



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA
SEDE BOGOTÁ

IDENTIFICACIÓN DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP* Y *GIARDIA DUODENALIS* A TRAVÉS DE INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA (IFD) EN PEQUEÑOS RUMIANTES Y ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS EN GRANJAS ENTRE LOS 1300 Y 2500 M.S.N.M

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
BOGOTÁ D.C.
26 DE MAYO DE 2020

IDENTIFICACIÓN DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP* Y *GIARDIA DUODENALIS* A TRAVÉS DE INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA (IFD) EN PEQUEÑOS RUMIANTES Y ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS EN GRANJAS ENTRE LOS 1300 Y 2500 M.S.N.M

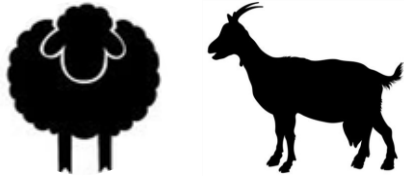
Trabajo de grado para optar por el título de Bacteriólogo y Laboratorista Clínico


Estudiante: **DANIELA ALEJANDRA COLLAZOS PULIDO**


Asesora interna: **RUTH PÁEZ DÍAZ MSc**

Asesor externo: **JIMMY JOLMAN VARGAS DUARTE MSc. PH.D**

Introducción



Actividades más antiguas del mundo 

 Mayor proyección Nacional

Clima

Higiene

¿Factores de riesgo?

Edad

Fuente de agua



Estándares de calidad



Susceptibles a diversos parásitos gastrointestinales

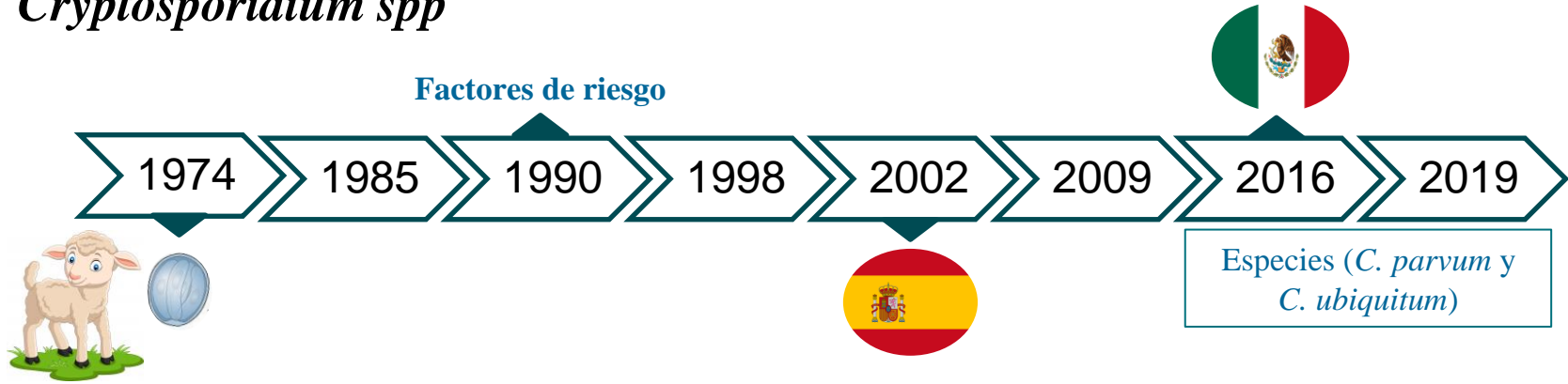
Cryptosporidium y Giardia

Reproducción en el intestino delgado

Antecedentes

Cryptosporidium spp

Factores de riesgo



Giardia duodenalis



Objetivo General

Detectar la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en corderos y cabritos por medio de la técnica de Inmunofluorescencia Directa en cuatro granjas localizadas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m

Objetivos Específicos

- ◆ **Identificar** *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en heces de corderos y cabritos de 1-4 meses de edad.
- ◆ **Determinar** los factores de riesgo de la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en el área de muestreo.
- ◆ **Realizar** un análisis de los factores predisponentes a la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en ovejas y cabras de granjas localizadas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m.

Marco Teórico

Taxonomía y Morfología de Cryptosporidium spp

Reino: Protista

Filo: Apicomplexa

Clase: Conoidasida

Subclase: Coccidiasina

Orden: Eucoccidiorida

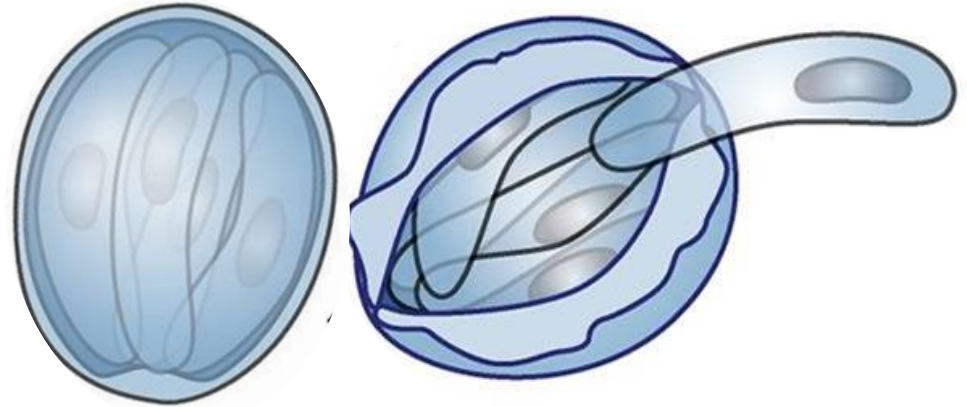
Suborden: Eimeriorina

Familia: Cryptosporidiidae

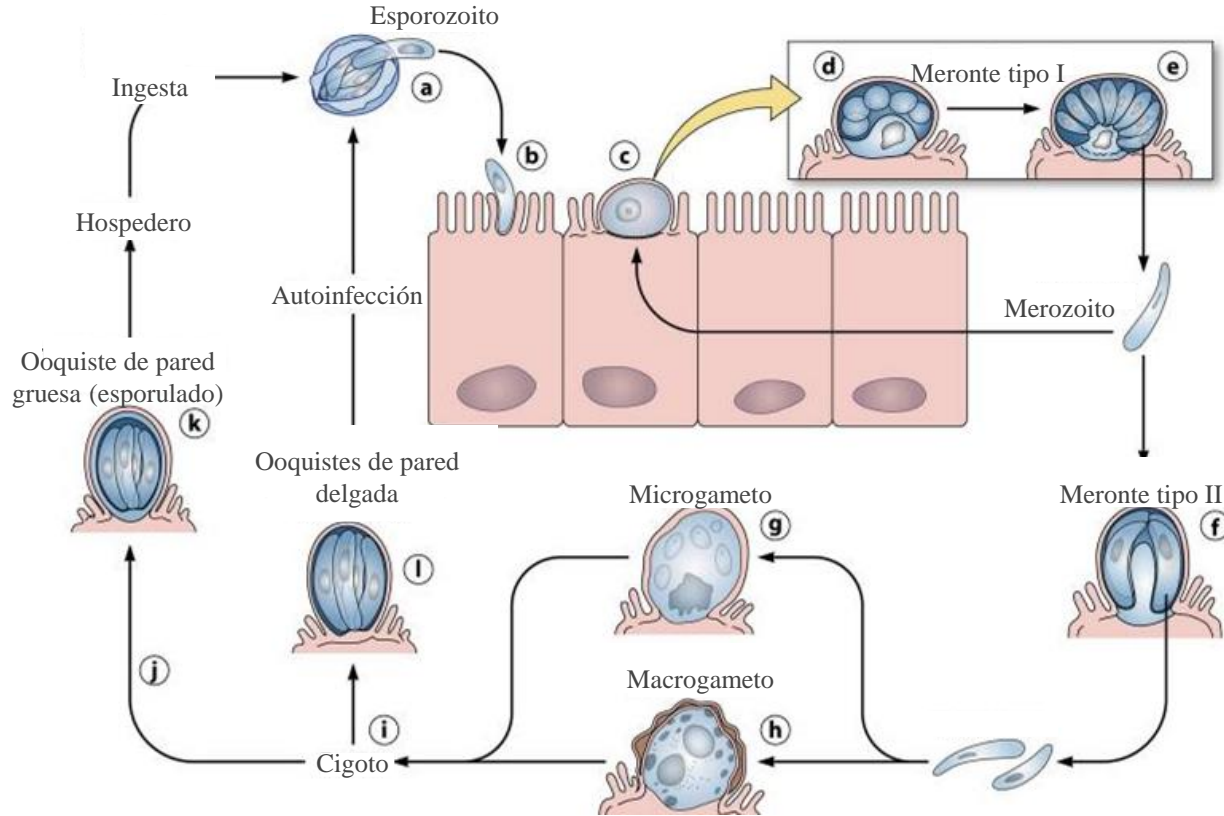
Género: *Cryptosporidium*

Especies presentes en ovinos y caprinos: *C. parvum*, *C. xiaoi*, *C. ubiquitum*, *C. andersoni*, *C. fayeri*

Ooquistes



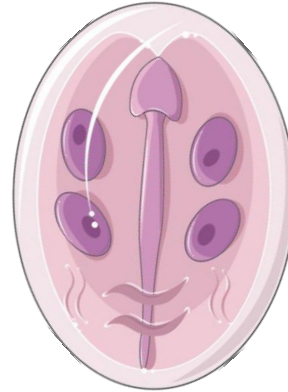
Ciclo de vida



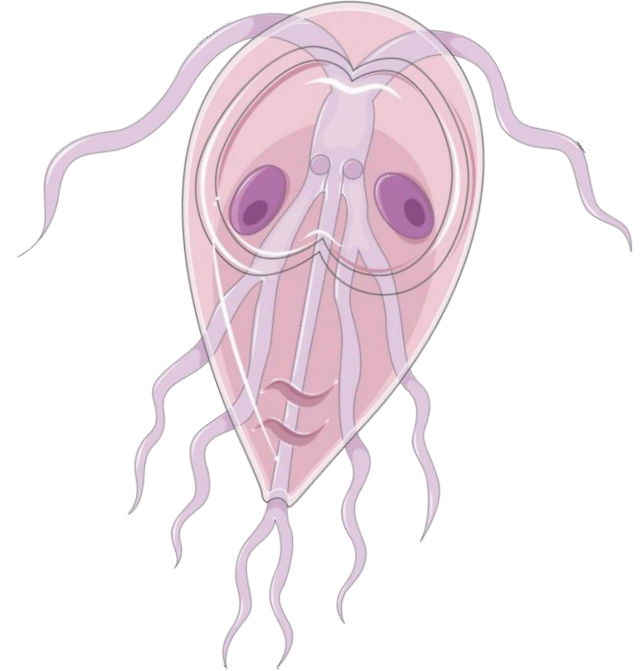
Taxonomía y Morfología de *Giardia duodenalis*

Reino: Protista
Subreino: Protozoa
Filo: Sarcomastigophora
Subfilo: Mastigophora
Clase: Zoomastigophorea
Orden: Diplomonadida
Familia: Hexamitidae
Género: <i>Giardia</i>
Especie: <i>G. duodenalis</i>

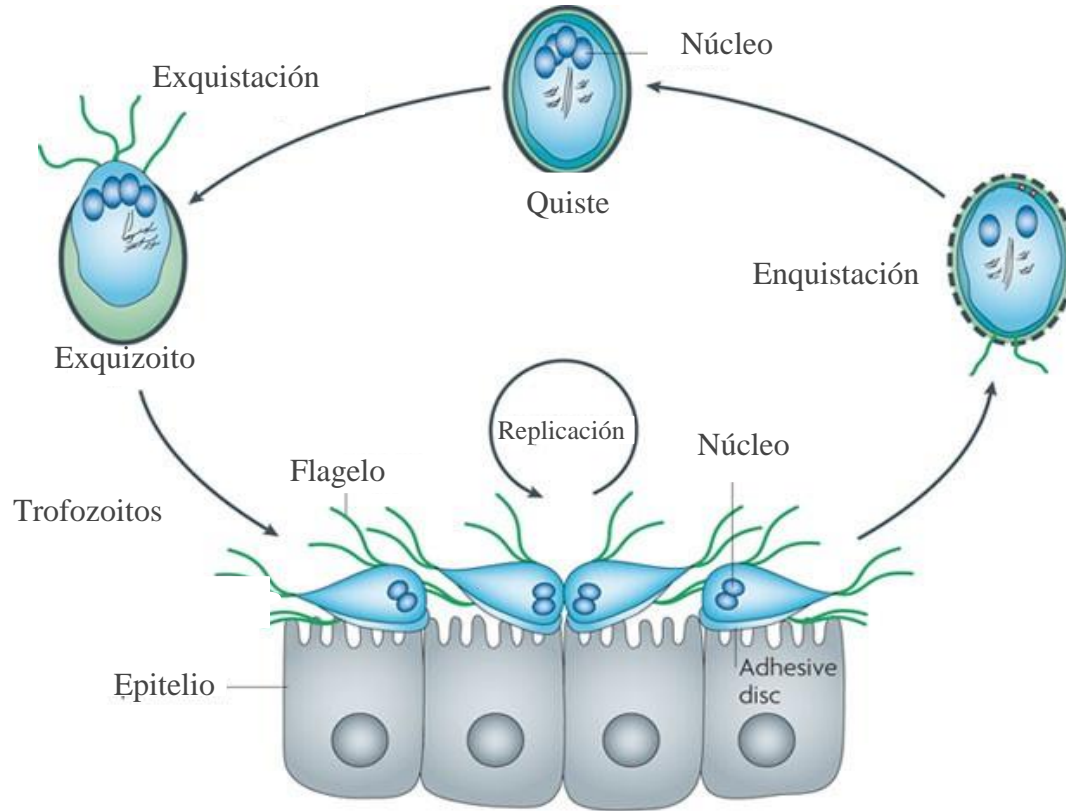
Quiste



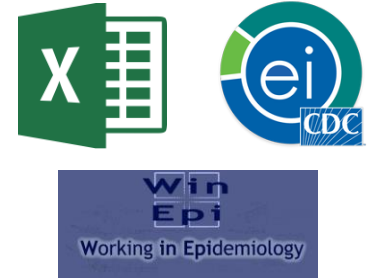
Trofozoito



Ciclo de vida



Metodología



🕒 Tipo de investigación

Descriptivo y de corte transversal.

🕒 Población

Ovejas y cabras entre 1 a 4 meses de edad, ubicadas en granjas localizadas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m

🕒 Tamaño de la Muestra

97 animales entre ovinos y caprinos



Fuente: https://www.freepik.es/vector-premium-cabra_2535940.htm

Hipótesis

Las condiciones climáticas y de higiene en los animales contribuyen a la presencia de ooquistes-quistes de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* respectivamente.



Fuente: <https://www.amazon.com/-/es/kawaii-cordero-calcoman%C3%ADa/dp/B073DV9Z5J>

Variables

Dependiente: Tiempo de infección parasitaria, la carga parasitaria

Independiente: Especie, edad, sexo, hábitat , fuente de agua , propósito, explotación , veredas muestreadas, clima.

Criterios de exclusión

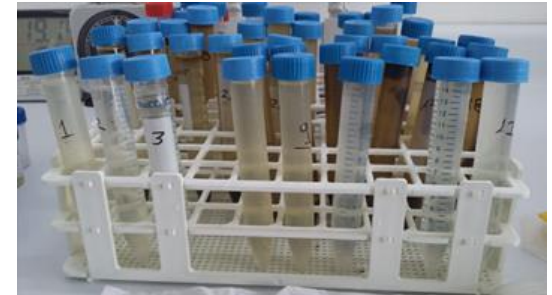
Fincas sin encuesta diligenciada.

○ Toma y Recolección de las muestras



○ Procesamiento de las muestras

- ◆ Flotación de ooquistes-quistes con solución sacarosa de Sheather (Fayer, et al)



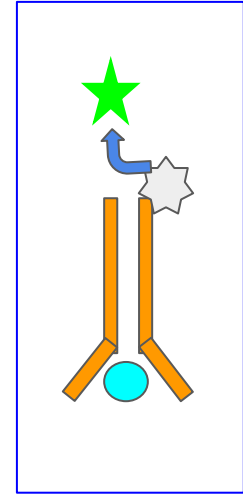
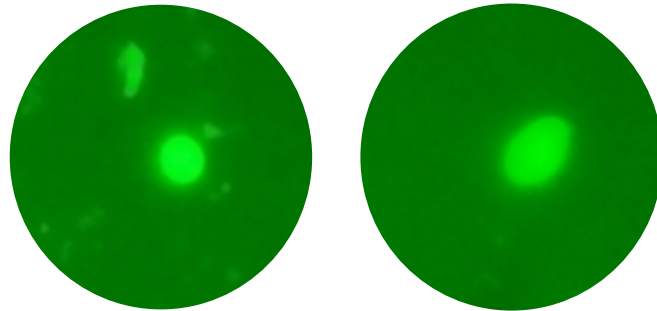
Prueba diagnóstica

Inmunofluorescencia Directa

Anticuerpos monoclonales anti-*Cryptosporidium* y anti-*Giardia* marcados con fluorocromo (FITC)



Contra Ag de
Cryptosporidium y *Giardia*



Resultados y Discusión

Especie	<i>Cryptosporidium spp</i>				<i>G. duodenalis</i>				<i>Cryptosporidium y Giardia</i>			
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Cabras	6	27,2%	16	72,7%	8	36,3%	14	63,6%	4	18,1%	18	81,8%
Ovejas	7	9,33%	68	90,6%	3	17,3%	62	82,6%	4	5,33%	71	91,7%

Cryptosporidium spp en cabras 27,2%, ovejas 9,33%.

G. duodenalis 36,3% en cabras y en ovejas 17,3%.

Ooquistes-quistes en cabras 18,1% (4 cabras) y en ovejas 5,33%. (4 ovejas)

Granjas Canadienses



Olson M, et al, (1997) *Cryptosporidium spp* en corderos del 23% y *Giardia* 57%.

Oeste de Francia



Castro J, et al, (2005), *Cryptosporidium spp* del 2.5% *Giardia* fue del 38,0% en cabras.

Maryland, EE.UU



Santín M. et al, (2007), *Cryptosporidium spp* en corderos fue del 32,2%, para *Giardia* 6,45%.

Galicia, España



Castro J.H et al, (2007), *Cryptosporidium spp* en cabras 7,7% y en ovejas 5,3%; *Giardia* en cabras 19,8% y ovejas 19,2%.

Veracruz, México



Romero, et al, (2016) *Cryptosporidium spp* en cabras se evidenció con el 72,5% y en ovejas 67,5%.

Veredas				
	Positivo		negativo	
	n	%	n	%
Mesitas del caballero	7	26,9%	5	7,0%
Rio arriba	3	11,5%	7	9,9%
San Antonio	3	11,5%	19	26,8%
San José	13	50,0%	40	56,3%
Total	26	100,0%	71	100,0%

En San José, Mosquera se presentó el mayor porcentaje de la presencia de algún ooquiste-quiste. Seguido por un 26,9% en la vereda Mesitas del Caballero, Anolaima.

Clima	<i>Cryptosporidium spp</i>						<i>G. duodenalis</i>							
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
n	%	n	%	n				%	n	%				
Cálido	5	83,3%	7	25,0%	0,01	15,000	2,05-109,24	5	71,4%	7	25,9%	0,03	7,142	1,25-40,79
	1	16,6%	21	75,0%				2	28,5%	20	74,0%			
Frio	1	14,2%	9	16,0%	0,69	0,870	0,09-8,26	3	21,4%	7	14,2%	0,38	1,636	0,36-7,39
	6	85,7%	47	83,9%				11	78,5%	42	85,7%			

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Significancia estadística, animales expuestos al clima cálido, (altitud menor de 2000 m.s.n.m), valor $p < 0,05$ y el $OR > 1$.

Green et al, 2004.
Brasil

Mukbel et al, 2017.
Jordania

Explotación	<i>Cryptosporidium spp</i>						<i>G. duodenalis</i>							
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
n	%	n	%	n				%	n	%	n			
Extensiva	0		0		0,00	0,000	0,000	0		0		0,00	0,000	0,000
	6	11,3%	47	88,6%				11	20,7%	42	79,2%			
Intensiva	6	27,2%	16	72,7%	0,04	7,875	1,08-57,34	8	36,3%	14	63,6%	0,03	5,714	1,15-28,33
	1	4,55%	21	95,4%				2	90,9%	20	90,9%			

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Significancia estadística, en el sistema de producción intensivo, al obtenerse valor $p=0,04$ y $OR=7875$ para *Cryptosporidium spp*. Asimismo, valor $p=0,03$ y $OR=5,714$ para *G. duodenalis*, considerándose un factor de riesgo.

Geurden et al, 2008.
Bélgica

Castro et al, 2017.
México

Fuente de agua		
	n	%
Municipal	75	77,3%
Pozo	22	22,7%
Total	97	100,0%

Municipal $p=0,08$ y $0,13$

($p>0.05$) mayor presencia de ooquistes en los animales con disposición de agua municipal 27,2% en cabras y 11,3 % en ovejas.

Presencia de quistes en el mismo tipo de agua en cabras 36,3% y en ovejas 20,7%.

Olson et al, 1999.
Canadá

Ramo et al, 2017.
España

Hernández et al, 2012.

Limpieza	<i>Cryptosporidium spp</i>							<i>G. duodenalis</i>						
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
n	%	n	%	n				%	n	%	n			
Semanal	1	10,0%	9	90,0%	0,69	0,870	0,09-8,26	3	30,0%	7	70,0%	0,38	1,636	0,36-7,39
	6	11,3%	47	88,6%				11	20,7%	42	79,2%			
Mensual	5	41,6%	7	58,3%	0,01	15,000	2,05-109,24	5	41,6%	7	58,3%	0,03	7,142	1,25-40,79
	1	4,55%	21	95,4%				2	9,09%	20	90,9%			

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Significancia estadística, la limpieza que se realiza mensualmente ($p=0,01$ OR=15,000) y ($p=0,03$ OR=7,142).

Mohammed et al,
1999. EE.UU

D/excretas	<i>Cryptosporidium spp</i>						<i>G. duodenalis</i>							
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
	n	%	n	%				n	%	n	%			
Abono	6	27,2%	16	72,7%	0,04	3,642	1,12-11,76	8	36,3%	14	63,6%	0,05	2,725	1,00-7,68
	7	9,33%	68	90,7%				13	17,3%	62	82,6%			

El desecho de excretas de tipo abono incrementa la presencia de *Cryptosporidium spp* (p=0,04 OR=3,642)

*Prueba chi cuadrado (X²), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

No realizar desinfección estadísticamente significativo p=0,03 OR=7,142

Desinfección	<i>Cryptosporidium spp</i>						<i>G. duodenalis</i>							
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
	n	%	n	%				n	%	n	%			
Si	1	10,0%	9	90,0%	0,64	1,079	0,11-9,94	3	30,0%	7	70,0%	0,38	1,636	0,36-7,39
	7	9,33%	68	90,6%				13	17,3%	62	82,6%			
No	5	41,6%	7	58,3%	0,00	2,000	0,00-3,05	5	41,6%	7	58,3%	0,03	7,142	1,25-40,79

*Prueba chi cuadrado (X²), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Hernández et al, 2012.

Maddox et al, 2006.

Conclusiones

Se identificó la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en los pequeños rumiantes, en cuatro granjas de diferentes municipios de Colombia (Mosquera, Paipa, Anolaima y Arbeláez).



Factores de riesgo asociados:

- ◆ El clima cálido (OR=15,000; IC 95% 2,05-109,24) para *Cryptosporidium* (OR=7,142; IC 95% 1,25-40,79) *Giardia*. Con altitudes en el rango de 1,382 – 1,579 m.s.n.m.
- ◆ El tipo de producción intensivo (OR= 7,875; IC 95% 1,08-57,34) y (OR= 5,714; IC 95% 1,15-28,33).
- ◆ Limpieza mensual de los establecimientos (OR=15,000; IC 95% 2,05-109,24) para la presencia de ooquistes, (OR=7,142 IC 95% 1,25-40,79) para quistes.
- ◆ Desecho de excretas como abono (OR=3,642; IC 95% 1,12-11,76) (OR=2,725; IC 95% 1,00-7,68).

Debe prestarse mayor atención a los factores asociados con la presencia de ooquistes-quistes en los sistemas de producción de pequeños rumiantes, para mejorar las condiciones higiénico-sanitarias.



Recomendaciones

Dar a conocer a los propietarios de granjas, los factores asociados a la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia*, las complicaciones en salud y las disminución de producción de los animales.

Realizar futuros estudios con mayor población ovina-caprina en diferentes departamentos para esclarecer la situación epidemiológica de criptosporidiosis y giardiasis en los pequeños rumiantes.

Prevención → Buenas prácticas de manejo

Higiene

Separación por grupos
etarios

Limpieza y
desinfección

Aislamiento de los
animales sanos de los
enfermos

Nutrición

Tratamiento del agua
de bebida

Adecuado manejo de
excretas



¡Gracias!

Bibliografía

1. Especie ovino caprina [Internet]. 2020. Available from: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/enfermedades-animales/especie-ovino-caprina.aspx>
2. S.A.S ELR. El negocios de ovinos y caprinos es rentable pero de mucho cuidado [Internet]. 2020. Available from: <https://www.agronegocios.co/ganaderia/negocios-ovino-y-caprino-son-rentables-pero-de-cuidado-2621594>
3. Cabanelas E, Díaz P, Pérez-Creo A, Remesar S, Prieto A, Díaz JM, et al. Principales parasitosis del ganado ovino. OviSpain [Internet]. 2017;24–6. Available from: https://www.researchgate.net/publication/317727165_PRINCIPALES_PARASITOSIS_DEL_GANADO_OVINO
4. Urbina A, Mata L, Rojas J. Criptosporidiosis: Una zoonosis de reciente interes. ADELMICROBIOLENFINFECC [Internet]. 1984;3:160–74. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/7dd6/5e9169b0188cd8d5812330553c00bea27661.pdf>
5. Ahourai P, Ezzi A, Gholami MR, Vandyoosefi J, Kargar R, Maalghagh N. Cryptosporidium SPP. In new born lambs in Iran. Trop Anim Health Prod [Internet]. 1985 Feb 19;17(1):6–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02356126>
6. B.D H. Enteric protozoa in ruminants: diagnosis and control of Cryptosporidium, the role of the immune response. Rev Sci Tech [Internet]. 1990;9(2):423–40. Available from: https://doc.oie.int/seam/resource/directMedia/_SK8U6oZg0QtIwmhaIDSsRYDEJiz0G5B?binaryFileId=7854&cid=59

7. Koudela B, Vítovec J. Experimental giardiasis in goat kids. *Vet Parasitol* [Internet]. 1998;74(1):9–18. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9493306>
8. Taylor MA, Webster KA. Recent advances in the diagnosis in livestock of *Cryptosporidium*, *Toxoplasma*, *Giardia* and other protozoa of veterinary importance. *Res Vet Sci* [Internet]. 1998 Mar 1;65(3):183–93. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528898901412>
9. Doménech J. *Cryptosporidium* y *Giardia*, problemas emergentes en el agua de consumo humano. *Offarm* [Internet]. 2003 Mar 1;22(11):112–6. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-cryptosporidium-giardia-problemas-emergentes-el-13055926>
10. Aloisio F, Filippini G, Antenucci P, Lepri E, Pezzotti G, Cacciò SM, et al. Severe weight loss in lambs infected with *Giardia duodenalis* assemblage B. *Vet Parasitol* [Internet]. 2006;142(1–2):154–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16891057>
11. Current WL, Navin TR. *Cryptosporidium*: Its biology and potential for environmental transmission. *Crit Rev Environ Control* [Internet]. 1986 Mar 10;17(1):21–51. Available from: <https://doi.org/10.1080/10643388609388328>
12. Sanchez C, Quílez J, Cacho Malo E, Gallego M, Bernad L, Estrada A. DIARREAS NEONATALES de los pequeños rumiantes: criptosporidiosis. *Sitio Argentino Prod Anim* [Internet]. 2009;10(1):23–9. Available from: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_caprinos/34-cryptosporidiosis.pdf
13. Núñez F. Capítulo 18: *Giardia lamblia* [Internet]. 1ra Edició. Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo JL; 2001. 31–38 p. Available from: https://www.researchgate.net/publication/280087571_Giardia_lamblia

14. Johnston SP, Ballard MM, Beach MJ, Causer L, Wilkins PP. Evaluation of three commercial assays for detection of giardia and cryptosporidium organisms in fecal specimens. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2003 Mar 11;41(2):623–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC149727/>
15. 59 MERIFLUOR. Direct immunofluorescent detection procedure for the simultaneous detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in fecal material. [Internet]. Available from: https://www.meridianbioscience.com/uploads/250050_pi.pdf
16. Olson ME, Thorlakson CL, Deselliers L, Morck DW, McAllister TA. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. *Vet Parasitol* [Internet]. 1997 Mar 17;68(4):375–81. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401796010722>
17. Squire SA, Yang R, Robertson I, Ayi I, Ryan U. Molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* in farmers and their ruminant livestock from the Coastal Savannah zone of Ghana. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis* [Internet]. 2017;55:236–43. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28941990>
18. Castro-Hermida JA, Pors I, Poupin B, Ares-Mazás E, Chartier C. Prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium parvum* in goat kids in western France. *Small Rumin Res* [Internet]. 2005 Mar 17;56(1):259–64. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448804001427>
19. Delafosse A, Castro JA, Baudry C, Pors I, Ares ME, Chartier C. Prévalence et facteurs de risque de la cryptosporidiose caprine dans le département des Deux Sèvres (France). *Renc Rech Ruminants* [Internet]. 2003;289–92. Available from: http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/sante_06_Delafosse.pdf
20. Santín M, Trout JM, Fayer R. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland. *Vet Parasitol* [Internet]. 2007;146(1–2):17–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17335979>

21. Castro-Hermida JA, González-Warleta M, Mezo M. Natural infection by *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in sheep and goats in Galicia (Nw Spain). *Small Rumin Res* [Internet]. 2007 Mar 17;72(2):96–100. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448806002355>
22. Castro N, Castro N, Enríquez I, Portillo J, Gaxiola S. PREVALENCIA FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A *Cryptosporidium* spp EN CORDEROS DEL MUNICIPIO DE CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO. *Rev Científica, FCV-LUZ* [Internet]. 2017;4:211–9. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/959/95953011003.pdf>
23. Mukbel RM, Ghaith AO, Halaweh MA, Abo-Shehada MN. Prevalence of giardia assemblages among equines in Jordan. *J Equine Vet Sci* [Internet]. 2017 Mar 17;57:1–7. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080617304100>
24. Olson M, Goh J, Phillips M, Guselle N, McAlister T. *Giardia* Cyst and *Cryptosporidium* Oocyst Survival in Water, Soil, and Cattle Feces. *J Environ Qual* [Internet]. 1999;28:1991–5. Available from: https://www.researchgate.net/publication/250107059_Giardia_Cyst_and_Cryptosporidium_Oocyst_Survival_in_Water_Soil_and_Cattle_Feces
25. Maddox-Hyttel C, Langkjaer RB, Enemark HL, Vigre H. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs--occurrence and management associated risk factors. *Vet Parasitol* [Internet]. 2006;141(1–2):48–59. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16797848>