

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

CRYPTOSPORIDIUM: PARÁSITO DE TRANSMISIÓN HÍDRICA Y ALIMENTARIA

ALEJANDRO ACEBES MORALES

TUTORA:

PILAR FORONDA RODRIGUEZ

Máster en Seguridad y Calidad de los Alimentos

Universidad de La Laguna

Sección de Farmacia

Curso 2016/2017

ÍNDICE

ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	4
MATERIAL Y MÉTODOS	4
RESULTADOS	7
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	14
BIBLIOGRAFÍA	17

ABSTRACT:

The protozoa belonging to the genus *Cryptosporidium*, is an apicomplexan obligate intracellular parasite that infects digestive epithelial cells. Criptosporidiosis is the infection caused by *Cryptosporidium* sp. It is an emerging zoonosis, considered one of the most common food and waterborne diseases all over the world. Fourteen named species have been reported in humans, and twelve of them, at least, are shared between humans and animals. The most usual species that cause cryptosporidiosis in humans are *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum*, and cattle are generally related with zoonotic cases in humans; however, rodents are increasing their transmission rate. The oocyst, the infective parasite stage, is resistant to conventional purification treatments. In immunocompetent hosts, the parasite produces acute and self-limiting diarrhea; however, in immunocompromised or immunosuppressed individuals and young children, it may progress to a chronic and life-threatening disease, resulting in multisystem involvement and mortality. The diagnosis is usually made by detecting oocysts in stool samples, while identification is realized combining morphological and molecular techniques. There is no drug able to completely remove *Cryptosporidium* from the host; although supportive treatments are used in animals and humans, prevention methods are the most protective against *Cryptosporidium*. As a small practical contribution, with this work we confirm the presence of *Cryptosporidium* sp in peridomestic animals of the Canary Islands.

Key words: *Cryptosporidium*, parasite, zoonosis, transmission and infection.

El protozoo del género *Cryptosporidium*, es un parásito intracelular obligado del filo apicomplexa, que infecta las células epiteliales del digestivo. La criptosporidiosis es la infección causada por *Cryptosporidium* sp. Es una zoonosis emergente, considerada una de las enfermedades más comunes transmitidas por el agua y los alimentos alrededor del mundo. Catorce especies han sido detectadas en humanos, al menos doce de ellas, son compartidas por animales y humanos. Las especies que con mayor frecuencia causan cryptosporidiosis en el ser humano son *Cryptosporidium hominis* y *Cryptosporidium parvum*, generalmente el ganado está relacionado con casos de zoonosis, aunque los roedores están aumentando su rango de transmisión. El ooquiste, la forma infectiva del parásito, es resistente a los tratamientos convencionales de purificación. En

hospedadores inmunocompetentes, el parásito provoca una diarrea aguda y autolimitada, sin embargo, en individuos inmunocomprometidos o inmunodeprimidos y niños pequeños, la enfermedad puede volverse crónica y amenazar la vida, causando una implicación multisistémica y la muerte. Normalmente, el diagnóstico se realiza mediante la detección de ooquistes en muestras de heces, mientras que la identificación se realiza combinando técnicas morfológicas y moleculares. No existen medicamentos capaces de eliminar completamente el *Cryptosporidium* del hospedador, aunque sí se usan tratamientos de soporte en humanos y animales, siendo los métodos de prevención los que más protegen ante *Cryptosporidium*. Como pequeña aportación práctica, en este trabajo confirmamos la presencia de *Cryptosporidium* sp en animales peridomésticos de Canarias.

Palabras clave: *Cryptosporidium*, parásito, zoonosis, transmisión e infección.

INTRODUCCIÓN:

El género *Cryptosporidium* fue identificado por primera vez en el tracto digestivo de ratones, en el año 1907 (Tyzzer, 1907), con el paso de los años y el descubrimiento de nuevas especies, se observó que era causante de diarreas en los animales infectados. No fue hasta el año 1976 cuando se detectó el parásito en el ser humano, tras un análisis de muestras de heces, debido a una infección que causó diarreas (Meisel *et al.*, 1976). Con el paso de los años ha habido un gran desarrollo y mejora en las técnicas moleculares, lo que ha permitido identificar nuevas especies del género *Cryptosporidium*, que afectan tanto a animales como al ser humano.

El género *Cryptosporidium* está compuesto por parásitos protozoos que infectan las microvellosidades de las células epiteliales del tracto intestinal de los vertebrados, ya que han sido encontrados en peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos.

El ooquiste es la fase infectante y es eliminado al medio por las heces del hospedador. Es muy resistente a las condiciones ambientales, a los tratamientos de cloración para la potabilización del agua y posee un amplio rango de hospedadores, por lo que la transmisión puede ocurrir tanto de forma directa, por contacto persona-persona o animal-persona, como por forma indirecta tras el consumo de alimentos o aguas contaminadas con el parásito.

La criptosporidiosis, es la enfermedad que causa la infección por este género parasitario, tiene una elevada prevalencia y una gran distribución, pues se han comunicado casos de 95 países, representando a todos los continentes a excepción de la Antártida (Fayer *et al.*, 1997). Esto lo convierte en uno de los parásitos con mayor implicación en la aparición de diarreas en el ser humano. En países desarrollados, como Estados Unidos o Inglaterra, ha habido grandes brotes a lo largo de los años y en países subdesarrollados la incidencia es mayor.

Causa diarreas en individuos sanos, normalmente son autolimitantes, pero en individuos inmunodeprimidos o menores de 2 años pueden ser de elevada gravedad.

OBJETIVOS:

Los objetivos marcados para este trabajo contienen una mayor parte bibliográfica y una pequeña aportación práctica. En la búsqueda bibliografía se pretendía:

- Revisar la historia del género *Cryptosporidium*, tanto en animales como en el ser humano.
- Conocer las especies del género *Cryptosporidium* descritas y sus características, sus reservorios, las especies que afectan al ser humano y las vías de transmisión-infección.
- Obtener datos epidemiológicos y de brotes del género *Cryptosporidium*.
- Obtener información referente a la enfermedad: Criptosporidiosis.

Los objetivos de la parte práctica se centraban en:

- Estudio de *Cryptosporidium* en muestras de heces de roedores peridomésticos de Canarias, mediante realización de la técnica de tinción Kinyoun y microscopía óptica.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El trabajo bibliográfico se realizó mediante una recopilación de la información presente en artículos, revistas científicas y libros sobre el género *Cryptosporidium*, el estudio de las diferentes especies que afectan al ser humano causando la criptosporidiosis, los casos en Canarias y el resto del mundo, la información relativa al curso de la enfermedad y las medidas preventivas adoptadas por las administraciones.

La búsqueda de información científica se realizó en diferentes bases de datos, Google Academic, PuntoQ (Universidad de la Laguna), Pubmed, en webs como Eurosurveillance y CDC, así como con la colaboración del Instituto de Enfermedades Tropicales de la Universidad de La Laguna.

Los artículos escogidos para la realización del trabajo fueron aquellos que estuvieran completos, que estuvieran redactados en inglés y/o castellano y que fueran recientes, salvo alguna excepción. La búsqueda se centró en el parásito en sí, la enfermedad que causa y los brotes vehiculados por alimentos y agua de consumo, usando diferentes palabras clave para cada caso, con el objetivo de poder recopilar la información necesaria.

-*Cryptosporidium*: species, distribution, cycle, hosts, zoonotic, *parvum*, *hominis*, *muris*, rodents, humans, outbreak, waterborne, foodborne.

-Criptosporidiosis: epidemiology, zoonosis, detection, symptoms, treatment, outbreak, waterborne, foodborne.

A parte de la recopilación bibliográfica, el trabajo incluye una pequeña parte práctica, que consistió en la tinción de muestras de heces de roedores procedentes de zonas habitadas de Tenerife, La Palma y Lanzarote (32 ratas, *Rattus rattus*, y 10 ratones, *Mus musculus*), por el método Kinyoun, y su posterior observación y detección al microscopio óptico. Previamente las muestras se obtenían en campo, mediante trampeo y captura de ejemplares vivos. Estos animales se sacrifican en laboratorio, se toman las heces del tracto digestivo y tras esto se realiza una técnica de concentración y sedimentación de las heces. Las muestras concentradas se almacenan en la nevera hasta el momento de la tinción.

Técnica de tinción Kinyoun:

1. Con una pipeta se realiza una homogenización previa de la muestra.
2. Una vez homogenizada, se introduce un hisopo estéril en la muestra para obtener una cantidad de la misma. Tras esto, se extiende en un portaobjetos realizando círculos concéntricos, para que quede bien extendido por la superficie del portaobjetos.
3. Una vez tenemos las muestras correctamente extendida se deja secar al aire para que se fije.
4. Se introduce los portaobjetos, una vez se han secado del todo, en el vaso Coplin (de tinción) con metanol absoluto durante 5 minutos. Una vez terminado el tiempo, se retiran y se dejan apoyados en papel secante (por la parte donde no está la muestra). Se puede pasar por la llama del mechero Bunchen para acelerar el secado.
5. Se introduce en el segundo vaso Coplin que contiene el colorante Kinyoun (Fuscina fenificada de Kinyoun) durante 12 minutos.
6. Cuando se termina el tiempo, se sacan los portaobjetos y sobre la cubeta de lavado, se les echa agua del grifo para que no queden restos de Kinyoun.
7. Se sumergen las muestras en el tercer vaso Coplin que contiene ácido sulfúrico al 4% durante 40 segundos.
8. Se lavan los portaobjetos con agua del grifo, como ya explicamos en el punto 6.
9. Se sumergen los portaobjetos en el cuarto vaso Coplin que contiene verde de malaquita al 2% durante 30 segundos. Tiene que estar cubierto de papel de aluminio para evitar que incida la luz sobre el colorante.

10. Se lava como se expuso en el punto 6.
11. Por último, se dejan secar al aire o con el mechero Bunchenn, para luego poder mirar al microscopio.

Todo el procedimiento se realizaba por duplicado, dos muestras para cada animal.

Una vez teñida la muestra, se observaba en el microscopio siguiendo un orden que nos permita recorrer toda la muestra. Si se observan *Cryptosporidium* se da la muestra como positiva y se apunta cuántos quistes aparecieron, en el caso de no observar ninguno se dará como negativa.

RESULTADOS:

La primera especie identificada fue *Cryptosporidium muris*, que fue aislada en 1907 en el estómago de ratones por Edward Tyzzer. Pocos años después se detectó una segunda especie presente en ratones, esta vez se detectó en el intestino delgado y fue identificada como *Cryptosporidium parvum*. En los años siguientes se fueron identificando nuevas especies, que se nombraban de manera que hicieran referencia al hospedador donde se detectaban. Debido a la gran similitud entre algunas especies del género, su identificación por medio de su morfología exclusivamente, es prácticamente imposible (Ghenghesh *et al.*, 2012). En los últimos años se han identificado alrededor de 10 nuevas especies, hasta alcanzar un total de 30 especies de *Cryptosporidium*, como resultado de estudios moleculares y experimentales (Šlapeta, 2013) (Tabla 1).

Existen una gran cantidad de especies de *Cryptosporidium* y un gran número de ellas afecta al ser humano, causando enfermedad. La especie de mayor importancia, en cuanto a la frecuencia de infección es *C. parvum*. *Cryptosporidium* presenta una distribución mundial ocasionando brotes tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo (Tabla 2).

Species Number	Valid species name	Public health significance	Host range	Human	Cattle	Genotype designation
Species I	<i>C. muris</i> Tyzzer, 1907	Minor	MB	Yes		<i>C. muris</i> B genotype
Species II	<i>C. parvum</i> Tyzzer, 1912	Minor	M	(Yes)		Mouse I genotype
Species III	<i>C. meleagridis</i> Slavin, 1955 (syn. <i>C. tyzzeri</i> Levine, 1961)	Moderate	MB	Yes	(Yes)	
Species IV	<i>C. wrairi</i> Vetterling, Jervis, Merrill & Sprinz, 1971	None	M		(Yes)	
Species V	<i>C. agni</i> Barker & Carbonell, 1974 (syn. <i>C. xiaoi</i> Fayer & Santín, 2009)	None	M			<i>C. bovis</i> -like genotype
Species VI	<i>C. bovis</i> Barker & Carbonell, 1974	None	M		Yes	Bovine B genotype
Species VII	<i>C. cuniculus</i> Inman & Takeuchi, 1979	Moderate	M	Yes		Rabbit genotype
Species VIII	<i>C. felis</i> Iseki, 1979	Moderate	M	Yes	(Yes)	Cat genotype
Species IX	<i>C. serpentis</i> Levine, 1980	None	RM		(Yes)	
Species X	<i>C. nitoris</i> Hoover, Hoerr, Carlton, Hinsman & Ferguson, 1981	None	F			n/a
Species XI	<i>C. baileyi</i> Current, Upton & Haynes, 1986	None	B			
Species XII	<i>C. varanii</i> Pavlásek, Lávičková, Horák, Král & Král, 1995 (syn. <i>C. saurophilum</i> Koudela & Modrý, 1998)	None	R			Desert monitor genotype
Species XIII	<i>C. cichlidis</i> (Paperna & Vilenkin, 1996)	None	F			Piscine genotype 1
Species XIV	<i>C. reichenbachkinkai</i> (Paperna & Vilenkin, 1996)	None	F			Piscine genotype 2
Species XV	<i>C. galli</i> Pavlásek, 1999	None	B			Finch genotype
Species XVI	<i>C. andersoni</i> Lindsay, Upton, Owens, Morgan, Mead, & Blagburn, 2000	Minor	M	Yes	Yes	<i>C. muris</i> A genotype
Species XVII	<i>C. canis</i> Fayer, Trout, Xiao, Morgan, Lal & Dubey, 2001	Minor	M	Yes	(Yes)	Dog genotype
Species XVIII	<i>C. hominis</i> Morgan-Ryan, Fall, Ward, Hijjawi, Sulaiman, Fayer, Thompson, Olson, Lal & Xiao, 2002	Major	M	Yes	Yes	Human (I) genotype
Species XIX	<i>C. molnari</i> Alvarez-Pellitero & Sitjà-Bobadilla, 2002	None	F			
Species XX	<i>C. suis</i> Ryan, Monis, Enemark, Sulaiman, Samarasinghe, Read, Buddle, Robertson, Zhou, Thompson & Xiao, 2004	Minor	M	(Yes)	Yes	Pig genotype II
Species XXI	<i>C. scophthalmi</i> Alvarez-Pellitero, Quiroga, Sitjà-Bobadilla, Redondo, Palenzuela, Padrós, Vázquez & Nieto, 2004	None	F			n/a
Species XXII	<i>C. pestis</i> Šlapeta, 2006	Major	M	Yes	Yes	Bovine (II) genotype
Species XXIII	<i>C. fayeri</i> Ryan, Power & Xiao, 2008	Minor	M	(Yes)		Marsupial genotype I
Species XXIV	<i>C. ryanæ</i> Fayer & Santín, Trout, 2008	None	M		Yes	Deer-like genotype
Species XXV	<i>C. fragile</i> Jirků, Valigurová, Koudela, Křížek, Modrý & Šlapeta, 2008	None	A			
Species XXVI	<i>C. macropodum</i> Power & Ryan, 2008	None	M			Marsupial genotype II
Species XXVII	<i>C. ducismarci</i> Traversa, 2010	None	R			
Species XXVIII	<i>C. ubiquitous</i> Fayer, Santín & Macarasin, 2010	Minor	M	Yes	Yes	Deer genotype
Species XXIX	<i>C. viatorum</i> Elwin, Hadfield, Robinson, Crouch & Chalmers, 2012	Moderate	M	Yes		
Species XXX	<i>C. scrofarum</i> Kváč, Kestřánová, Pinková, Květoňová, Kalinová, Wagnerová, Kotková, Vítovec, Ditrich, McEvoy, Stenger & Sak, 2013	Minor	M	(Yes)	(Yes)	Pig genotype II

Host range: M, mammal; B, bird; R, reptile; F, fish. n/a, not applicable because the species has not been characterised using any DNA signature. (Yes), indicates extremely rare or experimental evidence.

Tabla 1: Especies del género *Cryptosporidium* (Šlapeta, 2013)

Species	Major hosts	Minor hosts	Site of infection
<i>C. hominis</i>	Humans	Dugongs, sheep, cattle	Small intestine
<i>C. parvum</i>	Cattle, other livestock, humans	Deer, mice, pigs	Small intestine
<i>C. muris</i>	Rodents	Humans, rock hyrax, mountain goat	Stomach
<i>C. suis</i>	Pigs	Humans	Small and large intestine
<i>C. felis</i>	Cats	Humans, cattle	Small intestine
<i>C. canis</i>	Dogs	Humans	Small intestine
<i>C. meleagridis</i>	Turkey, humans	Parrots	Small intestine
<i>C. wrairi</i>	Guinea pigs		Small intestine
<i>C. bovis</i>	Cattle	Sheep	Small intestine
<i>C. andersoni</i>	Cattle, bactrian camel	Sheep	Abomasum
<i>C. baileyi</i>	Poultry	Quails, ostriches, ducks	Bursa
<i>C. galli</i>	Finches, chicken		Proventriculus
<i>C. serpentis</i>	Lizards, snakes		Stomach
<i>C. saurophilum</i>	Lizards	Snakes	Stomach and small intestine
<i>C. scophthalmi</i>	Fish		Intestine (and stomach)
<i>C. molnari</i>	Fish		Stomach (and intestine)

Tabla 2: Especies del género *Cryptosporidium* y sus hospedadores (Ryan et al., 2014)

Ciclo:

El ciclo de vida de *Cryptosporidium* se completa en un mismo hospedador, por lo que es un ciclo directo, que incluye una fase asexual y otra sexual.

Se inicia con la ingestión del ooquiste por parte del hospedador, ya sea por contacto directo con animales infectados o por la ingestión de agua o alimentos contaminados. Una vez el ooquiste alcanza el intestino, en el íleon, son liberados los 4 esporozoitos que se adhieren a las células epiteliales del intestino y sus microvellosidades, estos se diferencian en trofozoítos, comenzando así la reproducción asexual: de trofozoíto > meronte tipo I > a merozoito, > meronte tipo II > merozoito > gamonte indiferenciado. A continuación, comienza la reproducción sexual, la gametogonia, en la que se generan los microgamontes (masculinos) y los macrogamontes (femeninos). El macrogamonte es fertilizado por los microgamontes, dando lugar al cigoto.

Este cigoto formará ooquistes esporulados de dos tipos, uno de pared gruesa, que es el que se elimina por las heces y otro de pared fina, que es el que se queda en el organismo, provocando una autoinfección (**Imagen 1**).

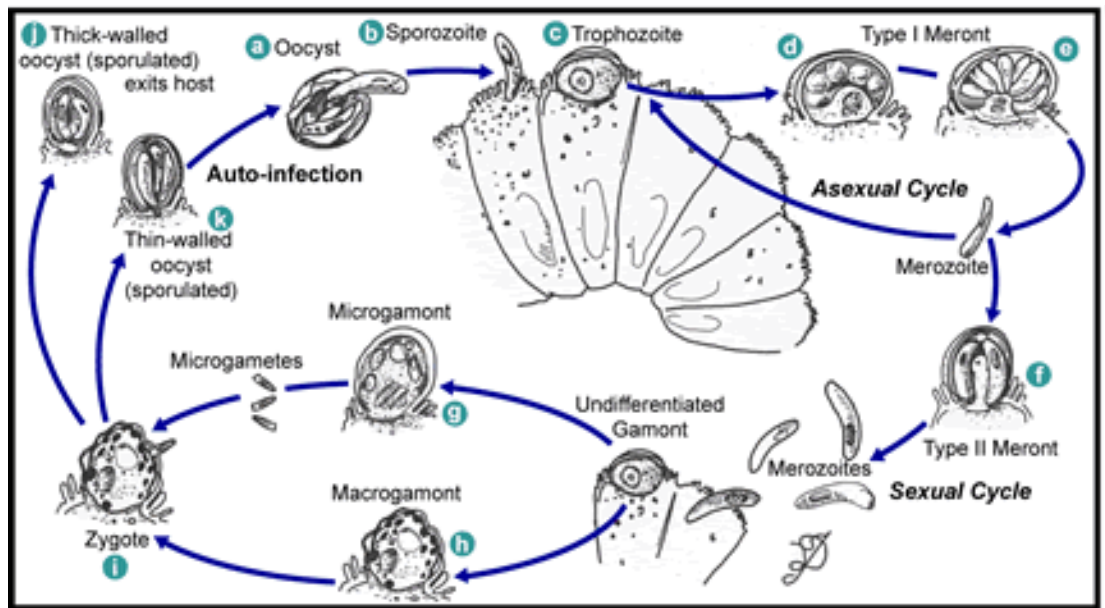


Imagen 1: Ciclo vital de *Cryptosporidium* sp. (Roosle et al., 2013)

Patogenia:

El *Cryptosporidium*, una vez en el epitelio intestinal, provoca una destrucción de las vellosidades, lo que interrumpe la función de la barrera intestinal aumentando su permeabilidad, lo cual da lugar a una absorción debilitada o malabsorción y una mayor secreción de fluidos, electrolitos y nutrientes, lo que conduce a la aparición de diarreas acuosas y conlleva deshidratación y desnutrición del individuo afectado (Rossle *et al.*, 2013).

El periodo de incubación, tras la infección con el parásito, tiene una duración de una semana (entre 5-7 días), estas cifras están basadas en estudios experimentales donde voluntarios sanos son infectados con *Cryptosporidium* (Del Coco *et al.*, 2009), y en investigaciones de los brotes ocurridos, tanto de origen acuático como de origen alimentario. En estos estudios también se observó la existencia de voluntarios infectados con *C. parvum*, cuyas heces mostraban los ooquistes, pero no presentaban síntomas, por lo que eran hospedadores asintomáticos. En cambio, de los voluntarios infectados con *C. hominis*, todos mostraron síntomas (Chappell *et al.*, 1996). De esto se deduce que la capacidad infectiva tiene que ver tanto con la especie que la cause, como con la dosis infectiva necesaria para provocar la enfermedad (Herbert *et al.*, 1995).

Cuadro clínico:

La intensidad de los síntomas dependerá de la especie del parásito y de la dosis infectiva, así como de la edad, estado inmunológico y nutricional del hospedador.

Los síntomas comunes que se producen tras una infección con *Cryptosporidium* sp, son: diarrea, dolor abdominal, náuseas, vómitos, fatiga, malestar, fiebre, anorexia y pérdida de peso. También se conoce que *C. hominis* es más propenso a causar sintomatología extraintestinal que otras especies, asociándose a dolor articular, cefaleas, debilidad y fatiga (Fayer *et al.*, 1986). La diarrea puede ser de inicio repentino, suele ser acuosa y voluminosa, provoca entre 3 y 6 deposiciones al día y puede causar dolor y presentar mucus. Los síntomas normalmente duran unas 3 semanas, pero algunos pacientes pueden presentar diarrea durante un mes o más. Los ooquistes siguen siendo eliminados con las heces, tras desaparecer todos los síntomas, durante un periodo de 2 a 14 días, por norma general, pudiendo aumentar este rango a los 2 meses, en casos excepcionales (Hunter *et al.*, 2005).

En individuos inmunocomprometidos, sobre todo en pacientes VIH-SIDA, ocasiona cuadros más graves y prolongados, debido a la destrucción de linfocitos T CD₄⁺ que se produce con la enfermedad.

El desarrollo de la infección intestinal por *Cryptosporidium* sp., las manifestaciones clínicas y la aparición de complicaciones extraintestinales dependerán del recuento de linfocitos T CD₄⁺/mm³. Cuando este número es superior a 200/mm³ la infección es autolimitante; si este valor se encuentra entre 50 y 100 células/mm³ puede cronificarse, llegando incluso a zonas extraintestinales; y cuando el número es inferior a 50 células/mm³, el curso de la enfermedad es fulminante. En pacientes con SIDA y diarrea por *Cryptosporidium*, se ha descrito un promedio de 145 células/mm³, mientras que en pacientes con excreción asintomática de ooquistes, el recuento promedio de células CD₄⁺ fue de 312 células/mm³ (Carey *et al.*, 2004). En los pacientes con VIH/SIDA, la forma intestinal se manifiesta con diarrea profusa y voluminosa, fiebre, pérdida de peso y vómitos.

La ubicación extraintestinal más frecuente de la criptosporidiosis es en la vía biliar extrahepática, con desarrollo de colecistitis aguda gangrenosa. Aunque se han descrito casos en los que el *Cryptosporidium* se ha diseminado hacia otras localizaciones, como por ejemplo la vía biliar intrahepática, el estómago, el esófago, el páncreas y las vías respiratorias, siendo estas dos

últimas las localizaciones más complicadas ya que provocan pancreatitis y bronconeumonía (Del Coco *et al.*, 2009).

Factores de riesgo:

Investigaciones sobre brotes sucedidos a lo largo del tiempo, han demostrado la existencia de diferentes rutas de transmisión, que incluyen el contacto directo con animales infectados, contacto directo con personas afectadas en el entorno doméstico y centros de acogida, consumo de bebidas y comida contaminada, consumo de agua de abastecimiento público contaminada, exposición a aguas de piscinas y parques contaminadas y viajes a países endémicos (Nichols, 2006).

La incidencia de criptosporidiosis muestra una marcada estacionalidad, basado en alrededor de 61 estudios publicados, el incremento de la temperatura y de la precipitación están asociados a un incremento de la incidencia de criptosporidiosis (Jagai *et al.*, 2009).

Estudios en países en vías de desarrollo (en África, Oriente Medio y el sur de Asia) han identificado varios factores de riesgo: poco peso al nacer, edades menores de 2 años, condiciones de hacinamiento, malnutrición, otras infecciones, agua de consumo no potable y/o que provenga de abrevaderos de animales (Putignani *et al.*, 2010). El rango de prevalencia de criptosporidiosis en niños con diarrea en estos países, es de 9% en inmunocompetentes y de 41% en inmunocomprometidos (Ghenghesh *et al.*, 2012).

Criptosporidiosis es una causa principal de diarrea grave e infección extra intestinal en personas inmunocomprometidas. Este grupo lo componen, sobretodo, pacientes infectados con el virus VIH, pacientes con leucemia, pacientes con síndrome de hiper-IgM, pacientes con deficiencias en interferón gamma, pacientes con inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X y los receptores de trasplantes de órganos (Cacciò *et al.*, 2016).

Diagnóstico:

El diagnóstico más usado, se basa en la detección en microscopio de ooquistes del parásito. Previamente, se toman muestras de heces del individuo en cuestión. A estas muestras se les realiza una concentración, mediante los métodos de flotación y sedimentación, usando soluciones de

sacarosa, sal, sulfato de zinc y formol – éter. Tras, esto se tiñen por el método Kinyoun, explicado en apartados anteriores. Este método a pesar de ser sencillo y económico no nos distingue entre especies del parásito, pero sí es adecuado para confirmar la presencia o ausencia (Rossle *et al.*, 2013).

Existen otros métodos de diagnóstico menos utilizados, como por ejemplo: la detección de antígenos solubles de *Cryptosporidium* por ELISA, los ensayos inmunocromatográficos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), que son útiles para diferenciar las especies y los genotipos de *Cryptosporidium* (Jex *et al.*, 2008).

Tratamiento y prevención:

Aunque se han probado multitud de medicamentos y antiparasitarios, no se ha dado con ninguno capaz de eliminar el parásito. Solo ha sido aprobado, por la US Food and Drugs Administration (FDA), la utilización de uno de ellos, el Nitazoxanide (Alinia®), por su alivio de los síntomas en individuos inmunocompetentes. Los demás tratamientos que se realizan son de soporte, para combatir los síntomas y la deshidratación del paciente (Robertson, 2014, Ryan *et al.*, 2014).

Las medidas preventivas son la mejor opción para combatir las parasitaciones y la transmisión. Separar enfermos de sanos, tratamiento correcto de las heces retirándolas continuamente y evitando que lleguen al agua, congelación a -22°C de los alimentos, tratamientos térmicos elevados como la pasteurización y el hervido. Presenta resistencia a desinfectantes.

Brotos:

A lo largo de la historia se han documentado múltiples brotes causados por el parásito, la gran mayoría de ellos vehiculados por el agua, aunque también hay brotes que han sido causados por alimentos contaminados con el parásito. Esto es debido a que el parásito sobrevive mejor en condiciones de humedad y, por otro lado, muchos alimentos durante su procesado, sufren tratamientos térmicos que lo debilitan perdiendo así su completa viabilidad (Duffy *et al.*, 2004). Muchas veces pasa desapercibido al no realizar análisis de muestras de heces pues se asocian a procesos bacterianos.

De 325 brotes atribuidos a protozoos un 51% fueron causados por *Cryptosporidium* (Casemore *et al.*, 1990). La mayoría de los brotes fueron

remitidos por países desarrollados, aunque esto no quiere decir que sean más frecuentes que en los países en vías de desarrollo, ya que en estos últimos no se remiten tantos casos por falta de medios, por ser zonas endémicas y por solaparse con otras enfermedades, por lo que no hay un control real. Sin embargo, el brote de mayor importancia fue el ocurrido en Milwaukee, EEUU, en 1993, que afectó a 400000 personas (Duffy *et al.*, 2004).

En España desde el año 1995 hasta el 2009 se han informado de 1676 casos distribuidos en más de 10 brotes, siendo el de mayor importancia el ocurrido en Mallorca, que implicó a 214 individuos que fueron parasitados por bañarse en una piscina con el agua contaminada (Martínez *et al.*, 2011). En el año 2012, 26 individuos se vieron afectados por un brote de *Cryptosporidium*, en una guardería de Guipuzcoa. Y en el año 2013, también en una guardería de Granada, se dieron 7 casos por un brote que afectó a niños menores de 4 años (Goñi *et al.*, 2015).

Resultados de la parte práctica:

Durante la estancia en el laboratorio de parasitología, se tiñeron y observaron 42 muestras de heces de ratas y ratones, de las cuales 31 fueron positivas (el 73.81%) y 11 fueron negativas (el 26.19%).

Si tenemos en cuenta los resultados en función de las especies, el número de muestras totales realizadas en ratas fueron 32, de las cuales resultaron positivas 23 (el 71.88%) y negativas 9 (el 28.13%). En cuanto a ratones, se trabajó con 10 muestras, obteniendo 8 muestras positivas (el 80%) y 2 negativas (el 20%).

Y en cuanto a la zona de captura de los ejemplares, las trampas fueron colocadas en diferentes zonas de la isla de Tenerife (entre paréntesis el número de muestras obtenidas en cada zona): Aguamansa (1), Buzanada (1), Fasnía (3), Guía de Isora (6), La Guancha (3), La Laguna (6), La Orotava (1) y Las Zocas (1). En la isla de La Palma, los ejemplares fueron capturados en: Barlovento (2), Breña Alta (5), El Paso (1), Punta Llana (5), San Andrés y Sauces (5). De la isla de Lanzarote solo se trabajaron 2 muestras procedentes de Femés, Yaiza.

En todas las zonas se obtuvieron 1 o más muestras positivas, lo que indica una gran distribución del parásito en nuestras islas.

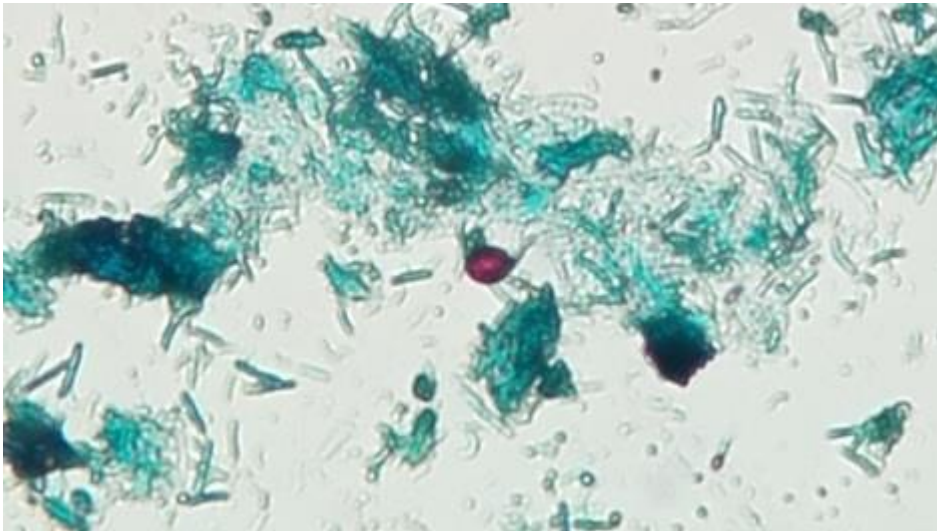


Imagen 2: *Cryptosporidium* sp. (Microscopio óptico).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES:

La criptosporidiosis, es considerada una de las principales causas de diarreas vehiculadas por el agua y/o alimentos, esto sumado al gran número de especies de *Cryptosporidium* existentes, su capacidad de colonizar diferentes hospedadores, el gran número de especies zoonóticas y su resistencia a los tratamientos convencionales que recibe el agua potable, hace que sea una enfermedad a tener muy en cuenta, tanto en países en vías de desarrollado, donde puede actuar con mayor intensidad, como en países desarrollados. Así mismo, se debe prestar especial atención a los individuos inmunodeprimidos o niños de corta edad que no tienen el sistema inmune totalmente desarrollado, ya que son susceptibles a desarrollar la enfermedad con una sintomatología más extensa, pudiendo llegar a ser fatal.

Aquellos individuos sanos y bien nutridos sufrirán unas diarreas autolimitantes sin mayor importancia o incluso serán portadores asintomáticos, por lo que para una gran parte de la población no supondrá un gran problema.

Durante la realización de este trabajo, gracias a la parte práctica y al trabajo que se realiza en el laboratorio, se pudo observar una gran prevalencia de *Cryptosporidium* en los roedores peridomésticos de Tenerife. Estos animales eran capturados en zonas habitadas, por medio de trampas, lo que implica un hábitat compartido entre el ser humano, sus animales domésticos y los roedores. Compartir el entorno vital supone que existan interacciones entre los alimentos y aguas de consumo humanos con las heces de roedores,

debido a la gran facilidad que tienen estos animales para introducirse por grietas y agujeros, trepar y roer para encontrar cualquier tipo de alimento.

En las zonas habitadas, los ratones y las ratas podrían suponer un riesgo de transmisión de *Cryptosporium*, ya que estos animales pueden colarse en empresas alimentarias, supermercados, panaderías, restaurantes, almacenes, etc. Hay gran número de estos animales en parques públicos y en el alcantarillado, pudiendo ser las mascotas de los ciudadanos las que adquieran el parásito y posteriormente lo transmitan a sus dueños. Debido a que comparten mismos territorios e interaccionan indirectamente con el ser humano, son animales a tener en cuenta cuando se den casos o brotes de criptosporidiosis.

Debido a que la transmisión se produce principalmente a través del contacto directo y el consumo de agua contaminada, las medidas generales de higiene, limpieza correcta y sistemática de las heces de los animales y el tratamiento del agua de consumo constituyen las principales medidas de prevención. Alcanzar altas temperaturas al cocinar los alimentos y congelarlos también hace inviable al parásito.

Las conclusiones derivadas de este trabajo han sido:

- 1.** *Cryptosporidium* sp es un parásito con distribución mundial, multitud de hospedadores y resistencia a condiciones ambientales normales.
- 2.** Gran cantidad de especies de *Cryptosporidium* pueden afectar al ser humano, causando mayor o menor sintomatología dependiendo de la especie.
- 3.** Los animales, también se pueden ver afectados por diferentes especies del parásito.
- 4.** La interacción del ser humano con animales domésticos y/o peridomésticos, puede suponer un mayor riesgo de contagio con el parásito.
- 5.** La mayoría de los brotes ocurridos son vehiculados por el agua de consumo, que previamente se ha contaminado con heces de animales portadores del parásito. Es por esto por lo que suele aparecer la enfermedad en forma de brotes, afectando a muchos individuos en una misma zona y tiempo.
- 6.** Las heces de los animales infectados son la vía de transmisión más común de *Cryptosporidium* sp. Es de gran importancia evitar el contacto directo, así como con alimentos y aguas de consumo.

7. La criptosporidiosis no supone un riesgo para la vida, salvo que se pertenezca a un grupo de riesgo, sobretodo individuos inmunodeprimidos o menores de 2 años. Cursa con diarrea acuosa autolimitada.
8. En Tenerife las especies *Rattus rattus* y *Mus musculus*, son portadores de *Cryptosporidium* sp. Estas especies, por sus características morfológicas, sus hábitos alimenticios y de comportamiento, pueden entrar en contacto con aguas y alimentos destinados al consumo de los seres humanos, siendo un riesgo de transmisión.

BIBLIOGRAFÍA:

Cacciò S.M., Chalmers R.M. Human cryptosporidiosis in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 2016, Vol.22(6), pp.471-480.

Carey C. M., Lee H., Trevors J. T. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research*, 2004, Vol.38(4), pp.818-862.

Casemore D. P. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiology and Infection*, 1990, Vol.104(1), pp.1-28.

Chappell C. L., Okhuysen P. C., Sterling C. R., Dupont H. L. *Cryptosporidium parvum*: intensity of infection and oocyst excretion patterns in healthy volunteers. *The Journal of Infectious Diseases*, 1996, Vol.173, pp.232-6.

Del Coco V. F., Córdoba M. A., Basualdo J. A. Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. *Revista Argentina de Microbiología*, 2009, Vol.41, pp. 185-196.

Duffy G., and Moriarty E. M. *Cryptosporidium* and its potential as a foodborne pathogen. *Animal Health Research Reviews*, 2004, Vol. 4(2); pp. 95–107.

Fayer R., Speer C. A. Dubey J. P. The general biology of *Cryptosporidium*. In *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis, 1997 (ed. Fayer, R.), pp.1–41.

Fayer, R., Ungar, B.L.P. *Cryptosporidium* sp. and cryptosporidiosis. *Microbiological Reviews*, 1986, Vol.50(4), pp.458-483.

Goñi P., *et al.* Cryptosporidiosis outbreak in a child day-care center caused by an unusual *Cryptosporidium hominis* subtype. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2015, Vol. 33(10), pp.651–655.

Ghenghesh K. F., *et al.* *Cryptosporidium* in countries of the arab world: The past decade (2002-2011). *Libyan Journal of Medicine*, 2012, Vol.7(1).

Herbert L., *et al.* The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *The New England Journal of Medicine*, 1995, Vol.332(13), pp.855-859.

Hunter P. R., Thompson, R. C. The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, 2005, Vol.35(11), pp.1181-1190.

- Jagai *et al.* Seasonality of cryptosporidiosis: A meta-analysis approach. *Environmental Research*, 2009, Vol.109(4), pp.465-478.
- Jex A. R., Smith H. V., Monis P. T., Campbell B. E., Gasser R. B. *Cryptosporidium* - Biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnology Advances*, 2008, Vol.26(4), pp.304-317.
- Martínez L. N., Del Águila C. Bornay-Llinares F. J. *Cryptosporidium*: un género en revisión. Situación en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2011, Vol.29(2), pp.135-143.
- Meisel J. L., Perera D.R., Meligro C., and Rubin C. E. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology*, 1976, Vol.70, pp.1156–1160.
- Nichols G. Infection risks from water in natural and man-made environments. *Eurosurveillance: bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 2006, Vol.11(4), pp.76-8.
- Putignani L. Menichella D. Global Distribution, Public Health and Clinical Impact of the Protozoan Pathogen *Cryptosporidium*. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2010, Vol.2010, pp.39.
- Robertson L. J. *Cryptosporidium* as foodborne pathogen. *SpringerBriefs in Food, Health and Nutrition*, 2014, pp.10.
- Rossle N. Latif B. Cryptosporidiosis as threatening health problem: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, November 2013, Vol.3(11), pp.916-924.
- Ryan U., Fayer R., Xiao L. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology*, 2014, Vol.141(13), pp.1667-1685.
- Šlapeta J. Cryptosporidiosis and *Cryptosporidium* species in animals and humans: A thirty colour rainbow? *International Journal for Parasitology*, November 2013, Vol.43(12-13), pp.957-970.
- Tyzzar E. E. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1907, Vol.5, pp.12–13.