



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
“Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA**

Cryptosporidium spp **Y OTROS ENTEROPARASITOS EN AGUAS
RECREACIONALES DE LA REPRESA HORIZONTE.
UPATA, ESTADO BOLÍVAR**

Tutor:
Prof. Iván Amaya

Anteproyecto presentado por:
Br. Avis Ayala, Karlenys del Valle
C.I: 16.517.084
Br. Houda Faress, Giovanella
C.I: 17.068.717

Ciudad Bolívar, Noviembre 2011.

ÍNDICE

ÍNDICE	ii
DEDICATORIA	iv
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	viii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	12
OBJETIVOS	13
Objetivo General	13
Objetivos Específicos.....	13
METODOLOGÍA	14
Diseño de la Investigación	14
Área de estudio.....	14
Universo	17
Muestra.....	18
Procedimiento:	18
Instrumentos de Recolección de Datos	18
Análisis estadístico.....	22
RESULTADOS	24
Tabla 1.....	26
Tabla 2.....	27
Tabla 3.....	28
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	34
RECOMENDACIONES	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

APÉNDICES..... 42
ANEXO 52

DEDICATORIA

A mi Dios por ser parte fundamental e importante en mi vida, por guiar mis pasos y nunca dejarme caer a pesar de ciertas adversidades , gracias por hacerme cada día mas fuerte y permitirme dar lo mejor de mí.

A mi amada madre Carmen Ayala (QEPD), mi vieja no estás conmigo como quisiera yo celebrar juntas este momento, pero sé que desde el cielo y junto a mi hermano estarán muy orgullosos de mi, te prometí que sería una profesional y aquí estoy cumpliendo con esa promesa gracias por enseñarme a ser quien soy ahora, te amo madre!.

A mi querido padre Florencio Avis por ser el más perfecto ejemplo de amor y lealtad gracias por confiar y creer en mí, sin ti no lo hubiese logrado mi viejo has sido el mejor padre compañero y apoyo que he tenido en toda mi carrera, orgullosa me siento de ser tu hija y parte de esta felicidad que hoy se está presentando es gracias a ti. Te amo!.

A mi adorado hermano José Gregorio (QEPD), por ser el mejor hermano y aunque ya no estés aquí con nosotros Goyito, mis triunfos siempre serán para ustedes y en especial para nuestro José Alejandro, te prometí cuidarlo y protegerlo y ofrecerle todo lo que tú no lograste darle, y eso haré hermano!.

A mis tíos Alexis Narváez, Marlene Zambrano, Sonia Narváez, Enrique Narváez y Orlando Ayala quienes siempre confiaron en mí y nunca dejaron de apoyarme, más que agradecida me siento orgullosa de tenerlos. Gracias por su ayuda incondicional y sincera, en esta etapa tan importante en mi vida sin ustedes y mi padre no lo hubiese logrado.

A mi hermana, amiga, confidente y compañera de tesis Giovanella Houda por brindarme todo su apoyo y amistad verdadera e incondicional, gracias por ser siempre tan especial tanto tú como tu familia. Juntas hasta el final, lo logramos mi Giova.

A mis compañeros que siempre estuvieron allí de manera incondicional en especial a Renny Rivas, Luis Rivas y Dexnne maza gracias por su amistad!.

Karlenys del Valle Avis Ayala.

DEDICATORIA

A Dios por brindarme la oportunidad y la dicha de la vida, al brindarme los medios necesarios para continuar mi formación como Lcda. en Bioanálisis y siendo mi apoyo incondicional para lograrlo ya que sin él no hubiera podido.

A mis padres Elias Houda y Sonia Faress por su comprensión y ayuda en los buenos y malos momentos, me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Me han dado todo lo que soy, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, todo con gran amor y sin pedir nada a cambio.

A mis hermanos por haberme dado la fuerza y apoyo incondicional, que me ha ayudado y llevado hasta donde estoy ahora, para alcanzar esta meta importante en mi vida.

A mis sobrinos, que más que eso son casi mis hijos, quienes me dan fuerza, alegría y valor para seguir adelante.

A Leonardo José Russo Rivas (QEPD), se que en estos momentos no estás a mi lado, pero también sé que estés donde estés, estarás celebrando más que yo este día, porque este título es de los dos!, tu siempre fuiste mi protector y en este momento te puedo describir solo así, fuiste mi todo, creíste en mí y me apoyaste, te lo agradeceré de por vida, te prometí que terminaría mi carrera y estarías presente hasta el final. ¡Promesa Cumplida!

A mis cuñados por brindarme comprensión siempre que lo he necesitado.

A todos mis profesores los cuales me sirvieron de guía y apoyo durante toda mi carrera en especial y con mucho cariño a los profesores Rafael Gonzalez, Ivan Amaya, Maria Eugenia Tepedino, Germán Guzmán, Benzon Charmelo y Helga Hernández.

Y por ultimo pero no menos importante, estaré eternamente agradecida a mi compañera de tesis Karlenis del Valle Avis Ayala, ya que ella más que mi compañera la considero mi mejor amiga y una hermana más. Estoy orgullosa de ella porque sé que soy digna de poseer su amistad, no todo el mundo puede decir lo mismo de su compañera de tesis. ¡Soy una mujer Afortunada!

Giovanella, Houda Fares.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por sobre todas las cosas y a nuestras familias, padres, hermanos, a todos los que nos han ayudado a estar disfrutando de este momento y vivir este triunfo, esta etapa que recién termina de nuestras vidas y que nos han marcado el camino a seguir como seres humanos realizados, productivos y felices.

Nos gustaría agradecer sinceramente a nuestro tutor Lcdo. Iván Amaya, su esfuerzo y dedicación, los conocimientos compartidos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para nuestra formación como investigadores. El ha inculcado en nosotras un sentido de seriedad, responsabilidad y rigor académico sin los cuales no podríamos tener una formación completa como investigador. A su manera, ha sido capaz de ganarse nuestra lealtad y admiración, así como sentirnos en deuda con el por todo lo recibido durante el periodo de tiempo que ha durado la carrera.

De igual manera queremos agradecer a los profesores del departamento de Bioanálisis su lado hermano y su visión crítica de nuestros aspectos cotidianos de la vida que nos ayudaron a formarnos como personas y como investigadores.

Karlenis Avis y Giovanella Houda.

RESUMEN

Cryptosporidium spp Y OTROS ENTEROPARÁSITOS EN AGUAS RECREACIONALES DE LA REPRESA HORIZONTE. UPATA, ESTADO BOLÍVAR

Avis Ayala, Karlenys del Valle y HoudaFaress, Giovanella

Departamento de Parasitología y Microbiología. Escuela de Ciencias de la Salud.

Universidad de Oriente - Núcleo Bolívar

El agua es un recurso indispensable para la vida y salud de todos los seres vivos. En las represas y más aun, en aguas de tipos recreacional, donde el acceso a agua segura desempeña un papel fundamental en la disminución de la incidencia de muchas enfermedades infecciosas que pueden afectar a todos los grupos de la población, sobre todo a los más desprotegidos, entre ellos los ancianos, mujeres, niños y enfermos de cuidado. El presente estudio tuvo como objetivo señalar la presencia *Cryptosporidium spp* y otros enteroparásitos en aguas recreacionales de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar. Fue un estudio de tipo prospectivo, descriptivo, transversal y de campo, basado en los lineamientos designados por las Normas Venezolanas COVENIN. Se tomaron cuarenta (40) muestras de agua de 5 lts cada una tomada en puntos al azar de la Represa Horizonte, las cuales fueron trasladadas y procesadas en el laboratorio de coproparasitología del departamento de Parasitología y Microbiología de la Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad de Oriente – Núcleo Bolívar. Los resultados permiten evidenciar que *Cryptosporidium spp* ocupó el cuarto lugar de frecuencia con un 20%, (8 casos) entre los parásitos encontrados en las estaciones muestreadas, especialmente en la estación 3 donde se encontraron mayor cantidad de parásitos, obteniendo el mayor porcentaje de materia orgánica (49%) y el menor pH (5,12) y de los protozoarios el mas predominante fue *Blastocystis spp*.

Palabras claves: *Cryptosporidium spp* en aguas, enteroparasitos de interés médico.

INTRODUCCIÓN

La calidad del agua es sumamente importante si se tiene en cuenta que ésta es un importante vehículo de transmisión de enfermedades, bien sea por contaminación microbiológica producida por patógenos intestinales como bacterias, virus, protozoos, helmintos; o por contaminación fisicoquímica debido a la aparición de sustancias no deseables (Rodríguez et al., 2003).

Más de 2,2 millones de personas en el mundo, mueren a causa de enfermedades vinculadas al agua insegura. Las enfermedades parasitarias transmitidas por el agua, son aquellas causadas por organismos acuáticos que pasan una parte de su ciclo vital en el agua y otra parte como parásitos de animales. Los causantes de estas enfermedades son una variedad de gusanos, tenias, lombrices intestinales, nematodos del tejido y amebas, que infectan al hombre e impiden a las personas llevar una vida estable (OPS, 2003).

A nivel mundial, el 80% de las enfermedades infecciosas y parasitarias gastrointestinales y una tercera parte de las defunciones causadas por éstas se deben al uso y consumo de agua insalubre. La falta de higiene y la carencia o el mal funcionamiento de los servicios sanitarios son algunas de las razones por las que la diarrea continúa representando un importante problema de salud en países en desarrollo. El agua y los alimentos contaminados se consideran como los principales vehículos involucrados en la transmisión de bacterias, virus o parásitos. Los organismos transmitidos por el agua habitualmente crecen en el tracto intestinal y abandonan el cuerpo por las heces (Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua, 2011).

Las enfermedades de transmisión hídrica, entre ellas las parasitosis son la segunda causa de ingresos en los hospitales públicos por ser un vehículo de transmisión y permitir la supervivencia de las formas infectantes, liberándolas directamente al medio ambiente, contaminando agua y alimentos. El agua cumple un importante papel como diseminador de las formas infectantes, como sucede con los quistes de *Giardia sp*, *Entamoeba histolytica*, *Acanthamoeba sp*, así como ooquistes de *Cryptosporidium spp*, *Isospora belli*, y trofozoitos de *Naegleria fowleri*, entre otros, al igual que de helmintos de diferentes géneros (Chandrashekhar, 2008).

Los protozoos tienen importancia en la industria del agua, pues ésta es un vehículo para la transmisión de la mayoría de estos organismos. Los principales mecanismos de transmisión hídrica son la ingestión de agua contaminada, por contacto y la recontaminación por mala higiene doméstica. Diferentes autores señalan que existen varios protozoarios, que bajo ciertas circunstancias pueden volverse patógenos y causar problemas de salud, mediante la ingestión de agua, recreación e irrigación de vegetales frescos de consumo directo (Solarte et al., 2006).

Entre las infecciones parasitarias, las producidas por protozoarios intestinales cobran enorme importancia por su responsabilidad en la producción del 15% de diarreas agudas infantil, alcanzando una incidencia mayor, entre el 20 al 30% en diarreas crónicas, en donde destaca por su frecuencia y severidad, las infecciones por *Giardia intestinalis* y coccidios intestinales, especialmente aquellas causadas por el género *Cryptosporidium sp*. constituyendo un importante problema de salud en la mayoría de los países latinoamericanos (Ríos et al., 2002).

Tyzzar fue el primero en describir, a principios del siglo XX, una infección en el ratón común (*Mus musculus*), debida a un protozoo del género *Cryptosporidium*. En 1955 Slavin señaló a este protozoo como causa posible de diarreas en pavos. Más tarde, en el decenio de 1970, se comprobó su presencia en los terneros. Sin embargo,

hasta que no se comprobó que el agente causal era un coccidio, no se prestó demasiada atención al agente etiológico (Sanz, 2010).

En 1976, casi simultáneamente Nime et al. y Meisel et al., informaron por primera vez criptosporidiosis en humanos. En 1977 se señala por primera vez en forma completa *Cryptosporidium* en reptiles. En 1982, son por Centres for Diseases Control de EE.UU. los casos de 21 hombres con criptosporidiosis y SIDA en seis ciudades. En 1990, ocurre la aplicación de técnicas moleculares en la identificación de especies lo que contribuye a la clasificación, complejidad y conocimiento de especies y especificidad de hospedadores de *Cryptosporidium* (De la Parte et al., 2005).

Los coccidios del género *Cryptosporidium* son parásitos intracelulares obligados con un ciclo biológico complejo, que incluye la reproducción sexual y asexual. Produce ooquistes de pared gruesa de 4 a 6 μm de diámetro que se eliminan por las heces. El género *Cryptosporidium* está compuesto por unas ocho especies. Las especies *C. hominis* y *C. parvum* es la responsable de la mayoría de las infecciones en el ser humano, aunque otras especies también pueden causar enfermedades. *Cryptosporidium* es uno de los mejores ejemplos de microorganismo causante de una «enfermedad emergente». Hasta 1976 no se descubrió que infectaba a las personas y la transmisión por el agua se confirmó por vez primera en 1984 (OMS, 2006).

Principio del formulario

Final del formulario

Este parásito es un protozooario del phylum Apicomplexa, el único Coccidios perteneciente a la familia Cryptosporidiidae. Igualmente, el género *Cryptosporidium* en la actualidad cuenta con aproximadamente 21 especies y unos 40 genotipos. Numerosos vertebrados como mamíferos, aves, reptiles, peces y anfibios,

son sus anfitriones, algunas de los cuales afectan al hombre causando una infección llamada Criptosporidiosis, que afecta al aparato digestivo de varios vertebrados incluido el hombre, ocasionalmente encontrado en el epitelio respiratorio (Vargas, 2008; Pereira et al., 2009).

Presenta una morfología variada, un ooquiste esférico u ovoide, esporozoítos periféricos y un cuerpo residual central. La capa externa, de 5 nm de espesor, presenta abundante material filamentoso y glicoproteínas ácidas. Está separada por 5 nm de distancia de una capa central electrodensa, rígida, de 10 nm de espesor, de composición lipídica. La capa interna, de composición glicoproteica, presenta 20 nm de espesor. Una característica única que distingue al género es la presencia de una línea de sutura en la pared del ooquiste. Los micronemas, las roptrias y los gránulos densos conforman el denominado complejo apical. Son estructuras que contienen una compleja mezcla de proteínas que se secretan a nivel del extremo apical del zoíto (Del Coco y Basualdo, 2005).

El género *Cryptosporidium* tiene un ciclo de vida monoxeno pues todas las etapas de su desarrollo se completan dentro del tracto gastrointestinal de un único huésped. Presentan un estadio exógeno que corresponde a los ooquistes esporulados excretados por las heces de los huéspedes infectados, u otros materiales biológicos como las secreciones respiratorias. La fase endógena del ciclo comienza una vez que el huésped apropiado ingiere (o inhala) los ooquistes que contienen cuatro estadios haploides o esporozoítos, los cuales escapan a través de una fisura que se abre en la pared del ooquiste (Lujan y Garbossa, 2008).

Este ooquiste contiene 4 esporozoitos en su interior, que son liberados en tracto digestivo por acción del ácido clorhídrico y enzimas digestivas, estos terminan colonizando las células epiteliales del intestino y se multiplican en la zona apical de las microvellosidades intestinales. En esta fase comienzan la fase asexual de su

multiplicación, algunas de las células formadas se transforman en gametos masculino y femenino, con lo que comienza la fase sexuada, fecundándose el macrogameto (femenino) por el microgameto (masculino), formando así el ooquiste (forma infectante) que es eliminado con las heces fecales, siendo inmediatamente infectante (Chávez, 2008).

La infección por *Cryptosporidium* se inicia por ingestión, tal vez también por inhalación, de ooquistes que completan su ciclo vital en el interior del organismo que han infectado. *Cryptosporidium* puede transmitirse de humanos a humanos, de humanos a animales y de animales a humanos. Además de la contaminación fecal del medio ambiente puede producirse la diseminación a través del agua, de los alimentos e incluso del aire, a través de las manos o de los objetos contaminados. La diseminación interpersonal es más fácil entre los niños asistentes a guarderías, entre los contactos intrafamiliares del caso índice y entre pacientes hospitalizados y el personal sanitario (Uberos, 2009).

El periodo de incubación de la criptosporidiosis suele ser de 7 a 10 días desde la ingestión de los quistes. En los inmunocompetentes el proceso es autolimitado, de una semana de duración; excepcionalmente, puede prolongarse varias semanas y los síntomas más frecuentes son náuseas, fiebre, dolor abdominal y diarrea de 2-10 deposiciones diarias. Las heces contienen principalmente agua y moco y poca materia fecal, pero muy raramente sangre o leucocitos. Algunos pacientes sólo presentan síntomas leves, mientras que otros requieren rehidratación oral o parenteral y la diarrea persiste por encima de las cuatro semanas; esto ocurre especialmente en ancianos y en niños (García et al., 2005).

Existen múltiples métodos para determinar la presencia de *Cryptosporidium* spp en agua. La filtración de grandes volúmenes de agua con filtros de policarbonato con poros menores a 1 μm es utilizada para la obtención y marcaje posterior de ooquistes,

métodos más finos de identificación como: el examen de purificados mediante DIC (contraste diferencial de interferencia), y la tinción fluorescente DAPI (4'6-diamidino-2-fenil indol). Esta última interactúa con los ácidos nucleicos de los esporozoítos contenidos en el ooquiste. También se utilizan kits (ELISA) para la identificación de coproantígenos e inmunofluorescencia (IFA). Entre las técnicas moleculares cabe mencionar algunas técnicas de PCR y otros métodos basados en la detección de DNA (Uribarren, 2010).

También, para la concentración de protozoarios en las muestras de fuentes de agua se emplean técnicas de floculación con formol éter y carbonato de calcio centrifugando a 1050 x g por 10 minutos para la recuperación de los ooquistes, de los cuales se obtiene sedimento y sobrenadante utilizados para la visualización microscópica mediante un examen al fresco con coloración de Kinyoun (Bracho et al., 2007).

En la literatura mundial las diversas investigaciones de prevalencia de *Cryptosporidium* spp. han ofrecido datos que van desde 0% hasta 46.7% según la región geográfica, el tipo de población en estudio, la comorbilidad y el estado inmunológico. Por lo general, los países con condiciones socioeconómicas desfavorables y malas condiciones de vida y de salubridad presentan prevalencias más elevadas (Arango et al., 2006).

En términos epidemiológicos, los ooquistes de *Cryptosporidium* presentan características biológicas trascendentales: tamaño pequeño, dureza extraordinaria, resistencia al tratamiento con cloro y con ácidos, viabilidad prolongada de hasta varios meses en el ambiente, excreción de estadios infectivos, requerimiento de bajo número (1-10 ooquistes) para infectar otros organismos y considerable potencial zoonótico (Lujan y Garbossa, 2008).

En diversos estudios epidemiológicos se ha demostrado la importancia de *Cryptosporidium* sp y *Giardia* sp como causantes de desórdenes gástricos. Fueron éstos los enteroparásitos más comúnmente encontrados; generalmente el control del primero de ellos es considerado como prioridad para las empresas de suministro de agua potable. Inicialmente se consideró a la criptosporidiosis como una zoonosis que se adquiriría por la vía animal-hombre, pero ahora se reconoce que puede transmitirse hombre-hombre. La carencia de un huésped con un potencial zoonótico alto y la autoinfección hacen de la epidemiología de la criptosporidiosis única entre las coccidiosis (Sandoval et al., 2003).

Según, la Organización Mundial de la Salud (2006), se han notificado concentraciones de hasta 14 000 ooquistes por litro en aguas residuales sin tratar y de 5800 ooquistes por litro en aguas superficiales. Los ooquistes pueden sobrevivir semanas o meses en agua dulce. Se han detectado ooquistes de *Cryptosporidium* sp en muchos sistemas de abastecimiento de agua de consumo. No obstante, en la mayoría de los casos, hay poca información acerca de la presencia de especies con capacidad de infectar al ser humano. Las técnicas convencionales de análisis disponibles en la actualidad proporcionan una medida indirecta de la viabilidad de los microorganismos, pero no de su infectividad para el ser humano. También se han detectado ooquistes en aguas para uso recreativo.

En la población de Milwaukee, EE.UU, se propagó un brote masivo de la infección por *Cryptosporidium* transmitidas por el agua producida en el área metropolitana en año 1993. Se estima que más de 400.000 personas se vieron afectadas durante este brote, sin embargo en el estudio realizado en esa ciudad, la infección por *Cryptosporidium* fue confirmada en más de 600 personas con enfermedades gastrointestinales en asociación con este brote. Más de la mitad de las personas que recibieron agua potable residencial sobre todo de la planta del sur de tratamiento de agua se enfermó, lo que correspondía al doble de la tasa de

enfermedad entre las personas cuyas viviendas el agua potable provino principalmente de las plantas del norte (Mac Kenzie et al., 1994).

En México, Díaz et al. (2003), determinaron la presencia de ooquistes de *C. parvum* en el agua de consumo humano en Ciudad Obregón, Sonora y la relacionaron con los parámetros fisicoquímicos: pH, cloro libre, turbidez y temperatura, para lo cual, en este estudio se analizaron aproximadamente 1000 litros de agua. Se encontraron ooquistes de *C. parvum* en 69 % de las muestras con una media de 4.75 ooquistes/1000 L. Se efectuó un análisis de correlación entre el número de ooquistes totales y viables y los parámetros fisicoquímicos; encontrándose que los ooquistes totales tuvieron una débil asociación con la temperatura.

De manera similar en Argentina, se determinó el papel del agua de consumo de origen subterráneo en la transmisión de las enteroparasitosis. Se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en el agua que abastece a uno de dichos núcleos poblacionales, utilizando el método de filtración, además de exámenes microscópicos en fresco y de coloraciones vitales, permanentes y diferenciales. Demostrando mediante estudio que la ausencia de dichos parámetros no es suficiente para descartar la contaminación con ciertos protozoarios (Abramovich et al., 1996).

Con respecto a aguas superficiales, Luna et al. (2002), en Costa Rica realizó un análisis de las aguas de este país determinando la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. La planta de tratamiento estudiada pertenece al Instituto Nacional de Acueductos y Alcantarillados de Costa Rica. Seis de las siete muestras de agua cruda (85,7%) y cuatro de las siete de agua tratada (57%) presentaron ooquistes de *Cryptosporidium*. Cinco muestras fueron positivas durante la estación lluviosa y cinco durante la estación seca.

En Brasil, Aguirre et al. (2002), determinaron la presencia de quistes de *Giardia* spp y ooquistes de *Cryptosporidium* spp en muestras de agua en las distintas etapas del tratamiento: agua bruta captada, agua de lavado de los filtros, agua de lavado clarificada y agua del lodo dedecantador clarificada de Sao Paulo. Fueron examinadas 24 muestras y los quistes de *Giardia* estuvieron presentes en dos muestras (2+/8), con concentración de 400quistes/L, no siendo detectada la presencia de *Cryptosporidium* spp, lo que puede explicarse por el hecho de que las muestras habían sido sometidas a la etapa de clarificación.

En Colombia, Alarcón et al. (2005), realizaron un trabajo donde analizó la presencia de estos protozoos en cinco estaciones de muestreo en la cuenca alta del río Bogotá y en dos sistema de potabilización en la misma área. Se confirmó la presencia de *Cryptosporidium* spp en dos de las estaciones del río Bogotá y en las dos potabilizadoras. *Giardia* spp se encontró en las dos potabilizadoras pero no en el río Bogotá. La viabilidad fue positiva para *Cryptosporidium* spp en una muestra proveniente del río, y negativa para la muestra de agua potable.

Báez de Borges et al. (1987), iniciaron los estudios la criptosporidiosis en Venezuela, siendo esta infección una entidad subdiagnosticada en general, debido a que no se sospecha clínicamente y, por lo tanto, no se investiga rutinariamente en el laboratorio clínico. (De la Parte et al., 2005). Arcay y Bruzual (1993), examinaron muestras de agua de ríos de Venezuela en diferentes localidades con el objeto de detectar la presencia de *Cryptosporidium* spp. De un total de 10 ríos examinados, 6 resultaron positivos (60 %). Se estudiaron dos poblaciones humanas de un río seleccionado (Río Anare): a) pacientes de un hospital psiquiátrico en la margen derecha del río; b) pacientes de una zona marginal del lado opuesto del río. Resultando un alto índice de infección en las aguas de este río (8,333.33 ooquistes/litro de agua); 57,3% de pacientes positivos del hospital; 73,8% de pacientes positivos de la zona marginal.

En Maracaibo, Arnedo et al. (2008), evaluaron las técnicas para la detección de *Cryptosporidium* spp. en sistemas de tratamiento de agua residual del Sistema de Lagunas de Estabilización "Planta de Tratamiento de Aguas Servidas Sur". Se detectó *Cryptosporidium* spp. en el 100% de las muestras analizadas. Los promedios de *Cryptosporidium* spp. detectados por la técnica de Kinyoun fueron: en la entrada de la planta $4,9 \times 10^5$ ooquistes/100L, en los módulos primarios $1,2 \times 10^5$ ooquistes/100L, en la laguna facultativas $5,9 \times 10^4$ ooquistes/100L y en la salida $3,0 \times 10^4$ ooquistes/100L, mientras que para *C. parvum* por inmunofluorescencia fueron: 5,9., 7,7., 3,1 y $3,0 \times 10^4$ ooquistes/100L, respectivamente.

Además, en un estudio realizado por Bracho et al. (2007), evaluaron la presencia de *G. lamblia* y *C. parvum* en muestras de agua potable provenientes de fuentes subterráneas (FS) y del sistema municipal de suministro (SMS) de la ciudad de Maracaibo. Los quistes de *G. lamblia* estuvieron presentes en 43,75% de las muestras de FS (18- 75 quistes/100L, promedio: 45,2 quistes/100L) y los ooquistes de *C. parvum* en el 68,75% de estas (18- 75 ooquistes/100L, promedio: 38,9 ooquistes/100L). En el agua del SMS se detectaron ooquistes de *C. parvum* en 90% (1,2-8,4 ooquistes/100L, promedio: 3,75 ooquistes/100L). Por lo que el 83,3% de las muestras analizadas incumplieron la normativa venezolana para la calidad del agua potable, por lo que no se consideran aptas para el consumo humano.

También, en el estado Bolívar, Cermeño et al. (2008), identificaron la presencia de *C. parvum* y *G. lamblia* en aguas de consumo humano antes y después del tratamiento físico-químico y en pozos profundos, utilizando el método de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales (para *C. parvum* y *Giardia* y el método de tinción tricrómica para *Microsporidium* spp. Se demostró *C. parvum* (28,57%) y *G. lamblia* (23,81%) antes de tratamiento de las aguas y 14,2% de ambos protozoarios después del tratamiento. Sólo uno de los pozos de agua presentó *C. parvum* (4,76%). Y concluyeron que *C. parvum* y *G. lamblia* son resistentes al

tratamiento físico-químico de las aguas, lo cual constituye un riesgo para las personas que utilicen esas fuentes.

Ya que el agua es un importante agente para la diseminación de este protozooario y otros agentes infecciosos, resulta importante realizar investigaciones en áreas de almacenamiento de agua de consumo o con fines recreacionales, a fin de valorar el riesgo por infección de *Cryptosporidium* spp, así como, el comportamiento de las especies circulantes, y de esta manera establecer las medidas necesarias para su prevención y posible control. Por tal razón, se propuso investigar la presencia de *Cryptosporidium* spp y otros enteroparásitos en aguas recreacionales de la Represa Horizonte, en Uputa, Estado Bolívar.

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones transmitidas a través del ambiente han sido desde siempre uno de los principales problemas de salud pública; su transmisión se debe principalmente al consumo de alimentos y agua contaminada. En los países en vías desarrollo las enfermedades infecciosas son la mayor causa de morbilidad y mortalidad, tomando en cuenta mayormente a los microorganismos que se transmiten a través del agua, los cuales son bacterias, virus y protozoarios; incluyendo amebas, flagelados, coccidias y ciliados (Sandoval *et al.*, 2003).

Cryptosporidium es un patógeno entérico que desencadena una enfermedad diarreica cuya morbilidad y mortalidad son significativas tanto para los seres humanos como para los animales. Las rutas de transmisión son múltiples (persona a persona, animales a personas, agua, alimentos, aire) y la enfermedad puede afectar a individuos inmunocomprometidos o no. La criptosporidiosis, entonces, representa una amenaza de alcance mundial que exige una respuesta coordinada de los servicios de salud pública de todos los países (Lujan y Garbossa, 2008).

En relación a lo anterior, el principal propósito de esta investigación fué señalar la presencia *Cryptosporidium* spp y otros enteroparásitos en aguas recreacionales de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar y así proporcionar información acerca de la presencia de estos microorganismos, a fin de proporcionar datos útiles desde el punto de vista de la salud pública para establecer las medidas necesarias para su prevención y posible control.

OBJETIVOS

Objetivo General

Señalar la presencia *Cryptosporidium* spp y otros enteroparásitos en aguas recreacionales de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar.

Objetivos Específicos

Caracterizar fisicoquímicamente muestras de aguas provenientes de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar

Determinar la presencia de *Cryptosporidium* spp a través de diferentes técnicas diagnósticas de laboratorio en muestras de aguas estudiadas

Identificar a través de diferentes métodos diagnósticos de laboratorio especies de comensales y/o enteroparásitos de interés médico en las muestras estudiadas

Comparar presencia de *Cryptosporidium* y las características fisicoquímicas de las muestras de aguas estudiadas.

METODOLOGÍA

Diseño de la Investigación

Se realizó un estudio de tipo prospectivo, descriptivo, transversal y de campo.

Área de estudio

El sector playa horizonte posee una represa que tiene aproximadamente una distancia frontal de sus aguas calculada en unos 4 Km lo cual varía de acuerdo a las curvas de nivel que conforman la naturaleza física del embalse.

Este represamiento en su fase inicial es alimentada a través de un río o quebrada que lleva por nombre TERCARI, ubicado por el lado oeste de la represa; y tiene su aliviadero por el lado este bajo un sistema de seguridad que permite nivelar los niveles de agua, así de esta manera evitar inundaciones o volúmenes de agua que pudieran generar desastres al medio ambiente.

En su recorrido se apreciaron especies forestales tales como:

- Chaparro (Petra Arborea)
- Mandingo
- Manteco (Ocotea MUSiana)
- Fruta de burro montañero (Xilopia Aromatica)
- Moriche sabanero(Mauritia Fleuxoosa)
- Cañafistola (Cassia Moschata)

Por ser esta zona de propiedad privada, se pudo apreciar cantidades grandes de ganado vacuno pastando por las áreas cercanas a la represa lo que nos hace presumir

que todos los excrementos generados por estos animales van a depositarse a través de algunas vías que finalmente van a caer en estas aguas.

El tipo de suelo allí presente es arenoso lo que facilita aún más el drenaje y filtración de las evacuaciones fecales y líquidas de estos animales, produciendo en todo caso la presencia de bacterias en las aguas allí represadas.

En cuanto a la presencia de fauna silvestre y acuática, es un área donde existen animales que mantienen aún sus hábitats naturales y que no emigran porque son terrenos donde se mantienen sus hábitats naturales

Presencia de animales tales como.

- Venados
- Carneros
- Chigüires
- Morrocoy
- Armadillos
- Reptiles: Babas, iguanas, culebras de agua
- Aves silvestres: Garzas, palometas, patos

En el ámbito de la Fauna Acuática se apreciaron peces de las especies:

- Coporo
- Caribes
- Bagres
- Cachamas
- Morocotos

Actualmente se viene fomentando a través de un biólogo marino la reproducción en cautiverio de la cría de cachamas con fines de reproducción y fomento para el desarrollo y comercialización de este espécimen

Para el represamiento de estas aguas se construyó allí un muro de contención que facilita el desplazamiento principalmente en el área que conforma la estructura funcional de la casa de habitación donde se observó un taller de mecánica, un área de ordeño y procesamiento de queso, un área de caballeriza, varios corrales de ganado y de rebaños, un salón de fiestas construido dentro del agua, abundante vegetación con especies plantadas tales como caobas, Apamate, chaguaramas, palmas, y una gran variedad de plantas ornamentales con presencia de algunas especies frutales que le dan un colorido estético a la zona que realza la naturaleza de creación por la persona que realizó tal construcción

Esta represa es visitada por bañistas y turistas que acuden a ella principalmente en temporadas altas y en especial para la época de semana santa pues es permisada por sus propietarios como contribución a la recreación y esparcimiento de la población de el Manteco y pueblos circunvecinos que acuden a ella atraídos principalmente por la belleza y el encanto de sus aguas y el cobijo que presta el área para protegerse de los rayos del sol.

Haciendo uso del Geoposicionador Satelital REGVEN 84, se tomaron algunas coordenadas de interés para conocer la posición geográfica del área de estudio en relación con las muestras que serán recolectadas posteriormente así como algunas informaciones relacionadas con las características físicas y naturales del área, lo que alimentado con las reseñas fotográficas tomas allí mismo nos hace más placentero y real de la importancia que significa el tipo de estudio estructurado como base piramidal para tener una precisión más confiable de las muestras que allí se tomarán.

A tal efecto las coordenadas tomadas fueron las siguientes:

Punto	Coordenadas WGS 84 20N	
	Norte	Este
1	818328	552953
2	816440	555157
3	816476	555062
4	818439	552835
5	817035	555281

Puntos de referencia:

- ❖ El punto N° 1: Tomado en la parte Central de la represa, área asignada para los bañistas
- ❖ El punto N° 2: Tomado en la parte Este de la represa, Casa de habitación del Fundo Horizonte
- ❖ El punto N° 3: Tomado dentro del área que conforma una casa de festejos ubicada dentro de las aguas de la represa
- ❖ El punto N° 4: Tomado en un área que conforma el lado OESTE de la represa
- ❖ El punto N° 5: Tomado exactamente donde se ubica el aliviadero de la represa

Universo

El universo estuvo representado por todo el sistema de suministro de agua de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar.

Muestra

La muestra estuvo conformada por cuarenta (40) muestras de agua de 5 lts cada una tomadas en puntos al azar de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar.

Procedimiento:

Instrumentos de Recolección de Datos

Las muestras de aguas crudas fueron recolectadas en recipientes de plásticos, con capacidad de 5 lts. y esterilizados a 120°C por 15 minutos, protegidas con papel estéril alrededor del cuello de la botella, el promedio de agua recolectada por recipiente fue de 4lts.

Procedimiento para la recolección de muestras de agua cruda de acuerdo a las normas COVENIN: captación manual, directamente de la fuente de agua, a 50 cm de profundidad, evitando residuos vegetales y espuma de la superficie y la toma de temperatura del agua. Luego fueron rotuladas, con localización y código, para ser almacenadas a temperatura ambiente, y trasladadas al laboratorio de coproparasitología del departamento de Parasitología y Microbiología de la Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar en Ciudad Bolívar.

Procedimientos

En el laboratorio de parasitología, se realizaron los diferentes ensayos con el fin de identificar organismos tanto protozoarios como helmintos, para ello se aplicó la metodología de laboratorio para su diagnóstico en materia fecal, modificada para muestras de agua, de acuerdo a las normas internacionales sobre estudios de agua y

las normas COVENIN, estos ensayos fueron realizados por duplicado a fin de verificar la reproducibilidad de los mismos.

Cada muestra de agua primeramente se midió volumétricamente usando cilindros graduados estériles, verificando que el volumen recolectado en ningún caso fue menor a 4 l, posteriormente, de cada muestra se tomó una alícuota de 10 mL y se vertió en un tubo cónico, para posteriormente ser centrifugado a 1500 rpm por 25 min. El sobrenadante se retiró y colocó en otro tubo de ensayo.

Examen directo con solución salina 0.85% y lugol

1. Se rotuló el código de la muestra con el lápiz punta de diamante la lámina portaobjetos.
2. Se depositó una gota de solución salina en el centro de la mitad izquierda del portaobjetos y una gota de solución de lugol en el centro de la mitad derecha.
3. Utilizando el sedimento del centrifugado, se colocó una gota de agua en donde se encontraba la gota solución salina de igual manera se le añadirá una gota de agua a la solución de lugol y se mezcló con los palillos de madera.
4. Se colocó un cubreobjeto en cada gota, apoyándolo primero en ángulo sobre el borde de la misma y bajándolo luego con cuidado a fin que no quedaran burbujas entre el cubreobjeto y el portaobjetos.
5. Se realizó la observación microscópica de estos a 100X y 400X aumentos. Con el objetivo de diagnosticar trofozoitos y quistes de protozoarios y/o huevo y larvas de helmintos.

Estudio fisicoquímico del agua

El sobrenadante que se obtuvo de esta muestra se utilizó para realizar el estudio fisicoquímico, consistente en pH y % de materia orgánica, para esto se utilizó el

equipo Hidroanalyzer C2100a, el cual mediante electrodos precalibrados, emite resultados al analizar un mínimo de 5 mL de agua.

Técnica de Sedimentación Espontánea en Tubo (TSET) o método de lutz.

(Terashima, *et at*,2009)

La técnica se llevó a cabo de acuerdo con las descripciones realizadas por Tello en 1987.

1. Se separaron aproximadamente 20 mL de agua de cada recipiente y fue vertida en un tubo cónico de plástico de 13 x 2.5cm, de 50 ml de capacidad filtrándola a través de gasa (si hubiesen restos vegetales u otro material sólido).
2. Se dejó a temperatura ambiente, 24 horas aproximadamente.
3. Se eliminó el sobrenadante y con una pipeta se tomó una muestra del fondo del tubo. Se colocaron 4 gotas en dos láminas distintas, agregándole luego gotas de lugol y de solución salina a cada una. Finalmente. Se observó al microscopio (100X y 400X aumentos).

Preparación de las muestras de agua para diagnóstico específico de *Cryptosporidium* (Filtrado de agua)

1. Se procedió a realizar el filtrado de la totalidad de la muestra recolectada, luego de haber realizado las técnicas anteriormente descritas. Para esto se colocó un embudo de vidrio de 20 cm de diámetro en cuyo interior se colocó papel de filtro Whatman N°5 (estéril), todo montado en un soporte universal, se filtró el agua por este dispositivo, recogiendo el agua filtrada en otro recipiente, y repitiendo este filtrado 25 veces por muestra, sin cambiar el papel de filtro, al cabo del ultimo filtrado,
2. Se descartó definitivamente la muestra de agua y con ayuda de una pinza, se tomó el papel de filtro y se dejó remojar en un tubo de decantación con agua destilada estéril durante 24 horas.

3. Al cabo de este tiempo, el papel de filtro se deshizo y para asegurar su completa desintegración se pasó por un vortex por 5 minutos.
4. Se realizó un filtrado simple de este material con papel whatman n°1 recolectado el líquido filtrado en un tubo cónico de centrifuga
5. Se llevó a centrifugar por 25 minutos a 1500 rpm. Al cabo de ese tiempo, se descartó el sobrenadante, y con la ayuda de una pipeta pasteur.
6. Se realizaron 4 láminas portaobjetos con la muestra colocando una gota de sedimento en cada lámina, dejando secar y reservando para las pruebas siguientes, dos láminas se destinaron a la técnica de kinyoun y 2 láminas a la técnica de inmunofluorescencia.

Coloración de kinyoun (coloración de Zieh-Neelsen modificada para *Cryptosporidium*)

1. La lámina previamente realizada se cubrió 10 minutos con metanol para lograr fijar la muestra.
2. La lámina ya fijada se cubrió en su totalidad con Carbofucsima de Kinyoun (fucsina básica: 4g, etanol: 10 ml y fenol al 8%: 90 ml), por un tiempo no menor a 15 minutos.
3. Se realizó luego un lavado con metanol al 50% por 30 segundos.
4. Se enjuagó con agua corriente hasta eliminar el sobrante de colorante
5. Se sumergió durante 20 segundos la lámina en un preparado de alcohol ácido (Etanol: 97mL; Ácido clorhídrico al 99%: 3mL), para lograr el decolorado.
6. Se enjuagó con agua corriente
7. Se cubrió con el colorante de contraste es azul de metileno al 3% (azul de metileno: 3g y etanol al 10%: 100 mL), se dejó por dos minutos.
8. Finalmente se lavó con agua corriente y se dejó secar a temperatura ambiente antes de ver la preparación al microscopio.

9. Los ooquistes se observaron tenidos de color rojo brillante sobre fondo azul. Son redondeados de 3 a 5 micras de diámetro en el caso de *Cryptosporidium*, de 8 a 12 micras para *Cyclospora cayetanensis*. Para diferenciar los géneros, se hizo necesario aplicar la micrometría.

Inmunofluorescencia para Diagnostico en Agua de *Cryptosporidium* y *Giardia* Meryfluor (Meridian Bioscience)

1. Se realizó un extendido de la muestra sobre la lámina marcada como M2
2. Se dejó secar a temperatura ambiente.
3. Se agregó el colorante fluorescente marcado como R1, se dejó actuar durante 45 minutos.
4. Se lavó con agua destilada hasta eliminar el color residual por aproximadamente 45 segundos.
5. Se coloreó con la contra coloración marcada R2, por 20 minutos,
6. Se lavó con agua destilada hasta eliminar el color residual por aproximadamente 45 segundos.
7. Se dejó secar a temperatura ambiente.
8. Se observó con aumentos de 400X y 1000x, en microscopio de fluorescencia a 40 unidades de intensidad lumínica, la positividad se evidenció por la presencia en fondo oscuro de estructuras de coloración naranja a verde con dimensiones entre 3 a 7 micras para *Cryptosporidium* y estructuras verde brillante de 10 micras para *Giardia sp.*

Análisis estadístico

Los datos obtenidos, fueron organizados y distribuidos a través del software estadístico SPSS 18. Los resultados se expresaron en tablas simples y de doble

entrada con cifras absolutas y relativas. Para medir la interdependencia de las variables en estudio se aplicó el estadístico test exacto de Fischer.

RESULTADOS

En la investigación realizada se estudiaron las aguas recreacionales de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar con el objetivo de Señalar la presencia *Cryptosporidium* spp y otros enteroparásitos en estos cuerpos de agua, en el periodo de enero a octubre de 2010.

En la tabla 1, se presentan los casos positivos de muestras con diagnóstico del al menos una especie parásita y/o comensal, en las aguas las estaciones muestreadas, de las 40 muestras recolectadas 23 resultaron positivas (57,50%) , obteniéndose mayor positividad en la estación 3 con 6 casos (15%) y seguido por la estación 1 y 4 con 5 casos (12,5%) cada una, la estación 2 con 4 casos (10%) y la estación 5 con 3 casos (7,5%).

En la tabla 2 se presentan las características fisicoquímicas de las aguas recolectadas, obteniendo una temperatura promedio de 24°C en cada una de las estaciones. En lo que se refiere al pH se encontró que las aguas con mayor acidez correspondieron a la estación 3 con 5,12; seguida de la estación 2 con 5,90, la estación 5 con 5,97, la estación 4 con 6,21 y la estación 1 con 6,23. Al investigar el porcentaje de materia orgánica la estación con mayor concentración fue la estación 3 con un 49%; la estación 5 con 32% seguidas de la estación 2 con 31% y, la estación 1 con 26%. La estación que presentó menor materia orgánica fue la 4 con un 25%.

En la tabla 3, se diagnosticaron un total de 7 especies de enteroparásitos y/o comensales, siendo los protozoarios más frecuentes que los helmintos, destacando *Blastocystis* spp con 50%, teniendo una frecuencia mayor en la estación 3, con 6 casos (75%), estación 1 y 4, con 4 casos (66,67%), y en la estación 2 y 5 con 3 casos (50%). *Giardia* sp (32,50%), *Entamoeba coli* (22,50%). En relación a los coccidios,

se obtuvo que *Cryptosporidium spp* fue el único coccidio diagnosticado con 8 casos (20%), ubicándose en el cuarto lugar de frecuencia general.

En cuanto a la prevalencia de helmintos se encontró que fue el más prevalente *Ascaris lumbricoides* (15%) siendo la mayor frecuencia de casos en la estación 3, con 3 casos (37,50%) y la estación 4, con 2 casos (33%), cabe destacar que se encontraron 4 casos de *Trichuris trichiura* (10%), con mayor frecuencia en la estación 2, con la mitad de los casos (33%)

Tabla 1

**CASOS DE MUESTRAS DE AGUAS POSITIVAS PARA CONTAMINACIÓN
CON ENTEROPARÁSITOS. REPRESA HORIZONTE. UPATA, ESTADO
BOLÍVAR. ENERO A OCTUBRE DE 2010.**

SITIO DE TOMA DE MX	Muestras positivas		Total	
	n	%	n	%
ESTACION 1	5	12,50	8	20,00
ESTACION 2	4	10,00	8	20,00
ESTACION 3	6	15,00	8	20,00
ESTACION 4	5	12,50	8	20,00
ESTACION 5	3	7,50	8	20,00
Total	23	57,50	40	100,00

Tabla 2

**CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE AGUAS RECREACIONALES
DE LA REPRESA HORIZONTE. UPATA, ESTADO BOLÍVAR**

SITIO DE TOMA DE MX	Temperatura de aguas (°C)	Ph	% Materia orgánica	Mx Positivas		Mx con <i>Cryptosporidium spp</i>	
				n	%	n	%
ESTACION 1	24	6,23	26	5	66.67	4	50.00
ESTACION 2	24	5,90	31	4	83.33	3	37.50
ESTACION 3	24	5,12	49	6	50.00	0	0
ESTACION 4	24	6,21	25	5	50.00	2	25.00
ESTACION 5	24	5,97	32	3	83.33	1	12.50

Tabla 3

**FRECUENCIA DE *Cryptosporidium spp* Y OTROS ENTEROPARASITOS EN AGUAS DE LA REPRESA
HORIZONTE. UPATA, ESTADO BOLÍVAR. ENERO A OCTUBRE DE 2010.**

Especie	SITIO DE TOMA DE MUESTRAS										Total	
	ESTACION		ESTACION		ESTACION		ESTACION		ESTACION			
	1	%	2	%	3	%	4	%	5	%		
Protozoarios												
<i>Blastocystis spp</i>	4	66,67	3	50,00	6	75,00	4	66,67	3	50,00	20	50,00
<i>Giardia</i>	3	50,00	2	33,33	4	50,00	2	33,33	2	33,33	13	32,50
<i>Entamoeba coli</i>	2	33,33	1	16,67	3	37,50	0	0,00	3	50,00	9	22,50
<i>Endolimax nana</i>	1	16,67	1	16,67	0	0,00	0	0,00	1	16,67	3	7,50
<i>Cryptosporidium spp</i>	2	33,33	2	33,33	2	25,00	0	0,00	2	33,33	8	20,00
Helmintos												
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	16,67	0	0,00	3	37,50	2	33,33	0	0,00	6	15,00
<i>Trichuris trichiura</i>	1	16,67	2	33,33	1	12,50	0	0,00	0	0,00	4	10,00

DISCUSIÓN

La contaminación de las fuentes de agua por *Cryptosporidium spp*, constituye un grave problema de salud pública, pues, la ingestión de alimentos y/o agua contaminada con quistes de parásitos enteropatógenos es el principal mecanismo de transmisión de muchas enfermedades (OMS, 2006).

En la presente investigación se determinó la presencia *Cryptosporidium spp* y otros enteroparásitos en aguas recreacionales de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar. Se determinaron las características físicoquímicas del agua y la frecuencia de los organismos antes mencionados mediante distintas técnicas de diagnóstico.

De un total de 40 muestras de agua analizadas, un 57,5% (23 muestras) resultaron positivas para la presencia de por lo menos un enteroparásito; obteniéndose la mayor cantidad de ellos en la estación 3, con 3 muestras contaminadas. Esto coincide con Pérez *et al* (2008), quienes detectaron distintas especies de parásitos intestinales, tanto protozoos como helmintos en aguas recolectadas en varios distritos de la provincia de Trujillo, Perú, provenientes de acequias y pozos (*Giardia lamblia*, *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli*, *Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium spp.* y *Balantidium coli*),

A diferencia de esto, Enriquez *et al* (2003), en su estudio sobre el monitoreo de parásitos patógenos en efluentes de agua de Argentina, no señalaron presencia de helmintos, no obstante hallaron *Ciclospora e Isospora* y algunos que otros protozoarios que por su alto poder infectivo también constituyen un riesgo para el hombre.

En este estudio, *Cryptosporidium spp* estuvo presente en el 20% (8 casos positivos) ocupando el cuarto lugar; lo que concuerda con Pérez *et al.* (2008), quienes investigaron el agua de varios distritos de Trujillo en Perú y encontraron *Cryptosporidium spp* en el mismo lugar de frecuencia en enteroparásitos diagnosticados en agua. Este resultado, también estuvo relacionado con lo señalado por varios autores que lo muestran como uno de los principales parásitos causantes de enfermedades transmitidas por el agua (Solarte *et al.*, 2006).

Lo anterior confirma lo señalado por Lura *et al.* (2002), donde exponen que en las muestras de aguas estudiadas, las diferencias relativas existentes entre el grupo control y el resto de los grupos estudiados permitieron inferir que existe un alto riesgo de infección con protozoos intestinales cuando se consume agua contaminada. Además, las infecciones intestinales por protozoos constituyen una de las causas más frecuentes de enfermedad entre los seres humanos, a nivel mundial y tres de ellos se destacan como productores de diarrea aguda en pacientes inmunocompetentes, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium spp* y *Entamoeba histolytica*.

Por su parte, Bracho *et al.* (2007), detectaron la presencia de *Cryptosporidium spp* en 11 de las muestras equivalente al 69% del total. Señalando además que estos resultados eran preocupantes tomando en cuenta el tiempo de supervivencia de este parásito que es de 1 año, por su resistencia a los procesos de cloración. Diferencia que se hace presente en el estudio realizado en Brasil por Aguirre *et al.* (2002), donde fueron examinadas 24 muestras del agua captada del río Corumbataí, y no fue detectada la presencia de *Cryptosporidium spp* en muestras de las distintas etapas del tratamiento: agua bruta captada, agua de lavado de los filtros, agua de lavado clarificada y agua del lodo de decantador clarificada.

En cuanto a la temperatura de todas las estaciones de la represa analizadas, estas presentaron temperaturas de 24°C, consideradas como resultados estándares para fuentes de agua natural en estas zonas del país, donde la temperatura ambiental oscila entre los 20°C y 28°C, destacando que la variación del clima de este territorio viene determinada por la latitud y los vientos con una precipitación promedio de 1.095,8 mm anuales; donde el período lluvioso se destaca de mayo a noviembre con descarga del 77,4% del total anual (INE, 2007).

En lo que se refiere al pH, este osciló entre 5 y 6, factor importante para el mayor desarrollo de protozoarios y otros gérmenes en agua, los pH más ácidos son los procedentes de la estación 3 con (5,12), siendo esta la de mayor frecuencia de muestras contaminadas. Los resultados de Posada *et al.* (2000), en su caracterización fisicoquímica y biológica de la calidad de las agua, señalan que el pH presentó un valor medio casi neutro, propio de los ecosistemas acuáticos, por lo que se demostró que las pocas variaciones del pH no perjudican la vida acuática y son el resultado de la alta estabilidad del medio y a la vez aseveraron que la disminución del pH por acción de adición de materia orgánica o acción bacterifera predispone a este medio para el desarrollo de otras formas biológicas tales como los protozoarios.

En cuanto a la materia orgánica, las estaciones muestreadas se encontraron por encima del 20%, la estación con mayor valor fue la estación 3 con un 49%, coincidiendo otra vez con la mayor incidencia de contaminación. La materia orgánica ha sido considerada como un clásico indicador químico de contaminación fecal en agua. La mayoría de la materia orgánica que contamina el agua procede de desechos de alimentos, aguas negras domesticas, de fabricas y es descompuesta por bacterias, protozoarios y diversos organismos mayores. Es posible considerarla como indicador, pues siempre está presente en este tipo de contaminación, es fácilmente detectable y cuantificable en un laboratorio (Espigares 2006).

Un total de 7 especies, tanto de protozoarios como helmintos, fueron encontrados en las diferentes estaciones investigadas, representando un mayor porcentaje los protozoarios. Según Costamagna (2005), en las aguas recreacionales se encuentran diversas formas parasitarias de importancia sanitaria para el hombre, lo que significa una importante fuente de contagio especialmente para los niños y ancianos que concurren a las mismas, permitiendo alertar sobre la importancia que puede revestir su consumo por parte de individuos inmunocomprometidos, especialmente pacientes con VIH / SIDA. Es posible que una situación similar ocurra en las aguas de la represa estudiada.

Entre las especies de enteroparásitos encontradas destacó *Blastocystis spp* con 50% (20 muestras en total) encontrándose en mayor cantidad en la estación 3 con 75%. Este hallazgo es similar al señalado por Murillo y Peinador (2000), quienes evaluaron enteroparásitos en una planta de tratamiento de agua y encontraron *Blastocystis spp* en la entrada y salida del agua de la planta, 67% y 34% de casos respectivamente.

El segundo lugar lo ocupó *Giardia spp* con 32,50% (13 muestras en total), encontrándose en mayor cantidad en la estación 3, con 66,67%. Estos resultados concuerdan con los obtenidos Cermeño *et al.*, (2008) donde se confirmó su presencia en aguas crudas y tratadas de varias plantas de tratamiento del estado Bolívar, donde *Giardia spp* ocupó el segundo lugar ,sin embargo con una frecuencia de 71,4% en aguas crudas.

En cuanto a la presencia de helmintos, se encontró frecuentemente a *Ascaris lumbricoides* con 15%, encontrándose con mayor frecuencia en la estación 3, con 37,50%. En segundo lugar, *Trichuris trichiura* se observó con 10%; a pesar, que el agua no es medio vital de desarrollo para helmintos se evidenciaron, pero de

frecuencia muy baja comparada con los protozoarios ya que se pueden encontrar accidentalmente en este medio (CEPIS/OPS, 1995).

Diferentes autores han aseverado que las comunidades humanas pueden ser proclives a infecciones intestinales por la mala calidad del agua de consumo. En relación a esto, Devera *et al*, 2006, exponen en una investigación en la comunidad rural de Aripao del estado Bolívar, que al determinarse contaminación de las fuentes de agua recreacionales por desechos humanos y de animales, directa (evacuación en el agua) o indirectamente (evacuación en tierra y arrastre por lluvia hacia el agua), pudieran extrapolarse los resultados obtenidos en heces humanas, por lo que resulta lógico que los protozoarios predominen sobre los helmintos.

Los resultados obtenidos evidencian la contaminación en las aguas, conocimientos que son de gran importancia en salud pública para la prevención de las distintas enfermedades provocadas por estos parásitos, por su indudable acción patógena, los cuales pueden causar diarrea o gastroenteritis de severidad variable, dando lugar a un gran deterioro físico, desnutrición y consecuencias negativas en el crecimiento y desarrollo intelectual de los niños (Bracho *et al.*, 2007).

CONCLUSIONES

- Se comprobó una alta frecuencia de contaminación por enteroparásitos de las aguas de la represa estudiada. Siendo la especie predominante *Blastocystis spp*
- *Cryptosporidium spp* presentó una alta frecuencia y ocupó en cuarto lugar de frecuencia entre los parásitos encontrados en las muestras de agua de las estaciones muestreadas.
- La estación 3 fue donde se encontraron mayor cantidad de especies de enteroparásitos, además obtuvo el mayor porcentaje de materia orgánica (49%) y el menor pH (5,12), lo que puede relacionarse con la contaminación del agua por actividades humanas o de animales en sus adyacencias, siendo un factor importante para el desarrollo de diferentes formas biológicas

RECOMENDACIONES

- Realizar periódicamente análisis parasitológico del agua de la represa para evaluar su calidad.
- Efectuar control sanitario de estos cuerpos de agua, para garantizar una mejor calidad de vida, así como también la realización de campañas de desparasitación a los individuos de los poblados aledaños a los afluentes y de educación dirigida a la prevención de las fuentes de aguas.
- Hacer extensiva esta investigación a otras represas del estado Bolívar, especialmente a aquellas de tipo recreacional ya que pueden constituir un riesgo de salud pública para las personas que utilicen estas fuentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abramovich, B., Lura, M., Haye, M., Nepote, A., Argañara, M. 1996. Detección de *Cryptosporidium* en agua de consumo de origen subterráneo. Rev Argentina microbiol **28**(2):73 – 79.
- Aguirre, G., Bueno, R., De Lima, I. 2002. Ocurrencia de *Giardia sp* y *Cryptosporidium sp* en una estación de tratamiento de agua (ETACAPIM FINO), Sao Paulo, Brasil. Departamento de Parasitología do Instituto de Biología, UNICAMP. Departamento de Saneamento e Ambiente da Faculda de de Engenharia Civil, UNICAMP, Campiñas, Sao Paulo, Brasil. Rev Peruana Parasitol. **16**(1):47-50.
- Alarcon, M., Beltrán, M., Cardenas, M., Campos, M. 2005. Recuento y determinación de viabilidad de *Giardia spp.* y *Cryptosporidium spp.* en aguas potables y residuales en la cuenca alta del rio Bogotá. Biomedica. Instituto Nacional de Salud (Colombia). Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogota. Rev Inst Nac Sal. **25**(3):353-365.
- Arango, M., Rodriguez, D., Prada, N. 2006. Frecuencia de *Cryptosporidium*spp en materia fecal de niños entre un mes ytrece años en un hospital local colombiano. Corporación Editora Médica del Valle. Colombia Med. **37**(2): 121-125.
- Arcay, L., Bruzual, E. 1993. *Cryptosporidium* en ríos de Venezuela: encuesta epidemiológica de una población humana y fauna en convivencia / *Cryptosporidium* in Venezuelanrivers: anepidemiological survey of a human population and thecoexistent fauna. Parasitol día **17**(12):11-18.
- Arnedo, I., Bracho, M., Diaz, O., Botero, L. 2008. Técnicas para la detección de *Cryptosporidium sp.* en Sistemas de Tratamiento de Agua Residual.

- Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. *Kasmera* **36**(2): 120 – 128.
- Bracho, M., Sarco, M., Reyes, P., Botero, L. 2007. Presencia de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en agua potable. Centro de Investigaciones del Agua. Universidad del Zulia, Maracaibo – Venezuela. *Ciencia* **15**(2): 164 – 17.
- Cermeño, J., Arenas, J., Yori, N., Hernandez, I. 2008. *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en aguas crudas y tratadas del estado Bolívar, Venezuela. *UCT*. **12** (46): 39-42.
- CEPIS/OPS. 2005. Parámetros de calidad para el uso de aguas residuales. Guías de calidad de efluentes para la protección de la salud. [En línea] Disponible: <http://www.bvsde.paho.org/bvsair/e/repindex/rep184/vleh/fulltext/acrobat/leon2.pdf> [octubre, 2011].
- Costamagna, S., Visciarelli, E., Luchi, M., Basualdo, J. 2005. Parásitos en aguas del arroyo Naposta, aguas de recreación y de consumo en la ciudad de Bahía Blanca (Provincia de Buenos Aires, Argentina). *Rev Parasitol Latinoam* **60** (1): 122 - 126
- Chandrashekar., H. 2008. Parasitos Transmitidos por Agua y Alimentos. Departamento de Zoología. Universidad de Babasaheb Aurangabad-431004, MS, la India. *Proc ASEAN Congr Trop Med Méx.* **3** (1): 43-61.
- Chavez, E. 2008. Diagnóstico de protozoarios intestinales presentes en niños. *Enfermedades Tropicales y Parasitarias*. Hospital Municipal Boliviano Holandés. *Rev Soc Boliviana Ped* **47** (3): 169 – 77.
- De la Parte, M., Bruzual, E., Brito, A., Hurtado, M. 2005. *Cryptosporidium* spp. y Criptosporidiosis. *Rev. Soc. Venezolana Microbiol.* **25** (1): 06-14.
- Del Coco, V., Basualdo, J. 2008. *Cryptosporidium*: un parásito emergente. Departamento de helmintología para América Latina y el Caribe. [En

- línea] Disponible:
<http://cniia.inta.gov.ar/helminto/Zoonosis/cryptosporidiosis.htm> [Abril, 2011].
- Devera, R., Angulo, V., Amaro, E., Finali, M., Franceschi, G., Blanco, Y., *et al.* 2006. Parásitos intestinales en habitantes de una comunidad rural del estado Bolívar, Venezuela. *Rev. Biomed.* **17**: 259-268.
- Díaz, M., Michel, E., Mata, V., González, H. 2003. Incidencia y viabilidad de *cryptosporidium parvum* en el agua potable de ciudad Obregón, Sonora, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* **19** (2) 67-72.
- Enriquez, V., Soria, A., Salomón, M. 2003. Monitoreo de parásitos patógenos en efluentes agroindustriales. Facultad de Ciencias Agrarias de Argentina. *Rev. FCA UNCuyo.* **35** (2): 25 – 32.
- Espigares, M. 2006. Virus en aguas de consumo. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Granada. España. *Rev Hig San Amb*, **6** (1): 173-189.
- García, A., Fernández, C., López, C., García, P., Marín, P. 2005. Brotes epidémicos de Criptosporidiosis. Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz Disponible:
<http://www.seimc.org/control/revisiones/parasitologia/Brotcripto.pdf> [Abril, 2011].
- INE (Instituto Nacional de Estadística). 2007. Informe geoambiental del estado Bolívar 2007. República Bolivariana de Venezuela. [En línea] Disponible:
http://www.ine.gov.ve/aspectosambientales/informesgeoambientales/Informe_Geoambiental_Bolivar.pdf [Octubre, 2011].
- Lujan, N., Garbossa, G. 2008. *Cryptosporidium*: cien años después. Laboratorio de Parasitología. Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Int. Güiraldes. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* **42** (2): 195-201.

- Luna, S., Reyes L., Chinchilla, M., Catarinella. 2002. Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium spp* en aguas superficiales en *Costa Rica*. Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados, Costa Rica. *Parasitol Latinoam* **57**(1): 63 – 65.
- Mac Kenzie, W., Hoxie, N., Proctor, M., Gradus, M., Blair, A., Peterson, D., et al. 1994. A Massive Outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* Infection Transmitted through the Public Water Supply. *N Engl J Med.* **331**(1):161-167.
- Murillo, J., Peinador, M. 2000. Enteroparásitos: detección y vigilancia en aguas residuales. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados Laboratorio Nacional de Aguas
- OMS (Organización mundial de la Salud). 2006. Guías para la calidad de agua potable. 3era. ed. p 408. [En línea] Disponible: http://www.who.int/water_sanitation.../gdwq3_es_full_lowres.pdf [Abril, 2010].
- OPS Colombia. (Organización Panamericana de la Salud – Colombia). 2003. Agua, Saneamiento e Higiene: pilares para la salud. [En línea] Disponible: <http://www.col.ops-oms.org/DIAA/2003/DIAA03higiene.asp> [Diciembre, 2010].
- Pereira, J., Soccol, V., Costa, A., Castro, E., Osaki, S., Paulino, R. 2009. *Cryptosporidium spp.*: para controlar é necessário conhecer. Universidade Federal do Paraná. *Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal*; **10**(2): 13 – 25.
- Perez, G., Rosales, M., Valdez, R., Vasquez, F., Cordova, O. 2008. Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. *Rev Perú Med Exp Salud Pub.* **25**(1):144-48.

- Posada, J., Roldan, G., Ramírez, J. 2000. Caracterización fisicoquímica y biológica de la calidad de aguas de la cuenca de la quebrada Piedras Blancas, Antioquia, Colombia. *Rev. Biol. Trop* **48** (1): 59-70 .
- Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua.2011. Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua en zonas rurales. Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. [En línea] Disponible: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd57/riesgo.pdf>[Abril, 2011].
- Rev Costarricense de Ciens Méd.* **9** (2): 11-17.
- Rios, O., Arbildo, P., Reátegui, C., Rengifo, A., Zapata, E. 2002.*Cryptosporidium*, *Cyclospora* y en niños menores de 10 años de edad de los caseríos zúngaro cocha y puerto almendras, Loreto, Perú. [En línea] Disponible: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/parasitologia/v16_n1/pdf/a07v16n3.pdf[Abril, 2011].
- Rodríguez, R., Muñoz, C., Hernández, D., Veguillas, J., Acevedo, M. 2003. Calidad del agua de fuentes de manantial en la zona básica de salud de Sigüenza. *Rev Española Sal Púb.***77**(3):423-432.
- Sandoval, I., Juárez, E., Rojas, E. 2003. Mecanismos de transmisión de algunos protozoos parásitos heteroxénicos. *RevSoc Ven Microbiol.* **23** (2): 175-182.
- Sanz, B. 2010. *Cryptosporidium* y *Toxoplasma*. Dos importantes protozoos parásitos transmisibles por los alimentos y el agua. *Real Academia Nacional de Farmacia.* [En línea] Disponible: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1113/1130> [Abril, 2011].
- Solarte, Y., Peña, M., Madera, C. 2006. Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colombia Med;* **37** (1): 74-82.

- Terashima, A., Marcos, L., Maco, V., Canales, M., Samalvides, F., Tello, R. 2009. Técnica de sedimentación en tubo de alta sensibilidad para el diagnóstico de parásitos intestinales. *Rev. Gastroenterol. Perú*; **29**(4): 305-310.
- Uberos, J. 2009. Detección de *Cryptosporidium* en agua y alimentos. *Ciencias de la Salud*. Universidad de Granada. . [En línea] Disponible: http://www.sepeap.org/archivos/revisiones/infecioso/cryptosporidium_2.htm[Abril, 2011].
- Uribarren, T. 2010. Criptosporidiosis. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. [En línea] Disponible: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/criptosporidiasis.html>[Abril, 2011].

APÉNDICES

APÉNDICE A

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA**

DATOS

Nº de muestra:	Localidad:
Fecha de Análisis:	Procedencia:
Fecha de toma de muestra:	Punto de muestreo:
Hora de toma de muestra:	Tipo de muestra:
Encargado de la toma de muestra:	

CANTIDAD RECOLECTADA: _____

TÉCNICA _____ DE

RECOLECCIÓN: _____

CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS:

pH: _____ TEMPERATURA: _____ %MAT.

ORGÁNICA: _____

ESTUDIO PARASITOLÓGICO:

EXAMEN

DIRECTO: _____

SEDIMENTACIÓN

ESPONTÁNEA: _____

COLORACIÓN _____ DE

KINYOUN: _____

INMUNOFLUORESCENCIA: _____

____ OBSERVACIONES: _____

REALIZADO POR: _____

APÉNDICE B

RESEÑA FOTOGRÁFICA



Parte central de la represa Horizonte de Upata







Lado ESTE de la represa Horizonte



Lado OESTE de la represa Horizonte





Area de lo que conforma el aliviadero de la represa

ANEXO

ANEXO 1

TECNICA DE INMUNOFLUORESCENCIA

Procedure and revision number: SN11220 CLSI 11/08

Procedure: MERIFLUOR® CRYPTOSPORIDIUM/GIARDIA Meridian
Catalog #250050

Institution:
Address:
Department:

Prepared By:	Date Adopted	Supercedes procedure #:

Distributed To:	# of Copies	Distributed To:	# of Copies

NOTE: This procedure is provided to Meridian's customers to assist with the development of laboratory procedures. This document was derived from, and was current with, the instructions for use (IFU) that accompanies the product at the time it was created. The user is instructed to consult the IFU packaged with the product to ensure currency of the procedure prior to adapting the document to routine laboratory use and periodically thereafter to ensure future IFU modifications, which might effect this procedure, are identified. Any modifications to this document are the sole responsibility of the person making the modifications.

PRINCIPLE OF THE TEST:

MERIFLUOR C/G utilizes the principle of direct immuno-fluorescence. The Detection Reagent contains a mixture of FITC labeled monoclonal antibodies directed against cell wall antigens of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts. A prepared fecal specimen is treated with the Detection Reagent and a Counterstain. The monoclonal antibodies attach to *Cryptosporidium* or *Giardia* antigens present in the specimen. The slides are rinsed to remove unbound antibodies, a coverslip is affixed with Mounting Medium, and the slides are examined for apple green color and characteristic morphology of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts using a fluorescent microscope. Background material in the specimen is counterstained dull orange to red.

SPECIMEN:**Preferred sample types:**

Stool specimens preserved in 10% formalin, sodium acetate-acetic acid-formalin (SAF) or ECOFIX® should be used.

Undesirable specimens:

1. Non preserved stool, or stools in unacceptable media.

Collection Storage and Preparation:

MERIFLUOR C/G is designed for use with the Para-Pak® line of parasitology products. Collect the specimen as directed by the appropriate Para-Pak® package insert supplied with the collection system. Complimentary Para-Pak® Formalin or SAF package inserts can be supplied by Meridian Bioscience, Inc., Technical Support Center. Please call 1-800-343-3858.

To increase the probability of detection in stools with low numbers of cysts or oocysts, the specimen may be concentrated prior to processing (see **PERFORMANCE CHARACTERISTICS**). The Para-Pak® Macro-Con® and Para-Pak® Con-Trate® Systems are recommended for this purpose. The removal of fecal lipids by ethyl acetate may be particularly beneficial if the fecal specimen is mucoid. Dilipidation will facilitate the adherence of fecal material to the treated microscope slide.

This facility's procedure for specimen collection is:

This facility's procedure for transporting specimens is:

This facility's procedure for rejected specimens is:

This facility's procedure for sample labelling is:

MATERIALS AND EQUIPMENT:

Materials:

1. **Detection Reagent:** FITC labeled anti-*Cryptosporidium* and anti-*Giardia* monoclonal antibodies in a buffered solution containing a protein stabilizer and 0.1% sodium azide.
2. **Counterstain:** Eriochrome Black solution.
3. **20X Wash Buffer:** Concentrated wash buffer with a preservative.
4. **Positive Control:*** Formalinized stool preparation of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts containing 0.09% thimerosal.
5. **Negative Control:*** Formalinized stool containing 0.09% thimerosal.

6. **Mounting Medium:** Buffered glycerol containing formalin, an antiquencher and 0.05% sodium azide.
7. **Transfer Loops**
8. **Treated Slides**

Material Not Provided

1. Distilled or deionized water
2. Wash bottle
3. Humidity chamber
4. Microscope slide coverslips (22 x 50 mm), #1 thickness
5. Fluorescent microscope equipped with a filter system for fluorescein isothiocyanate (FITC) with the following parameters: Excitation wavelength - 490-500, Barrier filter - 510-530.
6. Applicator sticks

Preparation:

Bring specimens and reagents to room temperature before use.

PERFORMANCE CONSIDERATIONS:

1. All reagents and components are for in vitro diagnostic use only.
2. Do not mix reagents from different kit lot numbers.
3. Do not use kit components beyond the indicated expiration date on the kit label.
4. Protect the Detection Reagent and Counterstain from exposure to light.
5. All reagents should be mixed thoroughly before use.
6. Replace the reagent vial caps on their respective vials.
7. When distributing specimens or reagents onto the slide wells use care not to scratch the treated surface with the loop or applicator stick.
8. The Mounting Medium, Positive Control, and Negative Control contain formaldehyde, which is an irritant. Avoid contact with skin or clothing. If contact occurs, thoroughly flush area with water.
9. The Positive Control contains formalin killed *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts, however, it should be handled as a potentially infectious specimen.
10. The positive and negative controls contain formaldehyde which is a potential cancer hazard.
11. Patient specimens may contain HIV or other infectious agents and should be handled by properly trained personnel and disposed of as potential biohazards. Wear disposable gloves while handling patient specimens and performing the test procedure.

12. Specimens preserved in PVA or MF/MIF are not suitable for use with **MERIFLUOR C/G**. Formalin, SAF and ECOFIX® preserved specimens may be used.
13. If stool material is not seen upon scanning the slide wells, loss of sample may have occurred. This is usually due to an overly vigorous wash procedure or insufficient specimen drying time.

WARNING: Some reagents in this kit contain sodium azide which is a skin irritant and harmful if swallowed. Avoid skin contact with reagents. Disposal of reagents containing sodium azide into lead or copper plumbing can result in the formation of explosive metal azides. This can be avoided by flushing with a large volume of water during such disposal.

STORAGE REQUIREMENTS:

The expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2-8 C and return the kit promptly to the refrigerator after each use.

At this facility, kits are stored: _____

CALIBRATION:

Not applicable to this assay.

QUALITY CONTROL:

To provide quality control of the reagents contained in the kit, the Positive and Negative Controls should be evaluated each time a patient specimen is tested. If the expected reactions are not observed and the reagents are still within their expiration date, please contact the Meridian Technical Support Center toll free at 1-800-343-3858. At the time of each use, the kit components should be visually examined for obvious signs of contamination, freezing, or leakage.

It is suggested that the results of each quality control check be recorded in an appropriate log book to maintain high quality testing procedures and comply with regulatory agencies.

QC Testing Frequency and Documentation:

For this facility, External QC is run:

Results of External QC and action(s) taken when control results are unacceptable are

documented: _____

TEST PROCEDURE:

1. Use a transfer loop to transfer a drop of fecal material to a treated slide well. Spread the specimen over the entire well. Do not scratch the treated surface of the slide.
2. Use a new transfer loop to transfer a drop of Positive Control to a separate treated slide well. Spread the Positive Control over the entire well. Do not scratch the treated surface of the slide.
3. Use a new transfer loop to transfer a drop of Negative Control to a separate treated slide well.
4. Allow the slides to air dry completely at room temperature (usually requires 30 minutes).
5. Place one drop of Detection Reagent in each well.
6. Place one drop of Counterstain in each well.
7. Mix the reagents with an applicator stick and spread over the entire well. Do not scratch the treated surface of the slide.
8. Incubate the slides in a humidified chamber for 30 minutes at room temperature. **Note: Protect from light.**
9. Use a wash bottle to rinse the slides with a gentle stream of 1X Wash Buffer until excess Detection Reagent and Counterstain is removed. **Note: Do not submerge the slides during rinsing.** Avoid disturbing the specimen or causing cross contamination of the specimens.

10. Remove excess buffer by tapping the long edge of the slide on a clean paper towel. **Note: Do not allow slide to dry.**
11. Add one drop of Mounting Medium to each well and apply a coverslip.
12. Scan each well thoroughly using 100-200X magnification. The presence of *Crypto-sporidium* oocysts should be confirmed at higher magnification.

CALCULATIONS:

There are no calculations associated with this procedure.

INTERPRETATION OF RESULTS

Control Reactions:

1. *Cryptosporidium* oocysts are round to slightly oval in shape, 2-6 μm in diameter. The oocyst wall will stain bright apple green. A suture line may also be visible.
2. *Giardia* cysts are oval-shaped organisms, 8-12 μm long. The cyst wall will stain bright apple green.
3. Background material should counterstain dull orange to red.
4. The negative control well should not exhibit apple green fluorescence of characteristic cyst or oocyst morphology.
5. Some background coloration may sometimes result as an artifact of slide preparation. This background fluorescence is easily discernable

by its lack of vibrant, apple green color or characteristic morphology of the cyst.

Patient Specimens:

1. ***Cryptosporidium* positive test result:** Any stool specimen exhibiting one or more oocysts with an apple green color and characteristic morphology should be considered positive for the presence of *Cryptosporidium* sp.
2. ***Giardia* positive test result:** Any stool specimen exhibiting one or more cysts with an apple green color and characteristic morphology should be considered positive for the presence of *Giardia*.
3. **Negative test result:** A stool specimen with no apple green fluorescence should be considered negative for the presence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts. Background fluorescent debris which does not exhibit vibrant apple green color or characteristic morphology should also be considered negative

In the event this test becomes inoperable, this facility's course of action for patient samples

is: _____

REPORTING OF RESULTS

Negative test: Report test results as “*Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts not detected.”

Cryptosporidium Positive test: Report test results as “Cryptosporidium oocysts detected.”

Giardia Positive test: Report test results as “Giardia cysts detected.”

This facility’s procedure for patient result reporting is _____

EXPECTED VALUES:

The **MERIFLUOR C/G** direct immunofluorescent test will identify the presence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in stool specimens. Typically, patients in either active disease state shed oocysts or cysts, respectively, in moderate to large numbers. Some patients may continue to excrete oocysts or cysts in small numbers after complete clinical recovery. Variations in the rate of positivity may be expected due to age, location, and general health conditions of the patient population under study.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE:

MERIFLUOR C/G is an in vitro diagnostic procedure to aid in the diagnosis of *Cryptosporidium* and *Giardia* infection. While the presence of *Cryptosporidium* or *Giardia* is often associated with diarrhea and vomiting, shedding of oocysts or cysts by asymptomatic individuals has been observed. In addition, the presence of oocysts or cysts in a stool specimen does not preclude the existence of other microorganisms or another underlying condition as the causative agent of a patient’s symptoms. For these reasons appropriate concurrent testing for other etiologic agents should be considered.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS:

Refer to Directional Insert – Meridian Bioscience MERIFLUOR®
CRYPTOSPORIDIUM/GIARDIA

REFERENCES:

Refer to Directional Insert – Meridian Bioscience MERIFLUOR®
CRYPTOSPORIDIUM/GIARDIA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

TÍTULO	<i>Cryptosporidium spp</i> Y OTROS ENTEROPARASITOS EN AGUAS RECREACIONALES DE LA REPRESA HORIZONTE. UPATA, ESTADO BOLÍVAR
--------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CVLAC / E MAIL
Avis Ayala, Karlenys del Valle	CVLAC:16.517.084E MAIL: karle332@hotmail.com
Houda Faress, Giovanella	CVLAC: 17.068.717 EMAIL:gio_bonita@hotmail.com

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Cryptosporidium spp en aguas, enteroparasitos de interés médico.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÁREA	SUBÁREA
Microbiología	Parasitología

RESUMEN (ABSTRACT):

El agua es un recurso indispensable para la vida y salud de todos los seres vivos. En las represas y más aun, en aguas de tipos recreacional, donde el acceso a agua segura desempeña un papel fundamental en la disminución de la incidencia de muchas enfermedades infecciosas que pueden afectar a todos los grupos de la población, sobre todo a los más desprotegidos, entre ellos los ancianos, mujeres, niños y enfermos de cuidado. El presente estudio tuvo como objetivo señalar la presencia *Cryptosporidium* spp y otros enteroparásitos en aguas recreacionales de la Represa Horizonte de Upata, Estado Bolívar. Fue un estudio de tipo prospectivo, descriptivo, transversal y de campo, basado en los lineamientos designados por las Normas Venezolanas COVENIN. Se tomaron cuarenta (40) muestras de agua de 5 lts cada una tomada en puntos al azar de la Represa Horizonte, las cuales fueron trasladadas y procesadas en el laboratorio de coproparasitología del departamento de Parasitología y Microbiología de la Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad de Oriente – Núcleo Bolívar. Los resultados permiten evidenciar que *Cryptosporidium* spp ocupó el cuarto lugar de frecuencia con un 20%, (8 casos) entre los parásitos encontrados en las estaciones muestreadas, especialmente en la estación 3 donde se encontraron mayor cantidad de parásitos, obteniendo el mayor porcentaje de materia orgánica (49%) y el menor pH (5,12) y de los protozoarios el mas predominante fue *Blastocystis* spp.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E MAIL				
Amaya R. Ivan D.	ROL	CA	AS	TU X	JU
	CVLAC:	12.420.648			
	E_MAIL	rapomchigo@gmail.com			
	E_MAIL				
Ytalia blanco.	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	8.914.874			
	E_MAIL	ytaliablanco@hotmail.com			
	E_MAIL				
Orellan, Yida	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	4.404.887			
	E_MAIL	yidavorellan@hotmail.com			
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2012	01	12
AÑO	MES	DÍA

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis. <i>Cryptosporidium spp</i> y otros enteroparasitos en aguas recreacionales de la represa horizonte. Upata, estado bolívar	. MS.word

ALCANCE

ESPACIAL: Laboratorio de coparazitología Del departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud. Ciudad Bolívar-Edo Bolívar

TEMPORAL: 10 años

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO: Lcdo. En Bioanálisis

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO: Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO: Microbiología

INSTITUCIÓN: Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA

RECIBIDO POR *[Signature]*

FECHA 5/8/09 HORA 5:30

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

[Signature]
JUAN A. BOLANOS CURVELO
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajos de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009)

“Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participara al Consejo Universitario “

AUTOR

Avis Ayala, Karlenys del Valle

AUTOR

Houda Faress, Giovannella


Lcdo. IVAN LAMAYA
Miembro Tutor


Lcda. YIDA ORELLAN
Miembro Principal


Lcda. YTALIA BLANCO
Miembro Principal


Dra. MERCEDES QUIROGA
Coord. Comisión Tesis de Grado

POR LA SUBCOMISION DE TESIS