarrea aguda presuntamente inmunocompetentes, han demostrado cifras que van de un 1.4% en Gales, hasta 10.4 en Ruanda (35). por otra parte, coincide este hallazgo con muestras al azar de evacuaciones de pacientes, procesadas en diversos laboratorios del mundo, que revelaron frecuencia entre 1.1 y 5.0 (33).

En Chile no solo se han hecho estudios con niños y personas al azar, sino también se ha encontrado en los contactos de grupos humanos que trabajan con animales (granjas agrícolas) que son portadores asintomáticos de este protozoario (33, 34).

En pacientes sin inmunosupresión grave la criptosporidiasis es una enfermedad de resolución rápida de 5 a 11 días (4), por el

contrario, la gravedad del cuadro del paciente con SIDA ha motivado la búsqueda de agentes terapéuticos eficaces. Tras probarse más de 40 antimicrobianos y coccidiostáticos, no se ha podido demostrar su eficacia consistente en ninguno de ellos. Algunos datos preliminares sugieren una relativa eficacia de la espiramicina en pacientes con SIDA y criptosporidiasis.

Una base orgánica cuaternaria, el amprolium, se ha usado en casos de SIDA, con probabilidad de que pueda ser tóxico en dosis altas y frecuentes (17).

En San Luis Potosí, México, se hicieron durante Julio y Agosto de 1984, estudios con niños cuyas edades oscilaban entre 1 a 13 años, donde se encontraron muestras positivas para Cryptosporidium spp además de otros parásitos tales como Giardia lamblia, Entamoeba histolitica, E. coli, y Ascaris lumbricoides (8). Por su importancia, trascendencia, y alta vulnerabilidad a la que esta expuesta la población, especialmente la infantil, y en virtud de que hasta la fecha se desconoce el impacto de salud que este parásito tiene en la zona metropolitana de Guadalajara, ya que los estudios que se han efectuado hasta ahora han sido con muestras pequeñas y en grupos específicos (14), se decidió identificar la frecuencia de Cryptosporidium sp en aguas destinadas al uso y consumo humano en la zona metropolitana de Guadalajara, esperando que los resultados de esta investigación, sirvan para establecer criterios elementales de salud pública, para la prevención de esta parasitosis en aquellas zonas donde se demuestre su presencia, aún después de los procesos de potabilización del agua.

H I P O T E S I S

HIPOTESIS

El agua para uso y consumo humano de la zona metropolitana de Guadalajara tiene ooquistes de Cryptosporidium spp antes y después de su tratamiento de potabilización.

OBJETIVOS

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL:

1.0- Identificar la presencia de ooquistes de Cryptosporidium spp en agua para uso y consumo humano de la zona metropolitana de Guadalajara.

OBJETIVO PARTICULAR:

1.1.- Cuantificar la presencia de ooquistes de Cryptosporidium spp en el canal de Atequiza, y después de su tratamiento en la planta potabilizadora (SIAPA) y en la zona metropolitana de Guadalajara.

M E T O D O L O G I A

METODOLOGIA

La ciudad de Guadalajara obtiene su agua en un 80 % del Río Lerma, que nace en los manantiales de Almoloya en el Estado de México, atravesando los estados de Guanajuato, Michoacan y Jalisco, donde se utilizan sus caudales y los va reduciendo paulativamente hasta su llegada al lago de Chapala que constituye un depósito natural de agua; el cual está situado a 48 Kilómetros al sur de la ciudad de Guadalajara y es abastecido principalmente de las descargas finales del río Lerma, así como del río Zula y la cuenca propia del lago. A unos cuantos kilómetros de la desembocadura de este río y dentro del lago de Chapala, nace el río Santiago, que en su curso llega a la población de Poncitlán, donde existen las compuertas que regulan su cauce. 20 kilómetros más adelante, se encuentra la presa derivadora Corona, donde se desvia parte de el caudal por el canal de Atequiza el cual mide aproximadamente 24 kilómetros que una vez que llega esta agua a la planta potabilizadora No 1, es distribuida así la zona metropolitana de Guadalajara (41).

TOMA DE LA MUESTRA:

- a) Canal de Atequiza: Se tomarón 48 muestras en total, 12 por cada estación del año. En el Canal de Atequiza se establecieron 3 puntos de muestreo: uno en el poblado de Atequiza, otro en Santa Rosa y el último punto antes de la llegada a la presa de la Calera que tiene una capacidad de 500 millones de litros de agua y su función principal es almacenar y regular las aguas que conduce el Canal de

Atequiza. En los puntos de muestreo antes mencionados se tomarón 16 muestras por cada estación del año. (ver fig 2)

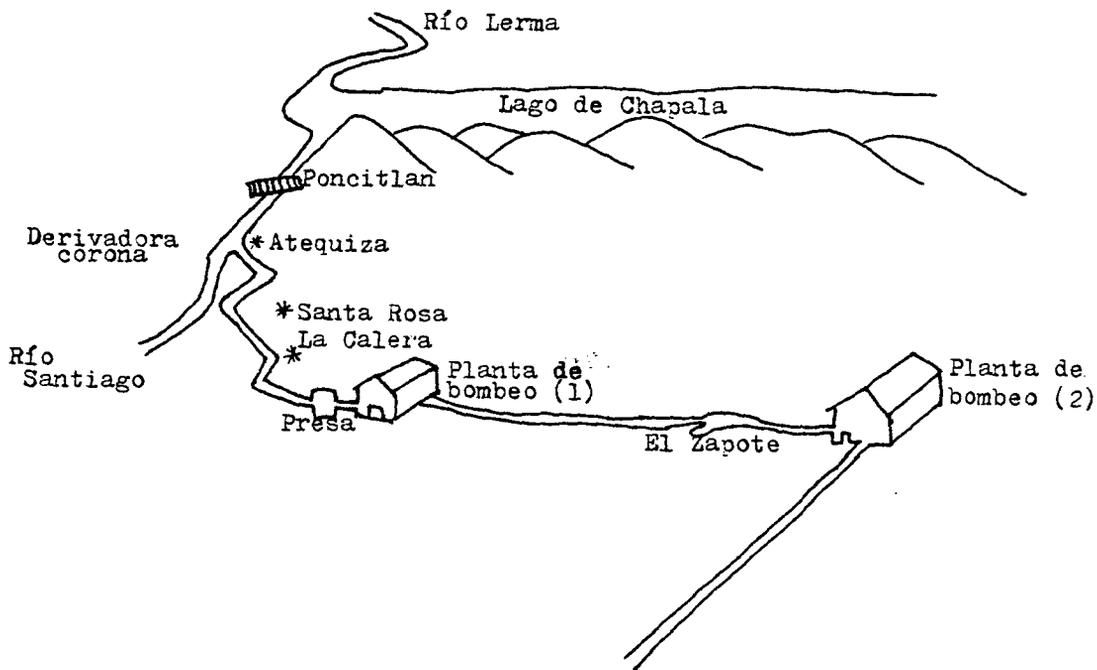


Fig. 2 *Lugares donde se hicieron tomas de muestras

- b) Planta Potabilizadora del Siapa no 1: Se tomarón 48 muestras, 12 por cada estación del año. Las muestras no fueron siempre directamente de la planta, por la imposibilidad que se presento algunas veces, se tomarón de las pipas de agua que en ese momento se estaban llenando
- Cuadro No.2

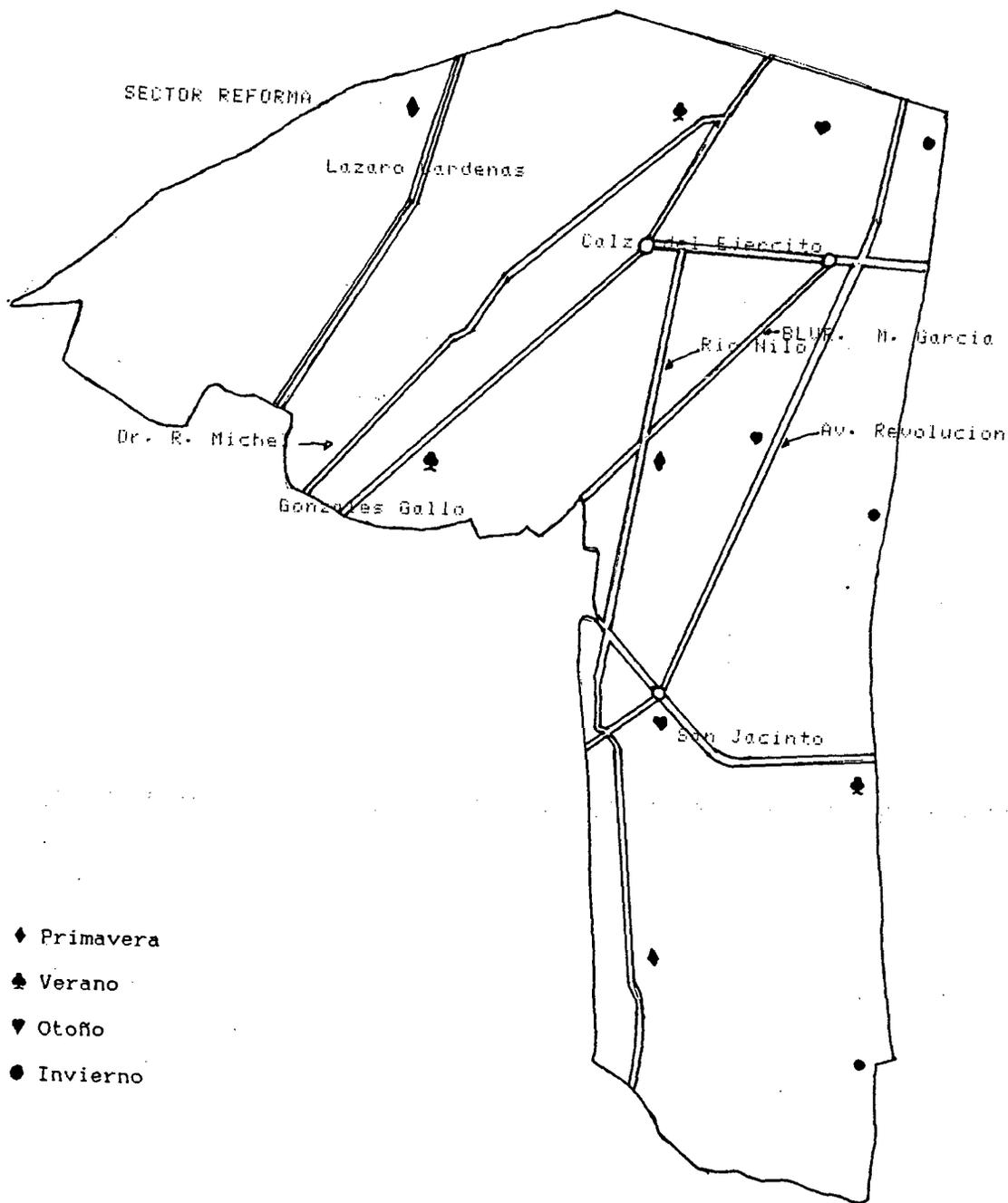
	Muestras de la planta		Muestras de agua de pipas	
	muestras	No. de ooquistes	muestras	No de ooquistes
PRIMAVERA	9	-	3	5
VERANO	8	1	4	12
OTOÑO	11	-	1	1
INVIERNO	10	-	2	-

cuadro 2.

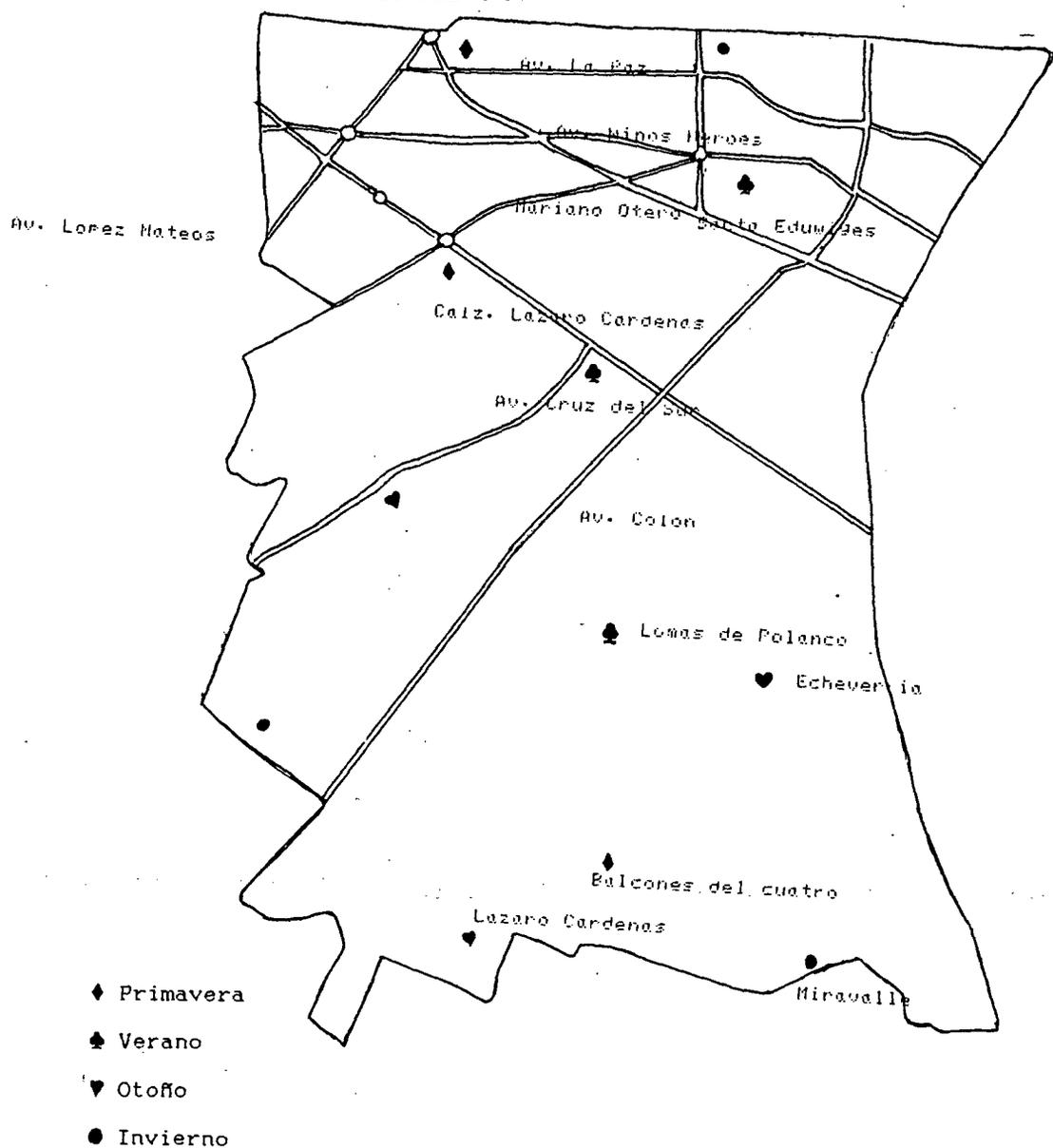
C) Zona Metropolitana de Guadalajara:

- 1.- Sector reforma, se tomarón 12 muestras, 3 por cada estación del año.

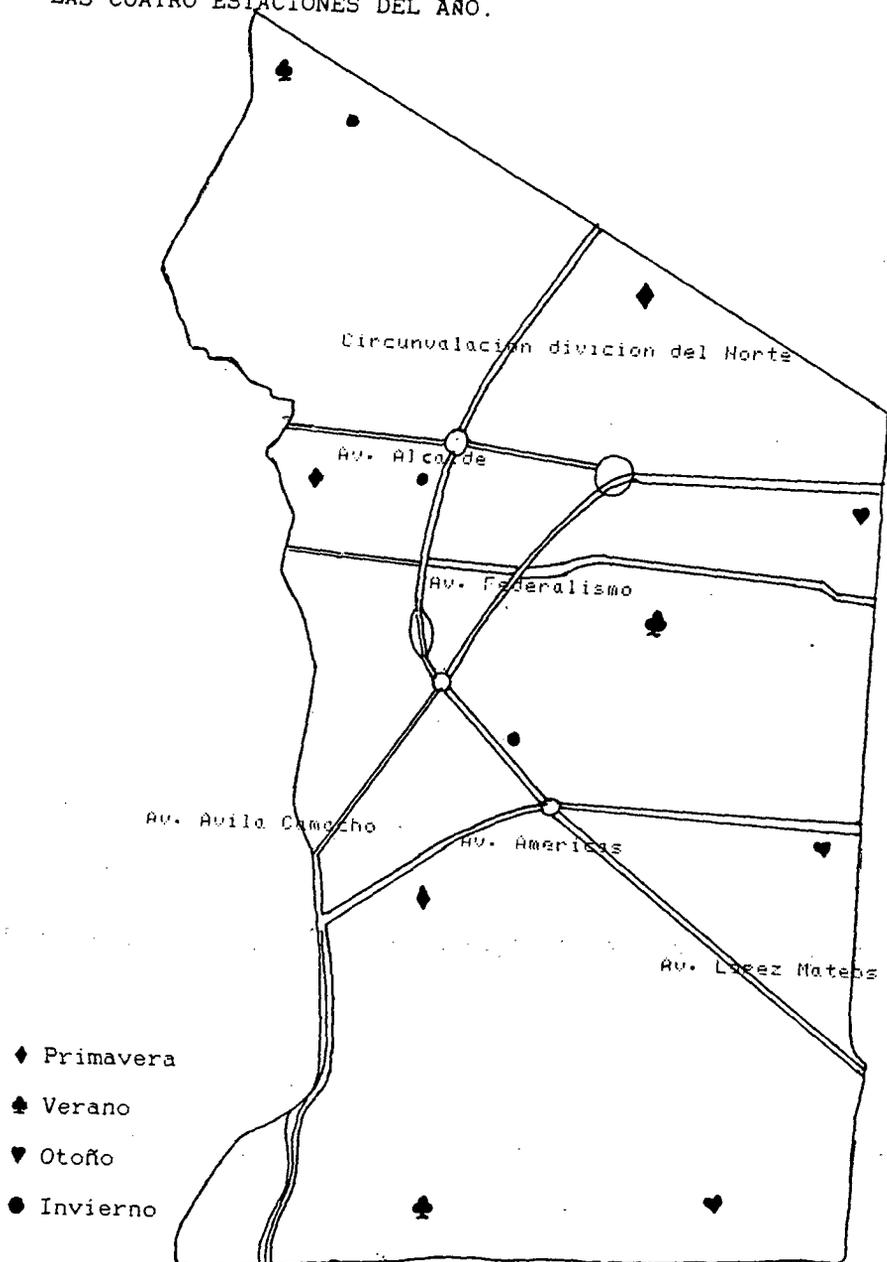
UBICACION DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN EL SECTOR REFORMA DURANTE LAS CUATRO ESTACIONES DEL AÑO.



UBICACION DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN EL SECTOR JUAREZ DURANTE
LAS CUATRO ESTACIONES DEL AÑO.



UBICACION DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN EL SECTOR HIDALGO DURANTE LAS CUATRO ESTACIONES DEL AÑO.



UBICACION DE LAS PUNTOS DE MUESTREO DE EL SECTOR LIBERTAD
DURANTE LAS CUATRO ESTACIONES DEL AÑO.

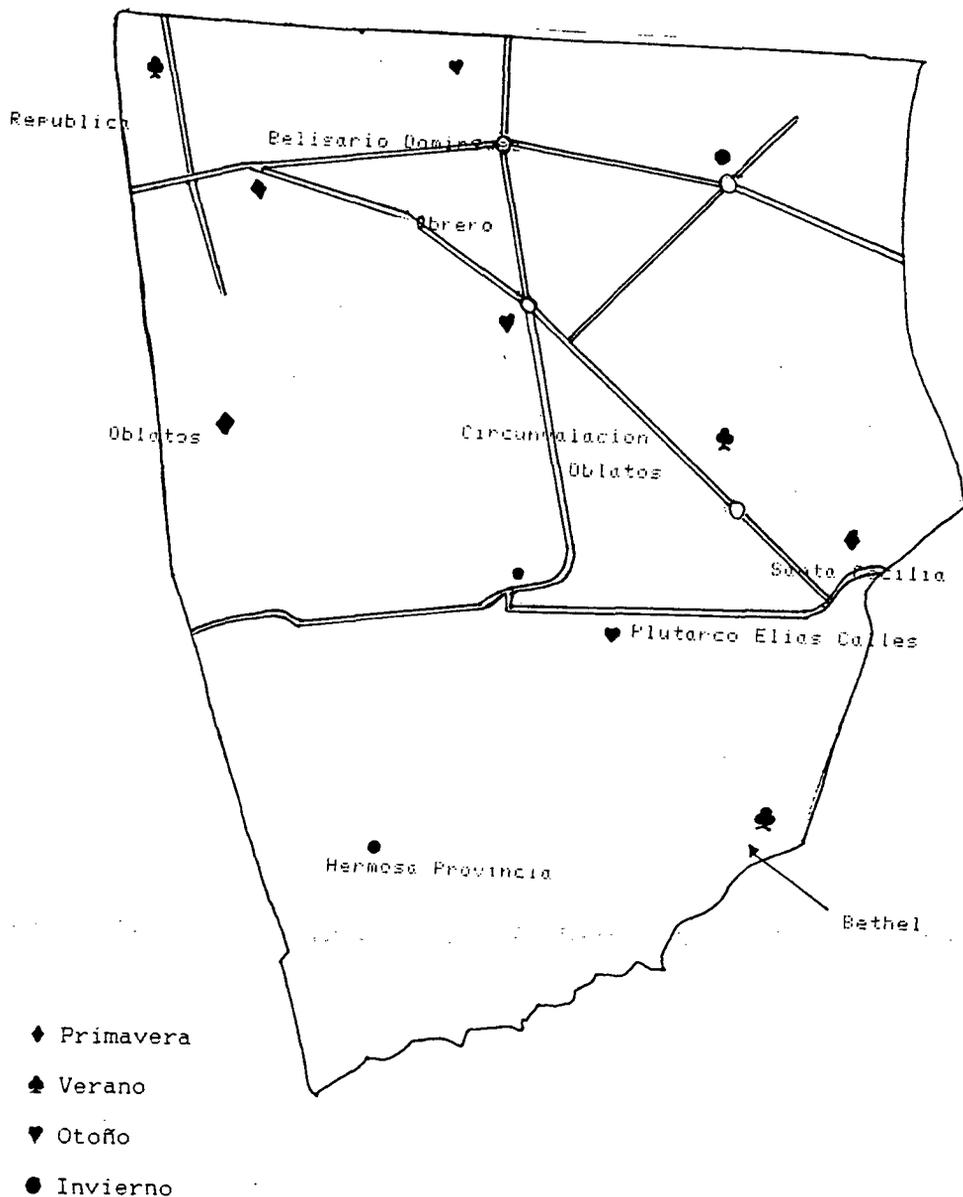
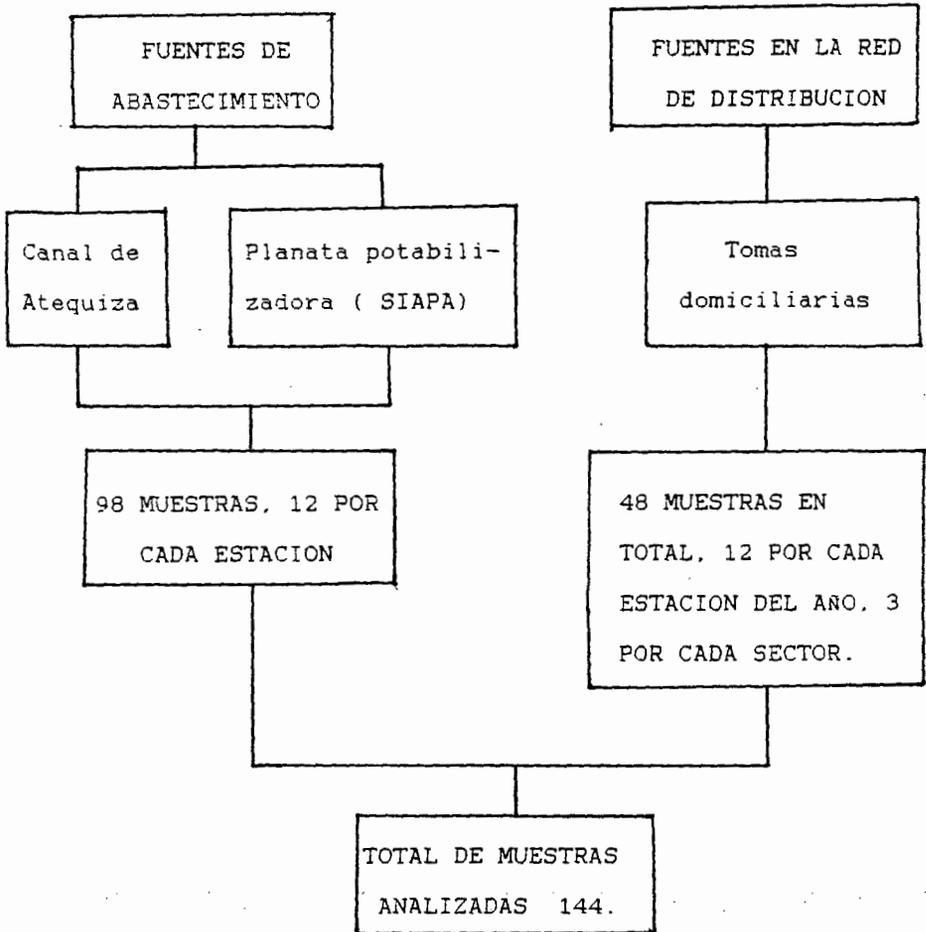


DIAGRAMA DEL METODO DE MUESTREO



cuadro 3

OBTENCION DE LA MUESTRA:

Las muestras de agua tanto en la ciudad de Guadalajara, el Canal de Atequiza y la Planta Potabilizadora del SIAPA, se tomaron durante la mañana entre las 9:00 am y 11:00 am, esto con el fin de que las variaciones de temperaturas fueran mínimas y solo producto de los cambios suscitados por las estaciones del año. En el Canal de Atequiza, siempre fueron en el centro de el canal y en los puntos señalados en la Fig.2. Las muestras que se tomaron de la Planta Potabilizadora del SIAPA fueron de una llave que sale al exterior de la Planta, algunas veces estas muestras fueron tomadas de las pipas que en esos momentos se estaban llenando, según se observa en el cuadro 2.

En dicho lugar, también se hizo un recorrido donde se comprobó el proceso de potabilización del agua cuando pasa a través 10 clarificadores, 20 filtros convencionales y 96 filtros automáticos. Su capacidad de tratamiento es de 9 mil litros de agua por segundo. La potabilización consiste en decantar y preclorinar el agua provocando floculación con polielectrolitos, sulfato de aluminio, hidrato de calcio y sílice activado, para este objeto se tienen equipos dosificadores para las sustancias químicas e inyectorés de cloro; este tratamiento se le da a el agua antes de distribuirse a través de los acueductos a toda la zona metropolitana, durante las 24 horas del día.

En la zona metropolitana de Guadalajara, las muestras siempre se obtuvieron de la llave de agua que sale al exterior de cada domicilio y trasladadas al laboratorio en todos los casos para su rápido procesamiento.

PROCESO DE LA MUESTRA:

La cantidad de agua y el número de muestras que se proceso fue considerado parte de la metodología utilizada en estudios realizados en los Estados Unidos de América; por Ongerth y cols. (10). Las muestras procesadas en nuestro estudio fue de 1.6 litros de agua, la que primero se centrifugó a 240 g en frascos de vidrio de 125 ml. utilizando un cabezal apropiado para el volumen de estos recipientes: posterior a la centrifugación el sedimento de los frascos se concentra formando un volumen de aproximadamente 325 ml. de agua que se filtró con filtros Millipore de 2.5 cm de diámetro y poro de una micra. posteriormente se desprendió con pinzas estériles el filtro de la base del portafiltro y se eluyó con agua destilada dentro de un tubo de ensayo hasta alcanzar un volumen de 15 ml, el tubo se coloca dentro de la centrífuga durante 10 minutos a 240 g. y al termino, con una pipeta pasteur se elimina el sobrenadante y se hacen tres frotos del sedimento, con aproximadamente 30 microlitros para cada portaobjetos.

TINCION DE LA MUESTRA:

Una vez hecho el frotis en los portaobjetos las muestras se dejan secar al aire siguiendo posteriormente los siguientes pasos:

- 1.- Fijar con metanol absoluto durante un minuto.
- 2.- secar al aire.
- 3.- Teñir con Carbol Fucsina durante 3 minutos.

- 4.- Lavar con alcohol etílico al 50% en agua.
- 5.- Lavar inmediatamente después con agua destilada.
- 6.- Decolorar con H_2SO_4 durante 2 minutos o hasta decoloración completa.
- 7.- Lavar con agua corriente.
- 8.- Teñir con azul de metileno durante un minuto.
- 9.- Lavar con agua corriente.
- 10.- Secar y observar.

El hecho de que el sedimento contenga otros organitos y partículas no interviene en la técnica, dado que sólo se tñe el protozoario, el que se observa con forma ovalada a redonda y adquiere un color rojo intenso con fondo azul tenue; se contaron el número total de ooquistes que aparece en cada una de las placas, sumandose la cantidad de cada una de ellas y dando como resultados el número de ooquistes por cada muestra.

R E S U L T A D O S

RESULTADOS

Los datos obtenidos muestran que la temperatura en el medio ambiente es un factor que puede beneficiar o perjudicar el desarrollo del *Cryptosporidium* spp según sea el caso, si es una temperatura alta, se vera favorecido su desarrollo, en cambio una temperatura baja, no permite su reproducción esto se puede observar en las graficas 1,2,3,4,5.

En el canal de Atequiza se registró la cantidad más alta de ooquistes durante el verano con una media de 38 ooquistes (Grafica 1) y en la zona metropolitana de Guadalajara una media de 24 ooquistes, cantidad que descendio durante el otoño hasta una media de 20 ooquistes (Grafica 3).

El muestreo que se realizó en la planta Potabilizadora mostró una pequeña cantidad de ooquistes equivalente a 3.25 ooquistes; durante el invierno su presencia fué nula (Grafia 2) la mayoría de las muestras que resultaron positivas para este protozoario fueron tomadas de pipas que en ese momento se llenaban, con agua en la planta potabilizadora ver Cuadro 2.

En la zona metropolitana, el sector Reforma presentó la mayor cantidad de ooquistes en las muestras que se tomaron durante el verano; sin embargo, en el Otoño los sectores Juárez, Libertad, e Hidalgo tuvieron cantidad más altas de ooquistes (Grafica 4). La prueba estadística que se realizó para observar si la cantidad de muestras tomadas eran significativas, fué la T de student, con la que se compararon los resultados obtenidos en el canal de Atequiza y en la zona metropolitana de Guadalajara.

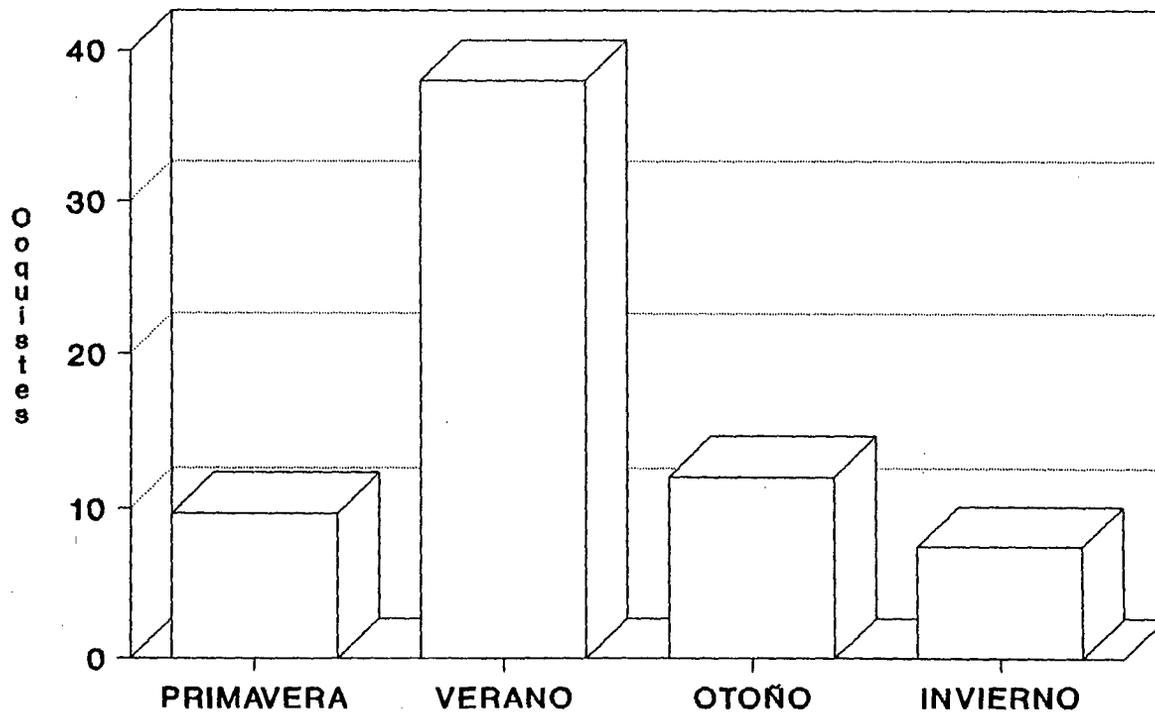
misma que obtuvo una alta significancia $P < 0.001$. Sin embargo y en la planta potabilizadora SIAPA nuestro número de muestras no fué estadísticamente significativo.

PRESENCIA DE OOQUISTES DE Cryptosporidium spp. POR ESTACION
DEL AÑO Y LUGAR DE LA TOMA DE LA MUESTRA.

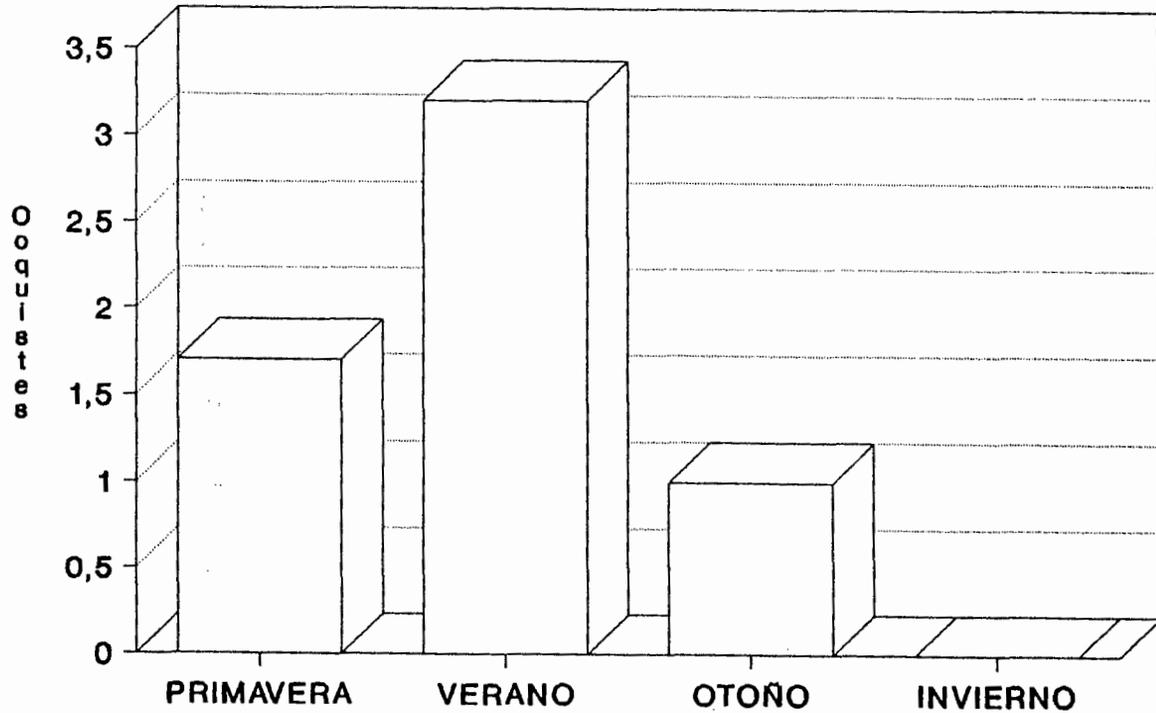
	PRIMAVERA		VERANO		OTOÑO		INVIERNO	
	X	DS	X	DS	X	DS	X	DS
ATEQUIZA	9.7	3.6	38	15.3	12.1	5.3	7.5	3.6
PLANTA POTABILIZADORA	1.7	0.6	3.2	1.9	1.0	0	0	0
TOTAL DE SECTORES	8.7	2.9	24.1	10.3	21.9	11.2	7.6	3.1

cuadro 4

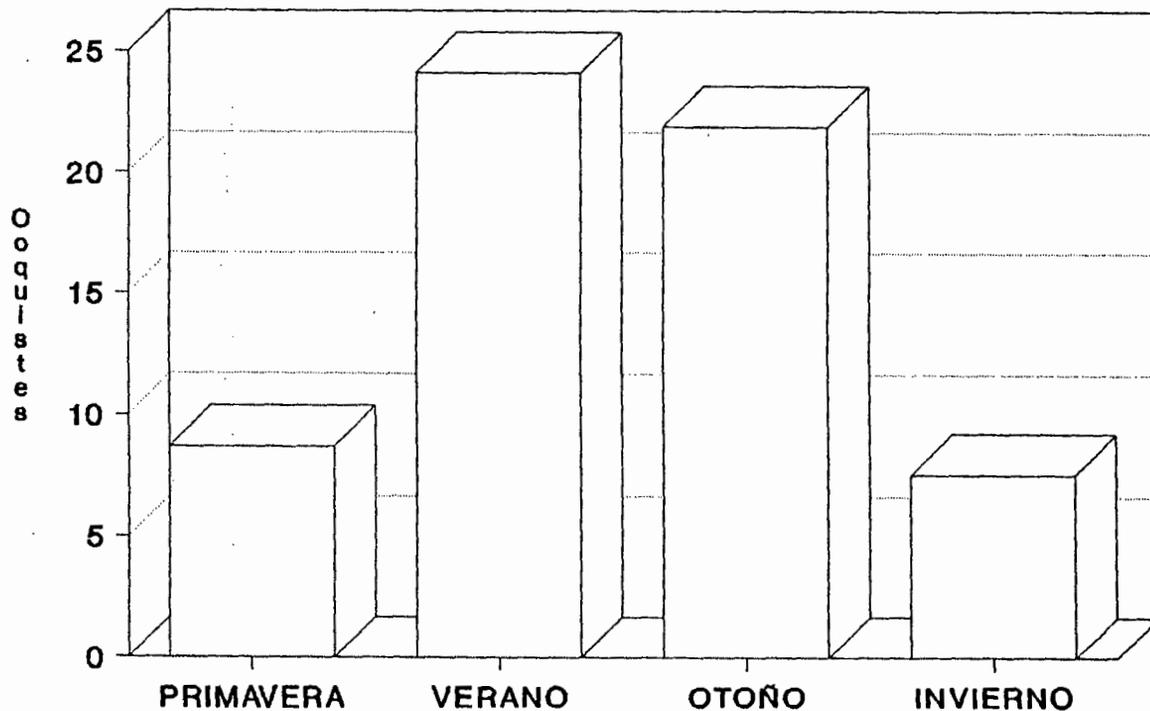
GRAFICA 1 PROMEDIO DE OOQUISTES POR MUESTRA DE Cryptosporidium spp. DURANTE EL AÑO EN AGUA DEL CANAL DE ATEQUIZA



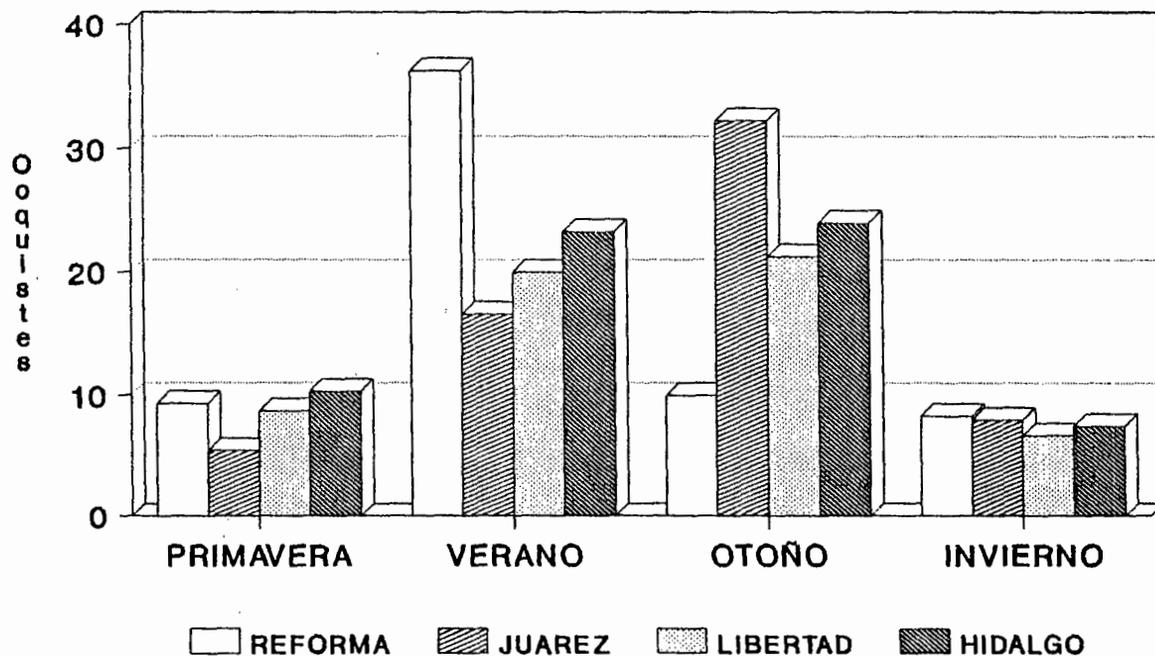
GRAFICA 2 PROMEDIO DE OOQUISTES DE
Cryptosporidium spp. DURANTE EL AÑO
EN LA PLANTA POTABILIZADORA



**GRAFICA 3 PROMEDIO DE OOQUISTES DE
Cryptosporidium spp. DURANTE EL AÑO EN
LA ZONA METROPOLITANA**



**GRAFICA 4 PROMEDIO DE OOQUISTES DE
Cryptosporidium spp. EN LOS SECTORES
DE LA ZONA METROPOLITANA**



D I S C U S S I O N

DISCUSION:

La temperatura fue determinante en la presencia de este parásito, ya que en cada muestreo durante los meses más cálidos del año hubo un aumento considerable de ooquistes de Cryptosporidium spp., este fenomeno se observa a nivel mundial en los países subdesarrollados que no tienen un sistema de salud adecuado para su población y debida entre otras cosas al clima calurosos (4.5.16). El número de muestras se basó en el estudio de Ongerth en donde el muestreo a 6 ríos, con un total 35 muestras. (Cuadro 5).

Date (1985)	sample no.	water source (river)	vol lt.	% filter area examined	No of oocysts	estimated recovery (%)	estimated no. of oocysts/lt.
7/29	1	Skagit	11	10	2	5	35
	2	Skykomish	18	11	2	5	20
	3	Snoqualmine	17	11	2	5	21
	4	Snohomish	16	7	6	5	112
	5	American	20	9	2	5	23
	6	Sacramento	7	10	1	5	28
8/5	2	Skagit	20	50	5	22	2
	3	Sacramento	13	50	3	22	2
8/15	2	Skykomish	20	50	5	7	7
	3	Snoqualmine	18	50	7	7	11
	4	Snohomish	8	50	4	7	15

Otro estudio importante y que reafirma lo expuesto en este trabajo es el realizado por Velarde del Centro Medico de Occidente. en donde realizan una investigación con niños que padecen de diarrea y detectan varios grupos infectados por Cryptosporidium spp como a continuación lo muestra el siguiente cuadro. (20)

Cryptosporidium spp positivo segun los grupos de edad

Grupo de edad	con diarrea		sin diarrea	
menores de 30 días	1/14	7%	0/20	0%
1-6 meses	3/73	4%	0/68	0%
7-12 meses	4/37	10%	2/39	5%
12-60 meses	1/25	3.5%	0/25	0%
TOTALES	9/125	6%	2/152	1.3 %

p= < 0.03 con vs sin diarrea.

cuadro 6.

C O N C L U S I O N E S

CONCLUSIONES:

- 1.- El agua para uso y consumo humano de la ciudad de Guadalajara contiene ooquistes de Cryptosporidium spp.
- 2.- En este estudio se comprobó que el desarrollo del protozoario depende de la temperatura, ya que en los meses en que es más alta (Junio, Julio, Agosto). se observó mayor cantidad de ooquistes, que durante los meses de invierno.
- 3.- Los ooquistes de Cryptosporidium spp se pueden encontrar en toda la zona metropolitana de Guadalajara, y que en mayor cantidad en los sectores Juárez y Reforma, por lo tanto, los habitantes en estos sectores se están más expuestos de padecer diarrea por criptosporidiasis.
- 4.- En la planta Potabilizadora No. 1 del SIAPA el número más alto de ooquistes fueron 7 en el mes de Junio y durante los meses de Noviembre a Febrero fué nula su presencia.

B I B L I O G R A F I A

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- 1.- Korich D G; Mead J R; Madore M S; Sinclair N A; Sterling C R: Effets of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on Cryptosporidium parvum oocyst viability source. Appl. Environ Microbiol 1990; 56(5): 1423-8
- 2.- Chapman P A; Rush B A. Efficiency of sand filtration for removing Cryptosporidium oocysts from water. Source: J. Med Microbiol 1990; 32(4): 243-5.
- 3.- Posada G. Pizarro D. Rehidratación oral en niños con diarrea por Cryptosporidium muris. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 1987. 44 (12): 243-5.
- 4.- Weitz J C; Mercado R; Tassara R; Espinoza M; Lorca P; Herskovic P; Atias A: Frecuencia de Cyrtosporidium spp en pacientes hospitalizados con síntomas digestivos. Rev. Chilena Hosp. de Pediatría, 1986. 57 (1):10-12.
- 5.- Weit J C; y col. Brote de criptosporidiosis en un centro de recuperación nutricional. Rev. Chilena de Pediatría, 1987;58(1): 50-53.
- 6.- Sallon S; Richard J; Deckelbaum M D; Limgard I; Schmid; Harlap S; Baras M: Cryptosporidium , Malnutrición, and chronic diarrhea in children. Ameican Journal D.C. 1988 142(1):
- 7.- Cruz J R; Cano F; Cáceres P; Chew F; Pareja G: Infection and diarrhea caused by Cryptosporidium spp among Guatemala infants. Journal clinic Microbiologic. 1988: 26 (1): 88-91.

- 8.- Soave R; Ruiz J; García S V; Garrocho L; Kean B H:
Cryptosporidiosis in a rural Community in central México.
L. Infect Dis. 1989; 159 (6): 1160-62.
- 9.- Hunt G H; Phillips A D; Price E H; Fraafat J A; Walver S:
Cryptosporidiosis in immunocompetent children Queen
Elizabeth Hospital for children, London. Journal clinic
Pathol. 1985; 38(1) 76-81.
- 10.- Ongerth J. E. Stibbs H H: Identification of *Cryptosporidium*
oocysts in river water. Applied Environmental microbiology.
1987 53(4):672-676.
- 11.- Jawetz E. Melnick J L. Adelberg E A. Microbiología Médica.
Cap. 48 Parasitología médica. Ed. EL manual moderno
12ª edición. 1987: 576-577.
- 12.- Beth L P; Ungar R S; Fayer R; Nash T E: Enzyme Immunoassay
detection of immunoglobulin M and G antibodies to
Cryptosporidium spp. in Immunocompetent immunocompromised
persons. The Journal of infectious diseases. 1986. 153 (3):
570-578.
- 13.- Lennette H E; Bolows A; Hawsler J V; Shadomy H J; Manual
of clinic microbiology. EUA: 1985: 643-649.
- 14.- Cortez Z R: Detección de Cryptosporidium spp en niños con
gastroenteritis aguda en la clínica 45 del IMSS,
Universidad de Guadalajara. Facultad de Medicina.
- 15.- Posada G; Pizarro D; Mohs F: Rehidratación oral en niños
con diarrea por *Cryptosporidium muris*. Bol. Med. Hosp.
Infant. Mex. 1987; 44(12) P: 740-743.

- 16.- Fayer R. Ungar, L. P. Cryptosporidium spp. and Cryptosporidiosis microbiological. 1986. 50 (4): 458-483
- 17.- Alos, J. I., Bouza, E. Cryptosporidium y criptosporidiasis Rev. Clin. espe. de Madrid. 1987. 180(1): 385-389
- 18.- Navin, R. T., D. Juranek, D. Cryptosporidiasis. Clinical, Epidemiologic, and Parasitologic Review. Eviews of infectious diseases. 1984 6(13): 313-327.
- 19.- Gallaher, M.M. J. Herdon L., N. Jean L., R. Sterling Ch., J. Grabowski D., F. Hull H. Cryptosporidiasis and surface water. American Journal P. H. 1989 79(1): 39-42.
- 20.- Velarde G. E., Chávez L. M., Coello R. P., Aguilar B. P. Cryptosporidium sp en niños hospitalizados, su relación con síndrome diarreico. Centro médico del IMSS: 1-11.
- 21.- Madore S. M., Rose B. J., Gerba P. Ch., Arrowood L. M., Sterling R. Ch. Ocurrence of Cryptosporidium oocyst in sewage effluents and selected surface waters. American Society of parasitologist 1987; 73(4): 702-705.
- 22.- Janoff E. N., Reller L. B. Cryptosporidium species, a Protean Protozoan. J. Clin. Microbiol. 1987. 25(6):967-975.
- 23.-Wolfson, J. L., Richter J. M., Waldrom, D. J., McCarthy D. M., Hoskins C. C., Cryptosporidiosis in Immunocompetent Patients N. Engl J. Med. 1985. 312: 1278-1282.
- 24.-Fayer R., Ungar B. L. P. Cryptosporidium cryptosporidiosis. Microbiol. Rev. 1986, 50(4): 458-483.

- 25.- Jokipii L., Jokipii A. M. M. Timing of symptom and oocyst excretion in human Cryptosporidiosis. N. Engl. J Med 1986,315: 1643-7.
- 26.- Tzipori S, Smith M., Birch C., Barnes G., Bishop R. Cryptosporidiosis in hospital patients with gastroenteritis. American Journal Trop Med Hyg. 1983,2(5): 931-934
- 27.- Manabb S. J. N. Hensel D. M., Welch D. F. Heijbol H. Mckee G. L., Istre G. R. Comparison of sedimentation and flotation Techniques for identification of Cryptosporidium spp oocysts in a large outbreak of human diarrhea. J. Clin. Microbiol. 1985. 22(4):587- 589.
- 28.- García L.S., Bruckner D.S., Brewer T. C., Shimizu R. Y. Techniques for the recovery and Identification of Cryptosporidium oocysts from stool specimens. J. Clin. Microbiol. 1983. 18(1):185-190.
- 29.- Casemore D.P., Armstrong M., Sand R. L. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. J. Clin Pathol. 1985. 38:1337-1341.
- 30.- Thomson M. A., Benson J. W. T., Wright P. A. Two year study of Cryptosporidium infection. Arch. Dis. Child. 1987. 62:559-63.
- 31.-Blanco R. A. Samyoa J. C. Diarrea y Cryptosporidium en Guatemala. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 1988, 45(3):139-143.
- 32.- Sallon C., Deckelbaun R. J., Schmid I. I., Harlp S., Baras M., Spira D. T. Cryptosporidium. Malnutrition and Chronic Diarrhea in children. ALDC. 1988, 142:312-315.

- 33.- Weitz J.C., Mercado R., Tassara R., Espinoza M., Lorca P., Hersk P., Atias A. Frecuencia de Cryptosporidium spp en pacientes hospitalizados, con síntomas digestivos. Rev. Child Pediatr. 57(1) 1986. 10-12.
- 34.- Weitz JC; Tassara R; Mercado R; Santa maría F; Maida M; Lorca P; Atias A: Brote de Cryptosporidiosis en un centro de recuperación nutricional: Rev. Chil-Pediatr. 58(1) 1987. 50-53.
- 35.- Smith HV; Rose JB: Waterborne Cryptosporidiosis. parasitology today; 6(1) 1990: 8-12.
- 36.- Posada G; Pizarro D; Mohs E: Rehidratación oral en niños con diarrea por Cryptosporidium muris. Bol. med. Hosp. Infant, Mex. 44(12); 1987. 740-744.
- 37.- Clotet B; Sirera G; Cofan I; Monterola JM; Tortosa F; Foz M: Efficacy of the somatostatin analogue (SMS 201-995), Sandostatín, for Cryptosporidial diarrhoea in patients with AIDS. AIDS 3(12); 1989. 857-858.
- 38.- Pape JW: Treatment of gastrointestinal infections. AIDS 2(1).1988: 161-167.
- 39.- Pinching AJ: Editorial review prophylactic and maintenance therapy for opportunist infection in AIDS: 1988 28(0): 1146-1147.
- 40.- Clezy K; Gold J; Jones P: Paramomicyn for the treatment of Cryptosporidial diarrhoea in AIDS patients. Centre Sydney Hosp. and Special care Unit, Sydney Australia. 1991 5(9): 1146-1147.

- 41.- Sistema Intermunicipal de los Servicios de agua potable y alcantarillado de la zona metropolitana de Guadalajara. " Queremos que conozcas como captamos y tratamos el agua" (Folleto).
- 42.- Musial CE; Arrowood MJ; Sterling CHR; Gerba Ch: Detection of Cryptosporidium in water by using polypropylene cartridge filters. Applied Environmental Microbiology. 1987 53(4): 687-692.
- 43.- Blanco RA; Samayoa JC: Diarrea y Cryptosporidium en Guatemala. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 1988 45(3): 139-143.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- * Stites D P. Stobo J D. Wells J V. Inmunología básica y clínica. Edi. Manual Moderno 6ª edición, México D.F. 1988.
- * Spigel M R. Estadística. 2ª Edición Edi. Mc Graw Hill. 1991
- * Juárez J C. Figueroa H H. Técnicas Biológicas selectas de Laboratorio y de Campo. Edi. Limusa 1987.