

Investigación de *Blastocystis* sp. en agua de consumo humano en una población escolar de la zona rural del estado Mérida-Venezuela

Blastocystis sp. in Drinking Water at a Rural School in Merida, Venezuela

**Flores-Carrero, Ana Deixy*;
Peña-Contreras, Zulma; Dávila-Vera, Delsy;
Colmenares-Sulbarán, Melisa
y Mendoza-Briceño, Rosa Virginia**

Centro de Microscopía Electrónica “Dr. Ernesto Palacios Prü”,
Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
*adeixy@yahoo.com

Resumen

Para detectar la presencia de *Blastocystis* sp. en el agua de consumo de una escuela rural del estado Mérida, se recolectaron 36 muestras provenientes de la fuente natural que surte el tanque de distribución, del tanque y de los grifos, durante los meses de Septiembre 2008, Febrero y Diciembre del 2009 y Mayo 2010. El procesamiento de las muestras se realizó siguiendo la técnica propuesta por Suresh y col. (2005). Los resultados sugieren que el agua de consumo estaba exenta de *Blastocystis* o que la cantidad de quistes viables presentes en las muestras fue muy baja, lo que no permitió lograr la recuperación del parásito en el cultivo. Por ello se requiere el uso de técnicas más sensibles que permitan detectar cantidades bajas del microorganismo en aguas de consumo humano. El estudio de los hábitos de consumo de agua de la población estudiantil de la escuela rural, mostró que más de la mitad de la población consume agua hervida, esto probablemente se deba a que están conscientes que el agua a la cual tienen acceso proviene de una fuente natural no tratada.

Palabras clave: *Blastocystis* sp., Blastocystosis, parásito, agua de consumo humano.

Recibido: 11-05-11 / Aceptado: 11-07-11

Abstract

In order to determine the presence of *Blastocystis* sp. in drinking water at a rural school in Merida, 36 water samples were collected from natural sources that feed the distribution tank and faucets during the months of September, 2008, February and December, 2009, and May, 2010. Samples were processed using the technique proposed by Suresh *et al.* (2005). All samples were negative. These results suggest that the water was exempt from *Blastocystis* or that the quantity of viable cysts present in the samples was very low, not permitting reproduction in the culture. This report suggests the importance of using more sensitive techniques to detect low amounts of the organism in drinking water. The study of student water consumption habits at the rural school showed that more than half the population consume boiled water; probably, they are aware that the water source has not been treated for drinking.

Keywords: *Blastocystis* sp., Blastocystosis, parasite, drinking water.

Introducción

La investigación de parásitos en agua ha cobrado importancia en los últimos años, es así que la Organización Mundial de la Salud ha sugerido la creación de protocolos que incluyan el estudio parasitológico para determinar la calidad microbiológica del agua (1, 32). En los países industrializados donde se han presentado brotes por *Cryptosporidium* sp. y *Giardia lamblia*, se han incluido protocolos de estudio que buscan determinar la presencia de estos protozoarios en las aguas de consumo humano y se han establecido cifras que permiten determinar concentraciones peligrosas de estos microorganismos, sin escatimar esfuerzos ni costos (3, 7, 10, 14, 33). Si bien *Blastocystis hominis* continua siendo centro de controversia en cuanto a su rol patógeno, diversos autores le han otorgado importancia como problema de salud pública y se ha sugerido la transmisión a través del agua de consumo humano (8, 9, 21, 25), lo cual podría explicar la elevada prevalencia en las poblaciones de países en vías de desarrollo (15, 16, 20, 27, 30) y justificar su investigación en los programas de control de calidad del agua de consumo.

Las variables morfológicas de *Blastocystis hominis* han captado la atención de

diversos investigadores, lo cual ha generado múltiples estudios morfológicos que han arrojado importantes resultados, permitiendo unificar criterios en cuanto a sus formas evolutivas (11, 23, 27, 28, 36, 37). Sin embargo, sigue siendo la forma quística o forma de resistencia, un problema en cuanto a su reconocimiento en los exámenes directos, tanto de muestras de heces como del medio ambiente, debido a su pequeño tamaño que oscila entre 3 a 6 μm (4, 12, 23, 27, 35, 36). La ultraestructura de quiste fue descrita por primera vez por Melhorn en 1988, posteriormente otros autores han descrito la forma quística, basados en estudios *in vitro* (4, 23, 36). La capacidad infectante del quiste fue probada por Moe y col. (1997) al lograr infectar ratones de laboratorio con quistes de *B. hominis*, igualmente la resistencia del microorganismo a los tratamientos como el cloro ha sido probada dentro del laboratorio (34). Los reportes que prueban de manera experimental su transmisión a través del agua son escasos (8, 9, 24) mientras que abundan los que basan la sugerencia de la transmisión a través del agua en la metodología del análisis de riesgo a través de encuestas realizadas a personas infectadas (1, 5, 8, 17, 19, 22, 25, 26). *Blastocystis* sp. ha sido descrito en especies de animales distintas al humano (13, 29,

34), por lo cual, una investigación del parásito en agua tendrá que prever que el hallazgo de alguna de las formas de *Blastocystis* encontradas no necesariamente podrá ser definida como *B. hominis*, ya que la fuente de contaminación del agua podrían ser heces de animales presentes en la zona.

El propósito de este estudio fue investigar la presencia de quistes de *Blastocystis* sp. en los afluentes de agua que surten la red de suministro de la Unidad Educativa Vitalia Gutiérrez del Sector del Valle del Estado Mérida, con el fin de determinar si el agua es una fuente de transmisión importante de este parásito, ya que es la propia comunidad y no las autoridades gubernamentales las que se encargan del mantenimiento de los tanques de suministro.

Material y método

Se recolectaron 36 muestras de agua, en diferentes meses del año: 9 muestras en Septiembre de 2008, 9 en Febrero de 2009, 9 en Diciembre de 2009 y 9 en Mayo de 2010. Las muestras provenían de la entrada al tanque principal que distribuye agua a toda la comunidad, del contenido del tanque, de la salida del tanque, de un grifo ubicado en la zona media de la trayectoria antes de llegar a la unidad educativa, de los grifos ubicados en el baño de las niñas, baño de los niños, patio central, parque y laboratorio de alimentos.

La cantidad de agua recolectada en cada toma fue de 500 mL. Las muestras de agua fueron procesadas siguiendo en protocolo de Suresh y col. 2005, sustituyendo sólo el medio de cultivo de Jones' utilizado por estos autores, por el medio de Boeck y Drbovlav modificado (6), el cual ha sido estandarizado dentro de nuestro laboratorio para el procesamiento de cultivos de muestras de alimentos, agua y muestras fecales, siendo un medio

económico y efectivo. Las muestras fueron centrifugadas a $1.800 \times g$ durante 15 minutos, reduciendo cada muestra a un volumen de 20 mL con los sedimentos obtenidos. Cada muestra de 20 mL fue nuevamente centrifugada a $1.800 \times g$ durante 5 minutos. Una vez descartado el sobrenadante, se obtuvieron unos 1000 μL de sedimento. A partir del sedimento se tomaron 60 μL para realizar examen directo entre lámina y laminilla al microscopio de luz (400X) utilizando 30 μL para la muestra sin coloración y 30 μL para las preparaciones en fresco con lugol (2, 18). De cada muestra se realizaron tres cultivos sembrando 200 μL del sedimento en cada uno de los tubos, con la finalidad de aumentar la cantidad de formas viables. Los medios de cultivo fueron incubados a 37°C y examinados para buscar formas de *Blastocystis* sp. mediante examen microscópico de la fase líquida del medio de cultivo bajo el microscopio de luz a 400X a las 48 horas, 72 horas y hasta los 5 días.

Para determinar los hábitos de consumo de agua para adquirir una infección por *Blastocystis*, se aplicó una encuesta a los escolares de la Unidad Educativa durante el período escolar 2008-2009. En la encuesta participó el 80% de la población estudiantil.

Resultados

Todas las muestras de los afluentes y las de los grifos de acceso a los escolares durante todos los períodos estudiados resultaron negativas, tanto en la observación del sedimento como en los cultivos (Tabla 1).

En la Tabla 2 se observan los hábitos con respecto al consumo de agua de los escolares de la escuela rural. El 67,50% de los escolares encuestados indicó consumir agua hervida exclusivamente, mientras que un 23,75% indicaron que bebían agua directamente del grifo.

Tabla 1. Muestras de agua recolectadas en una escuela rural en la zona de El Valle en el estado Mérida, Venezuela (Quebrada la Carbonera).

| Fuente de recolección | Septiembre 2008 | | Febrero 2009 | | Diciembre 2009 | | Mayo 2010 | |
|---------------------------------------|-----------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|
| | Examen Directo | Cultivo | Examen Directo | Cultivo | Examen Directo | Cultivo | Examen Directo | Cultivo |
| Entrada del tanque principal | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Tanque | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Salida del tanque principal | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Grifo en zona media de la trayectoria | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Grifo baño de niñas | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Grifo baño de niños | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Grifo patio central | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Grifo en el Parque | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Grifo en laboratorio de alimentos | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |

Tabla 2. Hábitos de consumo de agua de los escolares de la Unidad Educativa Vitalia Gutiérrez del Sector del Valle del estado Mérida, Venezuela. Período escolar 2008-2009.

| Variable | Período Escolar 2008-2009 | |
|--|---------------------------|-------|
| | N | % |
| Consume agua hervida exclusivamente | 54 | 67,50 |
| Consume agua filtrada exclusivamente | 3 | 3,75 |
| Consume agua hervida y filtrada | 1 | 1,25 |
| Consume agua hervida y del grifo | 1 | 1,25 |
| Consume agua hervida, filtrada y del grifo | 2 | 2,50 |
| Consume agua directamente del grifo en el hogar o en la escuela exclusivamente | 19 | 23,75 |
| Consume agua envasada comercialmente exclusivamente | 0 | 0,00 |

Período escolar 2008-2009: Población estudiantil: 100 alumnos, Encuestados: 80 alumnos.

Discusión

En el estudio realizado no fue posible recuperar *Blastocystis* sp. del agua de consumo de ninguna de las fuentes estudiadas, esto concuerda con lo señalado por Suresh y col. (2005), quienes tampoco lograron observar quistes en los exámenes directos de muestras

provenientes de afluentes y efluentes de aguas tratadas para consumo humano. Estos autores indican que la recuperación eficiente por la técnica utilizada, les permitió concentrar quistes de *Blastocystis* a través del cultivo, sólo cuando las muestras provenientes de efluentes de aguas residuales presentaban 10.000 quistes/litro. Sería posible entonces

que de estar presente *Blastocystis* en las muestras recolectadas en nuestro estudio, la carga parasitaria fuese menor a la requerida para poder ser recuperado por la técnica utilizada.

Karanis y col. (2007) han propuesto la estandarización de métodos que permitan maximizar la vigilancia de la salud pública con base en las lecciones aprendidas en la investigación de microorganismos como *Giardia* sp. y *Cryptosporidium* sp., cuyo historial de reportes de transmisión hídrica supera con creces los de *Blastocystis hominis*, probablemente por contar con técnicas más eficientes para la detección (3, 10, 31). Las técnicas moleculares ya han sido utilizadas al servicio de la recuperación de estos protozoarios en agua. Leelayoova y col. (2008) lograron detectar *Blastocystis* sp. Subtipo 1 en muestras de agua en una escuela rural de Tailandia y correlacionar el hallazgo con cepas encontradas en las heces de los niños que asistían a esa escuela, determinando además la presencia de la misma cepa en animales de la zona.

Con base en los resultados obtenidos, se hace evidente la importancia de afinar técnicas de detección que tal vez puedan llegar a ser más costosas, pero más eficientes en la detección y determinación de la carga parasitaria en las aguas de consumo en nuestros países, donde *Blastocystis hominis* probablemente ocupe el lugar que posee *Cryptosporidium* y *Giardia lamblia* en los países desarrollados.

La encuesta sobre hábitos de consumo de agua aplicada a la población estudiantil de la escuela rural, muestra un 67,50% de consumo de agua hervida, igualmente un pequeño porcentaje consume agua hervida y filtrada (1,25%) o sólo filtrada (3,75%); mientras que el 23,75% la consume directamente de

los grifos (Tabla 2). Esto indica que más de la mitad de la población aplica hábitos adecuados, lo que probablemente se deba al hecho de conocer que el agua a la cual tienen acceso no es tratada mediante métodos químicos para potabilización. Esto posiblemente ha creado una conciencia colectiva con respecto al consumo de agua hervida que es la forma más económica y accesible de tratamiento.

Si bien en las muestras de agua estudiadas no se encontró *Blastocystis*, la relación entre agua no tratada e infección por el parásito ha sido reconocida por diversos autores que han estudiado los factores de riesgo en diversas poblaciones (1, 5, 8, 10, 19, 21, 25). Es por ello de gran importancia la educación de la población, en cuanto a la forma de protegerse de las parasitosis donde el agua es un importante vehículo de transmisión.

Agradecimientos

A la Fundación para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología del Estado Mérida (FUNDACITE-Mérida), que a través del Proyecto CF-07-25 financió gran parte de este estudio.

Referencias bibliográficas

- (1) Barahona L, Marguiña C, Náquira C, Terashima A, Tello R. Blastocystosis humana: Estudio prospectivo, sintomatología y factores epidemiológicos asociados. Rev Gastroenterol Perú 2003; 23: 29-35.
- (2) Betancourt W, Querales L. Parásitos protozoarios entéricos en ambientes acuáticos: Métodos de concentración y detección. INCI 2008; 33(6): 418-423.
- (3) Bielec L, Boisvert T, Jackson S. Modified procedure for recovery of *Giardia* cysts from diverse water sources. Lett Applied Microbiol 1996; 22: 21-25.

- (4) Guzmán C, Arrechedera H, Pérez E. Ultraestructura de *Blastocystis hominis* y su enquistamiento en cultivo polixénico. *Vitae: Academia Digital*. ISSN 1317-987X. Enero-Marzo 2007; 30. Disponible en: <http://vitae.ucv.ve/?module=articulo&rv=15&n=382&m=3&e=602>.
- (5) Karanis P, Kourente C, Smith H. Waterborne transmission of protozoan parasites: A worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *J Water Health* 2007; 05.1:1-38.
- (6) Lanuza M, Carbajal J, Villar J, Borrás R. Description of an improved method for *Blastocystis hominis* culture and axenitation. *Parasitology Research* 1997; 83: 60-63.
- (7) LeChevalleier M, Norton W, Lee R. *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. In filtered drinking water supplies. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57(9): 2617-2621.
- (8) Leelayoova S, Ramgsin R, Taamasri P, Naaglor T, Thathaisong U, Mungthin M. Evidence of waterborne transmission of *Blastocystis hominis*. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 70 (6): 658-662.
- (9) Leelayoova S, Siripattanapipong S, Thathaisong U, Naaglor T, Taamasri P, Piyaraj P, et al. Drinking water: a possible source of *Blastocystis* spp. Subtype 1 infection in schoolchildren of a rural community in central Thailand. *Am J Trop Hyg* 2008; 79(3): 401-406.
- (10) Massanet-Nicolau J. New method using sedimentation and immunomagnetic separation for a isolation and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia lamblia* cysts. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69(11): 6758-6761.
- (11) Melhorn H. *Blastocystis hominis*, Brumpt 1912: are there different stages or species?. *Parasitol Res* 1988; 74:393-395.
- (12) Moe K, Tifnouti A, Bitton G, Libanore M. Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. *Parasitol Res* 1997; 83: 319-325.
- (13) Parkar U, Traub R, Kumar S, Mungthin M, Vitali S, Leelayoova S, et al. Direct characterization of *Blastocystis* from feces by PCR and evidence of zoonotic potential. *Parasitol* 2007; 134: 359-367.
- (14) Quintero-Betancourt W, Gennaccaro A, Scott T, Rose J. Assessment of methods for detection of infectious *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in reclaimed effluents. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69(9): 5380-5388.
- (15) Requena I, Hernández Y, Ramsay M, Salazar C, Devera R. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en vendedores ambulantes de comida en el Municipio Caroní, Estado Bolívar, Venezuela. *Cad Saúde Pública* 2003; 19(6):1721-1727.
- (16) Rodríguez E, Mateos B, González J, Aguilar Y, Alarcón E, Mendoza A, et al. Transición parasitaria a *Blastocystis hominis* en niños de la zona centro del estado de Guerrero, México. *Parasitol Latinoam* 2008; 63:20-28.
- (17) Salinas J, Vildozola H. Infección por *Blastocystis*. *Rev Gastroenterol. Perú*. [on line]. jul./set. 2007, vol. 27, no.3 [citado 20 Enero 2011], p. 264-274. Disponible en la World Wide Web: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292007000300007&Ing=es&nrm=iso ISSN 1022- 5129.
- (18) Salvatella R, Eiralle C. Examen coproparasitológico: Metodología y empleo. Revisión técnica metodológica. *Rev Med Uruguay* 1996; 12: 215-223.
- (19) Slifko T, Smith H, Rose J. Emerging parasite associated with water and food. *International J Parasitol* 2000; 30: 1379-1393.
- (20) Sohail M, Fischer P. *Blastocystis hominis* and travelers. *Travel Med Infect Dis* 2005; 3: 33-38.
- (21) Solarte Y, Peña M, Madera C. Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua de consumo humano. *Colomb Med* 2006; 37 (1): 74-82.
- (22) Stenzel D, Boreham P. A cyst-like stage of *B. hominis*. *Inter J Parasitol* 1993; 21: 613-615.
- (23) Stenzel D, Boreham P. *Blastocystis hominis* Revised. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9 (4): 563-584.
- (24) Suresh K, Smith H, Tan T. Viable *Blastocystis* cyst in Scottish and Malaysian sewage samples. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(9):5619-5620.

- (25) Taamasri P, Mungthin M, Rangsin R, Tongupprakarm B, Areekul W, Leeyaloova S. Transmission of intestinal Blastocystosis related to the quality of drinking water. *South-east Asian J Trop Med Public Health* 2000; 31 (1): 112-117.
- (26) Tabares L, González L. Prevalencia de parasitosis intestinales en niños menores de 12 años, hábitos higiénicos, características de las viviendas y presencia de bacterias en el agua en una vereda de Sabaneta, Antioquia, Colombia. *IATREBIA* 2007; 21 (3): 253-259.
- (27) Tan K, Singh M, Yap E. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spot in terra incognita. *Inter J Parasitol* 2002; 32:789-804.
- (28) Tan S. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21 (4): 639-665.
- (29) Thathaisong U, Worapong J, Mungthin M, Tan-Ariya P, Viputtigul K, Sudatis A, et al. *Blastocystis* isolates from pigs and horse are closely related to *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol* 2003; 41 (3): 967-975.
- (30) Traviezo L, Triolo M, Agobian G. Predominio de *Blastocystis hominis* sobre otros enteroparásitos en pacientes del municipio Palavecino, estado Lara, Venezuela. *Rev Cubana Med Trop* 2006; 58 (1): 14-18.
- (31) Wohlsen T, Bates J, Gray B, Katouli M. Evaluation of five membrane filtration methods for recovery of *Cryptosporidium* and *Giardia* isolates from water samples. *Appl and Environ Microbiol* 2004; 70 (4):2318-2322
- (32) World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality (electronic resource): incorporating 1st and 2nd addenda. Recommendations. 3rd edition. Chapter 11.3: Protozoan pathogens:11.3.2^a *Blastocystis*.2008; ISBN 92 4 154696 4. Available from:www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/index.html
- (33) Yoshigawa H, Abe N, Wu Z. PCR-based identification of zoonotic isolates of *Blastocystis* from mammals and birds. *Microbiol* 2004; 150: 1147-1151.
- (34) Zaki, M, Zaman V, Sheikh N. Resistance of *Blastocystis hominis* cysts to chlorine. *JPMA* 1996; 46: 178-179.
- (35) Zaman V, Howe J, Ng M. Variation in cysts morphology of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 1997; 83: 303-308.
- (36) Zierdt C, Donnelley C, Muller J, Constantopoulos G. Biochemical and ultrastructural study of *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol* 1988; 26 (5): 965-970.
- (37) Zierdt C. *Blastocystis hominis*-Past and future. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4 (1): 61-79.