



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
ÁREA ACADÉMICA DE MEDICINA
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA

Incidencia de parasitosis y su genotipificación dependientes de factores socioambientales como determinantes de la salud en niños de Tlaxcoapan Hidalgo.

Proyecto terminal de carácter profesional para obtener el grado de
MAESTRA EN SALUD PÚBLICA

Presenta:

DIANA VERÓNICA SÁNCHEZ MARTÍNEZ

Director:

D. EN C.S.P. JESÚS CARLOS RUVALCABA LEDEZMA

Comité Tutorial:

Codirectora: D. en C. MARTHA PONCE MACOTELA

Asesora: D. en C. MARÍA DEL CARMEN ALEJANDRA HERNÁNDEZ
CERUELOS

Asesora: D. en C. CLAUDIA CORONEL OLIVARES

Pachuca de Soto, Hidalgo. México. Junio, 2018.



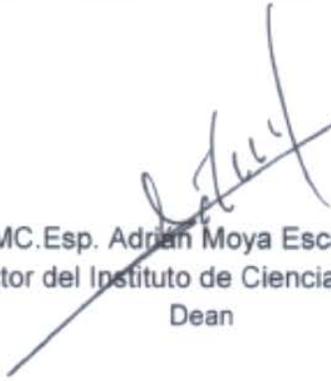
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 Instituto de Ciencias de la Salud
 School of Health Sciences
 Área Académica de Medicina
 Department of Medicine
 Maestría en Salud Pública
 Master in Public Health

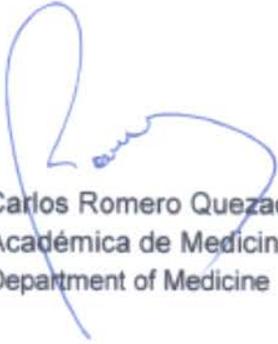
Oficio No. ICSa/AAM/MSP/182/2017
 Asunto: Autorización de Impresión de P.P.T.
 Pachuca de Soto, Hgo., noviembre 27 del 2017

DIANA VERÓNICA SÁNCHEZ MARTÍNEZ
ALUMNA DE LA MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA
 STUDENT OF THE MASTER IN PUBLIC HEALTH

Comunicamos a usted que el Comité Tutorial de su Proyecto de Producto Terminal denominado "Incidencia de parasitosis y su genotipificación dependientes de factores socio ambientales como determinantes de la salud en niños de Tlaxcoapan, Hidalgo" considera que ha sido concluido satisfactoriamente, por lo que puede proceder a la impresión de dicho trabajo.

Atentamente.
 "Amor, Orden y Progreso"


 MC. Esp. Adrián Moya Escalera
 Director del Instituto de Ciencias de la Salud
 Dean


 MC. Esp. Luis Carlos Romero Quezada
 Jefe del Área Académica de Medicina
 Chair of the Department of Medicine




 M. en S.P. Luis Enrique Díaz Pérez
 Coordinador de la Maestría en Salud Pública
 Director of Graduate Studies Master in Public Health

LEDP\mchm*



Edificio Ramírez Ulloa Num. 400
 Col. Doctores
 Pachuca de Soto, Hidalgo, C.P. 42090
 Teléfono: 52(771) 71 720 00 Ext. 2386
 mtra.saludpublica@uaeh.edu.mx

Pachuca de Soto, Hgo., Noviembre 13 del 2017

M. en S.P. LUIS ENRIQUE DÍAZ PÉREZ
COORDINADOR DE LA MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA
DIRECTOR OF GRADUATE STUDIES MASTER IN PUBLIC HEALTH

Los integrantes del Comité Tutorial de la alumna **Diana Verónica Sánchez Martínez**, con número de cuenta F04466, comunicamos a usted que el Proyecto de Producto Terminal denominado "Incidencia de parasitosis y su genotipificación dependientes de factores socio ambientales como determinantes de la salud en niños de Tlaxcoapan, Hidalgo", ha sido concluido y se encuentra en condiciones de continuar el proceso administrativo para proceder a la autorización de su impresión.

Atentamente.
"Amor, Orden y Progreso"

D. en C.S.P. Jesús Carlos Ruvalcaba Ledezma

Director



D. en C. Martha Ponce Macotela

Codirectora



D. en C.Q.B. María del Carmen Alejandra
Hernández Ceruelos

Asesora



D. en C. Claudia Coronel Olivares

Asesora



Dedicatoria

*Dedico mi trabajo a mis padres y hermanas por estar siempre a mi lado, en
cada uno de mis sueños alcanzados...*

Agradecimientos

La vida se encuentra llena de retos y uno de ellos es la realización de un posgrado, sin embargo, en el cumplimiento de estos existen personas que nos motivan de manera incondicional, por lo que deseo agradecer de forma muy especial a mis padres *Luis Sánchez López* y *Teodora Martínez Arellano* por darme la vida y estar siempre a mi lado en cada uno de mis fracasos y de mis logros, por apoyarme en cada objetivo que me he propuesto, pues ellos han sido el motivo para superarme y cumplir cada una de mis metas. Del mismo modo a mis hermanas; *Dalia Osmara* y *Lorena*; a la pequeña *Sophie*, gracias por estar conmigo en los momentos más importantes de mi vida.

A la *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, por brindar educación de calidad y por todas las facilidades para realizar la estancia nacional, gestión de documentos y asesoría administrativa.

Al *Laboratorio de Parasitología Experimental* del Instituto Nacional de Pediatría por aceptar mi estancia para la realización del diagnóstico parasitario y con ello beneficiar a los niños hidalguenses.

Al D. en C.S.P. *Jesús Carlos Ruvalcaba Ledezma* por dirigir el proyecto de investigación y respaldar cada una de las decisiones encaminadas a mejorar la salud pública.

A la D. en C. *Martha Ponce Macotela* por dirigir mi estancia nacional en el Instituto Nacional de Pediatría y compartir su amplia experiencia profesional.

A la D. en C. *María Del Carmen Alejandra Hernández Ceruelos* y la D. en C. *Claudia Coronel Olivares* por sus diversas aportaciones y enriquecimiento a la investigación.

Al biólogo *Mario Gordillo, Gustavo Peralta Abarca, Carlos Alberto Pinal* y practicantes de CONALEP por su apoyo en el trabajo experimental y convivencia profesional en laboratorio.

A la *Jurisdicción Sanitaria Tepeji* y a la *Supervisión de preescolar (SEP)* por las facilidades prestadas en el desarrollo de la investigación en el municipio de Tlaxcoapan.

Al químico *Francisco Javier Márquez López* y a la química *Citlalli Leocadio Malo* por su asesoría para los exámenes coparazitoscópicos versión piloto.

A *José Alejandro Muller Sanjuan* por el apoyo en el análisis estadístico de los datos de las encuestas estructuradas.

Al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)* por haberme otorgado la beca nacional y mixta para realizar mis estudios y estancia nacional de mi proyecto terminal, con número de referencia (CVU) 709147 y beca para movilidad nacional 291211.

Tabla de contenido

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
CAPÍTULO I	7
MARCO TEÓRICO-CONCEPTUAL	7
<i>Blastocystis hominis</i>	18
<i>Giardia intestinalis</i>	27
<i>Entamoeba Histolytica</i>	37
Comensales.....	47
<i>Entamoeba coli</i>	48
<i>Endolimax nana</i>	54
<i>Chilomastix mesnili</i>	59
MARCO REFERENCIAL	64
Área de estudio.....	68
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	73
JUSTIFICACIÓN	75
OBJETIVOS	78
HIPÓTESIS	79
CAPÍTULO III	80
MATERIALES Y MÉTODOS.....	80
EXÁMENES COPROPARASITOSCÓPICOS.....	87
TÉCNICA DE FAUST	88
TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN	89
Genotipificación para <i>Giardia intestinalis</i>	92
Extracción de DNA	92
Amplificación de <i>Giardia intestinalis</i>	97
CAPÍTULO IV	108
RESULTADOS	108
Características sociodemográficas y análisis univariado.	108
Diagnósticos parasitarios a partir de los tres métodos empleados	114
Incidencia de parasitosis.....	115
Sintomatología	117
Análisis Bivariado.....	125
Tablas cruzadas 2x2	125
Prueba de Chi ²	126
Resultados moleculares	129
Genotipificación	129

CAPÍTULO V	131
DISCUSIÓN	131
CAPÍTULO VI	148
CONCLUSIONES	148
CAPÍTULO VII	150
PROPUESTAS DE MEJORA	150
REFERENCIAS	170
EL AGUA Y SU SANEAMIENTO	190
EVALUACIÓN DE RIESGOS AMBIENTALES	198
ANEXO II	209
ANEXO III	220
INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN	220
ANEXO IV	223
GESTIONES REALIZADAS PARA EL TRABAJO EXPERIMENTAL	223
ANEXO V	226
PROTOCOLOS PARA GENOTIPIFICACIÓN	226
ANEXO VI	231
REACTIVOS EMPLEADOS PARA GENOTIPIFICACIÓN	231

Contenido de Tablas

Tabla 1. Calidad parasitológica de aguas residuales para agricultura.	10
Tabla 2. Principales organismos patógenos presentes en aguas residuales.	13
Tabla 3. Protocolo de la amplificación de <i>Giardia intestinalis</i> con enzima PWO.	97
Tabla 4. Hidratación de los Primers EF, IF, IR.	98
Tabla 5. Composición de la master mix	99
Tabla 6. Master mix experimento de restricción RV10.	100
Tabla 7. Protocolo de amplificación de <i>Giardia intestinalis</i> con oligos IF-IR.	102
Tabla 8. Protocolo de amplificación para <i>Blastocystis hominis</i>	104
Tabla 9. Reactivos para preparación del gel.	105
Tabla 10. Componentes del gel superior	106
Tabla 11. Frecuencia de microorganismos detectados en exámenes coproparasitoscópicos.	116
Tabla 12. Casos en que se reportó la coexistencia de parásitos y comensales	123
Tabla 13. Medidas de tendencia central en variables cuantitativas	124
Tabla 14. Diarrea y diagnóstico CPS	125
Tabla 15. Sangre en heces y diagnóstico CPS.	125
Tabla 16. Heces oscuras y diagnóstico CPS.	125
Tabla 17. Tenesmo y diagnóstico CPS.	125
Tabla 18. Constipación y diagnóstico CPS	125
Tabla 19. Meteorismo y diagnóstico CPS	125
Tabla 20. Dolor abdominal y diagnóstico CPS	125
Tabla 21. Hiporexia y diagnóstico.	125
Tabla 22. Irritabilidad y diagnóstico CPS	125
Tabla 23. Náuseas y diagnóstico CPS	125
Tabla 24. Vómito y diagnóstico CPS	126
Tabla 25. Fiebre y diagnóstico CPS	126
Tabla 26. Pérdida de peso y diagnóstico CPS	126
Tabla 27. Malestar general y diagnóstico CPS.	126
Tabla 28. Astenia y diagnóstico CPS	126
Tabla 29. Palidez y diagnóstico CPS.	126
Tabla 30. Eliminación de parásitos en heces y diagnóstico CPS	126
Tabla 31. Tos y diagnóstico CPS.	126
Tabla 32. Estadísticos de prueba χ^2	127
Tabla 33. Estadísticos de prueba χ^2 condiciones socioambientales.	128
Tabla 34. Clasificación general de las operaciones y los procesos de tratamiento de las aguas residuales	152
Tabla 35. Intervenciones para disminuir morbilidad-mortalidad por infecciones intestinales.	168
Tabla 36. Límites máximos permisibles para contaminantes básicos	197
Tabla 37. Palabras clave y definiciones de la UNICEF y de la OMS en función del saneamiento del agua.	208
Tabla 38. Definición de variables.	209

Contenido de Figuras

Figura 1. Morfología de <i>Blastocystis hominis</i>	22
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Blastocystis hominis</i>	23
Figura 3. Trofozoito de <i>Giardia duodenalis</i>	29
Figura 4. Trofozoito de <i>Giardia intestinalis</i>	29
Figura 5. Ciclo biológico de <i>Giardia intestinalis</i>	32
Figura 6. Quiste inmaduro con vacuola de glucógeno de <i>Entamoeba histolytica</i>	40
Figura 7. Trofozoito de <i>Entamoeba histolytica</i>	41
Figura 8. Ciclo de vida de <i>Entamoeba histolytica</i>	42
Figura 9. Trofozoito de <i>Entamoeba coli</i>	50
Figura 10. Ciclo biológico de <i>Entamoeba coli</i>	52
Figura 11. Ciclo de vida de <i>Endolimax nana</i>	57
Figura 12. Ciclo de vida de <i>Chilomastix mesnili</i>	61
Figura 13. Ubicación de Tlaxcoapan en México e Hidalgo.	68
Figura 14. Metodología general del proyecto de investigación	81
Figura 15. Instituto Nacional de pediatría	82
Figura 16. Reunión en el plantel escolar con padres de familia	83
Figura 17. Toma de medidas antropométricas a niños participantes	85
Figura 18. Instituto Nacional de Pediatría Fuente: Elaboración propia, 2017.	85
Figura 19. Observación en microscopio óptico de las muestras.	89
Figura 20. Tinción con carbol-fuchshina	90
Figura 21. Quistes de <i>Giardia intestinalis</i> , teñidos con lugol (40 x), obtenidos con CPS Faust.	91
Figura 22. Quistes de <i>Blastocystis hominis</i> , teñido con lugol (40 x) obtenidos en CPS directo	91
Figura 23. Quistes de <i>Entamoeba coli</i> , teñidos con lugol (40 x), obtenidos con CPS Faust.	91
Figura 24. Quistes de <i>Chilomastix mesnili</i> , teñido con lugol (40x), obtenidos con CPS Faust.	91
Figura 25. Gradientes de la solución de Sheater y concentración de <i>Giardia intestinalis</i> ...	95
Figura 26. Preparación de material para realizar PCR.	129
Figura 27. Gel de poliacrilamida al 5%, teñido con Plata, que muestra los fragmentos de restricción del producto de 432 pb del gen Glutamato deshidrogenasa con la enzima de restricción Nla IV.	130
Figura 28. Técnica de lavado de manos	154
Figura 29. Fuentes de exposición.	199
Figura 30. Riego de áreas verdes con agua negra sin tratamiento en área deportiva.	201
Figura 31. Sistema de riego empleado en cultivos	201
Figura 32. Riego de cultivos en el municipio con agua negra	201
Figura 33. Estructura típica del sistema de gestión ambiental	203
Figura 34. Encuesta estructurada de diagnóstico y características socioambientales	220
Figura 35. Carta de consentimiento informado (hoja 1)	221

Figura 36. Carta de consentimiento informado (hoja 2).....	222
Figura 37. Estancia nacional en INP.	223
Figura 38. Solicitud de datos epidemiológicos a Jurisdicción Sanitaria	224
Figura 39. Autorización de Supervisión de preescolar para realizar investigación.....	225

Contenido de graficas

Gráfica 1. Niños (as) de Tlaxcoapan con vivienda propia	109
Gráfica 2. Salario promedio mensual en el municipio y en el estado de Hidalgo.....	109
Gráfica 3. Servicio de agua potable en domicilio de los niños de Tlaxcoapan	110
Gráfica 4. Fuente de abastecimiento de agua	111
Gráfica 5. Desinfección del agua de consumo	111
Gráfica 6. Drenaje Intradomiciliario	112
Gráfica 7. Tipo de piso en el domicilio	113
Gráfica 8. Convivencia con animales domésticos	113
Gráfica 9. Animales domésticos de mayor frecuencia en la convivencia con los niños (as)	114
Gráfica 10. Técnica CPS según su positividad diagnostica.....	115
Gráfica 11. Diagnóstico de los CPS	116
Gráfica 12. Organismos parásitos y comensales en los niños (as)	117
Gráfica 13. Síntomas generales de las parasitosis diagnosticadas en los niños (as)	118
Gráfica 14. Sintomatología de <i>Blastocystis hominis</i>	119
Gráfica 15. Sintomatología de <i>Giardia intestinalis</i>	120
Gráfica 16. Sintomatología de <i>Entamoeba histolytica</i>	120
Gráfica 17. Sintomatología de <i>Entamoeba coli</i>	121
Gráfica 18. Sintomatología de <i>Endolimax nana</i>	122

Resumen

La asociación entre las parasitosis y los factores socio ambientales deben ser estudiadas a partir de un enfoque multidisciplinario que permita establecer las condiciones del medio y las repercusiones que estas tienen en la salud pública a partir del consumo del agua y alimentos contaminados, así como la convivencia con animales domésticos y posibles zoonosis, entre otros factores sociales y condiciones económicas de las familias y de los hogares en los cuales viven los niños, quienes resultan ser los más vulnerables a estas patologías.

Objetivo. Describir la incidencia de parasitosis y su genotipificación, dependientes de factores socioambientales como determinantes de la salud en niños de Tlaxcoapan Hidalgo.

Material y métodos. Se realizó un estudio epidemiológico observacional, descriptivo de carácter transversal en 186 niños menores de 5 años del municipio de Tlaxcoapan que de manera voluntaria, sus padres decidieran participar en la entrega de muestras de materia fecal para su examen coproparasitológico de tres series a través de técnicas en fresco, Faust y tinción de Ziehl Neelsen. Se aplicaron entrevistas estructuradas referentes a factores socioambientales y sintomatología. Los quistes de las muestras positivas para *Giardia intestinalis* fueron sometidos a concentración; se extrajo su ADN y se realizó PCR semi anidada del gen glutamato deshidrogenasa. El análisis estadístico se efectuó en SPSS-24.

Resultados. De los 186 niños participantes en el estudio, 46 presentaron algún microorganismo parásito y/o comensal en su examen coproparasitológico, representando un 25% de incidencia en la parasitosis/comensalismo y un 75% de niños no infectados. De los tres métodos que fueron empleados, el método con mayor especificidad fue el directo (66% diagnósticos positivos), seguido del método de Faust (34%) y en la tinción de Ziehl

Neelsen con todos los casos negativos para *Mycrosporidium*, *Cryptosporidium* y *Cyclospora*. Por otra parte, en la genotipificación de *G. intestinalis*, se identificaron dos genotipos, el AI característico de animales y el hombre y el AII observado principalmente en humanos. El primero de ellos con potencial zoonótico. **Conclusiones:** Los hallazgos de la presente investigación permiten concluir que solo el 25% de la población presenta incidencia de parasitosis, además de que no existen diferencias de especificidad entre el método directo y el de Faust. Dentro de los factores socio ambientales que se identificaron de mayor riesgo es la falta de potabilización del agua para consumo humano y la alta convivencia con animales domésticos. La genotipificación de *G. intestinalis* demuestra que existen dos genotipos en la población de estudio, el AI y el AII, el primero de ellos con potencial zoonótico y de vital importancia en la salud pública.

Palabras clave: Incidencia, parasitosis, factores socio ambientales, examen coproparasitoscópico, genotipificación.

Abstract

The association between parasitosis and socio-environmental factors should be studied based on a multidisciplinary approach that allows to establish environmental conditions and the repercussions they have on public health from the consumption of contaminated food and water, as well as coexistence with domestic animals and possible zoonoses, among other social factors and economic conditions of the families and households in which the children live, who are the most vulnerable to these pathologies.

Objective. To describe the incidence of parasitosis and its genotyping, dependent on socio-environmental factors as determinants of health in children from Tlaxcoapan Hidalgo.

Material and methods. An observational, descriptive and cross-sectional epidemiological study was carried out on 186 children under 5 years of age from the municipality of Tlaxcoapan. On a voluntary basis, their parents decided to participate in the delivery of fecal samples for their coproparasitoscopic examination of three series through techniques in fresco, Faust and staining by Ziehl Neelsen. Structured interviews were applied regarding socio-environmental factors and symptomatology. The cysts of the positive samples for *Giardia intestinalis* were subjected to concentration; DNA was extracted and semi-nested PCR of the glutamate dehydrogenase gene was performed. The statistical analysis was carried out in SPSS-24. Results Of the 186 children participating in the study, 46 had some parasitic and / or commensal microorganism in their coproparasitoscopic examination, representing a 25% incidence in parasitosis / commensalism and 75% of uninfected children. Of the three methods that were used, the method with the highest specificity was direct (66% positive diagnoses), followed by the Faust method (34%) and in the Ziehl Neelsen stain with all the negative cases for *Mycrosporidium*, *Cryptosporidium* and *Cyclospora*. Regarding the genotyping of *G. intestinalis*, two genotypes were identified, the AI characteristic of animals

and man and the AII observed mainly in humans. The first of them with zoonotic potential.

Conclusions: The findings of the present investigation allow us to conclude that only 25% of the population has incidence of parasitosis, besides that there are no differences of specificity between the direct method and that of Faust. Among the socio-environmental factors that were identified as the most risky is the lack of water purification for human consumption and high coexistence with domestic animals. The genotyping of *G. intestinalis* shows that there are two genotypes in the study population, the AI and the AII, the first of them with zoonotic potential and of vital importance in public health.

Introducción

Actualmente las parasitosis continúan siendo un problema de salud pública en México, ya que estas afectan a la población en general, sin embargo, cuando se presenta en los niños, suele complicar su desarrollo cognitivo, aprendizaje y crecimiento físico.

La presente investigación tiene como objetivo describir las parasitosis intestinales en los niños menores de seis años del municipio de Tlaxcoapan, así como su relación con los factores sociales y ambientales característicos de la zona. Como es sabido, estas condiciones repercuten de manera significativa en el estado de salud de los habitantes, ya que la calidad del suelo, aire y principalmente del agua, funcionan como reservorios de agentes patógenos, por lo que se vuelve necesario determinar el estado de salud en la población, con la finalidad de establecer medidas preventivas ante escenarios de enfermedades intestinales en los habitantes.

Las aguas residuales sin tratamiento previo, son el único recurso hídrico para la agricultura tradicional en algunos municipios de la región del Valle del Mezquital, incluyendo Tlaxcoapan. El riego de los cultivos y la exposición de estas a cielo abierto contribuyen a la exposición de riesgo e incluso a la contaminación de los cultivos y de mantos freáticos. Por tal motivo se analizan relaciones socio ambientales; como el consumo de agua potable, condiciones económicas, desparasitación continua, hacinamiento, convivencia con animales, entre otras., con la finalidad de identificar aquellos que representen un peligro potencial para la salud poblacional.

Para establecer el diagnóstico se realizaron exámenes coproparasitológicos de tres series, a niños menores de seis años residentes del municipio de Tlaxcoapan. Las muestras se procesaron en el Instituto Nacional de Pediatría (INP), mediante la técnica de examen fresco,

Faust y tinción de Ziehl Neelsen. A los casos que resultaron positivos a parásitos, se les extrajo el DNA para la identificación de genotipos, de los cuales se lograron identificar AI y AII para *Giardia intestinalis*. Este estudio aporta información al conocimiento de la biología de la infección en el área de estudio, actualmente muy escasa o inexistente. Este tamizaje facilitará el conocimiento de genotipos presentes en niños y factores socio ambientales que puedan tener relación zoonótica, a la vez que contribuye al cumplimiento y mejora de la promoción de la salud.

Como parte de las limitaciones de la investigación, es importante mencionar que refiere a una investigación en la que se requiere de mayor tiempo de muestreo y en una muestra de mayor tamaño, sin embargo, en esta investigación la muestra de estudio se definió a conveniencia y por voluntariado, debido a que se presentó una baja participación por parte de la población. Por lo que los resultados, no permiten generalizar el fenómeno de estudio y es necesario continuar con estudios de diagnóstico que permitan evaluar otros riesgos, como la calidad del agua y de los alimentos que se cultivan en la zona.

CAPÍTULO I

Marco teórico-conceptual

El agua como elemento vital y de la salud.

En 1920, Winslow declaró que la salud pública es la ciencia y el arte de prevenir enfermedades, prolongar la vida y promover la salud y la eficiencia a través de los esfuerzos de la comunidad que de algún modo consiste en tener un vínculo entre educación y cultura, pero también con las características del ambiente, particularmente con respecto a ambientes saludables. (López L., 1993.) (Martínez Navarro F., 1998) (Martínez Hernández J., 2013) (Lazcano Ponce E., Martínez Montañez O.G., & Charvel S.Y., 2013.) (Ruvalcaba Ledezma J.C., Cortés Ascencio, S.Y., & Jiménez Mora S.Y., 2013). Los factores de salud involucrados en este contexto social son aquellos relacionados con el medio ambiente y el estilo de vida, como las enfermedades parasitarias. En este contexto social, la teoría de la tríada ecológica es una realidad que se manifiesta en la situación ambiental y socioeconómica de esta comunidad, son los factores ecológicos que influyen en la salud y la enfermedad (Ruvalcaba Ledezma J.C., Cortés Ascencio, S.Y., & Jiménez Mora S.Y., 2013). En este contexto ambiental, los habitantes viven e interactúan con agentes biológicos u otros, pero particularmente con su cultura, estilo de vida o entorno social implicado en su economía, la organización cultural, social, política, religiosa, migratoria, de hacinamiento, de salud, pero el objeto de estudio está en la mira con respecto a parásitos microscópicos como *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* y algunos parásitos como el caso de *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichura*, los cuales representan un tipo de riesgo para la salud en este tipo de contexto.

En 1974 surgió uno de los informes más revolucionarios en lo que a la Salud Pública se conoce. El informe fue elaborado en Canadá y lleva el nombre del entonces ministro de sanidad, el cual partió de la base de que la salud o la enfermedad no estaban relacionadas simplemente con factores biológicos o agentes infecciosos, sino de que la mayoría de las enfermedades tenían una base u origen marcadamente socio-económico. Se comenzaron a hablar de los grandes determinantes de la salud de los individuos y de las poblaciones, donde se expuso, luego de un estudio epidemiológico de las causas de muerte y enfermedad de los canadienses, que se habían determinado cuatro grandes determinantes de la salud, que marcaron un hito importante para su atención tanto individual como colectiva (Lalonde M., 1974.).

Estos determinantes son:

- ☞ Medio ambiente: relacionado a los factores ambientales físicos, biológicos, de contaminación atmosférica, de contaminación química, tanto del suelo, agua y aire, y los factores socio-culturales y psicosociales relacionados con la vida en común.
- ☞ Estilos de vida: Relacionados con los hábitos personales y de grupo de la alimentación, actividad física, adicciones, conductas peligrosas o temerarias, actividad sexual, utilización de los servicios de salud, etc.
- ☞ Biología humana: relacionado a aspectos genéticos y con la edad de las personas.
- ☞ La atención sanitaria: que tiene que ver con la calidad, accesibilidad y financiamiento de los servicios de salud que atienden a los individuos y poblaciones.

En lo que respecta al ambiente, el agua ha sido un elemento fundamental a lo largo del tiempo para el desarrollo de las ciudades prehispánicas que se fundaron cerca de ríos, cenotes, costas y lagos (Bazant J.S., 2010). Entonces, el agua era usada de manera irrestricta (RAE, 2016),

hasta que la explosión demográfica empezó a ejercer enorme presión sobre el suministro de agua de forma paralela al proceso de urbanización. Como consecuencia, el consumo de agua se elevó y se puso de manifiesto la limitación de recursos hídricos para ciertos sectores de la población que no tenía, ni tiene actualmente, los medios económicos y de infraestructura suficientes para abastecer las necesidades básicas de higiene.

El nivel de desarrollo que posee un país influye en la aparición de los brotes epidémicos. En los países industrializados, puede deberse a fallas en el tratamiento de agua para consumo, ya que cada vez es mayor la resistencia de formas quísticas de los parásitos a determinados químicos, como el cloro utilizado en la potabilización del agua. Mientras que, en los países en vía de desarrollo, la situación está dada por la falta de recursos para la construcción y la gestión adecuada de las plantas potabilizadoras y depuradoras y a los bajos niveles de educación. Además de que existen deficiencias en el reporte y seguimiento de la presencia de protozoos en la población y en el agua de consumo. En la década de los 80's se publicaron los primeros casos y brotes de enfermedad generados por protozoos. Los países más afectados por giardiasis fueron Estados Unidos, Inglaterra, Escocia y Suecia, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha instaurado el Plan de Seguridad del Agua (PSA) con el objetivo fundamental de establecer mecanismos estratégicos para mejorar la calidad del agua en América Latina (Núñez Fernández F. , 2004).

Contaminación biológica de aguas superficiales

De acuerdo a los datos anteriores, se muestra un panorama respecto a los volúmenes de agua que son emitidos al ambiente para su aprovechamiento en el sector agrícola, ya que en el área de estudio se aprovecha el agua residual para el riego de cultivos. Por lo que es importante considerar lo que indica respecto a las directrices de la a calidad parasitológica y microbiológica en aguas residuales empleadas para la agricultura (Tabla 1).

Tabla 1. Calidad parasitológica de aguas residuales para agricultura.

Categoría	Condiciones de reutilización	Grupo expuesto ^b	Nematodos intestinales	Coliformes fecales
			(promedio aritmético de huevos/L) ^c	(promedio geométrico/100 mL)
A	Irrigación de cultivos probablemente consumidos crudos. Campos deportivos, parques públicos.	Agricultores, consumidores, público	$\leq 0,1^d$	$\leq 10^3$
		Agricultores, pero no niños < 15 años, y comunidades cercanas	≤ 1	$\leq 10^6$
B	Irrigación de cereales. Cultivos industriales, forrajes, pastos y árboles ^e .	Agricultores, pero no niños < 15 años y comunidades cercanas	Riego por aspersión ≤ 1	$\leq 10^3$
		Agricultores, incluyendo niños < 15 años, y comunidades cercanas	Riego por surco $\leq 0,1$	$\leq 10^3$
			Cualquier tipo de riego	$\leq 10^3$
C	Irrigación localizada de cultivos en la categoría B, si no están expuestos los trabajadores y el público.	Ninguno	No aplicable	No aplicable

Fuente: (Silva J, Torres P y Madera C., 2008).

Las condiciones actuales de disposición final de las aguas residuales ha sido rebasada por la capacidad de asimilación en el ambiente, lo cual ha provocado una serie de impactos negativos en general y a la salud humana. A pesar de la existencia de diversos tratamientos actuales que se aplican a las aguas residuales y que pueden reducir bastante los riesgos a la salud, las concentraciones de organismos patógenos aún ocasionan epidemias importantes de considerar para las instancias públicas.

Organismos patógenos y vectores de transmisión de enfermedades

Actualmente la OMS y la UNICEF, monitorean en nombre del sistema de las Naciones Unidas los progresos para el cumplimiento de los objetivos del Milenio (ODM) y su relación con el agua. Se han calculado los costos económicos ahorrados de inversión en servicios de abastecimiento de agua y de saneamiento y se ha estimado que por cada dólar invertido en saneamiento y abastecimiento mejorado de agua se obtienen de cuatro a doce, en función del tipo de intervención en salud. Existen diversos factores inciden de manera directa o indirecta en el uso y administración del vital recurso, tales como: marco normativo e institucional,

redes de agua, costo de agua, red sanitaria, entre otros. Sin embargo, el tema de este ensayo no solo refiere a su disponibilidad y uso, también incluye factores que inciden directamente en su calidad y su relación con las enfermedades gastrointestinales en México (OMS, 2016) (UNICEF, 2016).

Las enfermedades causadas por la contaminación de los cuerpos de agua, ya sea con material fecal u otros elementos biológicos, continúan siendo las principales causas de mortalidad y morbilidad de los países en desarrollo. Así mismo, la escasez del líquido, impide que la población pueda tener un adecuado higiene y sanamiento de sus hogares, pues hoy en día, 1, 500 millones de personas (Reynol, 2011) dependen del agua subterránea como única fuente para beber, por lo que la sobreexplotación y contaminación de mantos freáticos son las principales amenazas de la salud pública. Los principales agentes infecciosos para el hombre y los animales que pueden encontrarse en el agua residual bruta se pueden clasificar en tres grandes grupos: las bacterias, los parásitos (protozoos y helmintos) y los virus.

Antecedentes de las enfermedades parasitarias

La aparición de la parasitología se relaciona con la historia de la humanidad. Los hallazgos parasitológicos en la edad antigua se refieren a la presencia de gusanos que pueden observarse a simple vista y que están presentes o que se eliminan con las heces. Aunque los primeros parásitos observados fueron helmintos, en virtud de su tamaño microscópico, también se registraron enfermedades causadas por protozoarios, si bien no se logró conocer el agente causal (Becerril M.A., 2014).

El conocimiento de las parasitosis en la edad media como problema de salud, no avanzó demasiado, sin embargo, en el renacimiento, se observaron grandes adelantos acerca de las

enfermedades parasitarias. Entre 1765 y 1776, Lazzaro Spallanzani refutó la teoría de la generación espontánea y señaló que el aire puede transmitir microorganismos que luego se desarrollan en un medio adecuado.

Es preciso destacar que siempre hubo ideas predecesoras o pensamientos que llevaron a los descubrimientos de las enfermedades parasitarias. Los primeros fueron filósofos y más adelante surgieron los científicos. Con todo, la época de grandes hallazgos de la parasitología, data de los años posteriores al renacimiento y sobre todo del periodo contemporáneo, con toda seguridad porque ahora se dispone de mejores herramientas y es posible establecer analogías (Becerril M.A., 2014). La biología molecular permite demostrar la presencia de ciertas especies en registros biológicos antiguos y modernos.

Definición de parasitosis

La parasitosis se presenta cuando ocurre una interacción entre un organismo llamado parásito vive a expensas de otro, denominado huésped y le inflige daño. También en esta forma de simbiosis el huésped es de mayor tamaño que el parásito.

La interacción parásito-huésped tiene que ocurrir bajo condiciones necesarias y la mayoría de las veces el contacto es accidental; no obstante, el parásito puede buscar alimento y, si existen sustancias que libera el huésped necesarias para aquél, se dirige en su dirección y se establece dentro o fuera de él. (Becerril M.A., 2014). Las parasitosis intestinales son infecciones producidas por microorganismos cuyo hábitat natural es el aparato digestivo del hombre, para este caso puede considerarse como huésped al humano: cuando la persona se encuentra con un problema de salud por la invasión de un organismo (Tabla 2).

Tabla 2. Principales organismos patógenos presentes en aguas residuales.

Organismo patógeno	Enfermedad
Helmintos	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascariasis
<i>Ancylostoma duodenale</i>	Anquilostomiasis
<i>Ancylostoma</i> spp.	Larva migrante cutánea
<i>Necator americanus</i>	Necatoriasis
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Estrongiloidiasis
<i>Trichuris trichiura</i>	Trichuriasis
<i>Taenia</i> spp.	Teniaisis
<i>Enterobius vermicularis</i>	Enterobiasis
<i>Echinococcus granulosus</i>	Hidatidosis
<i>Schistosoma</i> spp.	Schistosomiasis
<i>Fasciola hepática</i> , <i>F. gigantica</i>	Facioliasis
Protozoos	
<i>Giardia lamblia</i>	Giardiasis
<i>Entamoeba histolytica</i>	Disentería amebiana
<i>Balantidium coli</i>	Balantidiosis
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiasis
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Transtornos intestinales
<i>Microsporidia</i>	Diarrea
Bacterias	
<i>Salmonella Typhi</i>	Fiebre tifoidea
<i>Salmonella</i> spp.	Salmonelosis
<i>Shigella</i> spp.	Shigellosis
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis
<i>Helicobacter pylori</i>	Gastroenteritis, úlcera gástrica
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenteritis
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionelosis/Fiebre de Pontiac
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Yersiniosis
<i>Leptospira</i> spp.	Leptospirosis
Virus	
Virus de la hepatitis A y E	Hepatitis infecciosa
Rotavirus	Gastroenteritis
Enterovirus	Gastroenteritis, meningitis
Parvovirus	Gastroenteritis
Adenovirus	Infecciones respiratorias, gastroenteritis

Fuente: (González González MI & Chiroles Rubalcaba S, 2010)

En la actualidad la asociación entre dos organismos de diferente especie recibe el nombre de simbiosis y las distintas simbiosis toman denominaciones diferentes de acuerdo con los resultados de asociación. Algunas fuentes bibliográficas consideran a la simbiosis como una especie de mutualismo en donde las dos especies que conviven se benefician. Las asociaciones pudiesen dar consecuencias contrarias a las esperadas, por lo que se pueden convertir en parasitismo, o bien adaptarse convirtiéndose en comensalismo. Es por eso que la simbiosis es separada de las demás relaciones y se le define como una asociación entre dos organismos de diferente especie sin implicación negativa o benéfica (Becerril M.A., 2014).

Algunos de ellos pueden observarse en heces aún estando alojados fuera del intestino. Todos los protozoos intestinales patógenos tienen una distribución mundial, al igual que la mayoría de los helmintos, aunque por las deficientes condiciones higiénico-sanitarias se han asociado siempre a países tropicales o en vías de desarrollo. La parasitosis es un proceso por el cual una especie amplía su capacidad de supervivencia utilizando otras especies para que cubran sus necesidades básicas que no tienen porque implicar necesariamente a cuestiones nutricionales y pueden cubrir cosas como la diseminación o mejoras en la reproducción de la especie parásita, etc. Para que un organismo parásito pueda desarrollarse dentro de un huésped determinado, este debe conservar los procesos metabólicos adecuados por encima del umbral mínimo que permitan sobrevivir y mantener al parásito para que se lleve a cabo su desarrollo y reproducción en el huésped específico. Los metabolitos normales del huésped, tales como vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos etc., van a suministrar el alimento necesario para el parásito. Sí los factores metabólicos y otras condiciones son favorables para el desarrollo parasitario, puedan determinar la susceptibilidad innata del huésped que es el equilibrio entre las sustancias metabólicas que inhiben y las que promueven el desarrollo

del parásito, por tal motivo las condiciones serán propicias o adversas para su desarrollo (Benavides R. & Chulde, A., 2007).

Las enfermedades parasitarias a menudo van acompañadas de un descenso general de reducción de la resistencia a nuevas infecciones del huésped, por lo que es evidente que si el reducido, también lo estará la capacidad para evitar nuevas infecciones. La reducción de la resistencia, puede así mismo, ser resultado de una infección parasitaria interna o de larga evolución. Indudablemente que las infecciones secundarias se propician cuando existen lesiones en los tejidos del huésped, causadas por los parásitos tal como sucede con los protozoos, helmintos y artrópodos que agreden la piel y mucosa, destruyendo de esta manera las primeras líneas de defensa y facilitando la penetración y establecimiento de otros microorganismos. Puede presentarse a lo largo de todas las fases de la vida de un organismo o solo en periodos concretos de su vida. Una vez que el proceso supone una ventaja apreciable para la especie, queda establecido mediante selección natural y suele ser un proceso irreversible que desemboca a lo largo de las generaciones en profundas transformaciones fisiológicas y morfológicas de la especie parasita (Benavides R. & Chulde, A., 2007).

Los padecimientos gastrointestinales prevalecen en sitios donde falta el agua, saneamiento e higiene adecuados. El derecho a la salud está estrechamente vinculado al derecho de agua limpia, físicamente accesible y económicamente asequible (Fondo para la comunicación y educación ambiental, 2016). De acuerdo a datos de la OMS, se estima que 2600 millones de personas (la mitad del mundo en desarrollo) carecen de una letrina sencilla y 1100 millones carecen de acceso a cualquier tipo de fuente mejorada de agua, teniendo como consecuencia directa; 1,6 millones de defunciones cada año de enfermedades diarreicas (incluido el cólera)

atribuibles a la falta de acceso a un agua potable salubre y al saneamiento básico, y un 90% de esas personas son menores de 5 años, principalmente de países en desarrollo (OMS, 2016). Las infecciones parasitarias son un gran problema de salud pública en todo el mundo; se estima que cerca de 3,5 millardos de personas están infectadas con parásitos intestinales y que 450 millones están enfermas por esa causa, especialmente niños (Tellez A.M.W., Rivera T., Meyer E., Leiva B., & Linder E., 1997) (Nematian J.N.E, Gholamrezanezhad A., & Asgari A.A. , 2004) (Casapía M.S.J., Núñez C., Rahme E., & Gyorkos T., 2006) (Nascimento S.A. & Moitinho Ribeiro M.L. , 2005).133 millones de personas (OMS, 2016) sufren de fuertes parasitosis intestinales causadas por helmintos; cada año hay aproximadamente 1,5 millones de casos de hepatitis A clínica (OMS, 2016). Se adicionan a estos datos, 160 millones de personas infectadas por esquistosomiasis (OMS, 2016); 500 millones de personas corren riesgo de contraer tracoma, por cuya causa 146 millones están amenazadas de ceguera y 6 millones padecen deterioro visual (OMS, 2016).

En México, la hepatitis viral, fiebre tifoidea, cólera, disentería y otras causantes de diarrea, así como posibles afecciones resultantes del consumo de agua con componentes químicos patógenos como arsénico, nitrato y flúor ocupan el primer lugar de mortalidad en niños de entre 1 y 5 años (Collado J., 2008). Las tendencias de salud pública mundiales indican que el porcentaje de muertes por enfermedades diarreicas disminuirá del 3.6% observado en el 2004 al 0.9% en el año 2030 (OMS, 2016) si se cumplen con los requerimientos mínimos de infraestructura y saneamiento. El registro de muestreo para la calidad del agua permite evaluar su calidad, conforme al número total de coliformes fecales, establecido en la NOM-127 Salud Ambiental (COPRISEH, 2015) y de enfermedades diarreicas agudas (EDAS), que en temporadas de verano ascienden significativamente (Secretaría de Salud, 2014).

Estas infecciones se relacionan con las condiciones socioeconómicas e higiénicas precarias y aunque la mortalidad debida a las parasitosis intestinales es baja, la morbilidad es muy importante en los países en vías de desarrollo. En las materias fecales se excretan las formas infectantes de los parásitos intestinales que pueden luego ser ingeridas directa o indirectamente. La principal forma de transmisión de protozoos patógenos como *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium parvum* es el consumo de agua y de alimentos contaminados; sin embargo, también puede ocurrir la transmisión de persona a persona o de animales a seres humanos (Basualdo J.P., Luca M.D. , Córdoba A., & Apezteguía M., 2000) (Hörman A., Korpela H. , Sutinen J., Wedel H., & Hänninen M.L., 2004). Aunque la *Entamoeba dispar* y la *Entamoeba histolytica* son morfológicamente iguales, se acepta que son especies genéticamente diferentes. Sin embargo, solamente se considera como causa de amebiasis la infección por *Entamoeba histolytica* (Benetton M.L.F.N., Goncalves A.V., Meneghini M.E.F., Silva E.F., & Carneiro F., 2005).

Si bien la prevalencia de las principales parasitosis intestinales del mundo no ha cambiado, ellas han aumentado en términos absolutos debido al crecimiento de la población. Es así como hace 51 años se estimaba que en el mundo habían 644 millones de personas (30%) infectadas con *Ascaris lumbricoides*, 355 millones con *Trichuris trichiura* (16%) y 457 millones con ancylostomídeos (21%) (Stoll N. R. , 1947) y que en 1997 se estimó que habían 1273 millones de personas (24%) con *A. lumbricoides*, 902 millones (17%) con *T. trichiura* y 1.277 millones (24%) con ancylostomídeos. O sea, que estas tres parasitosis intestinales han mantenido sus prevalencias a pesar de los avances tecnológicos y médicos (Bundy D. A. P., 1997) (Chan M.S., 1997) (Chacín Bonilla L., 1990).

Lo mismo ha sucedido con las enteroparasitosis en América Latina (Botero D., 1981), en donde el agente causal de la blastocistosis, el *Blastocystis hominis* viene destacando. Sobre este protozooario persisten aún aspectos controversiales, como por ejemplo su rol patógeno. Existen informes, tanto en personas inmunocompetentes como en inmunosuprimidos, que sustentan el rol patógeno del protozooario. Otros autores sostienen que las pruebas de patogenicidad no son convincentes. A pesar de esas discrepancias muchos autores recomiendan indicar tratamientos en las personas infectadas a las cuales se les haya excluido otras causas que expliquen los síntomas clínicos (Sheehan D. J. , Raucher B.G., & Mckitrick J.C., 1986) (Wang K.X., Li C.P , & Wang J., 2002).

Blastocystis hominis

1) Taxonomía:

Actualmente hay mucha controversia en cuanto a su clasificación; sin embargo, estudios filogenéticos que utilizaron RNAr lo colocan dentro del reino Cromista, también denominado *Stramenopila* y dentro de este super grupo *Chromalveolata*, cuyos organismos no poseen flagelos, son anaeróbicos, con mitocondrias o estructuras similares a mitocondrias pero sin las enzimas que llevan a cabo la respiración aerobia, con dos o más núcleos (Becerril M.A., 2014).

Con el advenimiento de las herramientas moleculares, la tarea de encontrar una taxonomía exitosa para este organismo enigmático se logró en el año 1996. Mediante el análisis molecular de rRNA de subunidades pequeñas (SSU-rRNA) y factor de elongación 1 α , Silberman *et al.*, colocó el organismo debajo del phylum eucariota, Heterokontophyta (Silberman JD., Sogin ML., Leipe DD., & Clark CG., 1996). Aunque este estado taxonómico

fue considerado inicialmente controvertido por otros estudios, que mostraron la semejanza de *Blastocystis* con los protistas, los estudios posteriores que utilizaron datos de secuencias moleculares múltiples confirmaron que era un heterokont, lo que descarta la ambigüedad taxonómica. (Ho LC. , Armiugam A., Jeyaseelan K., Yap EH., & Singh M., 2000) (Arisue N., Hashimoto T., Yoshikawa H., Nakamura Y., & Nakamura F., 2002) Hay más 100.000 miembros en el filo Heterokontophyta comúnmente llamados heterokonts o stramenophiles que constan de algas, diatomeas, limo y oomycetes, mientras que *Blastocystis* forma el miembro más nuevo de este complejo grupo de "Protists botánico" (Tan KS. , 2008) (Riisberg I., Orr RJ., Kluge R., & Shalchian-Tabrizi K., 2009). Aunque esta clasificación parece satisfactoria en el nivel molecular, hay una discrepancia en la morfología entre *Blastocystis* y otros stramenophiles. En general, los stramenophiles tienen flagelos rodeados de pelo lateral como mastigonemas, que es característicamente ausente en *Blastocystis*. Por lo tanto, hay una propuesta para revisar la clasificación actual de cinco reinos y colocar este organismo en un sexto reino por separado llamado "Chromista" (Cavalier-Smith T. , 1998).

Deducir la identidad del organismo a nivel de especie sigue siendo un desafío sin resolver. Anteriormente, el nombre de la especie se proporcionó en base al huésped del que se aisló, como *B. hominis* de humanos, *B. ratti* de ratas, etc., Posteriormente, se aisló *Blastocystis* de diversos hospedadores, así como de humano-animal; se observó la transmisión animal-humana (Noël C., y otros, 2005). Estas observaciones justificaron un cambio en los nombres específicos que provocaron varios informes que intentan clasificar las diferentes especies de *Blastocystis*, basándose en su morfología ultraestructural de microscopía electrónica (Stenzel DJ., Lee MG., & Boreham PF. , 1997) (Cassidy MF., Stenzel DJ., & Boreham PF. , 1994). Más tarde se descubrió que la especificidad del huésped y el potencial patogénico de

diferentes aislados se correlacionaron con variaciones de secuencia en el SSU-rRNA. Sobre la base de estas variaciones, los miembros del género se clasifican en varios subtipos (ST), que podrían denominarse como especies (Noël C., y otros, 2005). Más recientemente, se encontró que el ADNr de la subunidad pequeña (SSU-rADN) tenía una mejor correlación con ST y 17 ST hasta la fecha (Stensvold CR. , 2013). En la actualidad, es apropiado limitar la nomenclatura del organismo como "especies de *Blastocystis*" y, además, debe caracterizarse únicamente por la subtificación molecular del SSU-rRNA o SSU-rDNA (Stensvold CR., y otros, 2007).

2) Historia

Las diversas observaciones hechas a lo largo de los años para llegar al estado taxonómico actual de *Blastocystis* probablemente serían una de las historias más intrigantes para cualquier taxonomista. Brittan y Swayne realizaron las primeras observaciones del organismo de forma independiente mientras estudiaban la infame epidemia de cólera de Londres en 1849. Habían observado varios huevos y quistes parásitos, incluso desconocidos, incluyendo *Blastocystis*, y los etiquetaron colectivamente como cuerpos de cólera y sugirieron que fueran agentes causantes del cólera. Fue solo a principios de 1900 que el organismo fue específicamente observado por Alexeieff y Emile Brumpt de forma independiente, quienes propusieron que fuera una levadura saprófita inofensiva del tracto intestinal. El nombre del género "*Blastocystis*" fue acuñado por Alexeieff, mientras que Brumpt proporcionó el nombre de la especie, "*hominis*" (Zierdt C.H., 1991). Más de cinco décadas después, en 1967, Zierdt et al., Reclasificaron el organismo como Protista basándose en su morfología y propiedades fenotípicas tales como la presencia de uno o más núcleos, orgánulos celulares como mitocondrias, aparato de Golgi y retículo endoplásmico, falta de

crecimiento en medios fúngicos, resistencia a agentes antifúngicos y susceptibilidad a fármacos antiprotozoarios (Zierdt CH. , Rude WS., & Bull BS., 1967).

3) Morfología

El organismo es polimórfico con forma vacuolar, granular, ameboide, y la forma del quiste es comúnmente conocida. Sin embargo, podría existir en otras formas con mucha más frecuencia que las formas ampliamente conocidas que el observador desprevenido podría pasar por alto (Chandra Parija S. & Jeremiah,S.S., 2013).

La desconcertante gama de formas morfológicas de existencia identificadas en las especies de *Blastocystis* mistifica aún más el enigma que rodea al organismo. Recientemente se identificó que las especies de *Blastocystis* producen quistes que podrían convertirse en formas vegetativas (Stenzel DJ, 1991) (Moe KT., y otros, 1999). Además de las formas vacuolares, granulares y ameboides bien caracterizadas, otras formas vegetativas como las formas avacuolar y multi-vacuolar también identificadas (Stenzel DJ., Boreham PF., & McDougall R., Ultrastructure of *Blastocystis hominis* in human stool samples., 1991). También se sabe que el organismo asume morfologías extrañas, como la forma de la cabeza de la medusa y la célula de la raíz de castaño al exponerse al oxígeno y en las culturas envejecidas, respectivamente (Zierdt C.H., 1991).

Las formas vacuolares de *Blastocystis* se observan en la figura 1: en donde se muestran una gran variación (a) de tamaño (flechas), (b) formas granulares con gránulos distintos que llenan el cuerpo central, (c) forma ameboide con pseudópodos característicos, (d) formas de quiste.

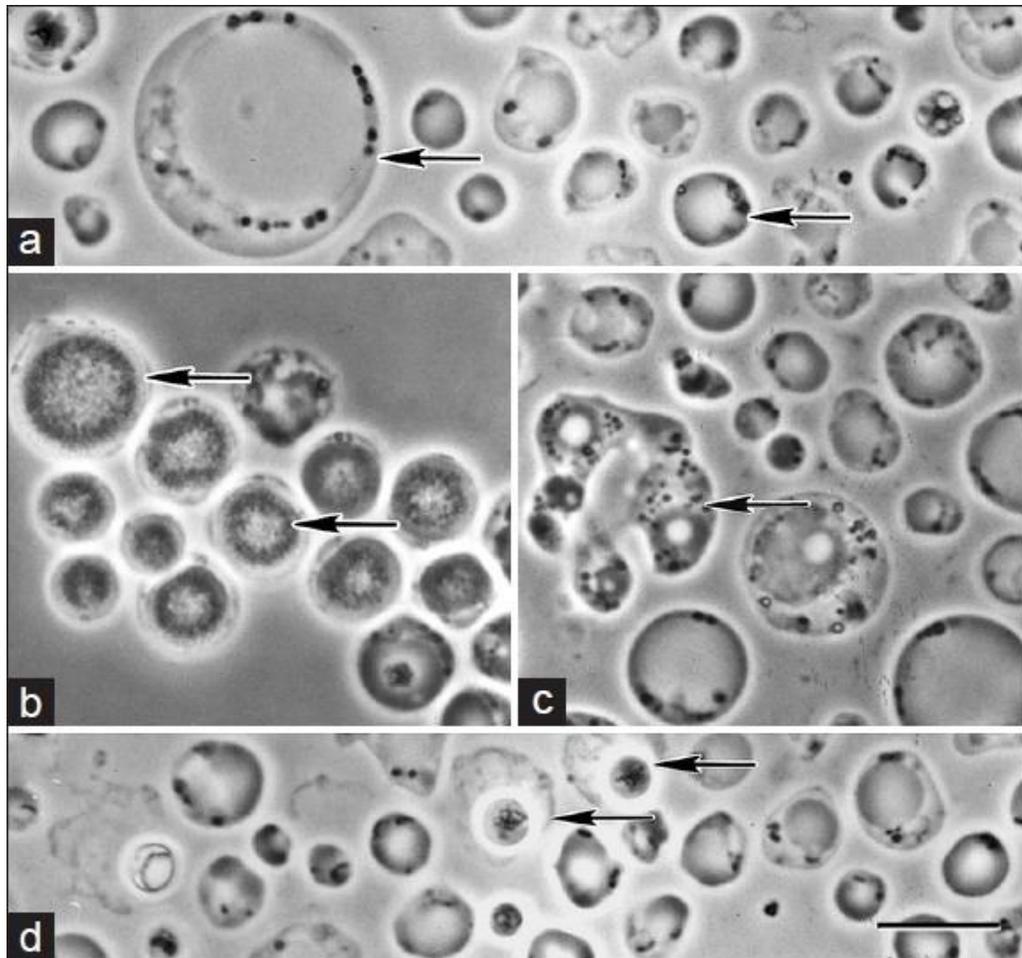


Figura 1. Morfología de *Blastocystis hominis*

Fuente: (Chandra Parija S. & Jeremiah,S.S., 2013)

4) Ciclo biológico

El ciclo de vida de *Blastocystis* aún no se dilucida con certeza, debido a la falta de un modelo animal adecuado. Sin embargo, algunas de las suposiciones y observaciones del pasado se han demostrado erróneas. Los estudios de infectividad realizados en ratones BALB / c y ratas Wistar han demostrado que los quistes son las únicas formas transmisibles de *Blastocystis* y se transmiten a través de la vía feco-oral (Yoshikawa H., y otros, 2004) (Moe KT.; Singh M.; Howe J.; Ho LC.; Tan SW.; Chen XQ., 1997). Los estudios revelaron que los huéspedes

adecuados podrían contraer la infección por *Blastocystis* al beber agua no tratada o comer plantas acuáticas crudas contaminadas con quistes (Lee LI., Chye TT., Karmacharya BM., & Govind SK. , 2012). Estudios recientes demuestran que las manos sucias pueden servir como fómites para la transmisión de quistes de individuos infectados en contacto directo o de suelo contaminado (Anuar TS., Ghani MK., Azreen SN., Salleh FM., & Moktar N., 2013). La Figura 2 representa el ciclo de vida más probable de *Blastocystis* acordado por consenso general. Las formas del quiste se excretan en las heces de los huéspedes infectados, (b) el hombre adquiere la infección por el consumo de alimentos / agua contaminada con heces que contienen quistes, (c) la enquistación se produce en el intestino grueso para liberar la forma vacuolar. La forma vacuolar (c1) puede transformarse en la forma granular (c2) o la forma ameboide (c3) y viceversa. La forma vacuolar se multiplica por fisión binaria (también pueden ocurrir otros modos de reproducción como la plasmotomía y la gemación). La forma vacuolar se somete a enquistación en la luz del intestino grueso para producir la forma del quiste que se desprende de las heces.

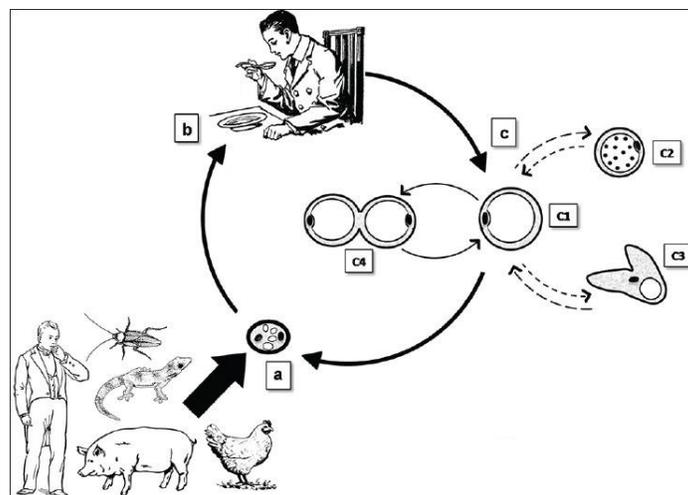


Figura 2. Ciclo de vida de *Blastocystis hominis*

Fuente: (Chandra Parija S. & Jeremiah, S.S., 2013)

Tras la ingestión, los quistes se desarrollan en formas vegetativas solo en el huésped adecuado. La continuación adicional del ciclo de vida depende de la compatibilidad del subtipo con el host. La forma del quiste se somete a una excitación en el intestino grueso para liberar la forma vacuolar (Moe KT.; Singh M.; Howe J.; Ho LC.; Tan SW.; Chen XQ., 1997). Las formas vacuolares pueden transformarse en cualquiera de las otras formas. Las observaciones frecuentes de las formas ameboidea, avacuolar y multi-vacuolar en la diarrea sugieren la posibilidad de que estas formas desempeñen un papel en la patogénesis (Zhang X., y otros, 2012). Las formas vacuolares se enquistan en la luz intestinal para formar quistes que se desprenden en las heces para una mayor transmisión.

5) Manifestaciones clínicas

Los síntomas más frecuentes que se presentan en un individuo infectado son: diarrea, náuseas, dolor abdominal, flatulencia y fiebre. La diarrea líquida abundante se presenta en casos agudos. Otras manifestaciones observadas incluyen hemorragia rectal, leucocitos en heces, eosinofilia, hepatomegalia, esplenomegalia, rash cutáneo, angiodema y prurito. En algunos casos se ha asociado la blastocistosis con síndrome de colon irritable, aunque no existe correlación clara. Es poco probable encontrar infecciones estraintestinales; sin embargo, hay un caso de infección en líquido sinovial, por tanto, causa artritis infectiva.

Debido a los síntomas intestinales el individuo infectado no siente el deseo de ingerir alimento alguno, lo que conduce a adinamia, fatiga y pérdida de peso. Así mismo puede producir desnutrición, aunque no se han documentado casos de este padecimiento por causa de la infección por *Blastocystis*. Las lesiones intestinales, más aún a nivel del colon y recto puede desencadenar la presencia de glóbulos blancos en heces y sangrado rectal. Estas

manifestaciones pueden prolongarse por semanas y meses, o hasta por años de manera intermitente, es decir, hay periodos asintomáticos alternados con sintomáticos.

6) Diagnóstico

Esa factible emplear técnicas microscópicas, serológicas y moleculares. Lo más recomendable es la observación mediante un examen directo de la muestra y, desde luego, la experiencia en la morfología del parásito le permitirá detectarlo. Se puede realizar un frotis directo ayudándose con tinción de hematoxilina férrica o tricrómica a partir de muestra en fresco. Las técnicas de CPS de concentración no permiten la observación de formas vacuoladas y ameboides. Otros recursos para el diagnóstico de esta parasitosis son las pruebas serológicas como el ensayo por inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Las pruebas moleculares están todavía en vías de investigación. (Becerril M.A., 2014)

7) Epidemiología

Es una parasitosis de distribución cosmopolita, pero es más frecuente en zonas tropicales y de mayor pobreza. Afecta más a personas inmunodeficientes; puede infectar ratas, aves y cerdos, de ahí su posible transmisión a humanos por favorecer su convivencia. Aunque los animales son reservorios y la transmiten a humanos, esto no ocurre a la inversa. También es factible que ocurra la infección directa entre varones homosexuales que sostienen relaciones sexuales sin protección.

Blastocystis hominis es uno de los parásitos más comunes de los seres humanos con encuestas que revelan tasas de infección de hasta 10% en los países desarrollados y 50% en los países en desarrollo (Stenzel D.J. & Boreham P.F.L., 1996). El papel de este organismo en la

enfermedad es incierto debido al número de informes recientes que lo implican (Carrascosa M., Martinez J., & Perez Castrillon J.L., 1996) (Levy Y. , George J., & Shoenfeld Y., 1996) (Logar J., Andlovic A., & Poljsak Prijatelj M., 1994) (Nimri L. & Batchoun R., 1994) y lo descartan (Albrecht H., Stellbrink H.J., Koperski K., & Gret H., 1995) (Junod C., 1995) (Shlim D.R., Hoge C.W., Rajah R., Rabold J.G. , & Echeverria P., 1995) como causa de diarrea.

Como se ha mencionado anteriormente, la frecuencia de portadores crónicos asintomáticos es desconocida; la frecuencia en los Centros del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de Norteamérica, fue de 18% en 1983, y de 6% en 1985.

Otros estudios han demostrado frecuencias muy similares a esta última como la reportada por O´Gorman en 1993, que encontró el 3% de *Blastocystis hominis* en la población pediátrica de un Hospital de Pittsburg, Pennsylvania (O´Gorman , Oresteina S.R., Proujansky R., Wadowsky R.M., & Putnam P.E., 1993).

En el Hospital Pediátrico de Iztacalco de la ciudad de México, se encontró una frecuencia del 2.19% en pacientes con síntomas gastrointestinales, sin diarrea y del 2.06% en pacientes con diarrea, con una frecuencia global del 2.17% (Vázquez T.O., Valdivia G.S., & Vertiz Ch. E. , 2000).

Actualmente, se observa una transición parasitaria y el primer lugar en frecuencia entre todas las especies que parasitan el tracto intestinal del hombre lo ocupa *B. hominis* (Bernal R. R., Hernández S.G., & Ramírez H. E., 1998) (Larrosa H.A. , Arrosa H.A., Ruiz P. M., & Aguilar B S., 2002) (Sánchez R.G.L., 2003) (Escobedo L.G., Homes N., Von Alt K., & Escobedo M A., 2004) (Galván Ramírez M. L., Madriz Elisondo M.L., & Bernal R., 2007).

Las publicaciones del Sistema Único de Información del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud en México, que se rige por el Código Internacional de Enfermedades, informan semanalmente sobre los casos de parasitosis intestinales; en esta publicación se ubica a *B. hominis* dentro de las “otras infecciones intestinales debidas a protozoarios”. En niños mexicanos la mayor frecuencia de infección por protozoarios está encabezada por *B. hominis* especie cuya patología es controvertida; lo mismo lo encontramos en niños sanos que en paciente con manifestaciones gastrointestinales como diarrea, dolor y distensión abdominal (Bernal R. R., Hernández S.G., & Ramírez H. E., 1998).

En el año 2015, se reportaron 2, 902, 344 casos para el país y en el 2016 al menos hasta la semana epidemiológica número 30 que abarca el mes en que se realizó la presente investigación se reportaron 2, 645, 603 en el país y para el estado de Hidalgo 54,120 y 50,064 casos respectivamente (SINAVE, 2016).

Giardia intestinalis

1) Taxonomía

Giardia intestinalis pertenece al reino Protista, Phylum Metamonada, Subphylum Trichozoa, Clase Zoomastigophorea, Orden Diplomonadida, de Familia Hexamitidae, Género *Giardia*, especie *intestinalis* (Urribarren Berrueta T., 2016). Los Hexamitidae son protozoos flagelados diplozoicos que poseen organelos emparejados, incluidos dos núcleos equivalentes. El disco adhesivo ventral delinea *Giardia* de otros Hexamitidae (Claerebout E. & Vercruysse J. , 2007).

2) Historia

El nombre del género *Giardia* fue propuesto en honor del taxonomista belga Alfred Mathieu Giard. Para conmemorar al hombre que dio la primera descripción detallada del parásito, *Lamblia* también se propuso como nombre genérico. El mismo Lambl había nombrado al parásito *Cercomonas intestinalis* en 1859. En la literatura médica humana, los nombres *Lamblia intestinalis* y *Giardia lamblia* se han utilizado sistemáticamente para designar aislados de *Giardia* en pacientes humanos. Además, los nombres de las especies *intestinalis* y *duodenalis* se usaron con frecuencia. En la actualidad, *G. duodenalis* se considera el único nombre de especie válido para el parásito protozoo descrito por Filice en 1952 (Claerebout E. & Vercruyse J. , 2007). Es agente causal de la giardiasis (Monis P. T, 2009), una parasitosis de intestino delgado proximal, cosmopolita, que puede manifestarse como un síndrome diarreico agudo, crónico o intermitente.

3) Morfología

Giardia es un protozoo no invasivo, microaerófilo. Reside y se multiplica por división binaria en la superficie de las primeras porciones del intestino delgado, a un pH ligeramente alcalino que favorece su desarrollo y existe evidencia genética y epidemiológica sobre su capacidad de recombinación sexual (Monis P. T, 2009) (Cacció S.M, 2009). Presenta dos formas: trofozoíto y quiste con un ciclo biológico sencillo. El trofozoíto prolifera (se multiplica) y el quiste es la forma infectante.

Los trofozoitos y formas vegetativas, miden 10 - 12 µm de longitud, son piriformes, con superficie dorsal convexa y ventral cóncava (Figura 3 y 4). Las estructuras internas que pueden apreciarse son: dos núcleos con endosoma, cuerpos medianos en número variable,

disco adhesivo, ventral, con estructura cóncava, rígida, en espiral, de ~9 µm de diámetro, compuesto por microtúbulos y proteínas asociadas ubicado en la mitad anterior ventral, con capacidad contráctil, y un paquete de axonemas con cuerpos basales en posición anterior con respecto a los núcleos, del cual derivan 4 pares de flagelos (par anterior, dos pares laterales y par posterior) con el típico arreglo de microtúbulos 9+2. Carecen de mitocondrias y peroxisomas, y presentan mitosomas minúsculos <2 µm y nucléolo. El retículo endoplásmico rugoso y Golgi son aparentes durante la secreción de componentes requerida para el enquistamiento.

En la figura 3 y 4 se observan las formas más comunes de *Giardia intestinalis*; el trofozoito y el quiste.

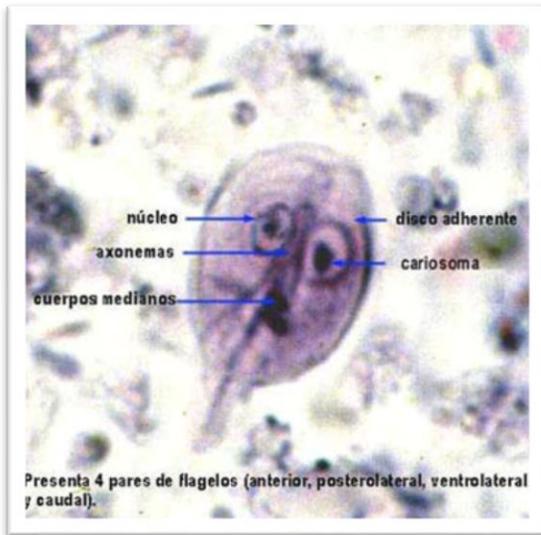


Figura 3. Trofozoito de *Giardia duodenalis*
Fuente: (Upton S.J, Kansas University, 2016)

Figura 4. Trofozoito de *Giardia intestinalis*

Fuente: (Haney Carr J., 2018)

Los quistes, formas de resistencia, infectantes, ovaes, miden entre 11-14 µm de longitud y contienen 2 a 4 núcleos, de acuerdo a su madurez, y estructuras residuales de la forma vegetativa (axonemas, restos de disco adhesivo y cuerpos medianos). La resistente pared

quística está formada por una capa filamentosa externa y una capa membranosa interna. Su grosor es de 0.3 - 05 µm. El principal carbohidrato del componente glicoprotéico externo es N-acetilgalactosamina (GalNAc).

Después de la ingestión, la exposición al ácido gástrico induce la activación del quiste en reposo. En respuesta al pH alcalino, las proteasas del intestino y señalizaciones propias del parásito, emerge una célula que se divide 2 veces sin replicación del DNA, produciendo eventualmente cuatro trofozoitos.

El enquistamiento inicia hacia la parte inferior del intestino delgado. La célula parasitaria detecta cambios en su hábitat y responde formando una pared quística que le permite sobrevivir fuera del hospedero y hasta en agua fría cuando los quistes son eliminados con la materia fecal. Los quistes son transmitidos a otro hospedero, directamente, o a través de vehículos como agua y alimentos. Se estima que 10 - 100 quistes son suficientes como dosis infectiva (Ankarklev J.; Jerlström-Hultqvist J.; Ringqvist E, T., 2010) (Einarsson E., Ma'ayeh S., Svärd S., 2016).

Se han identificado ocho genotipos de *G. intestinalis*, de los cuales sólo los genotipos A y B causan enfermedad en el humano, los restantes tienen especificidad por otros hospederos (Monis, P., Andrews, , R. H. , Mayrhofer G., & Ey P. L. , 2003.). Las distancias genéticas entre los genotipos A y B son amplias y cada genotipo presenta subdivisiones adicionales. Aunque morfológicamente son indistinguibles, algunas diferencias que podrían encontrarse entre estos genotipos están relacionadas con aspectos bioquímicos, crecimiento, infectividad, sensibilidad a medicamentos, entre otras (Plutzer, J., Ongerth J. , & Karanis P., 2010).

4) Ciclo Biológico

En la figura 5 se observa el ciclo biológico de *Giardia intestinalis* en donde la fase de quiste actúa como agente infeccioso que puede encontrarse en los alimentos y agua contaminada, así como el trofozoito que es la forma en que es eliminado del cuerpo humano para continuar con el ciclo biológico. La ruta de transmisión de *G. intestinalis* es fecal-oral, a través de mecanismos antroponóticos, zoonóticos, antropozoonóticos, siendo el agua una fuente importante para el esparcimiento de los quistes (Plutzer, J., Ongerth J. , & Karanis P., 2010). En una población humana, pueden encontrarse todos los mecanismos, según las condiciones del medio, los conocimientos y prácticas de los individuos de la comunidad; pero la significancia de cada mecanismo para la evolución clínica de la enfermedad y la distribución del parásito, no ha sido completamente dilucidada. Otro factor a considerar para la comprensión de la transmisión y cuadro clínico, son los factores del hospedero tales como la inmunidad, la nutrición y la edad.

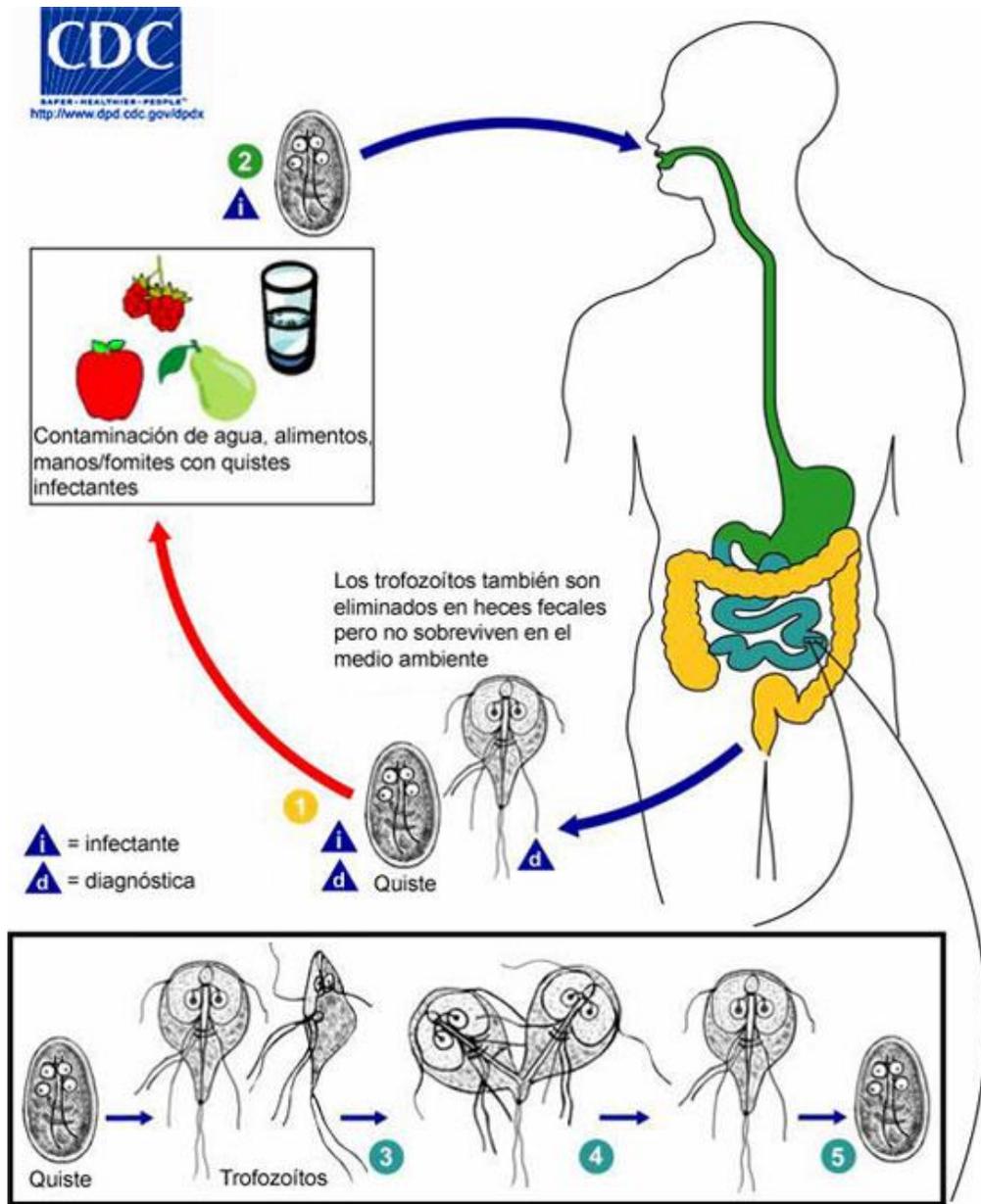


Figura 5. Ciclo biológico de *Giardia intestinalis*

Fuente: Modificado de (CDC, 2018)

5) Manifestaciones clínicas

El período de incubación es de 1 - 2 semanas. Los cuadros clínicos oscilan entre el estado de portador asintomático y las enfermedades aguda y crónica. Un gran porcentaje de personas presenta infecciones asintomáticas, con malabsorción intestinal imperceptible, que se resuelven espontáneamente.

Entre las manifestaciones de la enfermedad aguda se encuentran: diarrea acuosa o pastosa, esteatorrea (evacuaciones grasosas, generalmente explosivas y fétidas), dolor epigástrico postprandial, anorexia, distensión abdominal, flatulencia y ocasionalmente, cefalea, febrícula, manifestaciones alérgicas (artralgias, mialgias, urticaria); la enfermedad puede resolverse en unas semanas, aún sin tratamiento, pero la presencia de parasitosis crónica es un hallazgo cada vez más frecuente, actualmente, a nivel mundial, asociada con síndrome de intestino irritable, alergias alimentarias y urticaria (Einarsson E., Ma'ayeh S., Svärd S., 2016), así como con diarrea recurrente, esteatorrea, evidencia bioquímica de malabsorción de grasas, lactosa y otros disacáridos, vitamina A y vitamina B12, disminución de peso, deficiencias en el crecimiento y cognitivas en la población infantil (Certad G, Viscogliosi E, Chabé M, Cacciò S.M., 2017) (Bartelt L.A. Platts-Mills J.A., 2016)(Bartelt & Platts-Mills, 2016).

Diagnóstico diferencial: Deben contemplarse rotavirus, adenovirus, *Campylobacter*, *E. histolytica*, *Cryptosporidium*, *Escherichia coli* enteropatógena, *Strongyloides stercoralis*, enfermedad celiaca, úlcera duodenal.

6) Diagnóstico

El diagnóstico de esta parasitosis se realiza en primer lugar a través de antecedentes epidemiológicos y cuadro clínico. Así también es necesaria la observación microscópica de trofozoítos (en materia fecal acuosa - mediante el examen directo en fresco, con solución salina y lugol) y quistes (en materia fecal sólida o semisólida se utilizan exámenes coproparasitológicos de concentración por flotación), estudios de baja sensibilidad y alta especificidad. métodos clásicos de microscopía y tinción con yodo; sin embargo, la excreción de quistes de manera intermitente provoca fallas, por lo que se hace necesario la utilización de otras técnicas, tales como ELISA e inmunofluorescencia basadas en el reconocimiento de los antígenos de superficie del parásito y recientemente las técnicas de diagnóstico molecular a través de PCR/RFLP. Esta técnica parte de la amplificación de un segmento del ADN del parásito y su posterior digestión con enzimas de restricción, lo que dará un patrón de bandas específico para cada genotipo; secuenciación, la cual usa una reacción enzimática y posterior electroforesis capilar para describir el orden de las pares de bases en el fragmento amplificado, de manera que luego se puedan comparar las secuencias en búsqueda de homología y relaciones con otras secuencias a través de árboles filogenéticos. Las técnicas moleculares descritas tienen mucho potencial para la resolución de los cuestionamientos actuales (Villalba Vizcaíno B., 2012). Varios estudios han reportado especificidades de 87–100% y sensibilidades de 63–100% y algunos falsos negativos, corroborados en mediante Técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Koehler AV, Jex AR, Haydon SR, Stevens MA, Gasser , 2014).

El análisis de esta parasitosis, utilizando genes específicos como marcadores moleculares, ha permitido determinar la alta variabilidad genética de *G. intestinalis*, estableciendo 7

genotipos (A-G) de los cuales los genotipos A y B están asociados con infecciones en humanos y otros mamíferos mientras que los restantes (CyG) muestran una especificidad elevada con el huésped (mamíferos no humanos (Arroyo Salgado B., Buelvas Montes Y., Villalba Vizcaíno V., & Salomón Arzuza O., 2012)

También se incluye la endoscopia con examen de contenido duodenal y biopsia intestinal, sin embargo, como son procedimientos invasivos son poco utilizados.

Mediante el uso de herramientas moleculares se han descrito siete ensamblajes en el grupo morfológico de *Giardia duodenalis*; los ensamblajes A y B son zoonóticos, parasitan a animales y al humano. Los ensamblajes C y D se describieron a partir de trofozoitos obtenidos de perros; el ensamblaje E en rumiantes, porcinos y equinos; el ensamblaje F en felinos y el ensamblaje G en ratas (Ponce Macotella M. & Martínez Gordillo M., 2014).

7) Epidemiología

G. intestinalis tiene una distribución mundial y es de gran importancia para la salud pública, ya que causa diarrea o gastroenteritis severa, conduciendo a un deterioro físico, desnutrición y consecuencias negativas en el crecimiento y el desarrollo intelectual de los niños. Desde el año 2004 fue incluida como una "enfermedad descuidada" por la OMS (Urribarren Berrueta T., 2016). Las personas que presentan mayor riesgo de contraer enfermedades transmitidas por el agua son los lactantes, niños y ancianos, así como personas que viven en condiciones antihigiénicas (Jawetz, y cols., 2005).

Actualmente la giardiasis es considerada como una enfermedad reemergente (Alparó, 2015) debido al aumento de su frecuencia y principalmente por el aumento de transmisión de animales al hombre y de hombre a hombre. Su incidencia varía entre 0.5 a 20%; con

prevalencia de 20-30% en países en desarrollo y de 2 a 5% en países industrializados (Farthing, 1997).

La giardiasis infecta aproximadamente el 2 % de los adultos y de 6 % a 8 % de los niños de los países desarrollados de todo el mundo. Casi el 33 % de las personas en los países en desarrollo han tenido giardiasis. En los Estados Unidos, la infección por *Giardia* es la enfermedad parasitaria intestinal más común que afecta a los seres humanos (Alvarado Gutiérrez M.L., y otros, 2016).

Alrededor de 200 millones de individuos padecen la enfermedad en Asia, África, Latinoamérica, y se presentan 500 000 casos nuevos/año. Se observa un mayor grado de riesgo en la población pediátrica (Thompson R.C., 2008). Las más altas prevalencias se presentan en regiones tropicales, en zonas rurales de países en desarrollo. El 15% de la población de Latinoamérica están infectadas con *Giardia*, con una elevada prevalencia en niños y en la población con menos recursos (Bracho M., Reyes P., Botero L., & Sarcos M., 2007). Los quistes de este organismo permanecen en el ambiente por largos periodos de tiempo bajo condiciones adversas, siendo resistentes a la mayoría de procesos de desinfección química y tratamiento convencional de aguas. El hallazgo de 1 a 10 quistes de *Giardia intestinalis* en agua potable puede provocar síntomas clínicos (Chin, 2001).

En la semana epidemiológica veinte siete, del año 2016 la Secretaría de Salud reporto 5475 casos de giardiasis hasta el mes de julio, representando un 91% de los 6002 casos reportados en 2015 para México.

En relación al estado de Hidalgo, se reportó un aumento de 65 casos registrados en 2015 a 85, en la semana veinte siete del 2016. Representando de este modo el 1.1% de la cifra nacional.

Entamoeba Histolytica

1) Taxonomía

Parásito protozoo cosmopolita incluido tradicionalmente en el Reino Protista, Subreino Protozoa, Phylum Sarcomastigophora, Subphylum Sarcodino, Clase Lobosea, Orden Amoebida, Familia Endamoebidae, Género *Entamoeba* y Especie *histolytica* (Keas B.E., 2018).

2) Historia

La humanidad ha venido padeciendo desde tiempos inmemoriales el azote de la disentería descrita por Celso e Hipócrates con el nombre de "flujo de vientre". Hipócrates (460 a 377 AC) reconoció la amebiasis en un paciente con disentería y fiebre. Posteriormente, en el Antiguo Testamento y la Medicina Interna Clásica de Huang Ti (140 a 87 AC) se denominó la disentería (Tanyukselm M. & Petri WA Jr., 2003).

A través del tiempo este parásito recibió diversos nombres como *Amoeba coli*, Lósch (1885); *Amoeba dysenteria*, Councilman y Lafleur (1891); *Entamoeba dysenteriea* por Councilman y Lafleur (1891) y Craig (1905); *Entamoeba tetrágena* por Hartmann (1908); *E. histolytica* por Schaudinn (1903) y Hickson (1909); *Entamoeba hartmanni* por von Prowazek (1912); *Endamoeba dysenteriae* por Kofoid (1920) y *Entamoeba dispar* por Brumpt (1925) (Faust E.C., Rusell P.F. , & Jung R.D. , 1974).

El zoólogo alemán Fritz Schaudinn en 1903, diferenció entre *Endamoeba histolytica* y *Endamoeba coli*; murió en el año 1906 a la edad de 35 años de complicaciones secundarias

a una amebiasis adquirida por autoinfección. Schaudinn decidió llamar a la *ameba histolytica* por ser productora de lisis tisular (Arguello M. & Gómez RD. , 2000) (Reyes L. & León R. , 2002). Años después Walker y Sellards en Filipinas obtuvieron pruebas, en personas voluntarias, de que *E. histolytica* es la causa de colitis amebiana y que *E. coli* es un comensal del intestino grueso (Tanyukselm M. & Petri WA Jr., 2003).

La Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica dictaminó (1928) que *Entamoeba* fuese sinónimo de *Endamoeba* (Faust E.C., Rusell P.F. , & Jung R.D. , 1974). Dobell describió el ciclo de vida de la *E. histolytica* en el ser humano, mediante cultivos de una cepa amebiana obtenida de un mono, con base en cuatro formas sucesivas: el trofozoíto, el prequiste, el quiste y la ameba meta-quística. Faust (1938) desarrolló la técnica de sulfato de zinc y Ritchie (1948) describió la técnica de sedimentación, éstas sirvieron para mejorar la concentración de los quistes de ameba presentes en heces. Posteriormente, se estableció que el examen seriado de al menos 3 muestras permite mejorar la sensibilidad del diagnóstico microscópico dado que la expulsión de quistes es intermitente (Reyes L. & León R. , Diferenciación de *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la amibiasis intestinal., 2002).

En los comienzos de los años setenta se comenzaron a acumular datos que apoyaban la hipótesis de Brumpt de la existencia de dos especies diferentes de *E. histolytica*. Sólo hasta 1978, luego de varios años de investigación, Sargeant y Williams lograron por primera vez, diferenciar por medio de estudios electroforéticos de isoenzimas, cepas de *E. histolytica* aisladas de pacientes con manifestaciones clínicas de amebiasis y portadores asintomáticos, confirmándose que la *E. histolytica* está constituida por cepas patógenas y no patógenas (Walsh J.A. & Warren K.S. , 1979).

La redescipción de la *E. histolytica* con respecto a *E. dispar* reconociéndola como patógena y comensal, respectivamente, ha cambiado claramente la visión en el enfoque del cuadro clínico, el diagnóstico y el tratamiento; se visualiza que la *E. dispar* es más común en la población mundial, lo que ya ha sido informado en algunos países, por lo tanto, la infección por *E. histolytica* debe ser realmente menos frecuente. A pesar de todos los avances, actualmente el diagnóstico de laboratorio de uso cotidiano es el examen de materia fecal al microscopio, el que requiere de personal experto dedicado. Por ende, se requieren métodos más precisos, rápidos y económicos asequibles para el clínico alrededor del orbe (Pinilla A. E., López M.C., & Viasus B.F., 2008).

3) Morfología

Los trofozoítos, forma invasiva (vegetativa), tienen un diámetro de 10 - 60 μm (rango más frecuente 12-15 μm), forma alargada, un núcleo con endosoma central y cromatina periférica fina, distribuida regularmente. Presentan movilidad direccional, progresiva, mediante la emisión de seudópodos digitiformes explosivos (lobópodos). En el extremo posterior del organismo se encuentra el uroide, que contiene el motor de actina/miosina, el cual impulsa a la amiba hacia adelante. No es frecuente, pero pueden observarse eritrocitos fagocitados en el endoplasma.

Emergen en el íleon terminal, tras el desenquistamiento, en la forma de trofozoítos con 4 núcleos, que darán lugar a 8 trofozoítos uninucleados. La multiplicación se lleva a cabo por división binaria (Urribarren Berrueta T., 2016).

Los quistes, infectantes, son esféricos y miden 10 - 15 μm . Presentan, según su grado de madurez, 1 - 4 núcleos con las mismas características del trofozoíto, cuerpos cromatoidales

de bordes curvos y una masa de glucógeno cuando son inmaduros. Quistes y trofozoítos son eliminados en las heces fecales. Los vehículos principales de transmisión son el agua y alimentos contaminados con quistes. Los trofozoítos pueden ser infectantes en la práctica de sexo anal, lesiones de continuidad en piel (a través de pañales contaminados, lesiones perigenitales). Deben considerarse también los fomites (monedas, billetes, juguetes, etcétera) y los artrópodos, vectores mecánicos.

En condiciones limitadas de oxígeno, las mitocondrias de ciertos eucariotes sufren reducciones importantes en contenido y función, lo que da lugar a la generación de los denominados organelos relacionados con mitocondrias (MROs - por las siglas en inglés), tales como los mitosomas, hidrogenosomas y organelos-similares-a-mitocondrias. Estos se encuentran en un gran número de eucariotes anaeróbico/microaerofílicos, que incluyen a varios organismos de importancia médica: *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Cryptosporidium* sp, *Blastocystis hominis*, *Encephalitozoon cuniculi*, y diversos protistas de vida libre (Makiuchia T. & Nozaki T. , 2014).



Figura 6. Quiste inmaduro con vacuola de glucógeno de *Entamoeba histolytica*
Fuente: (Urribarren Berrueta T., 2016)

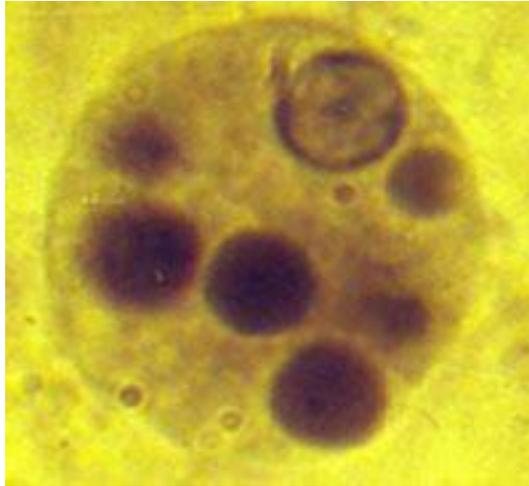


Figura 7. Trofozoito de *Entamoeba histolytica*
Fuente: (Urribarren Berrueta T., 2016)

4) Ciclo biológico

A continuación, se describe el ciclo biológico conforme a la figura 8. Los quistes y los trofozoítos se transmiten en las heces (1). Los quistes se encuentran típicamente en las heces formadas, mientras que los trofozoítos se encuentran típicamente en las heces diarreicas. La infección por *Entamoeba histolytica* ocurre por la ingestión de quistes maduros (2) en alimentos, agua o manos con contaminación fecal. El rompimiento del quiste (3) se produce en el intestino delgado y los trofozoitos se liberan (4), que migran al intestino grueso. Los trofozoitos se multiplican por fisión binaria y producen quistes (5). Ambas etapas pasan por las heces (1).

Debido a la protección conferida por sus paredes, los quistes pueden sobrevivir días a semanas en el ambiente externo y son responsables de la transmisión. Los trofozoitos que pasan en las heces se destruyen rápidamente una vez fuera del cuerpo, y si se ingieren no sobrevivirían la exposición al ambiente gástrico. En muchos casos, los trofozoitos permanecen confinados a la luz intestinal (A: infección no invasiva) de individuos que son portadores asintomáticos, que pasan quistes en sus heces. En algunos pacientes, los

trofozoitos invaden la mucosa intestinal (B: enfermedad intestinal) o, a través del torrente sanguíneo, sitios extra intestinales como el hígado, el cerebro y los pulmones (C: enfermedad extraintestinal), con las manifestaciones patológicas resultantes. Se ha establecido que las formas invasivas y no invasivas representan dos especies separadas, respectivamente *E. histolytica* y *E. dispar*. Estas dos especies son morfológicamente indistinguibles a menos que se observe *E. histolytica* con los glóbulos rojos ingeridos (eritrofagocitosis). La transmisión también puede ocurrir a través de la exposición a la materia fecal durante el contacto sexual (en cuyo caso no solo los quistes, sino también los trofozoitos podrían ser infecciosos) (CDC, 2018).

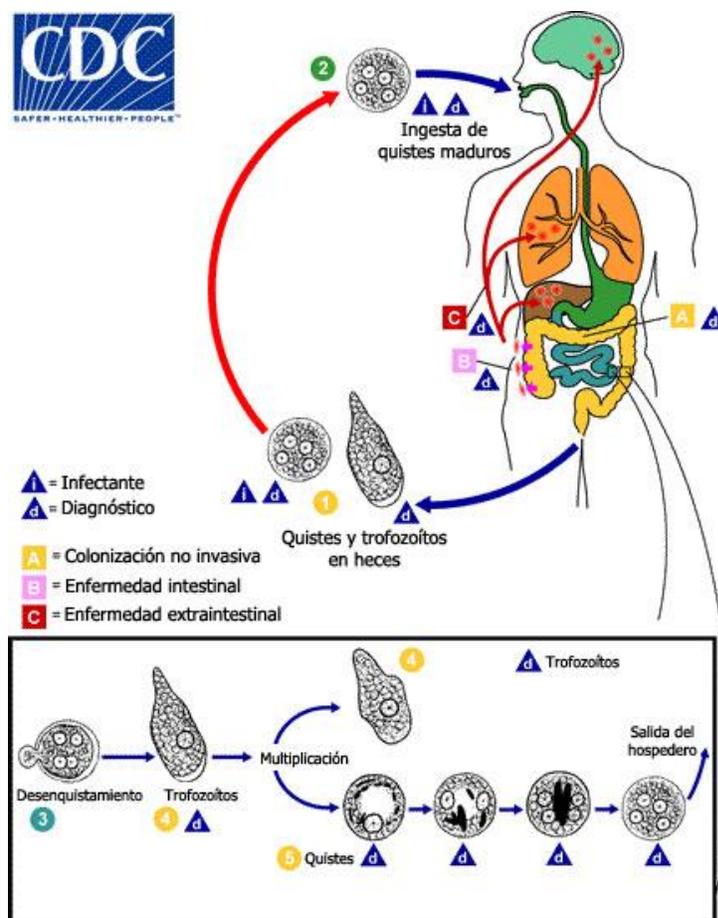


Figura 8. Ciclo de vida de *Entamoeba histolytica*
Fuente: Modificado de (CDC, 2018)

5) Diagnóstico:

Se lleva a cabo mediante técnicas parasitológicas, inmunológicas, moleculares e imagenológicas. El diagnóstico definitivo se realiza con base en las manifestaciones clínicas/observación de quistes o trofozoítos obtenidos de muestras fecales, raspados o biopsias. Es importante enfatizar que la mayor parte de los estudios de laboratorio no son útiles para diferenciar *E. histolytica*/*E. dispar*/*E. Moshkovskii*, y *E. bangladeshi*.

El examen directo es necesario para la detección de trofozoítos en la fase de diarrea. La inspección debe hacerse de zonas de la muestra con moco y/o sangre. En niños se emplea la cucharilla rectal para obtención de muestras.

Los exámenes coproparasitológicos de concentración, entre ellos el método de Faust, que emplea una solución de sulfato de zinc y tinción con solución de yodo, son útiles para identificar quistes en la materia fecal sólida o pastosa.

Los frotos teñidos con diferentes técnicas permiten visualizar estructuras internas.

Las pruebas inmunológicas (ELISA, contraelectroforesis, inmunofluorescencia indirecta) se emplean en la enfermedad intestinal invasiva, extraintestinal y en estudios epidemiológicos.

La detección de antígeno en materia fecal (coproantígeno) mediante ELISA identifica el complejo *E. histolytica*/*E. dispar*.

Las técnicas imagenológicas (rayos X, ultrasonido, tomografía computarizada, resonancia magnética) permiten evaluar las dimensiones de los abscesos y su evolución.

La rectosigmoidoscopia permite realizar toma de muestras y su análisis microscópico, así como la observación de las lesiones en colon.

Algunos laboratorios, principalmente de investigación, cuentan con técnicas moleculares, de mayor sensibilidad y especificidad:

- ☞ PCR para la identificación de especie y para detección cuantitativa.
- ☞ Cultivo de heces fecales y posterior análisis de izoenzimas.

En el caso de un absceso hepático amibiano deben considerarse, en biometría hemática: leucocitosis, neutrofilia y elevación de la sedimentación globular.

Las pruebas de función hepática pueden encontrarse alteradas, con elevación de fosfatasa alcalina.

El diagnóstico diferencial incluye colecistitis aguda, colangitis, neoplasias primarias o metastásicas del hígado, quistes hepáticos, fasciolosis y, en regiones endémicas, quiste hidatídico.

Diagnóstico diferencial en la amibiasis intestinal aguda:

Infecciones virales, sobre todo en niños (rotavirus, adenovirus), shigelosis, balantidiasis, infecciones por *E. coli*, tricocefalosis, colitis ulcerativa inespecífica, poliposis, neoplasia in situ, estenosis rectal.

6) Manifestaciones clínicas

Intestinal o extraintestinal.

Los cuadros clínicos a nivel de intestino grueso, debido a la infección con localizaciones más frecuentes en ciego, colon ascendente y recto, son:

- ☞ Estado de portador - Subclínico.
- ☞ Colitis invasiva aguda - puede manifestarse como diarrea simple, con moco, sangre o síndrome disentérico, asociada a dolor abdominal. En lactantes puede presentarse fiebre.
- ☞ Colitis invasiva crónica - se manifiesta por periodos alternados de constipación y diarrea, con meteorismo y flatulencia y dolor abdominal de tipo cólico. Es más frecuente en adolescentes y adultos.
- ☞ Colitis fulminante (sinónimo de colon tóxico amebiano, disentería fulminante), con perforación en colon y una mortalidad del 50 - 60%. Se caracteriza por úlceras y necrosis, esfacelación y perforación de zonas extensas de colon e íleon, fiebre elevada, abdomen distendido y doloroso, síndrome disentérico y ataque al estado general severos, con proceso bacteriano agregado. La peritonitis es frecuente.
- ☞ Ameboma - De presentación rara. Es una masa granulomatosa que se desarrolla en la pared intestinal, una complicación de la amibiasis invasora, de tipo seudotumoral, granulomatoso, sobre todo a nivel de colon ascendente. Puede confundirse con un carcinoma o un adenocarcinoma de colon con metástasis hepáticas cuando se encuentran abscesos hepáticos amebianos asociados. Generalmente es una lesión única, de tamaño variable, que puede medir varios centímetros y manifestarse como masa tumoral con signos y síntomas de obstrucción intestinal parcial o total, abdomen agudo o sangrado de tubo digestivo bajo.
- ☞ Apendicitis.

La forma invasiva extraintestinal más frecuente es el absceso hepático. Se presenta con mayor frecuencia en hombres.

Alrededor del 60% de los abscesos son únicos y se localizan principalmente en lóbulo derecho, debido en parte a la irrigación sanguínea del órgano y a su volumen. Los trofozoítos también pueden migrar a este y otros tejidos por contigüidad o continuidad.

Involucra un importante ataque al estado general, hepatomegalia dolorosa, con posible irradiación a hipocondrio derecho, a epigastrio, hombro derecho e incluso espalda, fiebre, tos, disnea, dolor durante la inspiración profunda e hipomovilidad diafragmática. La presencia de ictericia no es frecuente.

Se contemplan como signos de alarma, la ausencia de ruidos intestinales, frote pleural o pericárdico.

Los casos con metástasis pericárdicas, cutáneas, cerebrales y en otras localizaciones son muy poco frecuentes, pero es importante mencionarlos, ya que pueden pasar desapercibidos.

En México, los casos cutáneos reportados hasta finales de los años 80s correspondían a lesiones identificadas de localización anal, perineal, vulvar, vaginal, principalmente, así como abdomen (como consecuencia de absceso hepático) y en región del pañal en bebés. Ahora, algunos autores hacen hincapié en lesiones de transmisión sexual (Morán P., y otros, 2013).

7) Epidemiología

Entamoeba histolytica es un protozoo de distribución mundial, que afecta en particular a países en vía de desarrollo, infecta alrededor de 500 millones de personas y anualmente 110.000 mueren por complicaciones. Así, la amebiasis es considerada la tercera parasitosis causante de mortalidad mundial después de la malaria y la esquistosomiasis. Las personas infectadas se dividen en dos grupos de acuerdo a sus manifestaciones clínicas: 90% son

asintomáticos (portadores sanos) y 10% son sintomáticos principalmente a nivel intestinal (disentería amebiana, rectocolitis aguda, colitis no disentérica crónica, ameboma) y extraintestinal (absceso hepático amebiano -AHA-, absceso cerebral, enfermedad genitourinaria y cutánea). Sin embargo, 1% de las personas infectadas pueden desarrollar patologías potencialmente fatales como colitis amebiana fulminante o AHA (Walsh J.A. & Warren K.S. , 1979).

Su prevalencia puede ser hasta del 50% en zonas de Centro y Sudamérica, África y Asia. Se le atribuyen alrededor de 500 millones de infecciones (Baxt L.A. & Singh U. , 2008).

Es necesario reevaluar la epidemiología de la amibiasis, ya que las cifras mencionadas probablemente no corresponden a la realidad si se consideran las infecciones por *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovski* y *E. bangladeshi*, de morfología indistinguible por microscopía (Ali I.K. , 2015). Constituyen el Complejo *Entamoeba*: *Entamoeba histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *E. bangladeshi*.

De acuerdo a datos del SINAVE, en el año 2015 se reportaron 153, 320 casos de amebiasis en México y para el estado de Hidalgo 7, 523 casos. Y en el año 2016 se reportaron 6,735 casos hasta la semana epidemiológica 30 en el estado de Hidalgo.

Comensales

En esta relación uno de los simbioses (denominado comensal) vive a expensas del otro (llamado huésped) sin causarle daño. El comensal es de mayor tamaño que su huésped. En este sentido, no debe confundirse el organismo comensal con la flora habitual, ya que esta última representa poblaciones que forman parte natural del huésped e incluso lo protege de infecciones; en contraste, los comensales no se encuentran normalmente en los tejidos del

huésped y este los adquiere de forma accidental, de hecho, representan contaminación e incluso infección (Becerril M.A., 2014).

Entamoeba coli

1) Taxonomía

Es un protozoo que pertenece al Reino Protista, Subreino Protozoa, Phylum Sarcomastigophora, Subphylum Sarcodina, Clase Lobosa, Orden Amoebida, Familia Endamoebidae, Género *Entamoeba* y Especie *coli* (Ruíz Hernández A.L., 2014).

2) Historia

Al parecer esta amiba fue observada por primera vez por Lewis en 1870, pero fue Grass (1877) quien realizó la primera identificación y su descripción. Es un protozoo comensal del intestino grueso y muy frecuentemente se observa en coexistencia con *E. histolytica*. En su calidad de amiba no patógena, no provoca lisis tisular y se alimenta de bacterias, levaduras y otros protozoos, rara vez de eritrocitos, a menos que se encuentren cercanos a su medio. Su migración hacia el intestino grueso es semejante a la que realiza *E. histolytica* y en ocasiones puede confundirse con ella, lo que lleva a prescribir tratamientos innecesarios o dejar sin tratamiento las infecciones por con *E. histolytica* (Ruíz Hernández A.L., 2014).

Como en el caso de las especies del grupo *histolytica*, hay muchos datos sobre la especie humana, *E. coli*, y la información disminuye notablemente para el resto de las especies descritas en otros hospedadores. Ya se ha comentado la situación a finales del siglo XIX - principios del XX, cuando Schaudinn estableció la existencia de dos especies humanas, *E. histolytica* (patógena) y *E. coli* (comensal), ésta última con quistes de 8 núcleos. Como en el caso de *E. histolytica*, en la confusión existente en la época se describieron varias especies

en el hombre que han sido luego consideradas como sinónimos de *E. coli* (por ejemplo: *E. loeschi*, *E. williamsi*, *E. brasiliensis*) (Ponce Gordo F. & Martínez Díaz R.A., 2010).

3) Morfología

Respecto a sus características morfológicas, presenta las fases de trofozoito, prequiste, quiste, metaquiste y trofozoito metaquístico. El trofozoito mide entre 15 y 50 μm : si se observa vivo en heces disminuidas de consistencia, se reconoce un citoplasma viscoso y vacuolado y en ocasiones no es fácil diferenciar el ectoplasma del endoplasma o del núcleo; se desplaza mediante movimientos lentos y emite pseudópodos cortos y romos; es por esta característica propia del movimiento por lo que podría confundirse con *Entamoeba histolytica*. Las características nucleares se advierten mejor en la tinción, con la que se observa la distribución irregular de la cromatina periférica nuclear, el tamaño de los granulos y la disposición sobre la membrana. El endosoma o cariosoma es relativamente grande, con distribución de forma irregular y situado casi siempre de manera excéntrica; en ocasiones pueden reconocerse gránulos dispersos de cromatina entre en endosoma y la cromatina periférica. Con tinciones al interior del trofozoito esta vacuolado y en el endoplasma pueden distinguirse diversas granulaciones. El quiste mide de 10 a 30 μm de diámetro, muestra una doble pared retráctil y el citoplasma carece de vacuolas. En preparaciones teñidas con lugol los núcleos se observan con facilidad, ocho en promedio, aunque el número puede ser mayor o menor; el endosoma y la distribución de la cromatina periférica siguen siendo los mismos patrones que el trofozoito. Algunas veces se puede advertir una masa de glucógeno y barras cromatoides en forma de astilla (Ruíz Hernández A.L., 2014). Se trata de la ameba intestinal no patógena que, posiblemente, menos dificultades de reconocimiento morfológico presenta, sobre

todo bajo la forma de quiste maduro (Gomila Sarda B., Toledo Navarro R. , & Esteban Sanchis J.G., 2011). La morfología del trofozoito se observa en la figura 9.

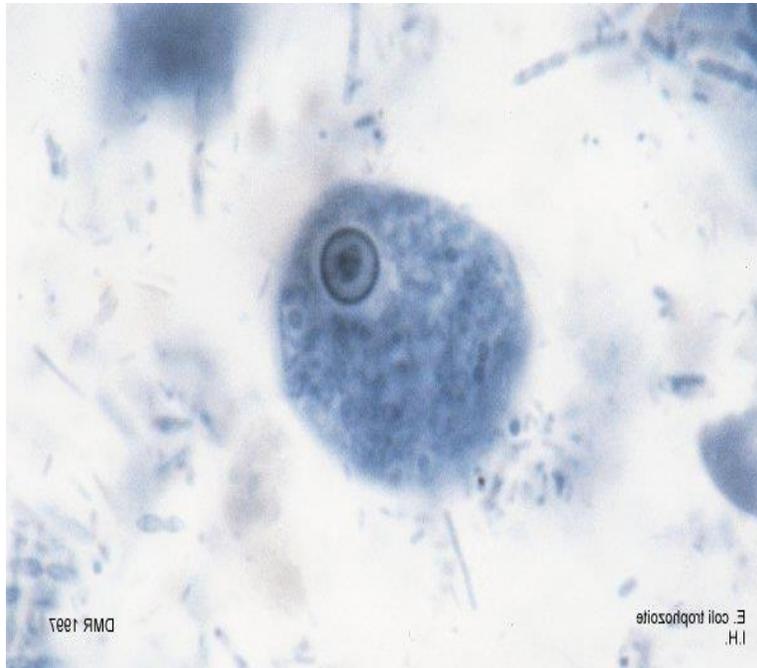


Figura 9. Trofozoito de *Entamoeba coli*
Fuente: (Romero Cabello Raúl, 2007)

4) Ciclo Biológico

En la figura 10 se observa el ciclo biológico de *Entamoeba coli*, el cual es semejante al de *E. hartmanni*, *E. polecki*, *Endolimax nana* e *Iodamoeba buetschlii* generalmente se consideran no patógenas y residen en el intestino grueso del huésped humano. Tanto los quistes como los trofozoítos de estas especies se transmiten en las heces (A) y se consideran diagnósticos (Número 1). Los quistes se encuentran típicamente en las heces formadas, mientras que los trofozoítos se encuentran típicamente en las heces diarreicas. La colonización de las amebas no patogénicas ocurre después de la ingestión de quistes maduros en alimentos, agua o fomites contaminados con materia fecal. El rompimiento del quiste (2). ocurre en el intestino

delgado. Se liberan (3) los trofozoitos y migran al intestino grueso. Los trofozoitos se multiplican por fisión binaria y producen quistes, y ambas etapas pasan por las heces (1).

Debido a la protección conferida por sus paredes celulares, los quistes pueden sobrevivir días a semanas en el ambiente externo y son responsables de la transmisión. Los trofozoitos que pasan en las heces se destruyen rápidamente una vez fuera del cuerpo, y si se ingieren no sobrevivirían la exposición al ambiente gástrico (CDC, 2018).

En contraste, los trofozoitos no tienen esa pared celular protectora que tienen los quistes, por lo cual, una vez fuera del cuerpo se destruirían bajo esas condiciones. Si una persona ingiere comida o agua contaminada con trofozoitos, estos no sobrevivirían el medio ácido del estómago.

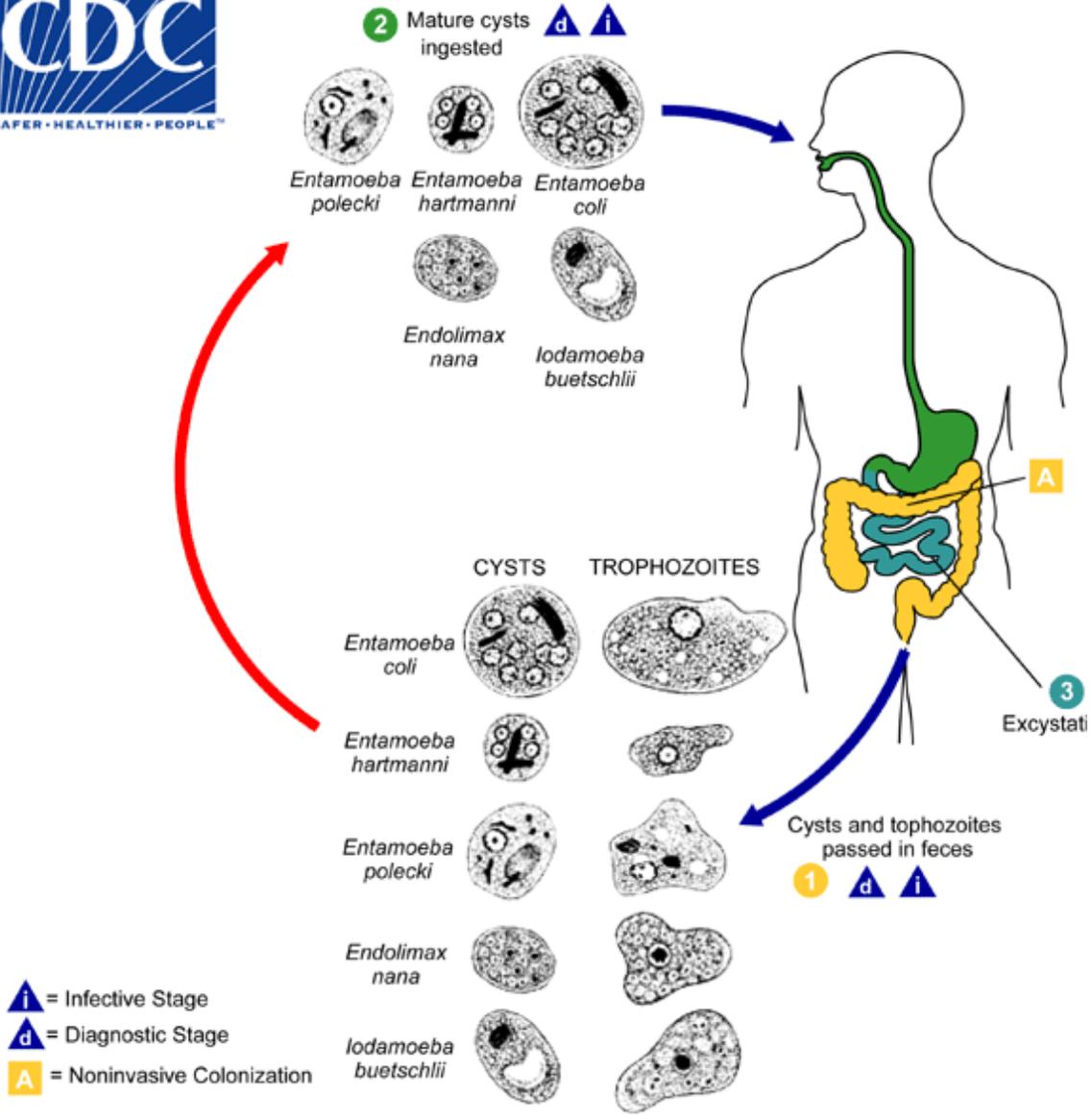


Figura 10. Ciclo biológico de *Entamoeba coli*

Fuente: (CDC, 2018)

5) Diagnóstico

La confirmación de la parasitosis es por identificación microscópica de los quistes o trofozoítos en las muestras de heces. Sin embargo, los quistes y los trofozoítos vivos son difíciles de diferenciar de otras amebas, como *Entamoeba histolytica*, *Dientamoeba fragilis* y *Entamoeba hartmanni*. Los quistes pueden identificarse en preparaciones de montaje húmedo concentrado, frotis teñidos u otras técnicas de microbiológicas. Los quistes ovoides típicos se identifican fácilmente en muestras fecales con yodo y hematoxilina.

La importancia clínica de *Endolimax nana* es diferenciarla de amebas patogénicas como *E. histolytica*. Debido a que *E. nana* es comensal, el tratamiento específico no está indicado.

El diagnóstico se realiza mediante un análisis directo de las heces, además de métodos de concentración o tinciones especiales como tricrómica, hematoxilina férrica, entre otras. Algunos autores consideran que esta amiba es más común que *Entamoeba histolytica* con base en su mayor capacidad para sobrevivir en ambientes de putrefacción y desecación (Ruíz Hernández A.L., 2014).

6) Manifestaciones clínicas

No se considera patógena, por lo que no presenta síntomas. Sin embargo, aunque no causa enfermedad como otras amibas, algunos autores han reportado casos de diarreas crónicas, urticarias, constipación, dolor rectal, vómitos, entre otras afecciones en algunos pacientes contaminados con *Endolimax nana*.

7) Epidemiología

Entamoeba coli tiene una amplia distribución mundial, aunque su mayor frecuencia se registra en climas cálidos y tropicales. Este comensal aparentemente nunca hidroliza el tejido del huésped (Ruíz Hernández A.L., 2014). La prevalencia real de este grupo de amebas no es siempre conocida, en unos casos debido al grado de pericia del analista a la hora de establecer el diagnóstico concreto y en otros por no informarse al no ser consideradas patógenas.

Endolimax nana

1) Taxonomía

Endolimax nana es un organismo agrupado en el Reino Protista, Phylum Protozoa, Subphylum Sarcodina, Superclase Rhizopoda, Clase Lobosa, Orden Amoebida, Familia Entamoebidae, Género *Endolimax* y Especie *nana* (ITIS, 2018).

2) Historia

Esta pequeña amiba fue identificada en 1908, sin embargo, se reconocen las aportaciones hechas por Wenyon y O'Connor (1917) por realizar la primera designación específica a esta amiba. *E. nana* es una especie exclusiva del humano y es considerada comensal (Ruíz Hernández A.L., 2014).

3) Morfología

Es un protozoario intestinal de pequeñas dimensiones y con una distribución mundial semejante a la que tienen otras amibas comensales. Se localiza en el intestino grueso del humano, particularmente al nivel del ciego y se alimenta también de bacterias. Se han

detectado especies diferentes de *Endolimax* en gallina, cobayo, tortugas y cucarachas. Producto del desenquistamiento de *E. nana*, emergen cuatro trofozoitos poco móviles; cada trofozoito es una fina amiba de aproximadamente 6-15 μm de diámetro, casi nunca rebasa los 10 μ ; el ectoplasma lo constituye una delgada capa que rodea al endoplasma granular; en preparaciones en fresco esta fase emite pseudópodos cortos y de movimiento brusco, aunque su desplazamiento es lento, motivo adopta su nombre (que significa “enano, interno y lento”). Su núcleo es pequeño con un endosoma grande ubicado en el centro o cercano a la periferia de la membrana nuclear; en esta zona la cromatina marginal está dispuesta de manera fina; es frecuente encontrar vacuolas alimenticias. La forma del prequiste secreta una pared y algunas veces pueden reconocerse pequeñas barras cromatoides, curvas en su interior.

El quiste es ovoide elipsoidal, aunque también los hay esféricos; mide entre 6 y 12 μm de diámetro, teñido con lugol el citoplasma es finamente granular. Sus núcleos refringentes son evidentes, cuatro la mayoría de veces, aunque es posible encontrar menos. En preparaciones sin teñir y debido al tamaño se puede confundir con *E. hartmanni* y por ello se requiere una tinción permanente para establecer la diferencia y el diagnóstico (Ruíz Hernández A.L., 2014).

4) Ciclo Biológico

Tanto los quistes como los trofozoítos de estos microorganismos se transmiten en las heces y se utilizan para diagnosticar. Generalmente, los quistes se encuentran en los excrementos bien formados y los trofozoítos se encuentran particularmente en los excrementos diarreicos (Figura 11).

- ☞ Las heces humanas infectadas contienen ambas formas de la amiba, trofozoítos y quistes.
- ☞ La colonización del huésped ocurre después de la ingestión de quistes maduros presentes en alimentos, agua o cualquier objeto contaminado con materia fecal.
- ☞ En el intestino delgado de la persona infectada ocurre la exquistación, que es la división del quiste maduro (de cuatro núcleos) para dar origen a 8 trofozoítos que luego migran al intestino grueso. Los trofozoítos se dividen por fisión binaria y producen quistes. Finalmente, ambas formas pasan en las heces para repetir el ciclo.

Debido a la protección conferida por sus paredes celulares, los quistes pueden sobrevivir muchos días, incluso semanas, en el exterior ya están protegidos por su pared celular. Los quistes son los responsables de la transmisión. En contraste, los trofozoítos no tienen esa pared celular protectora que tienen los quistes, por lo cual, una vez fuera del cuerpo se destruirían bajo esas condiciones. Si una persona ingiere comida o agua contaminada con trofozoítos, estos no sobrevivirían el medio ácido del estómago.

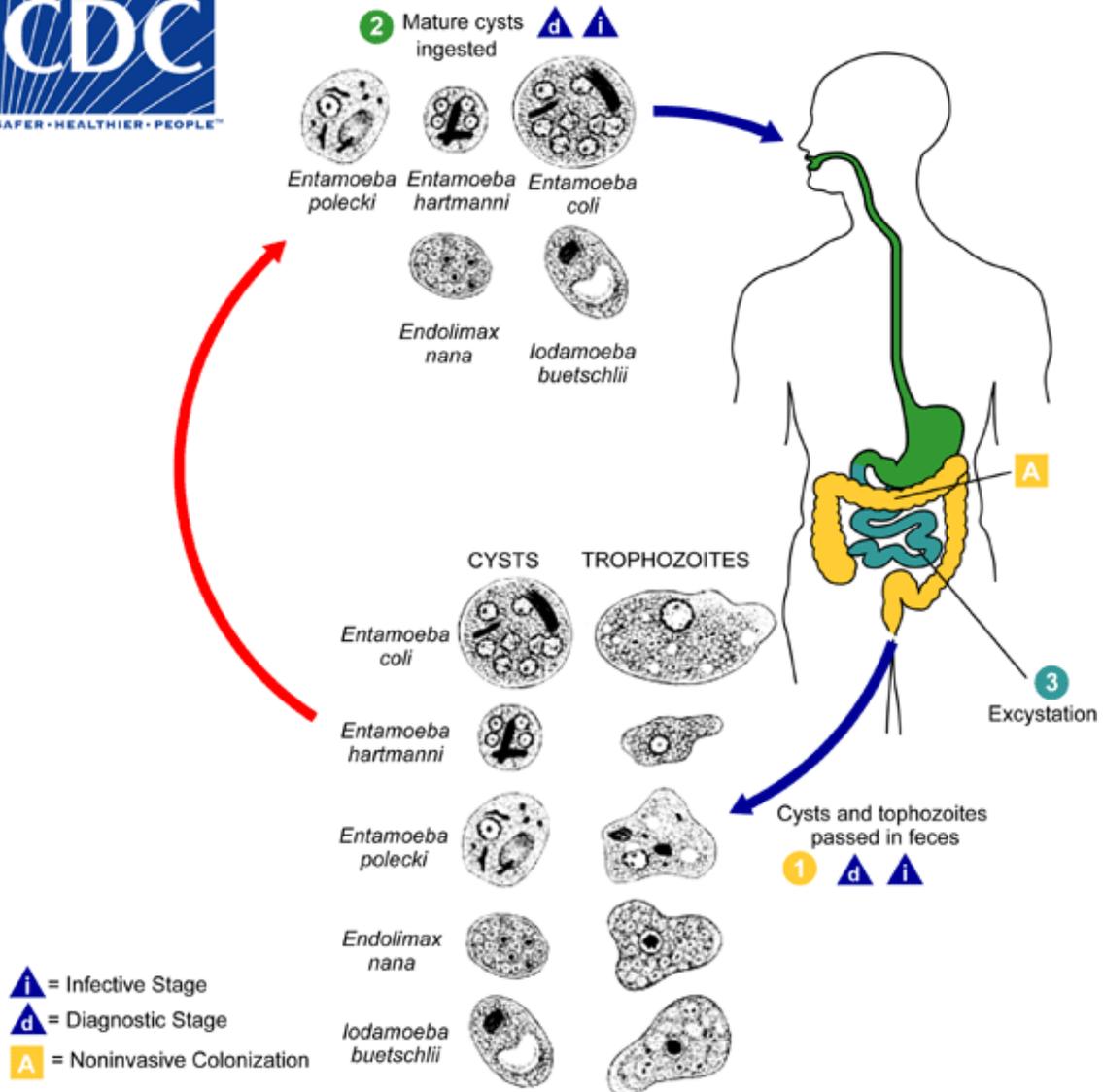


Figura 11. Ciclo de vida de *Endolimax nana*

Fuente: (CDC, 2018)

5) Diagnóstico

El diagnóstico de laboratorio de las amebas intestinales no patógenas es idéntico al de cualquier protozoo intestinal que contemple las fases de trofozoíto y de quiste. Aunque la primera suele aparecer en las heces diarreicas y los quistes en las heces firmes, ambas fases pueden estar presentes en la misma muestra fecal. El excesivo tiempo que puede transcurrir entre el momento de la toma de la muestra y su procesado, así como la frecuente emisión

intermitente de formas parasitarias a lo largo de los días, aconseja la recogida de un mínimo de 3 muestras, obtenidas preferentemente en días alternos, y en frascos adecuados que contengan líquido fijador o conservador.

Los más recomendados y/o utilizados son el alcohol polivinílico (APV), la variante introducida exenta de mercurio Zn-APV, el acetato sódico-ácido acético-formalina (SAF), la formalina al 10%, la variante sin formaldehído y mercurio y el mertiolato-yodo-formol (MIF).

Los trofozoítos y los quistes se pueden observar en las preparaciones de heces frescas con solución salina. En ocasiones, es preciso teñir estas preparaciones con solución yodada para identificar las

Especies. Los métodos fisicoquímicos o difásicos de concentración, en concreto la técnica de Ritchie o técnica del formol-éter etílico o del formol-acetato de etilo, son los más utilizados, permitiendo concentrar las formas quísticas de los protozoos amébidos inicialmente dispersas en la muestra fecal. La adición de unas gotas de solución yodada permite apreciar los detalles necesarios para la identificación de las amebas, ya que confiere el típico color amarillento al citoplasma, contrastando con el color negruzco del núcleo.

La elaboración de un frotis fecal para su posterior tinción constituye el método microscópico más certero de diagnóstico coproparasitológico, al permitir visualizar las características más relevantes para poder identificar los trofozoítos y los quistes (Gomila Sarda B., Toledo Navarro R. , & Esteban Sanchis J.G., 2011).

6) Manifestaciones clínicas

Aunque no causa enfermedad como otras amibas, se han reportado casos de diarreas crónicas, urticarias, constipación, dolor rectal, vómitos, entre otras afecciones en algunos pacientes contaminados con *Endolimax nana*. Es importante destacar que, según algunas encuestas, la prevalencia puede ser tan alta como 30% en algunas poblaciones.

7) Epidemiología

Es un organismo que infecta al humano en su intestino y sobrevive gracias a que se alimenta de bacterias y sustancias orgánicas e inorgánicas que se encuentran en la luz intestinal, sin ocasionarle trastornos al huésped. No produce daño, pero tampoco es normal que este infectando (Becerril M.A., 2014).

Chilomastix mesnili

1) Taxonomía

Organismo que pertenece al Reino Protista, Phylum Sarcomastigophora, Subphyllum Mastigophora, Clase Zoomastigophorea, Orden Diplomonadida, Familia Chilomastigidae, Género *Chilomastix*, Especies *Mesnili* (Neghme A., 1994).

2) Historia

Chilomastix mesnili es uno de los protozoos flagelados que fue probablemente observado por primera vez por Davaine en 1845, quien lo denominó en 1860 como *Cercomonas intestinalis*. La primera descripción correcta la ofreció Wenyon en 1910, y Alexeieff en 1920 creó el género *Chilomastix* para las especies descritas por Wenyon como *Macrostoma mesnili* o *Tetramitus mesnili* (Neghme A., 1994).

3) Morfología

Trofozoitos: Microorganismo piriforme que mide de 6-24 μm , promedio 10 a 15 μm . Los trofozoitos vivos presentan un movimiento rotatorio tenaz. El núcleo único no es visible en preparaciones en fresco, pero se observan tres flagelos anteriores y un surco es espiral a lo largo del cuerpo. En microorganismos teñidos se puede ver un citoplasma prominente rodeado de fibrillas que se extienden de un tercio a la mitad de la longitud del cuerpo; la fibrilla más destacada se curva alrededor del citoplasma y se asemeja a un cayado. El núcleo se sitúa en el extremo anterior y contiene un cariosoma pequeño localizado en el centro o contra la membrana nuclear. La cromatina periférica es granular y puede estar distribuida de forma regular o irregular sobre la membrana nuclear.

Quistes: El quiste uninucleado tiene la forma típica de limón, con una protuberancia hialina anterior a modo de pezón. Miden alrededor de 6 a 10 μm (promedio 7-9 μm). El núcleo es grande y contiene un cariosoma voluminoso. La cromatina periférica puede estar concentrada a un lado del núcleo. Las fibrillas del quiste le dan el aspecto de un imperdible abierto a lo largo del citostoma (Neghme A., 1994).

4) Ciclo Biológico

El ciclo de vida está compuesto de dos estados fundamentales: el trofozoitos y el quiste. Los trofozoitos viven habitualmente en el intestino ciego, donde se comportan como un comensal que vive a expensas de las bacterias entéricas en la luz de las glándulas y donde se multiplican por fisión binaria. En las heces líquidas recientemente emitidas se observan trofozoitos, en las semiformadas tanto quistes como trofozoitos, y en las bien formadas pueden verse quistes que son las formas infectantes para un huevo hospedero. Cuando el huevo hospedero

susceptible ingiera los quistes infectantes, éstos se van a desenquistar y darán lugar a un trofozoito que se volverá a implantar en el intestino grueso y a reproducir por bipartición. La transmisión es directa por ingestión de quistes (Neghme A., 1994).

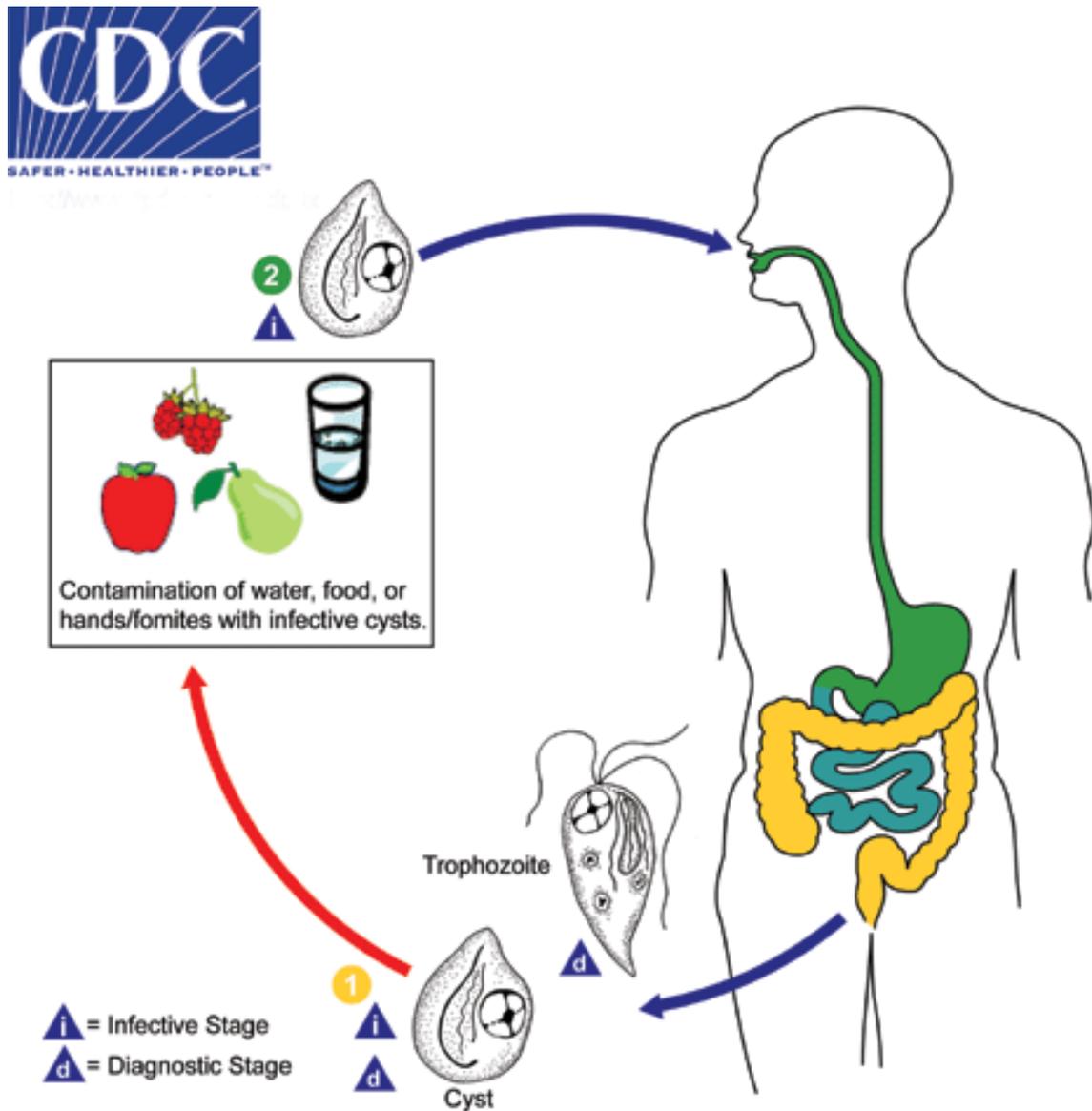


Figura 12. Ciclo de vida de *Chilomastix mesnili*

Fuente: (CDC, 2018)

5) Diagnóstico

Demostración de trofozoítos o quistes en las heces: Aunque el examen microscópico de las heces es el método más práctico y efectivo para establecer la presencia de la infección en el hombre, la excreción de quiste puede ser errática, lo que pudiera llevar a resultados falsos negativos. Por esta razón es importante la realización de exámenes seriados con el fin de aumentar la sensibilidad. El examen microscópico de las heces consume tiempo y requiere de buena calificación y experiencia del personal que realiza el diagnóstico. Además, con el empleo de métodos parasicológicos de concentración como el método de Ritchie (formol-éter/acetato de etilo) o el de Faust (sulfato de zinc), se aumenta considerablemente la sensibilidad del examen parasicológico (Neghme A., 1994).

Problemas diagnósticos: Los trofozoítos y los quistes pueden tomar una tinción débil y pasar inadvertidos entre los detritos de las heces. En preparaciones teñidas, los quistes se ven a menudo redondeados y no con forma de limón, y pueden confundirse con quistes de ameba; sin embargo, la presencia del citostoma, las fibrillas y las características del núcleo permiten la identificación correcta (Neghme A., 1994).

6) Manifestaciones clínicas

Se considera como un comensal inocuo y, por lo tanto, no provoca síntomas en los hospederos susceptibles (Neghme A., 1994).

7) Epidemiología

Presenta una distribución cosmopolita mundial. Este es un protozoo común en el hombre a nivel mundial, aunque con una frecuencia menor que *Entamoeba* y *Giardia*. El mecanismo de transmisión es similar al de otros protozoos intestinales patógenos como *Giardia*. Se han

involucrado vectores coprófagos en su transmisión, como cucarachas y moscas, que transmiten los quistes a través de sus heces, lo que se ha comprobado en trabajos experimentales. La transmisión persona a persona es uno de los mecanismos principales para este protozoo, que se difunde por la vía fecal-oral. Se ha planteado que los monos pueden infectarse por una especie de *Chilomastix* que resulta morfológicamente indistinguible de *Chilomastix mesnili*, pero no parecen ser una fuente importante de infección para el hombre. Su frecuencia puede variar entre 1 y 10 % en dependencia de las poblaciones estudiadas y aunque no son patógenos, hablan a favor de transmisión local y de índices de contaminación fecal-oral en una comunidad (Neghme A., 1994).

Marco referencial

La frecuencia mundial de las distintas parasitosis intestinales es alta, en especial en zonas geográficas donde las condiciones ecológicas favorecen la persistencia de los parásitos, además de las características socioeconómicas poblaciones como la pobreza, la ignorancia y la deficiente infraestructura; factores que comparten los países en vías de desarrollo y que, lamentablemente, en América Latina no han presentado modificaciones importantes en los últimos 50 años. Sin embargo, debido a la diversidad climática, socioeconómica y de infraestructura del país, no es posible extrapolar los datos de frecuencia general a cualquiera de las regiones de la República Mexicana (Sánchez Vega J.T., y otros, 2000).

En la República Mexicana, las parasitosis intestinales son una de las principales causas de morbilidad. Se calcula que las infecciones intestinales, en donde se incluyen las enteroparasitosis, producen la pérdida de aproximadamente de 1.6 millones de años de vida potencial.

De acuerdo a un estudio desarrollado en 2005, en Colombia se encontró que existe una baja frecuencia de helmintos con respecto a los protozoos, por lo tanto, las estrategias de desparasitación masiva con dosis únicas de Albendazol no tienen utilidad. Por lo que se recomienda la vigilancia periódica de parásitos por exámenes en niños.

A pesar de que *Giardia intestinalis*. es más prevalente en los niños de las guarderías infantiles, su prevalencia no se relaciona con el estado nutricional de los niños. Ya que la mayoría de niños infectados son asintomáticos (Giraldo G.J.M, Lora. F.H., Mejia L.H., & Gómez Marín J.E., 2005).

En Venezuela, otro estudio realizado en 2003, muestra una prevalencia de parasitosis intestinales (95,7%) con un predominio de los protozoarios y un 29% de prevalencia (Devera R., Cermeño J., Blanco Y., & Bello M.C., 2003) para *Giardia*.

El conocer y entender los diferentes ciclos de vida de los parásitos que presentan algún tipo de relación zoonótica resulta de gran interés para crear y desarrollar estrategias de control eficientes. Una de las formas de conocer la epidemiología y transmisión de los parásitos es el estudio a nivel molecular de sus genotipos poblacionales. Los estudios de caracterización genética de esta enfermedad han sido usados para evaluar el papel de los animales en la epidemiología de la infección humana, esclarecer el ciclo biológico del parásito, determinar los reservorios animales de *G. intestinalis* y desarrollar herramientas que permitan esclarecer la fuente de infección (Arroyo Salgado B., Buelvas Montes Y., Villalba Vizcaíno V., & Salomón Arzuza O., 2012).

En México se ha encontrado una frecuencia de tres a 60 por ciento (Rodríguez García, R., Rodríguez Guzmán, L.M., & Cruz del Castillo A.H., 2016) e incluso hasta un 68.5% en lactantes, preescolares y escolares (Alvarado Gutiérrez M.L., y otros, 2016). El área de estudio, Tlaxcoapan, se encuentra ubicado muy cerca de la región Tula Tepeji, la cual desde hace más de 100 años comenzó a utilizar aguas residuales de la ciudad de México, en la región del Valle de Tula, distribuyéndolas en los distritos que forman parte del sistema de riego (Jiménez B. , Siebe C. , & Cifuentes E. , 2004), el cual es una fuente directa de exposición a heces fecales. No obstante, los estudios que se tienen al momento respecto en este municipio, son nulos ya que los estudios previos han sido enfocados a contaminantes biológicos y químicos presentes en el río Tula y suelos cercanos, dejando de lado la calidad biológica del agua potable en el municipio de Tlaxcoapan. Las causas asociadas a estos padecimientos están relacionadas a virus, protozoarios y bacterias. *Giardia intestinalis* a

pesar de ser responsable de casos de diarrea en la población infantil de países desarrollados y en vías de desarrollo, no se diagnostica en las unidades de salud a falta de análisis clínicos prácticos que permitan identificar a través de la consulta a este protozoario (Hernández Cortéz C. , Aguilera Arreola M.G., & Castro Escarpulli G., 2011).

La detección del parásito se fundamenta generalmente en los métodos por concentración y microscopía convencional, pero estas técnicas presentan limitaciones por su baja sensibilidad e inespecificidad en el diagnóstico. En procura de mejorar los métodos de diagnóstico, las técnicas moleculares se perfilan como una alternativa promisoría (Cardona E., y otros, 2013).

Actualmente en el mundo, los riesgos microbiológicos en el agua potable permanecen debido al saneamiento inadecuado de las fuentes de abastecimiento. Aproximadamente 80% de todas las enfermedades y más de una tercera parte de las defunciones en estos países tienen por causa el consumo de agua contaminada, vía fecal-oral y hasta una décima parte del tiempo productivo de las personas se dedica a enfermedades relacionadas con agua (Chin J., 2001). Estudios previos demuestran que la diversidad de agentes infecciosos presentes en aguas residuales no tratadas representa riesgos para la salud pública de las personas, debido a la contaminación de aguas subterráneas mediante la infiltración de aguas residuales empleadas para riego. Las personas que presentan mayor riesgo de contraer enfermedades transmitidas por el agua son los lactantes y los niños de corta edad, personas que viven en condiciones antihigiénicas y los ancianos (Jawetz, Melnick , & Adelberg, 2005.).

En el año 2012, se publicó un estudio referente al estado de Hidalgo en los acuíferos de Tizayuca que constituyen las principales fuentes de abastecimiento, encontrando amebas de vida libre (AVL), de las cuales se identificaron 13 especies, asociadas meningoencefalitis y queratitis. *Acanthamoeba* es reportada como patógena (Galindo Escamilla E. & Palerm

Viqueira J., 2007) no obstante es necesario continuar con más estudios epidemiológicos que evidencien la relación contaminación-enfermedad en la zona.

Actualmente la administración municipal y los organismos que operan sobre el agua potable dentro del estado presentan conflictos de administración para gestionar los sistemas hidráulicos con que se abastecen de agua. En el caso particular del estado de Hidalgo, la descentralización de los sistemas de agua potable ha creado burocracias locales, que debilitan las instituciones comunitarias creadas por los usuarios y por lo tanto los sistemas de tratamiento para dicho recurso (CIOMS, 1991).

Tlaxcoapan presenta los factores de riesgo al estar dentro de una zona industrializada, emplear la cloración como único método de desinfección del agua y aunque el sistema de drenaje está cubierto en su mayor parte, el riego de cultivos con aguas negras es el único recurso hídrico para la agricultura tradicional. Se encuentra ubicado muy cerca de la región Tula Tepeji, la cual desde hace más de 100 años comenzó a utilizar aguas residuales de la ciudad de México, en la región del Valle de Tula, distribuyéndolas en los distritos que forman parte del sistema de riego (Jiménez B., Siebe C. , & Cifuentes E., 2004). En este marco los estudios que se tienen al momento respecto a este municipio son nulos, ya que los estudios previos han sido enfocados a contaminantes biológicos y químicos presentes en el río Tula y suelos cercanos, dejando de lado la calidad biológica del agua potable en el municipio de Tlaxcoapan.

Área de estudio

El municipio de Tlaxcoapan se localiza a 65 km. de la ciudad de Pachuca, cerca de la Ciudad de Tula, en el estado de Hidalgo, México (Figura 13). Las coordenadas geográficas del lugar son; en latitud norte de 20°05'43" y en longitud oeste 99°13'12", a una altura sobre el nivel del mar de 2,060 metros.

Colinda al noroeste con el Municipio de Tezontepec de Aldama, al norte Tlahuelilpan; al oriente con Tetepango, al sur con Atitalaquia y al poniente con

Tula de Allende. Representa el 0.4 % de la superficie total del estado, con una extensión territorial de 41.92 km² (INAFED, Tlaxcoapan, Hidalgo., 2002).

Referente a su orografía, se asienta dentro de un extenso valle comprendido fisiográficamente en la altiplanicie mexicana y la región geocultural del Valle del Mezquital. Presenta una superficie semiplana, casi todo su territorio se encuentra en una llanura, además cuenta con un valle, barrancas, cerros y llanos.

En lo que respecta a la hidrografía del municipio, ésta abarca en su territorio al Río Salado, alimentado por el Río Moctezuma y este a su vez del Pánuco.



Figura 13. Ubicación de Tlaxcoapan en México e Hidalgo.

Fuente: (INAFED, 2015)

El Río Salado el cual atraviesa a este municipio, su agua favorece considerablemente la producción agrícola de riego, que desde luego es más basta que la de temporal.

El municipio pertenece a la región del río Pánuco, a la sub-cuenca del río Moctezuma y cruza a través de éste el río Salado, vertiente a su vez del Tula. Cuenta, además, con treinta y cinco cuerpos de agua. El clima es templado y con una temperatura media anual de alrededor de los 17°C, su precipitación pluvial total asciende en promedio a 850 milímetros por año, y el período de lluvias es más marcado de mayo a junio.

La flora del lugar es matorral espinoso con ecosistemas tipo sabana, cuenta con escasos bosques de encino, cactus y árboles de pirul. La flora silvestre está constituida por nopales, magueyes, huizaches y cardos. La flora domesticada incluye limoneros, manzanos, duraznos, rosales y plantas de ornato.

La fauna silvestre está compuesta por el halcón, tlacuaches, tejones, zorrillos, liebres, conejos, ardillas, serpientes, ratas, lagartijas, aves de diferentes especies, camaleones, ratones de campo e insectos de diversas especies. La fauna doméstica, se conforma principalmente de gatos, perros y animales de granja.

El suelo está compuesto principalmente por arcilla, rica en materia orgánica, data de los períodos mesozoico, terciario y cuaternario, y es además de tipo semidesértico. Actualmente su uso es primordialmente agrícola. La tenencia de la tierra, es ejidal en su mayoría, siguiendo la comunal y el resto corresponde a la pequeña propiedad. Respecto al aprovechamiento agrícola, los suelos se conforman de pastos naturales de uso para agostadero; de tierras de riego, en su mayor parte irrigadas con aguas negras y en su minoría de temporal (INAFED, 2015).

Tlaxcoapan se compone por tres localidades: Doxey, Teocalco y Teltipan de Juárez. El municipio cuenta con 28, 490 habitantes, de los cuales 2280 son menores de 5 años, según INEGI en 2010, los cuales están distribuidos en la cabecera municipal el 53.22%, Doxey 26.40%, Teltipan de Juárez 15.72% y Teocalco 4.19 de la población municipal.

En los aspectos sociales resalta la pobreza y el grado de marginación a pesar que este dato se registra con mayor proporción para el estado, que para el municipio. Las principales actividades económicas de la zona son la agricultura, ganadería, industria, comercio, siendo esta última a de mayor importancia. Dentro del ramo industrial se identifican cuatro industrias de nivel micro y una de tamaño medio, dedicadas a la producción de alimentos, bebidas, productos metálicos, elaboración de harinas y alimento de ganado y aves.

En salud, existe una aceptable cobertura de servicio médico, ya que existe la necesidad por ampliar la cobertura en zonas con alto índice de morbilidad. Se tiene a participación de consultorios médicos, clínicas y laboratorios particulares, amplia aceptación y participación en la promoción de las campañas de salud y cuatro unidades vehiculares de atención (ambulancias) en el centro de salud de la cabecera municipal.

Sin embargo, el tipo de clima semiseco provoca en verano algunos días de temperatura altas extremas, constituyendo un factor de riesgo para la población más vulnerable que resiente más este tipo de cambios bruscos de temperatura, así como la población con alto rezago social que es un determinante en el grado de vulnerabilidad.

El suministro de agua potable en el municipio se realiza a través de la red existente en cada comunidad y en la cabecera municipal, son atendidas con los volúmenes extraídos de los pozos existentes. Las nuevas conexiones que se realizan debido a la demanda existente en el

abasto del vital líquido, no se rigen por programa alguno, con el consecuente impacto en la red de agua potable. La demanda se estima en 200 lts/hab. Por día.

Por otro lado, en la extracción de agua potable en el municipio no se ha cuantificado el impacto en los niveles piezométricos del municipio que ha ocasionado la Termoeléctrica con la cantidad de pozos situados en diversos puntos de la región.

Las tierras de cultivos son irrigadas a partir de agua residual que, aunque es de mala calidad, su utilización permite mantener constantes los niveles de producción agrícola.

El drenaje y alcantarillado aún es insuficiente para la localidad de Teocalco y en el resto de localidades es obstruido por desechos y basura que son arrojados por las personas, así como el excesivo volumen de agua en la época de lluvias. La red eléctrica en el municipio, cubre todo el territorio municipal, quedando como pendiente su actualización y mantenimiento.

En la localidad anteriormente mencionada se concentran indicadores de riesgo y vulnerabilidad. Sin embargo, en las cuatro localidades se han identificado asentamientos precarios que, por naturaleza de los materiales de construcción, son susceptibles a sufrir daños considerables ante la acción de fenómenos naturales.

El municipio tiene una topografía bastante plana con una pendiente de menos 1% de promedio, lo cual dificulta el flujo de los excedentes hídricos hacia los drenajes naturales. Ante eventos ciclónicos extremos, la superficie municipal se ve expuesta al desbordamiento de los cauces que la cruzan y en particular la zona de conurbación de Doxey y la Cabecera municipal. La zona inundable se extiende desde el puente que une ambas localidades y hasta el poniente del municipio. Se considera que el perfil altimétrico del río ocasiona que el

drenaje en picos de tormenta sea extremadamente lento y con ello, los encharcamientos e inundaciones son causas principales de riesgo que tiene el municipio (SEDESOL, 2012).

CAPÍTULO II

Planteamiento del problema de Investigación

El problema de salud de las parasitosis intestinales, ha sido abordado desde hace mucho tiempo, la mayoría de las investigaciones han estudiado su prevalencia y factores de riesgo de contraer este tipo de enfermedades. Se calcula que un 24% de la carga mundial de morbilidad y un 23% de la mortalidad son atribuibles a factores medioambientales (OMS, 2017).

La evaluación, gestión de los riesgos (agua insalubre, falta de saneamiento, entre otros) y la formulación de normas y orientaciones basadas en datos probatorios acerca de los principales peligros ambientales para la salud forma parte de las políticas del programa de departamento de Salud Pública, medio Ambiente y determinantes sociales de la Salud de la OMS. Sin embargo, en América Latina se tiene una prevalencia persistentemente elevada e inalterada a través del tiempo, ya que existe una endemidad estable en las parasitosis, como resultado de un proceso dinámico de reinfecciones repetidas.

El índice de infestación parasitaria generalmente guarda relación con las condiciones del medio ambiente y del hogar, desempeñando un papel fundamental en la transmisión y propagación de los parásitos (Navone, Gamboa, Oyhenart E., & Orden A.B., 2006.). Por esto, las parasitosis intestinales y la contaminación fecal representan un importante problema ambiental para la salud pública, en países en vías de desarrollo como el nuestro (Rumhein F.A., Sánchez, & Requena, 2005.). México al igual que otros países tiene problemas con la parasitosis y desnutrición, ambas se encuentran dentro de las primeras veinte causas de morbilidad y mortalidad infantil (Hernández, Franco, & Camacho, 2005). Durante la semana

epidemiológica número 27 del año 2016, se reportaron en total 2, 439, 145 infecciones intestinales por otros organismos y mal definidas, mismas que representan un 94% de las reportadas en el 2016 (2, 580, 694) para México (SINAVE, 2018).

En Hidalgo, se reportaron 1858 infecciones intestinales por otros organismos y mal definidas en la semana 27 del año 2017, una prevalencia acumulada mayor en el sexo femenino (24,555) que del masculino (20,671), en conjunto estas cifras representan el 93% de las que se reportaron para el 2015 (45, 508), tan solo hasta la mitad del año 2017.

Enunciado del problema de Investigación

¿Cuál es la incidencia de parasitosis y su genotipificación dependientes de factores socio-ambientales como determinantes de la salud en niños menores de cinco años de Tlaxcoapan, Hidalgo?

Justificación

Los parásitos que producen enfermedades transmitidas por el agua pueden ser agrupados en protozoos, platelmintos y nematodos. La mayoría crecen en el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales. Las formas quísticas de los protozoos son muy resistentes a los desinfectantes habituales (compuestos clorados) utilizados en el tratamiento de potabilización del agua de consumo y muy estables en el ambiente (Alarcón M.A., Beltrán M., Cardenas M.L., & Campos M.C., 2005). Un tratamiento convencional como el que se emplea en el área de estudio reduce la concentración de quistes de protozoos en el agua, pero no asegura su desaparición.

La desnutrición y la diarrea persistente que ocasionan los microorganismos antes mencionados, son las primeras dos causas de mortalidad infantil y se asocian a factores de higiene y saneamiento deficientes que favorecen la aparición de infecciones parasitarias y bacterianas (Hill Z, 2005) (CNPE, 2016). Las infecciones parasitarias ocurren con mayor frecuencia en los niños de edad preescolar, debido a que son más susceptibles que otros grupos de edad, además de que tienen una profunda repercusión sobre su crecimiento y desarrollo (Savioli L., Bundy D., Tomkins A., 1992).

Los seres humanos son el único reservorio conocido, pero los animales domésticos como perros, cerdos y pollos pueden servir como vectores (Alarcón M.A., Beltrán M., Cardenas M.L., & Campos M.C., 2005). Si bien la vía de contagio más habitual de estos protozoos es directa, del ciclo fecal-oral, algunos de ellos como: *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium sp.*, *Balantidium coli* e *Isopora belli* pueden ser transmitidos indirectamente por el agua y los alimentos contaminados (Alarcón M.A., Beltrán M.,

Cardenas M.L., & Campos M.C., 2005). Existen dos formas de vida que pueden transmitir la infección: el quiste y el trofozoito. El trofozoito es sensible a pH ácido y agentes oxidantes.

A pesar de que las parasitosis han sido controladas en la mayoría de los países, estas aún no han sido erradicadas y continúan siendo un problema de salud pública en países como México. Aunado a ello, es importante mencionar que actualmente no se dispone de sistemas adecuados de información y vigilancia sanitaria que permitan valorar la magnitud y gravedad de los riesgos ambientales y su repercusión en la salud (Vargas Marcos F., 2005). Por lo que debe considerarse el peligro sanitario que representa la emisión de aguas negras y el uso de ellas en la agricultura regional sin un tratamiento previo, así como la falta de diagnóstico y tratamiento oportuno en la parasitosis infantil.

Por otro lado, es necesario conocer el impacto de las variables, asociadas a la prevalencia e incidencia de determinados microorganismos que hasta hoy, se habían considerado comensales e inofensivos al hombre, sin embargo, son de alta frecuencia y difícil erradicación una vez que se encuentran en el organismo.

La transmisión se efectúa principalmente a través de agua contaminada con heces, hortalizas contaminadas o por alimentos mal desinfectados (Alarcón M.A., Beltrán M., Cardenas M.L., & Campos M.C., 2005), fecalismo al aire libre, etc. Además, la adaptación y evolución genética de estos parásitos ha permitido la transmisión de los animales a los humanos y viceversa. Cuando estas enfermedades no reciben el tratamiento adecuado, pueden generar resistencia en los microorganismos y ser la causa de epidemias e incluso de muertes.

Las parasitosis en el caso de los infantes pueden ocasionar: ausentismo escolar, bajo rendimiento, malestares intestinales, mareos, náuseas, baja productividad en actividades

cotidianas y altos costos en los tratamientos de erradicación, etc. Inclusive pueden ser asintomáticas, por lo que los individuos pueden ser portadores durante años. Su ocurrencia es a nivel mundial, sin embargo, la incidencia más alta se presenta en áreas cálidas y húmedas (Alarcón M.A., Beltrán M., Cardenas M.L., & Campos M.C., 2005). La diversidad de síntomas que causan los parásitos van desde retardo del crecimiento en los niños, pérdida del apetito, mala absorción de los nutrientes y pérdida de los micronutrientes (Casapía M.S.J., Núñez C., Rahme E., & Gyorkos T., 2006).

A nivel regional se han realizado numerosos estudios respecto a los contaminantes químicos que se encuentran en el agua, suelo y aire, debido a la emisión de sustancias en la actividad industrial, pero se han dejado de lado, las repercusiones de los contaminantes biológicos principalmente en el agua y sus efectos en la salud poblacional.

Por otra parte, el número de enfermedades intestinales por otros organismos y las mal definidas, han ascendido a más de siete mil casos en los últimos 5 años (SINAVE, 2016) para el municipio de Tlaxcoapan, por lo que a través de este estudio se podrá conocer el estado actual de parasitosis en la población infantil, así como la identificación de los organismos causantes, para que a partir de ello se puedan difundir las medidas profilácticas adecuadas al diagnóstico. Dicha investigación permitirá generar información, que oriente en las acciones de promoción de la salud, así como en la prevención de enfermedades gastrointestinales en la población infantil, pues hasta ahora, el municipio no cuenta con estudios al respecto.

Objetivos

Objetivo General: Describir la incidencia de parasitosis y su genotipificación, dependientes de factores socio-ambientales como determinantes de la salud en niños de Tlaxcoapan Hidalgo.

Objetivos específicos:

- ☞ Determinar la incidencia de parasitosis en niños menores de cinco años de Tlaxcoapan, Hidalgo.

- ☞ Describir factores socio-ambientales que determinan la parasitosis de los niños menores de cinco años de Tlaxcoapan, Hidalgo.

- ☞ Identificar los parásitos mediante tres diferentes técnicas de examen coproparasitológico.

- ☞ Establecer los genotipos de los parásitos que presentan los niños menores de cinco años de Tlaxcoapan, Hidalgo.

Hipótesis

Debido a que este estudio es de tipo epidemiológico observacional descriptivo de carácter transversal y de que no aprueba hipótesis, más bien es generador de estas, la hipótesis generada se enuncia a continuación:

La incidencia de enfermedades parasitarias en niños menores de cinco años del municipio de Tlaxcoapan va en aumento, debido a la presencia de los factores de riesgo; tales como la contaminación del agua, riego de cultivos y jardines con aguas negras, convivencia de los niños con animales domésticos, desinfección inadecuada de agua y alimentos, entre otros escenarios que propician una contaminación cruzada de parásitos cuyo huésped son los animales, hacia los seres humanos.

De igual manera, las carencias de infraestructura e implementación de métodos con baja sensibilidad y especificidad en el sector salud, dificultan establecer un diagnóstico médico específico y oportuno a las parasitosis.

CAPÍTULO III

Materiales y Métodos

Diseño de estudio

La investigación realizada corresponde a un estudio es de tipo epidemiológico, observacional, descriptivo, de carácter transversal.

Tiempo, lugar y persona

- ☞ El tiempo en el que se realizó el muestreo y aplicación de entrevistas, fue de noviembre 2016 a Julio 2017.
- ☞ El lugar donde se colectaron las muestras y entrevisto a la población, fue el municipio de Tlaxcoapan y sus tres localidades que lo componen: Teocalco, Teltipan y Doxey.
- ☞ Las personas incluidas en la investigación, fueron niños (as), menores de cinco años y 11 meses del municipio.

Criterios de selección

- ☞ **Criterios de inclusión:** Niños (as) menores de seis años, residentes del municipio de Tlaxcoapan, en los que sus papás acepten participar de manera voluntaria, que firmen el consentimiento informado y entreguen muestras.
- ☞ **Criterios de exclusión:** Niños (as) mayores de seis años, que no sean residentes del municipio de Tlaxcoapan, en los que sus papás no acepten participar, que no firmen el consentimiento informado y/o que no entreguen muestras.
- ☞ **Criterios de eliminación:** Niños (as) en los que sus papás no completen el cuestionario, cuando las muestras hayan permanecido más de 24 horas fuera de

refrigeración, no tengan datos de identificación o hayan sufrido algún tipo de contaminación durante su colecta o en el transporte de ellas al laboratorio.

Población y muestra

El municipio de Tlaxcoapan cuenta con 26, 758 habitantes, según INEGI en 2010, los cuales están distribuidos en la cabecera municipal el 53.22%, Doxey 26.40%, Teltipan de Juárez 15.72% y Teocalco 4.19 de la población municipal. De los cuales 2372, son menores de seis años. Se aplicó un muestreo no probabilístico a conveniencia de la investigación, por inclusión de casos consecutivos menores de seis años, teniendo un registro de 186 niños. El muestreo que se hizo para el estudio incluyo a la población de Tlaxcoapan y las comunidades que comprenden al municipio: Teocalco, Doxey y Teltipan.

El proceso general que se siguió, se puede ver reflejado en la figura que a continuación se encuentra.

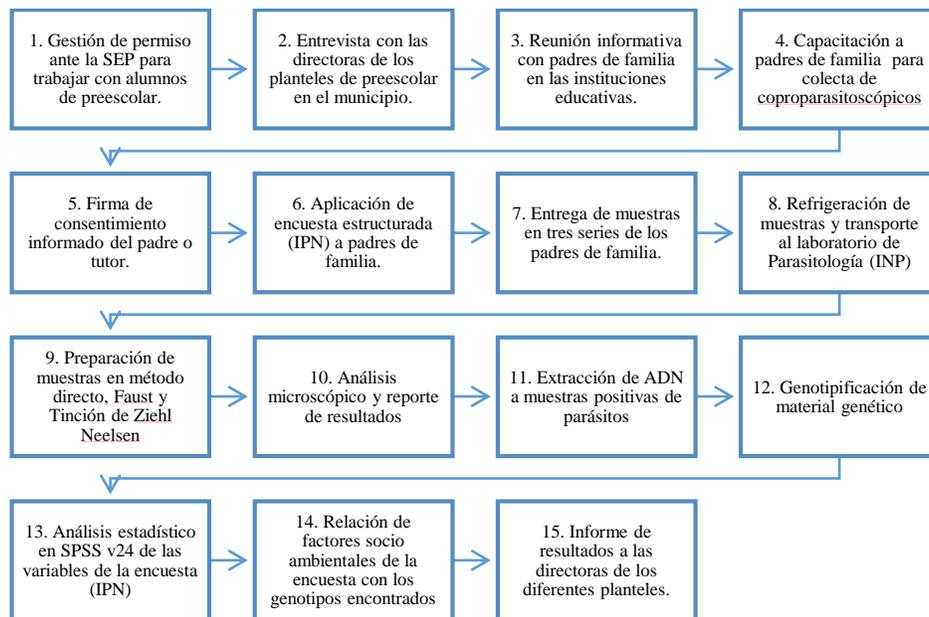


Figura 14. Metodología general del proyecto de investigación

Fuente: Elaboración propia, 2017.

1. Previo a la solicitud de los permisos a instituciones educativas, se solicitaron los datos epidemiológicos de la morbilidad del municipio de Tlaxcoapan, para todos los grupos de edad, durante el período 2011-2016 a la Jurisdicción Tepeji. Posteriormente se seleccionó a la población de estudio (0-5 años), de acuerdo a los grupos de edad más afectados en dicho reporte.
2. Se solicitaron los permisos necesarios ante la supervisión de preescolar y la jurisdicción de Tepeji, para tener acercamiento con los niños de los jardines de niños y en los centros de salud que conforman al municipio, captando pacientes sintomáticos y asintomáticos que desearan participar.
3. Las muestras de heces se recolectaron del mes de diciembre de 2016 al mes de junio de 2017, en el municipio de Tlaxcoapan, Hidalgo. El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de Parasitología Experimental dentro del Instituto Nacional de Pediatría (INP) (Figura 15).



Figura 15. Instituto Nacional de pediatría

Fuente: Elaboración propia, 2017.

4. Se asistió a todos los centros de salud y planteles educativos, para dar a conocer la investigación a directoras y padres de familia, con el objetivo de invitarlos a participar. Para ello, se realizaron diversas reuniones en cada plantel con los padres de familia (Figura 16), para explicarles la forma en que debían recolectar la materia fecal de sus hijos para realizar el examen coproparasitológico, durante tres días alternos para el examen seriado.



Figura 16. Reunión en el plantel escolar con padres de familia

Fuente: Elaboración propia, 2017.

5. Solicitud de muestras: A los padres de familia que aceptaron participar y firmaron el consentimiento informado, se les solicitaron tres muestras de heces fecales de sus hijos, durante una semana, bajo las siguientes características:
 - ☞ La muestra debía ser obtenida (entre 3 y 6 gramos) lo más fresca posible y depositada en un frasco estéril de boca ancha con tapa rosca y rotulada correctamente con los datos de identificación para que pudieran ser entregadas en un día específico y ser llevadas al laboratorio con la etiqueta correspondiente de cada paciente.

- ☞ La colecta de heces debió obtenerse antes del uso de medicamentos antiparasitarios, o hasta 2 a 5 días después de su administración.
 - ☞ Las heces depositadas en el excusado, al agua, suelo o mezcladas con orina no fueron recomendadas para el diagnóstico, debido a que podían contaminarse con formas biológicas.
 - ☞ Si el paciente no era regular en la evacuación de sus deposiciones y evacuó en la noche anterior al examen, se recomendó guardar la muestra en el refrigerador o en un lugar fresco no expuesto a la luz solar, para que no se alteraran las formas parasitarias. (Instituto Nacional de Salud, 2003).
 - ☞ Las muestras se guardaron en una hielera con refrigerantes que permitan tener una temperatura adecuada de 4°C, hasta que fueron llevadas al laboratorio donde serían analizadas.
6. Además, se aplicó una encuesta estructurada previamente validada por el Laboratorio de Parasitología Experimental del INP, a los padres de familia y/o tutores para tener información complementaria respecto a los estilos y hábitos de higiene que tienen en casa, la entrevista diseñada para este estudio además se firmaron los consentimientos informados (Figura 17).
 7. se pesaron y midieron a los niños (Figura 18). Con la información de las encuestas, se estructuró una base de datos que fue analizada en el programa SPSS v24 para identificar la relación de los factores socio ambientales con las parasitosis.



Figura 17. Toma de medidas antropométricas a niños participantes.

Fuente: Elaboración propia, 2017.



Figura 18. Instituto Nacional de Pediatría
Fuente: Elaboración propia, 2017.

Las variables que midió la encuesta fueron la presencia de parasitosis, edad, peso, talla, sintomatología al momento de recabar la muestra, mes de colecta, hacinamiento, disponibilidad del agua potable en domicilio, ebullición del agua antes de su consumo, lugar habitual para defecar, tipo de piso en el domicilio, si existe o no la convivencia con animales y el tipo de animal doméstico con el que se convive.

También se solicitó en la encuesta el salario mínimo que percibe la familia, si la vivienda que se habita es propia y la localidad de residencia. Se realizó un análisis estadístico univariado, el cual consiste en el análisis de cada una de las variables estudiadas por separado, se obtuvieron medidas de tendencia central (media, mediana, moda) para cada una de ellas. Posteriormente, la sintomatología y las respuestas de factores socioambientales de los niños, se sometieron a un análisis multivariado en SPSS 24 y se realizaron a prueba de Chi cuadrada para observar la distribución de los datos y la relación que existe entre ellos.

Posteriormente se revisaron las encuestas, revisando que todas tuvieran las respuestas y datos de identificación completos. Afortunadamente cumplieron con los datos solicitados y no se

eliminó alguna de ellas. Se realizó una matriz de datos en donde se incluyeron las variables que fueron recolectadas a partir de la encuesta.

Aspectos éticos

En cada uno de los lugares (planteles educativos y hogares) donde se detectaron a los participantes de la investigación, se efectuaron reuniones informativas sobre parasitosis intestinal, a las que asistieron los padres o responsables de los niños y las directoras de los planteles, en las cuales se les invitó a participar voluntariamente en el estudio. Se les informó sobre los objetivos y beneficios del estudio y, una vez obtenidos los consentimientos informados, se suministraron los vasos estériles para la recolección de las muestras fecales. Los resultados de los exámenes coprológicos se entregaron a las directoras de las instituciones que participaron, así como a los padres de familia, con el fin de que enviaran a los niños a los centros de salud para someterlos a tratamiento en caso de ser positivos a parásitos intestinales. El proyecto fue aprobado por el Comité de ética de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo después de verificar que los protocolos propuestos se ajustaran, a las normas éticas para trabajos con la comunidad y con menores de edad.

8. Una vez que llegaban las muestras al INP, se cambiaban los refrigerantes para continuar con la cadena de frío.
9. El área de trabajo (habitación exclusiva para realizar exámenes coproparasitológicos) se esterilizaba con alcohol y posteriormente se colocaba papel mural sobre la mesa de trabajo.
10. Para un mayor control se etiquetó el material a emplear; coladores, tubos de ensayo, portaobjetos y cubreobjetos, de manera ascendente 1, 2, 3, etc., con marcador indeleble.

11. Se realizaron tres técnicas de diagnóstico: Exámenes en fresco, Faust y tinción de Ziehl Neelsen, mediante la determinación y recuento de sus formas quísticas por el método de Faust, el método en fresco, tinción de Ziehl Neelsen y en los casos de parásitos positivos, la extracción de DNA para su genotipificación.

Exámenes coproparasitoscópicos

Examen directo microscópico

1. **Fundamento:** Identificación, principalmente en muestras frescas, de formas evolutivas móviles de parásitos de tamaño microscópico (trofozoítos, quistes de protozoos: *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Balantidium coli*, etc.; así como larvas o huevos de helmintos: *Strongyloides stercoralis*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Trichostrongylus sp.*, *Paragonimus*, *Fasciola*, etc.) (Instituto Nacional de Salud, 2003).
2. **Materiales:** Portaobjetos, cubreobjetos, aplicador de vidrio o madera, microscopio óptico. marcador de vidrio, suero fisiológico, solución de lugol, verde brillante, rojo neutro.
3. **Procedimiento.** Colocar en un extremo del portaobjeto una gota de PBS y con ayuda de un aplicador, agregar 1 a 2 mg de materia fecal, emulsionarla y cubrirla con un cubre objeto. Colocar en el otro extremo del portaobjeto, una gota de lugol y proceder a la aplicación de la muestra fecal. Con el PBS, los trofozoítos y quistes de los protozoarios se observan en forma natural, y con lugol, las estructuras internas, núcleos y vacuolas. En algunos casos, se recomienda el uso de colorantes vitales, debido a que no alteran la actividad del trofozoíto. Los más usados son verde brillante 0,2% y rojo neutro 0,01%.
4. **Observación:** Observar al microscopio a 20X ó 40X. Recorrer la lámina siguiendo un sentido direccional, ejemplo: de derecha a izquierda, o de arriba a abajo.

Técnica de Faust

Es un método de sedimentación y flotación por centrifugación con sulfato de zinc al 33,3% y densidad (Instituto Nacional de Salud, 2003).

1. **Fundamento:** Se basa en que los quistes y/o huevos de los parásitos flotan en la superficie por ser de menor densidad que el sulfato de zinc a 33,3%, cuya densidad es 1180. Es útil para la búsqueda de quistes y/o huevos de parásitos y excepcionalmente se observan larvas. Se recomienda controlar la densidad del sulfato de zinc y usar agua filtrada para el lavado previo de la muestra.
2. **Materiales:** Gradilla para tubos de ensayo, tubos de prueba 15 x 150, tubos de prueba 13 x 100, láminas portaobjetos, laminillas cubreobjetos, embudo pequeño de vidrio, bajalengua o bagueta, gasa, sulfato de zinc 33,3%, densidad 1,180., solución de lugol.
3. **Procedimiento:** Se tomaron 2 gr. De materia fecal directamente de los copropacks con ayuda de un aplicador de madera y se colocaron en los coladores, posteriormente se adicionó agua destilada para realizar una mezcla homogénea y esta se colocó en los tubos de ensayo (13x100) sin rosca, previamente etiquetados con el número correspondiente de muestra.

Se centrifugaron a 1200 rpm durante 1 minuto, realizando dos lavados con agua destilada y finalmente un lavado con $ZnSO^4$ a una concentración del 33% y centrifugado a 750 rpm. Para obtener la muestra de flotación en los tubos, se empleó un asa de acero previamente esterilizada con alcohol y fuego, para coleccionar el sobre nadante. En el portaobjetos se colocaron 3 ó 4 asadas de la muestra, verificando que se quedará sobre la superficie y que no regresará al tubo de ensayo, posteriormente se adiciona una gota de lugol y se homogeneiza con el cubreobjetos (Rojas Hinostroza G.E., 2014).

4.-Observación: Observar al microscopio a 20X ó 40X (Figura 6). Recorrer la lámina siguiendo un sentido direccional, ejemplo: de derecha a izquierda, o de arriba a abajo. Se observan principalmente quistes y huevos de parásitos como *Giardia*.



Figura 19. Observación en microscopio óptico de las muestras.

Fuente: Elaboración propia, 2017.

Tinción de Ziehl Neelsen

Es un método empleado para identificar *Mycrosporidium*, *Cryptosporidium* (4 micras) y *Cyclospora* (8-9 micras). Las esporas se teñirán de color rojo intenso y el fondo contrastado en azul.

Se realizó un frotis de la materia fecal en el portaobjetos y se empleó un gotero para fijar por dos ocasiones con metanol absoluto, esperando el secado entre cada una de ellas. Posteriormente se colocó papel filtro sobre el frotis y con ayuda de una pipeta Pasteur se aplicó el colorante carbol-fucshina de manera abundante para evitar que se seicara (Figura 20).



Figura 20. Tinción con carbol-fucshina
Fuente: Elaboración propia, 2017.

Después de 30 minutos transcurridos, se eliminó el colorante con alcohol ácido, seguido de agua de llave. Finalmente, las muestras se tiñeron durante un minuto en el colorante verde brillante y se enjuagaron con agua de llave. Se esperó a que se secaran para revisarlas al microscopio óptico de luz con objetivo de 100 x.

En la figura 20 se observan los quistes del protozooario *Giardia intestinalis* que fueron teñidos con lugol y observados con el objetivo de 40 x, mediante la técnica de Faust. En la figura 21 un quiste de *Blastocystis hominis* teñido con lugol a 40 x, a través de la técnica de CPS directo. Así mismo en la figura 22 la imagen de un quiste de *Entamoeba coli*, teñida con

lugol a 40 x, obtenida a través del CPS Faust. Finalmente, en la figura 23 se observan los quistes de *Chilomastix Mesnili*, un comensal teñido con lugol y observado a 40x mediante la técnica de Faust.



Figura 21. Quistes de *Giardia intestinalis*, teñidos con lugol (40 x), obtenidos con CPS Faust.

Fuente: Elaboración propia y Parasitología Experimental, INP, 2017.

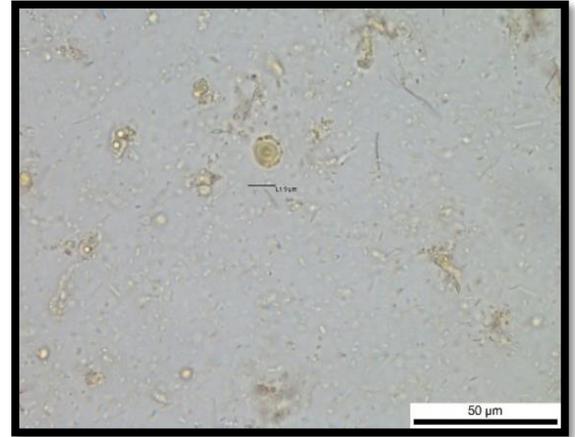


Figura 22. Quistes de *Blastocystis hominis*, teñido con lugol (40 x) obtenidos en CPS directo

Fuente: Elaboración propia y Parasitología Experimental, INP, 2017.

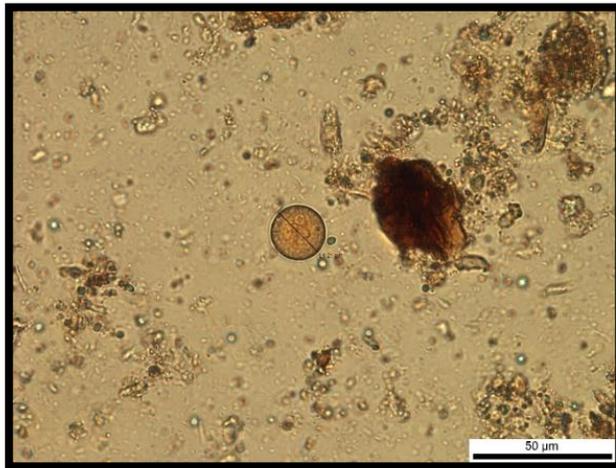


Figura 23. Quistes de *Entamoeba coli*, teñidos con lugol (40 x), obtenidos con CPS Faust.

Fuente: Elaboración propia y Parasitología Experimental, INP, 2017.



Figura 24. Quistes de *Chilomastix mesnili*, teñido con lugol (40x), obtenidos con CPS Faust.

Fuente: Elaboración propia y Parasitología Experimental, INP, 2017.

Genotipificación para *Giardia intestinalis*

Extracción de DNA

1. Se realizó la extracción del ADN genómico de las muestras fecales mediante un kit comercial (QIAamp DNA Stool Mini kit 50). El ADN extraído se almacenó a -20°C hasta el momento de su uso.
2. La amplificación se llevó cabo en un termociclador GeneAmp PCR system 9700, (Applied Biosystems, CA) versión 3.12 con un volumen final de la mezcla de reacción de 25 µL en microtubos de PCR de 0.2 mL.
3. En este mes se empleó Kit para extraer DNA de BH y EC. (QIAamp®DNA Stool Mini kit (50)) Cat. No. 51504 directamente de heces. Se encuentra a una temperatura de 15-25°C. Marca QIAGEN Lote No. 142323282
4. Todas las etapas de centrifugación se realizaron a temperatura ambiente (15-25°C) al 20.000 xg (14000 rpm).
5. Se empleó un aplicador de madera y se colocaron 200 mg de heces en tubos de 2 ml. Se añadió 1200 µL de tampón ASL a cada tubo para deposición, se empleó la pipeta para lavar la muestra de heces de la cuchara mientras se transfiere e búfer. Se vortexeo durante un minuto hasta que la muestra de heces e homogeneiza completamente.
6. Se pipeteo 1.6 ml del lisado de heces en un nuevo tubo de microcentrifuga de 2 mL (se cortaron las puntas, para facilitar el pipeteado de muestras viscosas). Se calentó la suspensión durante 5 minutos a 70 °C. Este paso de calentamiento aumenta el rendimiento total de DNA de 3-5 veces y ayuda a lisar bacterias y parásitos.
7. Vortex durante 15 segundos y centrifugar la muestra a velocidad completa durante 1 minuto, para sedimentar las partículas de heces.

8. Pipetear 1.2 mL Del sobrenadante en un nuevo tubo de microcentrifuga de 2 mL (no suministrado) y desechar el gránulo. Se adicionó ½ comprimido de InhibitEX a cada muestra y agitar de forma inmediata y continua durante 1 minuto o hasta que el comprimido este completamente suspendido. Incubar la suspensión durante 1 minuto a temperatura ambiente para permitir que los inhibidores de las heces unido a la matriz InhibitEX.
9. Posteriormente se pipeteo todo el sobrenadante en un nuevo tubo de micro centrifuga de 1.5 mL. (no suministrado), se desechó el granulo y se centrifugo a velocidad completa durante tres minutos.
10. Se pipetearon 15 µL de proteínasa Ka en un nuevo tubo de microcentrifuga de 1.5 ml. Y adicionar 200 µL del sobrenadante y 200 µL del tampón AL y agitar durante 15 segundos, de manera que se realice una muestra homogénea. Se incubo a 70°C durante 10 minutos, después se centrifugo brevemente para eliminar las gotas del interior de la tapa el tubo.
11. Se añadieron 200 µL de etanol (96-100%) al lisado y mezclar por vortex. Se centrifugó para eliminar las gotas del interior de la tapa del tubo.
12. El lisado se transfiere cuidadosamente a una columna de centrifugado QIAamp, se centrifugo durante 1 minuto y la columna se lleva a un nuevo tubo de recogida, el filtrado se desecha.
13. Se adicionó 500 µL de Tampón AW1 a la columna de giro, se centrifugo durante 1 minuto y la columna se lleva a un nuevo tubo de recogida, el filtrado se desecha. Posteriormente se adicionó 500 µL de Tampón AW2 a la columna de giro, se centrifugo durante 3 minutos, se desechó el filtrado.

14. Para evitar el arrastre del Buffer AW2, se colocó la columna de centrifugado QIAamp en un nuevo tubo de recogida de 2 mL., se centrifugo a temperatura ambiente durante 1 minuto y se desechó nuevamente el filtrado.
15. Finalmente la columna de centrifuga QIAamp se llevó a un nuevo tubo de 1.5 mL Y se adicionaron 200 µL de tampón AE, se cerró la tapa y se dejó incubar durante 1 minuto y se centrifugo durante un minuto a velocidad completa para eluir el DNA.
16. Los eluidos se mantuvieron a -20°C
17. Se preparó gel de agarosa 0.3000 gr en 30 ml. De TBE 1x, se calentó en el horno de microondas por 30 segundos, se agregaron 0.8 µL de Bromuro de etidio cuando el gel se enfrió, posteriormente se colocó en la cama nivelada y se refrigeró por 30 minutos.
18. Aproximadamente 6 µL de los productos de la reacción de la prueba de PCR se sometieron a electroforesis en una cámara electroforética horizontal (Clever scientific Ltd) haciendo uso de un gel de agarosa al 1 %. Se aplicó un voltaje de 60 V, 10 Watts y 30 milliamperes por 110 minutos. Al término de la corrida electroforética el gel se expuso a rayos UV para la visualización final de los productos de amplificación de la PCR. Para el cálculo de los pesos moleculares de los productos de amplificación, se utilizó un marcador de peso molecular de 100 bp.

Técnica de Sheater para la extracción de DNA (*Giardia intestinalis*)

Esta técnica permite la concentración de ooquistes de *Cryptosporidium* y *Cyclospora*, quistes de *Giardia* y *Entamoeba histolytica*.

- 1.- Se realizó una mezcla homogénea de cada muestra por separado, con agua destilada. Se depositaron en tubos de plástico marca CORNING de rosca y se centrifugaron a 2000 rpm

durante cinco minutos, se decantaron y nuevamente se llenó con agua destilada. Este proceso de lavado se repitió tres veces más.

Para la concentración se emplearon los pasos del método de Faust (3 lavados y centrifugado de 2 minutos a 1500 rpm). Se tomó con la pipeta Pasteur, la parte del fondo y se pasó a un nuevo tubo de ensayo, se aforó a su capacidad total. En la tercera lavada se empleó $ZnSO_4$ y se centrifugó durante 1 minuto a 1000 rpm.

Posteriormente con ayuda de la pipeta Pasteur se tomaron 2 cm aproximadamente del tubo de ensayo y se traspasaron a un tubo CORNING de 15 mL, se homogeneizaron con la pipeta Pasteur y se aforaron a 14 mL. Se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos y se realizaron dos lavados. Con los residuos de los lavados de los tubos de ensayo se centrifugaron al igual que los lavados de los tubos CORNING a 3000 rpm durante 10 minutos, se realizaron dos lavados, no se homogeneizo para tener un botón más grande.

2. Se adicionó la solución de 1 Sheater (5 ml.) de 2 mL. De solución por las paredes, de forma que no se mezclen las dos fases y 50 μ L (0.5mL.) de la muestra lavada.
3. En los tubos de rosca se agregaron 5.5 mL. de la solución 1 Sheater y 2 mL. de la solución 2 tal como se observa en la figura 25.

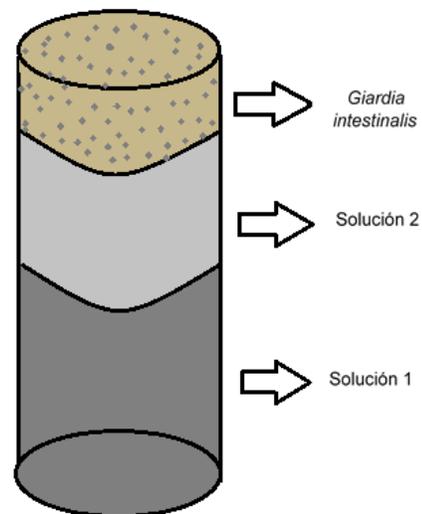


Figura 25. Gradientes de la solución de Sheater y concentración de *Giardia intestinalis*

Fuente: Elaboración propia, 2017.

4. Después de la tercera lavada, los tubos se decantaron y se agregó agua destilada al tope (el agua destilada ya debe estar a la mitad, para que no haya problemas con la composición de membrana al respecto).
5. Se homogeneizo y se tomaron 500 μL a cada tubo, agregando por las paredes. Se centrifugaron durante 30 minutos a 2500 rpm, después con una pipeta Pasteur se pasó el gradiente a un nuevo tubo.
6. Se obtuvieron tres tubos; dos con gradiente y uno con superficie del gradiente. Estos tres tubos se llenaron a la mitad de agua destilada para romper el gradiente. Posteriormente se centrifugaron 5 minutos a 3000 rpm para concentrar. Después se decantaron los tres tubos y se agregaron 2 ml. de agua destilada para re suspender y se pasó el contenido de los tres tubos a uno solo (concentración).
7. Se dieron dos lavadas más con PBS y se tomaron 100 μL a un tubo eppendorf con TRIS EDTA, adicionando 280 μL de solución de lisis. Se sometieron a choques de calor (estufa) y frío (nitrógeno líquido) por tres ocasiones cada una. Se pusieron 20 μL de proteinasa K, se incubaron a 50 °C toda la noche. Después se homogeneizo manualmente para eliminar la basura a 7000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se pasó a un nuevo tubo (evitando traer el precipitado).
8. 1era, lavada: Se agregaron 400 μL de Fenol (Puntas empleadas van a la basura) a la muestra y 10 μL de alcohol isoamilíco. Se homogeneizo manualmente durante 10 minutos ambos tubos, se centrifugaron por 10 minutos a 12000 rpm a 5°C.
9. 2da lavada: Se toma la fase acuosa de cada tubo y se pasa a nuevos tubos, se adicionan 400 μL de Fenol y 400 μL de cloroformo, 10 μL de alcohol isoamilico. Se homogeneiza durante diez minutos y se centrifuga por 10 minutos a 12000 rpm a 5°C. (Se repite el procedimiento dos veces más).

10. En tubos nuevos se coloca la fase acuosa, resultante del proceso de centrifugación y se le agrega etanol absoluto y acetato de sodio 3 M evitando mezclar las fases. Se somete a -70 °C durante dos horas.
11. Se centrifugo durante 10 minutos a 12000 rpm a 4.5°C. Se decantó el etanol, en tubos nuevos para evitar perdida de material genético y se quedaron el tubo 1 y 41 sobre papel absorbente para evaporar el etanol. Se resuspendió el material genético en TRIS EDTA (25 µL). Se introdujo a la microcentrifuga eppendorf por 30 segundos. Se dejó a -4°C toda la noche.

Amplificación de *Giardia intestinalis*

Se realizó PCR para las muestras 1 y 41 de *Giardia*, se prepararon los dNTP's: DATP (10 µL), DTTP (10 µL), DGTP (10 µL) y DCTP (10 µL): 40 10 µL y se disolvieron en 60 (10 µL) de agua estéril. Los oligos empleados son 5800F25R y 5800F25F (Tabla 3).

Objetivo: Amplificar gen 5800 en muestras de *G. intestinalis*.

Tabla 3. Protocolo de la amplificación de *Giardia intestinalis* con enzima PWO

<i>H2O</i> µL	<i>Buffer</i> µL	<i>dNTP's</i> µL	<i>Oligos</i> µL	<i>Enzima</i> <i>PWO</i> µL	<i>GC</i> µL	<i>DNA</i> µL
127+-2	20	2	1/1	1	40	150
Método: 5800 f25		Volumen: 50 µL				
Hora de inicio: 11:38		Ciclos: 35				
Hora de termino: 13:49		Ciclos: 95; 5:00, 95;0:20, 55;020, 72;1:20, 72;7:00, 4:00;∞				

Fuente: Elaboración propia-INP, 2018.

Se preparó gel de agarosa al 1% (0.3000 gr.) en 30 ml. De TBE y cuando ya no eliminaba vapores se adicionaron 0.9 μL de Bromuro de Etidio, se balanceo la caja y se depositó el gel. Transcurrida media hora, se sembró en cada pozo 8 μL de la PCR y 2.5 de stop mix, homogeneizados previamente en un tubo nuevo.

Como marcador en el pozo 1 se introdujo la siguiente composición: 2.5 μL de stop mix+ 8 μL de TE+1 μL de 50 pb. Se sembraron 5 pozos, los cuales se distribuyeron de la siguiente manera:

Se empleó TBE 1x como Buffer para la cama de electroforesis son 100 mL. Se corrió un gel de agarosa al 1% con TBE 1x. Se calentó por 30 segundos y se agregaron .8 μL de EBr cuando el gel estaba frío. Se sembraron 10 μL de cada muestra (2 μL stop mix+8 μL de DNA) y para el control se homogeneizar 2 μL de stop mix+7 μL de TE y 1 μL de control. Posteriormente solo se siembran 5 μL de este en el 1er. Pozo. Se emplearon 100 μL de TBE para sumergir el gel, durante 1.5 hrs., 60 volts, 10 watts y 30 mili amperes. Se seleccionaron las muestras 1, 5 y 17 para amplificar material genético. Se hidrataron los primers tal como se indica en la tabla 4.

Tabla 4. Hidratación de los Primers EF, IF, IR.

<i>Primers</i>	<i>Densidad Óptica</i>	<i>Coficiente Ex.</i>	<i>H₂O (μL)</i>
<i>GDH EF (Julio 2008)</i>	10.29	207.7	99
<i>GDH IF (Julio 2008)</i>	16.98	205.8	165
<i>GDH IR (Julio 2008)</i>	10.76	184.7	116

Fuente: Elaboración propia-INP, 2017.

Debido a que se encuentran a una concentración de 5×10^{-4} , se deben convertir en 5×10^{-5} , por lo que se agregaron 90 μL de H₂O. 10 μL se pasaron a contenedores nuevos para su uso.

Restricción de la amplificación

1. Un enzima de restricción puede reconocer una secuencia característica de nucleótidos dentro de una molécula de ADN y cortarla en un punto en concreto, llamado sitio o diana de restricción, o en un sitio no muy lejano a este. Los sitios de restricción cuentan con cuatro, cinco o seis pares de bases, con las que son reconocidos. Se preparó una master mix, la cual permitirá amplificar el material genético (Tabla 5).

Tabla 5. Composición de la master mix

<i>H2O</i> μ L	<i>Buffer</i> μ L	<i>RE</i> μ L	<i>BSA</i> μ L	<i>DNA</i> μ L
<i>12</i>	2	1	0.4	8
<i>12</i>	2	1	0.4	8
<i>12</i>	2	1	0.4	8
<i>12</i>	2	1	0.4	8 H ₂ O*
<i>48</i>	8	4	1.6	32

Fuente: Elaboración propia-INP, 2017.

2. Se prepara en un solo tubo para después pasar 15 μ L de master mix y 8 μ L de DNA de la PCR a cada tubo y como control negativo H₂O. Se incubaron a 37°C toda la noche. Al día siguiente se agregaron 5 μ L de stop mix (en sustitución de incubar a 65°C) y se centrifugo por breves segundos. Se preparó gel de agarosa al 2% de concentración (0.6 gr en 30 ml de TBE 5%). Se sembraron 10 μ L en los pozos del 2 al 5 y el marcador empleado fue de 500 pb.
3. Los tubos se etiquetaron como R1, R2, R3, R4, R5 y V6. Cuando se agregó la master mix y el DNA, se centrifugaron por breves segundos.
4. El gel de agarosa que se empleo fue del High Resolution y TBE al 0.5%, calentada a intervalos de 20, 15 y 10 minutos, ya que tenía consistencia más espesa. Se esperó a que no

eliminara vapores para agregar 8 μL de BrE a 120 minutos; 70 volts, 30 milliamperes y 10 watts.

5. El documento se guardó como Restr. V6 20 y 22 de junio., Se preparó una master mix con las siguientes concentraciones:

Tabla 6. Master mix experimento de restricción RV10

	<i>H2O (μL)</i>	<i>Buffer (μL)</i>	<i>ER (μL)</i>	<i>BSA (μL)</i>	<i>DNA (μL)</i>
<i>Tubo 1 rv10</i>	1.6	2	1	0.4	15
<i>Tubo 2 rv10</i>	1.6	2	1	0.4	15
<i>Tubo 3 rv10</i>	1.6	2	1	0.4	15
<i>Tubo 4 rv10</i>	1.6	2	1	0.4	15
<i>Total</i>	6.4	8	4	1.2	60
<i>Control -</i>	8	10	5	2	H2O
<i>Tubo extra</i>	9.6	12	6	2.4	

Fuente: Elaboración propia-INP, 2017.

6. Posteriormente se colocan 5 μL de la solución a cada tubo, se adicionan los 15 μL de DNA, se centrifugan por 15 segundos e incubaron a 37°C durante toda la noche.

7. El gel de agarosa se preparó al 2% en 30 μL de TBE AL 5%, disolviendo 0.6 gr. De agar, se hidrato por 15 minutos y posteriormente se calentó en 4 intervalos de 15 minutos. Cuando ya no elimino vapores se agregó el Bromuro de Etidio. Se agregaron 5 μL de stop mix a cada tubo de restricción (volumen de 20 μL de restricción)

8. Se empleó un marcador de 50 pb, 8 µL de TE y 2 µL de stop mix. (Solamente se sembraron 5 µL en el pozo 1 del gel de agarosa). Se emplearon 100 mL de TE al 0.5 x para sumergir el gel. Se programó la electroforesis a 70 volts, 30 milliamperes y 10 watts, durante 90 minutos. Los tubos de restricción se refrigeraron a -20°C.

9. Posteriormente se colocan 5 µL de a solución en cada tubo, para agregar 15 µL de DNA, centrifugar por breves segundos.

10. Se preparó el gel de agarosa al 2% en 30 mL de TBE al 5 % y 0.6 gramos de agar. Se dejó hidratar durante 15 minutos y posteriormente se calentó a intervalos de 15 minutos. Posteriormente se agregaron 5 µL de stop mix a cada tubo de restricción (vol. de 20 µL restricción). Se empleó un marcador de 50 pb para el que se emplearon 10 µl del mismo (.7 µL del marcador, 8 µL de TE y 2 µL de stop mix). Solamente se sembraron 5 µL en el pozo 1) Se emplearon 100 mL. De TBE para sumergir el gel.

11. Para la electroforesis, en la fuente de poder se programaron 70 volts, 30 milliamperes, 10 watts a 90 minutos.

12. Se realizó un protocolo diferente con primers IF/IR para *Giardia intestinalis* con una master mix tal como se indica en la Tabla 7.

Tabla 7. Protocolo de amplificación de *Giardia intestinalis* con oligos IF-IR.

PROTOCOLO PCR V10/17						
<i>Propósito: Amplificar GDH con primers IF/IR de Giardia intestinalis.</i>						
<i>H₂O (μL)</i>	<i>Buffer (μL)</i>	<i>DNTPs (μL)</i>	<i>Oligos IF-IR (μL)</i>	<i>Amplitag Gold (μL)</i>	<i>MgCl₂ (μL)</i>	<i>DNA (μL)</i>
252⁺-2	40	4	2/2	2	64	(4) de V9
<p>2da. Amplificación: Se preparó la master mix (254) en un tubo de rosca, posteriormente en cada tubo para PCR se agregaron 46 μL y 4 μL de DNA (Amplificación 1). Se homogeneizaron y se metieron al termociclador con las siguientes características: método gdhmar, hora de inicio: 14:51, hora de termino: 19:50, volumen de reacción: 50 μL</p> <p>Velocidad: 9600, Temperatura: 95°C</p> <p>Ciclos: 95.0:10:00/95.0:0:20/50.0:0:20/72.0:3:00/72.0:7:00/4.0: ∞</p> <p>Los tubos se enumeraron V11/17 (1, 2...7) Paciente (1), Paciente (5), Paciente (19) y Paciente (25,26,27,28) y un control negativo como v10/8. Se refrigeraron durante toda la noche. Se empleó como marcador de 50 pb (1μL marcador+2 μL stopmix+7 μL de TE). TBE 0.5% y 0.8 μL de EBr. A 90 minutos, 70 volts, 30 milliamperes y 10 watts. Los pozos que marcaron bandas y que se eligieron para la electroforesis fue el No. 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 8. Que corresponden al ADN 1,5,19, 25,,26 Y 28.</p>						

Fuente: Elaboración propia-INP, 2017.

Técnica de genotipificación para *Blastocystis hominis*

Extracción de DNA

1. Se realizaron tres lavados a las muestras positivas a *Blastocystis hominis* con PBS y se centrifugaron a 2500 rpm durante 5 minutos. Posteriormente las muestras se colocaron en tubos eppendorf, con solución de lisis en refrigeración, durante 48 horas.

2. Después de este tiempo, se sometieron a choques de calor-frío durante cuatro ocasiones y se incubaron a 53°C por 12 horas.

3. 1era. Extracción: Para la extracción de ADN, se adicionaron 400 microlitros (μL) de fenol y 400 microlitros (μL) de cloroformo (-20°C), la mezcla se agitó por inversión durante 10 minutos y se centrifugó a 12000 rpm durante 15 minutos en la micro centrifuga eppendorf. La fase acuosa resultante se recuperó en otro tubo 1.5

4. 2da. Extracción: A los tubos que contenían la fase acuosa se les agregó 400 μL de cloroformo y 400 μL de fenol. Se agitaron por inversión durante diez minutos, se centrifugaron a 12000 rpm durante 15 minutos en la microcentrifuga eppendorf.

5. Finalmente se hizo una extracción con cloroformo, se agito durante diez minutos, se centrifugó a 12 000 rpm durante 15 minutos. A la fase acuosa se le adicionaron 800 μL de etanol absoluto frío (-20°C) y 30 μL de acetato de sodio 3 M., se mezcló y se colocó a -20°C durante 12 horas.

6.- Posteriormente los tubos se centrifugaron durante 15 minutos a 12000 rpm y el sobrenadante se decantó, los tubos se colocaron sobre un papel absorbente para eliminar el etanol por evaporación. El precipitado se resuspendió en 30 μL de TRIS-EDTA (TE).

7.- Los resultados de la extracción (2 μL del ADN) se mezclaron con 2 μL stop mix y 4 μL de TRIS. Se centrifugaron 10 segundos en la microcentrifuga eppendorf.

8.- Se corrió un gel de agarosa al 1%, sumergido en TAE, durante una hora treinta minutos, con las siguientes especificaciones: 60 volts, 30 miliamperes y 10 watts.

9.- Eliminación de RNA: A la suspensión obtenida se agregaron 10 μL de RNAasa y se incubo durante 30 minutos a 37°C , posteriormente los tubos se atemperaron y se adicionaron

400 µL de fenol y 400 µL de cloroformo (-20°C). Se agito manualmente durante 10 minutos y se centrifugo brevemente. La parte acuosa se recuperó en nuevos tubos y se le agregaron 400 µL de cloroformo. Se centrifugo y se agito manualmente por diez minutos. La parte acuosa se recuperó en un nuevo tubo y se agregaron 800 µL de etanol (-20°C) y 30 µL de acetato de sodio. Esta solución se dejó por 12 horas a -20°C.

10.- Los tubos eppendorf con acetato de Sodio y etanol se dejaron 48 horas en refrigeración. Posteriormente se centrifugaron por diez minutos a 12000 rpm, el sobrenadante se decantó, el etanol residual se evaporó y el precipitado se re suspendió en 30 µL de TE.

11.- Después de que los tubos eppendorf fueron re suspendidos con los 30 µL de TE, se tomaron 2 µL para mezclar en un nuevo tubo, junto con 2 µL de stop mix y 4 µL de TRIS.

12.- Se etiquetaron y centrifugaron brevemente. Se sembraron en los pozos, usando como DNA escalera D500. Se corrió la electroforesis a 60 volts, 10 watts y 30 milliamperes. Los pozos que se marcaron bandas fueron el 1, 4, 8 y 10 (4.1, 3.1 SN, 4.2 SN y 4.3 SN). Estas muestras se seleccionaron para ser amplificadas.

Amplificación de *Blastocystis hominis*

La enzima empleada es Tag DNA Polymerase 5 U/µL, resistente a la temperatura y basada en la reacción de síntesis. Cada nueva hebra se denomina amplicon, se emplearon los primers RD3 y RD5 para obtener bandas de DNA de *Blastocystis hominis*.

Tabla 8. Protocolo de amplificación para *Blastocystis hominis*.

H2O (µL)	Buffer (µL)	dNTP's (µL)	Oligos (µL)	Enzima (µL)	MgCl2 (µL)	DNA (µL)	Total (µL)
<i>147</i>	20	2	1/1	1	16	12 (50 ng)	200

Fuente: Elaboración propia-INP, 2017.

Se depositaron 47 μL de la master mix en cada tubo y 3 μL de la muestra de DNA. También se convirtieron: Rd3 10^{-4} - 10^{-5} (90 μL de agua estéril+ 10 μL de Rd3) a Rd5 10^{-4} - 10^{-5} (90 μL de agua estéril+ 10 μL de Rd5).

Densidad de MgCl_2 25 Mm

$$C_1V_1=C_2V_2$$

C= Concentración

$$V = \text{Volumen} \quad 25 \text{ mM}v1 = \frac{2\text{mM} * 200}{25} = \text{mM} (\mu\text{L}) / \text{mM} = 16 \mu\text{L}.$$

La concentración de cloruro de magnesio se está trabajando a 2 mM

Electroforesis

1. Para la preparación del gel separador o inferior (5 ml, grosor = 0,75 mm), se mezclaron los siguientes reactivos, en un frasco Kitasato de 50 mL (Tabla 9).

Tabla 9. Reactivos para preparación del gel

Componente	Concentración final						
	20%	15%	12%	10%	7,5%	5%	
agua desionizada	367	1167	1683	2000	2367	2783	μl
amortiguador separador	1250	1250	1250	1250	1250	1250	μl
SDS	50	50	50	50	50	50	μl
acrilamida/bisacrilamida	3333	2500	2000	1667	1250	833	μl

Fuente: Elaboración propia-INP, 2017

2. Se preparó el molde para el gel, retirando el peine.
3. Se inició la polimerización agregando 3 mL de TEMED y 15 ml de persulfato de amonio a la mezcla. Se mezcló y vertió la solución en los vidrios (molde), sin atrapar burbujas. Se eliminó la curvatura (menisco) en la superficie, con una delgada capa (1-2 mm) de agua

destilada o de isobutanol, esta fue depositada muy suavemente sobre la mezcla. Se dejó que polimerizara el gel (15-20 min).

4. Una vez que la interfase entre el polímero y el agua se tornó visible, se esperaron de 10-15 min adicionales para que se complete la reacción. Luego, se decantó el exceso de líquido de la superficie, y se colocó el peine para muestras, en posición ligeramente inclinada (para no atrapar burbujas).

5. Se mezclaron los componentes del gel superior (compactador):

Tabla 10. Componentes del gel superior

Componente	Cantidad
agua desionizada	1,5 ml
amortiguador superior	630 μ l
SDS	33 μ l
acrilamida/bisacrilamida	330 μ l
TEMED	2 μ l
Persulfato de amonio	10 μ l

Fuente: Elaboración propia-INP, 2017

6. Una vez agregados los catalizadores, se mezclaron y vertieron de inmediato en el molde, nivelando el peine a su posición horizontal, sin atrapar burbujas. Se dejó polimerizar,

7. Se quitó el peine deslizándolo suavemente.

8. Se prepararon las muestras amplificadas.

9. Se cargaron las muestras en los pozos.

10. Se llenó la cámara con el amortiguador de cámara (180 ml en el tanque inferior y 120 ml en el superior). Además, se colocó el gel en la cámara y corrieron las muestras a 200 v (voltaje constante).

12. Se sacó el gel y se sumergió en fijador durante 15 min, en un recipiente tapado (para evitar los vapores tóxicos del metanol), con agitación suave. Además de fijar, esta solución se lavó una buena parte del SDS del gel, el cual interfiere con la tinción.

13. Se tiñó el gel con nitrato de plata. Posteriormente se secó sobre un papel de filtro grueso y entre trozos de celofán especial, con metanol y glicerol, con otra hoja de celofán encima, y se colocó en un secador de vacío durante 1-3 hr a 60°C. Se empleó como control el D 500 pares de bases y se sembraron en los pozos, las muestras de *Giardia duodenalis* codificadas como 4.1, 3.1, 4.2 y 4.3. A la segunda electroforesis se le modifico a 1 µL de BrEt, 30 µL de TBE y .3 gr de Agarosa. En los pozos se sembraron 14 µL de solución (12 µL DNA y 2 µL de stop mix) y 10 µL del control. El gel se corrió bajo las siguientes condiciones 100 volts, 50 mamp. Y 10 watts durante 60 minutos.

CAPÍTULO IV

Resultados

Los resultados que se describen corresponden a las características socio ambientales que se solicitaron en las encuestas. Posteriormente se encuentran las observaciones microscópicas de los exámenes coproparasitológicos, junto con la sintomatología frecuente en los niños y finalmente la genotipificación de los parásitos.

Características sociodemográficas y análisis univariado.

De las 186 encuestas respondidas por los niños que participaron en la presente investigación se encontraron los siguientes resultados.

A) Hacinamiento

Respecto al hacinamiento, el número de personas promedio que convivieron en el hogar de los niños fue de 5.1. Este se encontró por encima del promedio, que se considera “hacinamiento en el hogar” a más de tres personas por dormitorio (Feres J.C. & Mancero X., 2017).

B) Vivienda propia

De los 186 participantes, solo 124 familias que corresponde al 67% de los niños, tuvieron vivienda propia y 62 de ellos carecían de ella, por lo que rentaban o viven con otros familiares, esta última cifra corresponde al 33% de la muestra (Gráfica 1).

Gráfica 1. Niños (as) de Tlaxcoapan con vivienda propia

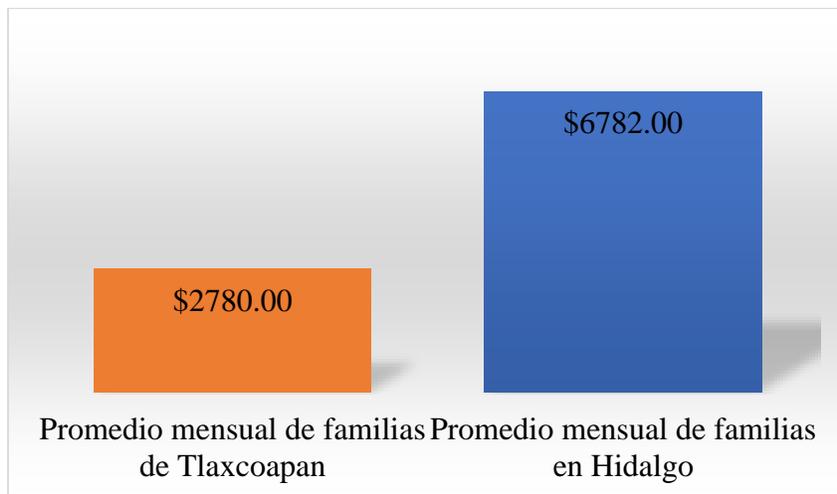


Fuente: Elaboración propia, 2017.

C) Salario promedio

En la gráfica 2 se observa el salario promedio mensual que reportaron las familias de los niños (as) participantes, fue de \$2780.00 pesos, por debajo del promedio establecido para el Estado de Hidalgo, el cual corresponde a \$6782.00 pesos (INEGI, 2018).

Gráfica 2. Salario promedio mensual en el municipio y en el estado de Hidalgo

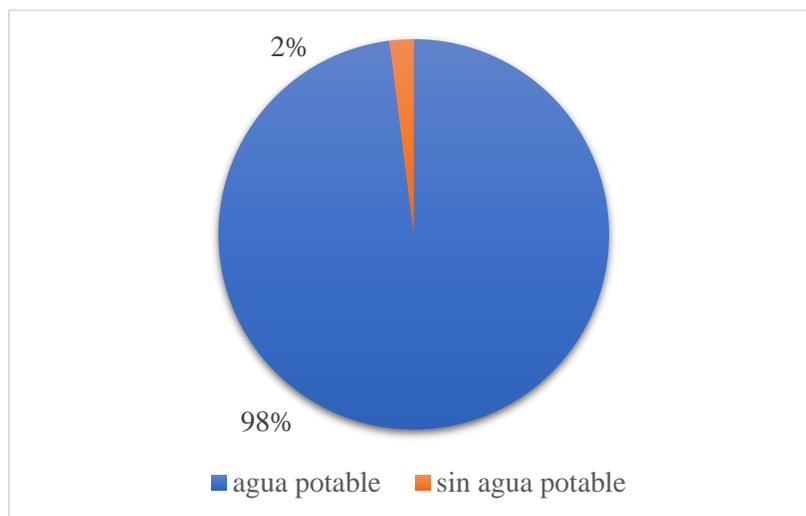


Fuente: Elaboración propia, 2017.

D) Servicio de agua potable

Cabe destacar que, en relación al servicio del agua potable, un 98% de la población de estudio contó con servicio de agua potable en casa y el 2% aún carecía de este servicio básico en el municipio (Gráfica 3).

Gráfica 3. Servicio de agua potable en domicilio de los niños de Tlaxcoapan

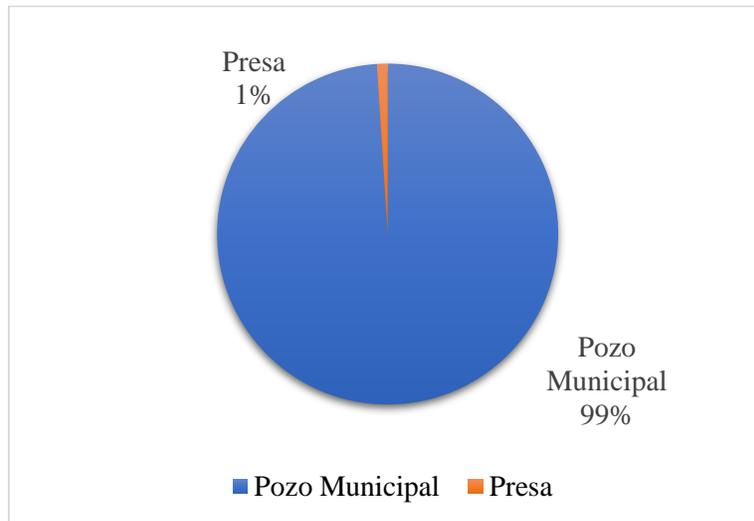


Fuente: Elaboración propia, 2017.

E) Fuente de abastecimiento del agua

Por otra parte, la fuente de abastecimiento de agua a los hogares en su mayor parte (99%) correspondió al pozo municipal, el cual es administrado y desinfectado por el ayuntamiento municipal. Mientras que el 1% obtenía el agua de una presa, cuerpo de agua expuesto a cielo abierto, que no recibe ningún tipo de saneamiento (Gráfica 4).

Gráfica 4. Fuente de abastecimiento de agua

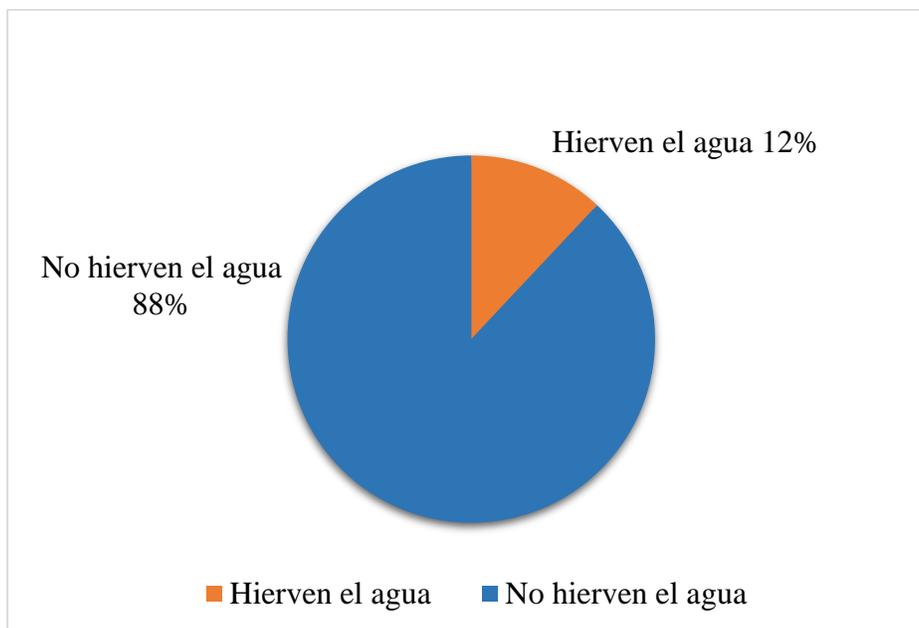


Fuente: Elaboración propia, 2017.

F) Consumo de agua purificada y ebullición.

La totalidad de los niños reportó el consumo de agua purificada, sin embargo, solo 22 casos reportaron la ebullición como mecanismo adicional de desinfección, previo a su consumo en el hogar (Gráfica 5).

Gráfica 5. Desinfección del agua de consumo

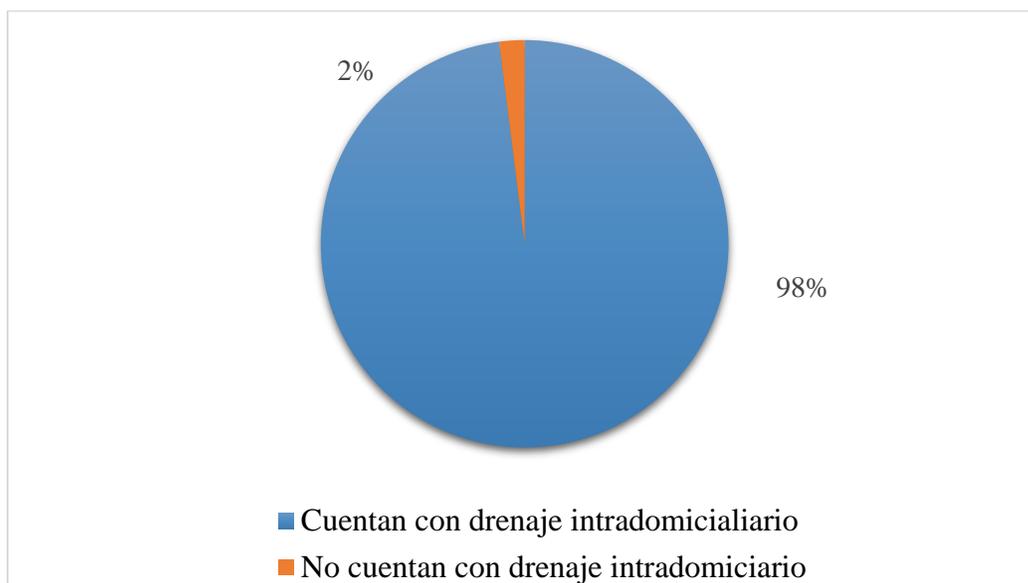


Fuente: Elaboración propia, 2017.

G) Servicio de drenaje intradomiciliario en los hogares

Se debe agregar que el 98% de la población contaba con un baño al interior de su hogar, el cual tenía un drenaje establecido para realizar sus evacuaciones y solo el 2% reportó el uso de letrina (Gráfica 6).

Gráfica 6. Drenaje Intradomiciliario

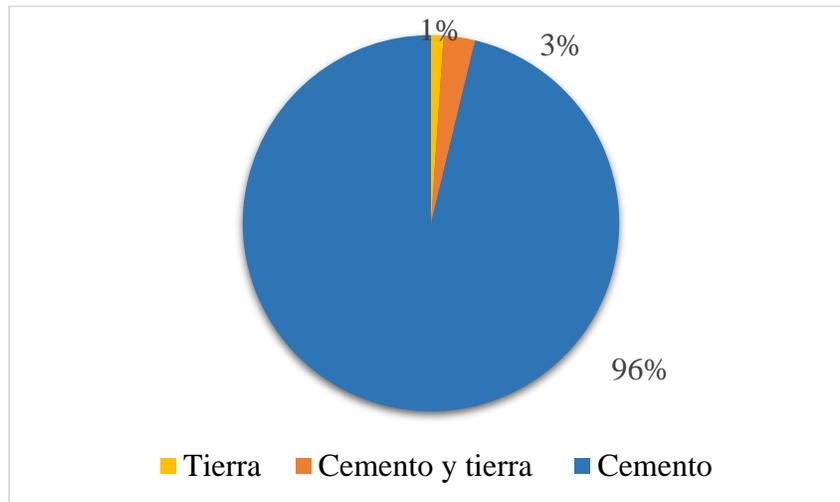


Fuente: Elaboración propia, 2017.

H) Tipo de piso en el domicilio

En relación con el tipo de piso con el que contaba el domicilio correspondió a 179 infantes que habitaban en domicilio con piso de cemento, cinco de ellos piso de tierra y de cemento y solo uno de ellos con el piso de tierra (Gráfica 7).

Gráfica 7. Tipo de piso en el domicilio

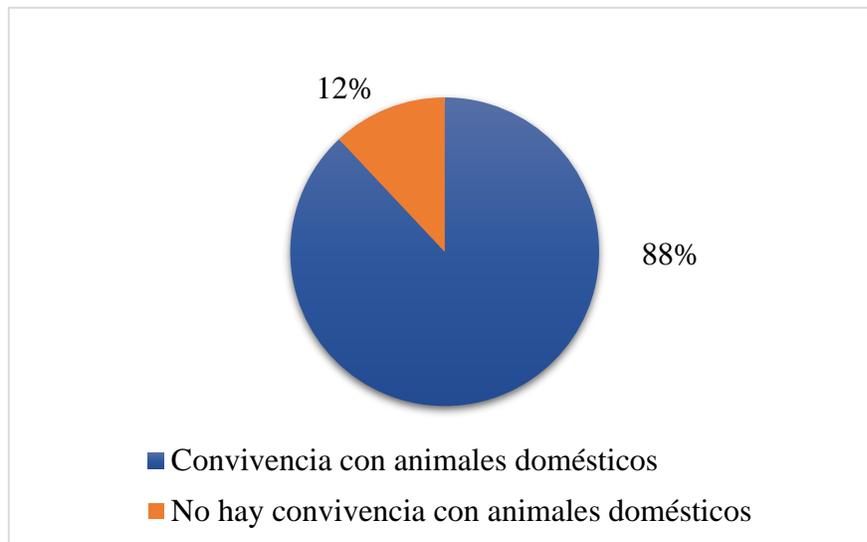


Fuente: Elaboración propia, 2017.

I) Convivencia con animales domésticos

Respecto a la convivencia con animales, el 88% de la población de estudio reportó la convivencia con ellos y el 12% de los niños no mantenía relación con alguno de estos. En su mayoría reportaron la relación con gatos, perros, aves y caballos (Gráfica 8).

Gráfica 8. Convivencia con animales domésticos

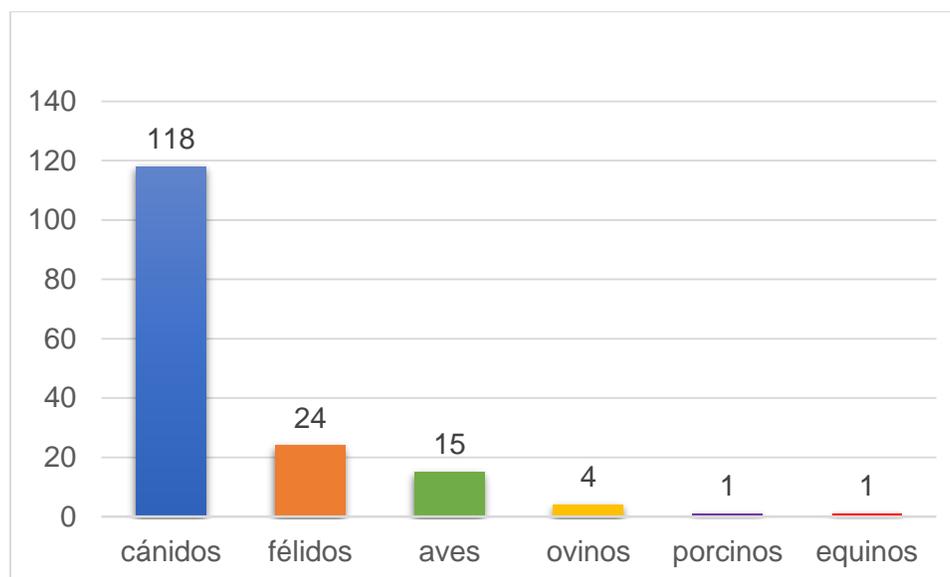


Fuente: Elaboración propia, 2017.

A continuación, se describe en la gráfica 9 los animales domésticos con mayor frecuencia reportados en la encuesta realizada a los padres de los niños (as).

De los 186 registros, 118 corresponde a convivencia con caninos, lo cual representa el 63% de la población que mantiene relación con al menos un animal doméstico. Seguido de los felinos en un 12%, aves 8%, ovinos 8%, porcinos 0.5% y equinos 0.5%.

Gráfica 9. Animales domésticos de mayor frecuencia en la convivencia con los niños (as)

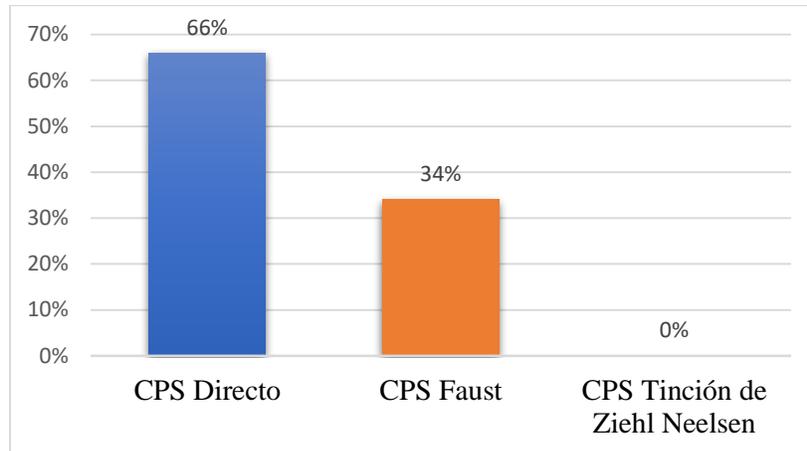


Fuente: Elaboración propia, 2017.

Diagnósticos parasitarios a partir de los tres métodos empleados

De los tres métodos coproparasitológicos (CPS) que fueron empleados, el método con mayor especificidad fue el directo o fresco con el 66% de los diagnósticos positivos (40 casos), seguido del método de Faust con el 34% (21 casos) y en la tinción de Ziehl Neelsen todos los casos resultaron negativos para *Mycrosporidium*, *Cryptosporidium* y *Cyclospora* (Gráfica 10).

Gráfica 10. Técnica CPS según su positividad diagnóstica



Fuente: Encuesta estructurada INP, 2016

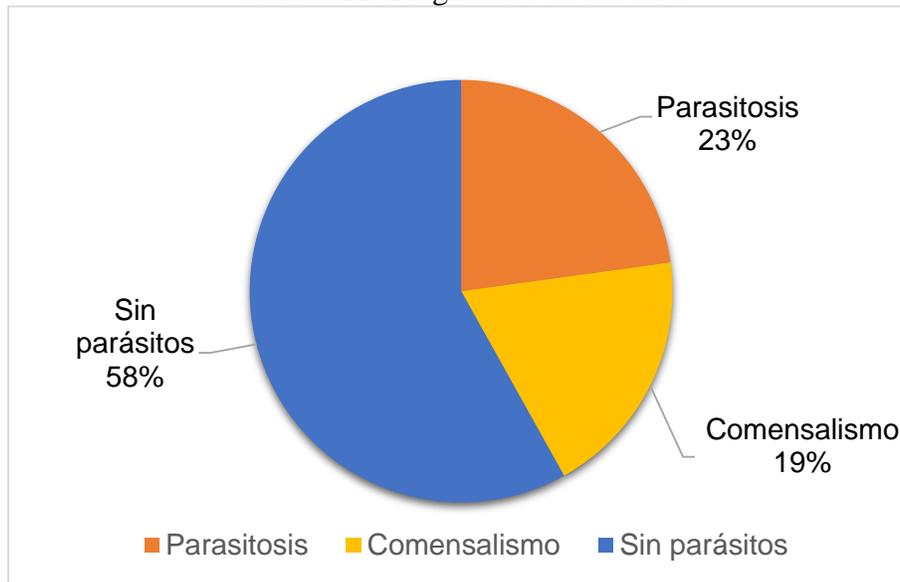
Incidencia de parasitosis

La incidencia de parasitosis fue de 12.9% en el estudio y respecto a la población total 10.5%.

La incidencia de comensalismo 8% en el estudio y 6.5% en la población total.

De un total de 186 niños participantes en el estudio, 46 de ellos presentaron algún microorganismo parásito y/o comensal en su examen coproparasitológico (Gráfica 11), representando un 25% de parasitosis/comensalismo y un 75% de niños no infectados.

Gráfica 11. Diagnóstico de los CPS



Fuente: Elaboración propia, 2017.

El parásito de mayor frecuencia fue *Blastocystis hominis* (26 casos), seguido de *Giardia intestinalis* (4 casos) y *Entamoeba histolytica-dispar* (1 casos). También se encontraron comensales, con una frecuencia para *Entamoeba coli* (13 casos), *Endolimax nana* (11 casos) y *Chilomastix mesnili* (2 casos) (Tabla 11).

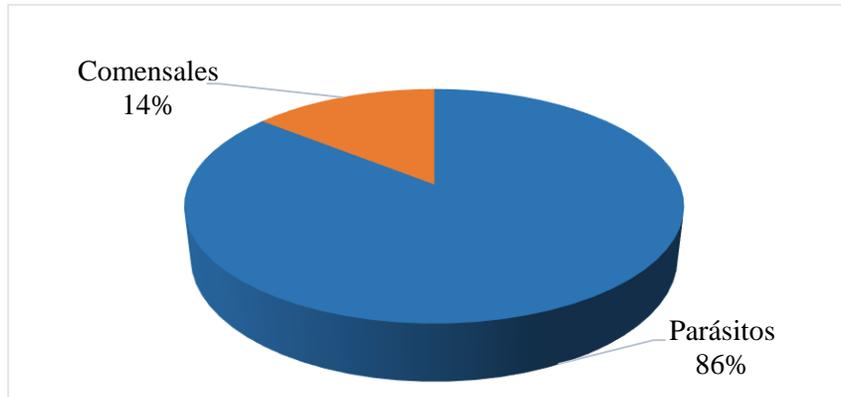
Tabla 11. Frecuencia de microorganismos detectados en exámenes coproparasitoscópicos.

Tipo de interacción con el humano	Microorganismos	Porcentaje %
Parásito	<i>Blastocystis hominis</i>	46
Comensal	<i>Entamoeba coli</i>	23
Comensal	<i>Endolimax nana</i>	19
Parásito	<i>Giardia intestinalis</i>	7
Comensal	<i>Chilomastix mesnili</i>	4
Parásito	<i>Entamoeba histolytica</i>	2

Fuente: Elaboración propia, 2017.

El 86% de los microorganismos reportados fueron parásitos y el 14% comensales, de acuerdo a la bibliografía consultada. No obstante, no se descartó que estos últimos debían tener una atención especial para su tratamiento (Gráfica 12).

Gráfica 12. Organismos parásitos y comensales en los niños (as)

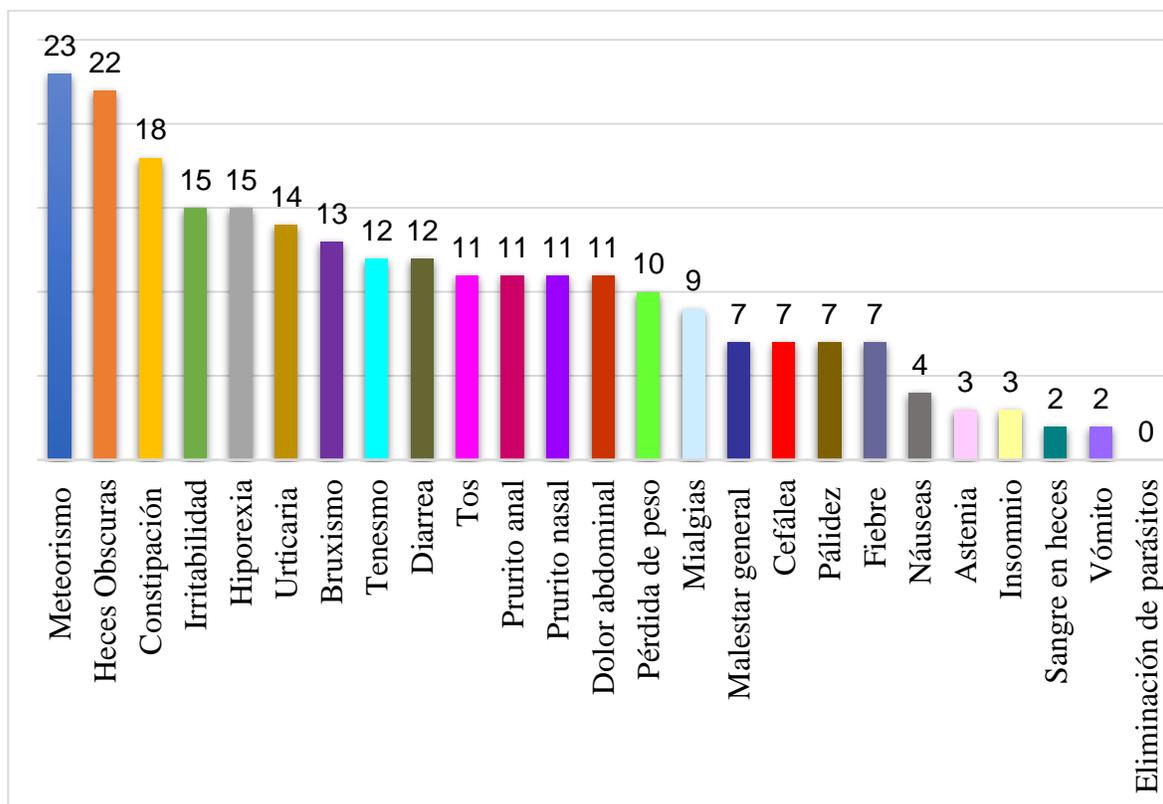


Fuente: Elaboración propia, 2017.

Sintomatología

En relación con la sintomatología que reportaron los padres de familia al momento en que fueron colectadas las muestras de heces, el 98% con parasitosis presentaron al menos un síntoma, como: diarrea, meteorismo, bruxismo, prurito, etc., y solo 3 casos fueron asintomáticos, estos, corresponden a los que tenían *Blastocystis hominis* y comensales como *Entamoeba coli*, *Chilomastix mesnili* y *Endolimax nana* (Gráfica 13). La sintomatología más frecuente estuvo representada por meteorismo, heces oscuras, constipación, irritabilidad e hiporexia, en comparación con 2 casos para la sangre en las heces y vómito.

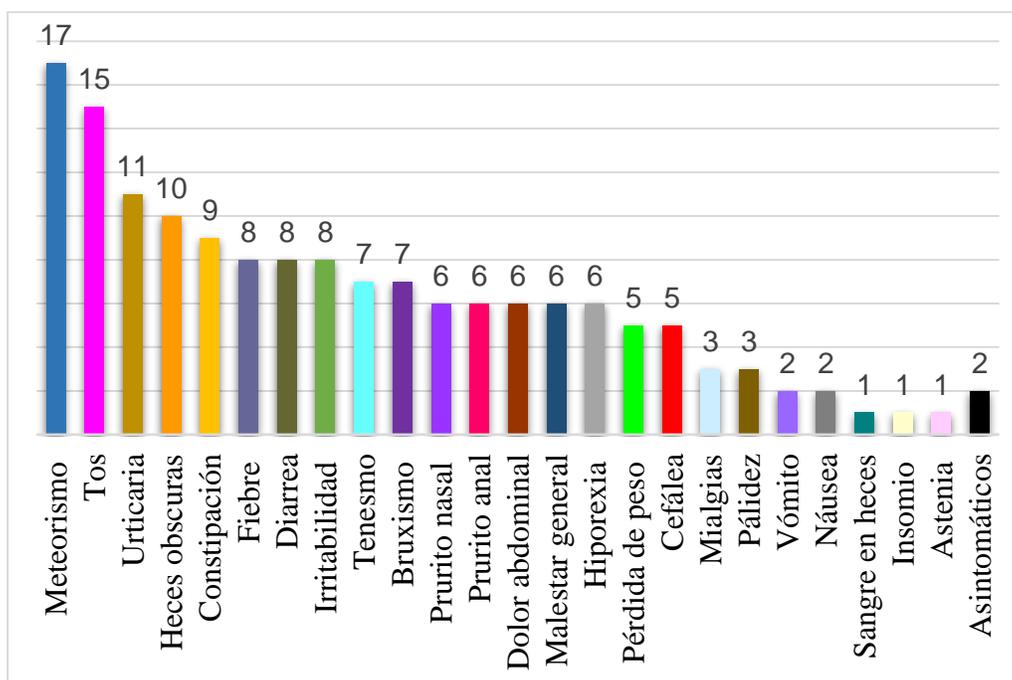
Gráfica 13. Síntomas generales de las parasitosis diagnosticadas en los niños (as)



Fuente: Elaboración propia, 2017.

Respecto a *Blastocystis hominis* la sintomatología frecuente en la población de estudio reportó el meteorismo como el síntoma que encabeza la gráfica 14, seguido de tos y urticaria, heces oscuras y constipación. Se reportó solo un caso de sangre en heces, insomnio y astenia. Y dos casos asintomáticos.

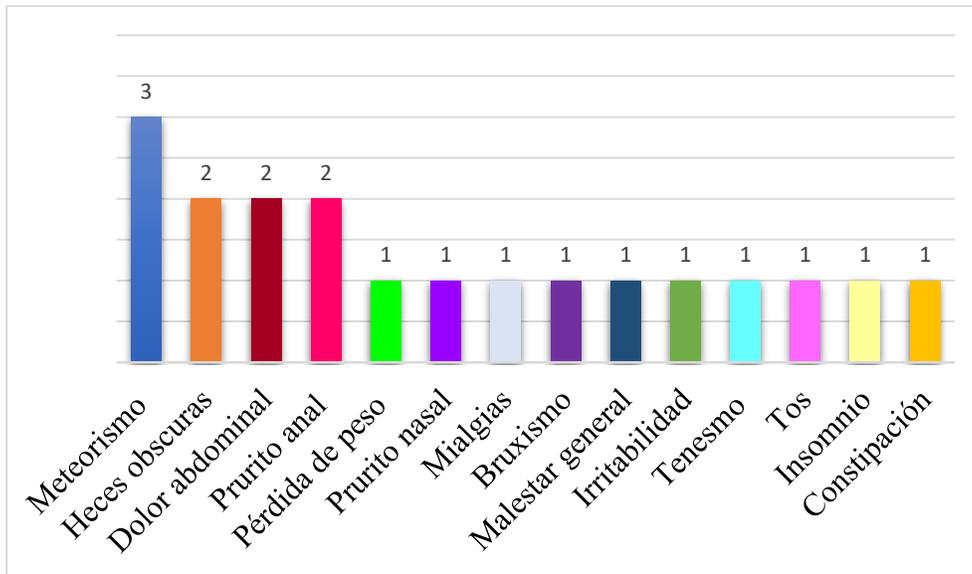
Gráfica 14. Sintomatología de *Blastocystis hominis*



Fuente: Elaboración propia, 2017.

La sintomatología de *Giardia intestinalis* en los niños se encabeza por el meteorismo, heces oscuras, dolor abdominal y prurito anal. Ya que, a partir de la pérdida de peso, prurito nasal, mialgias, bruxismo, malestar general, irritabilidad, tenesmo, tos, insomnio y constipación solo se presentaron en una ocasión cada uno (Gráfica 15).

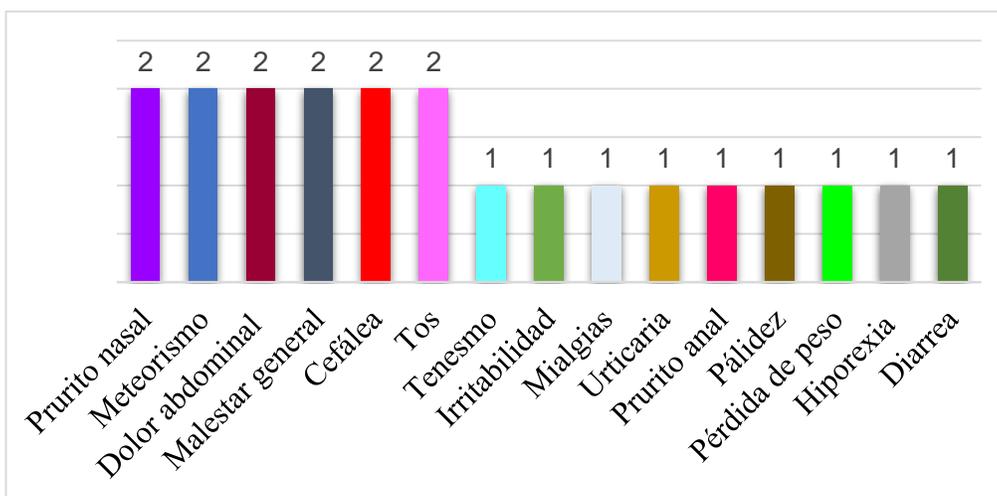
Gráfica 15. Sintomatología de *Giardia intestinalis*



Fuente: Elaboración propia, 2017.

La sintomatología del parásito con menor incidencia, *Entamoeba histolytica* encabeza la gráfica con dos casos en el prurito nasal, meteorismo, dolor abdominal, malestar general, cefalea y tos (Gráfica 16).

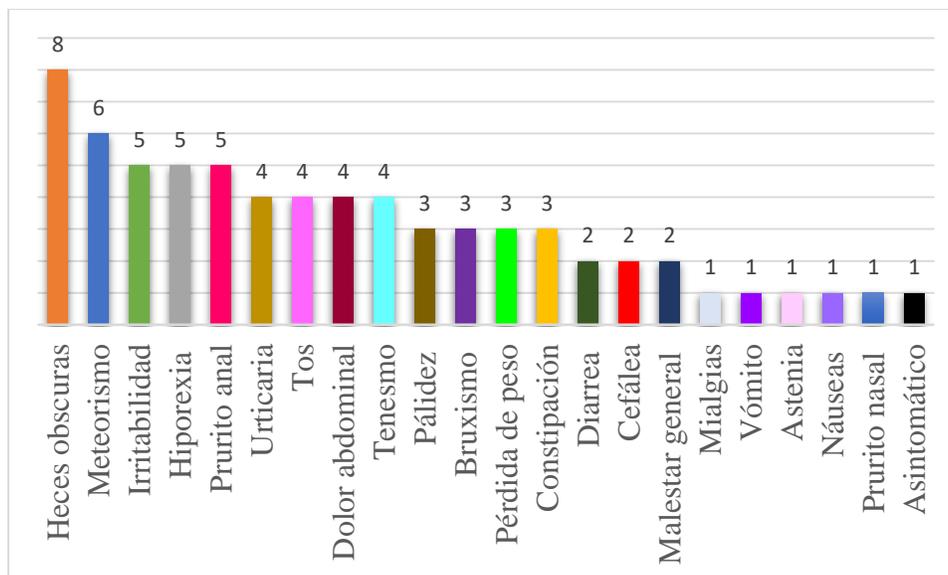
Gráfica 16. Sintomatología de *Entamoeba histolytica*



Fuente: Elaboración propia, 2017.

En lo que respecta a los organismos comensales, la sintomatología para *Entamoeba coli*, estuvo encabezada en su mayor parte por heces oscuras, meteorismo, irritabilidad, hiporexia y el prurito anal y en solo una ocasión se presentaron mialgias, vómito, astenia, náuseas, prurito nasal y un caso asintomático (Gráfica 17).

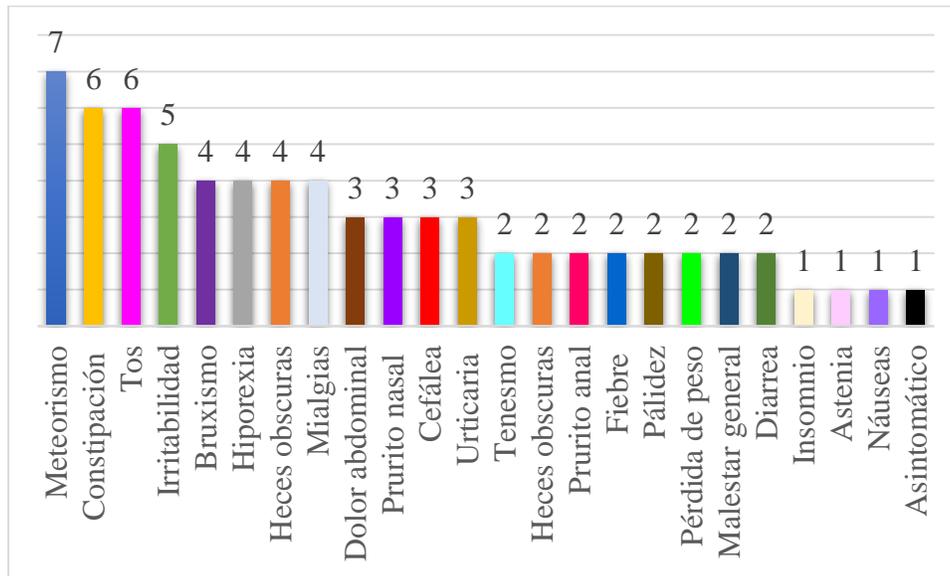
Gráfica 17. Sintomatología de *Entamoeba coli*



Fuente: Elaboración propia, 2017.

Los síntomas que corresponden a *Endolimax nana* se observan en la gráfica que a continuación se presenta (Gráfica 18). Los síntomas de mayor frecuencia son: meteorismo, constipación, tose irritabilidad. Y los que se presentaron solo en una ocasión, fueron insomnio, astenia, náuseas y también un caso asintomático.

Gráfica 18. Sintomatología de *Endolimax nana*



Finalmente, el comensal *Chilomastix mesnili* se presentó solo en dos pacientes; en uno de ellos la sintomatología fue hiporexia, prurito anal, bruxismo, mialgias, tenesmo, heces oscuras, sangre en heces, diarrea y en el segundo fue asintomático.

En la tabla 12 se describen dos casos en donde se encontró únicamente *Giardia intestinalis* y 20 con *Blastocystis hominis*. De la misma forma se mencionan los dos casos en que coexiste *Entamoeba histolytica* y *Blastocystis hominis*, así como *Giardia duodenalis* con *Blastocystis hominis*.

En relación a los organismos comensales, se reportó un caso para *Chilomastix mesnili*, siete para *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* respectivamente. Dos casos más para la existencia de dos comensales en infantes *Entamoeba coli* con *Endolimax nana* y *Chilomastix mesnili* con *Endolimax nana*, respectivamente.

Finalmente, la existencia de parásitos y comensales en un paciente (*Giardia intestinalis* y *Entamoeba coli*) y en dos casos *Blastocystis hominis* con *Endolimax nana* y *Blastocystis hominis* con *Entamoeba coli*, respectivamente.

Tabla 12. Casos en que se reportó la coexistencia de parásitos y comensales

Número de microorganismos que se encontraron en los CPS de los pacientes	Número de casos
Parásitos	
1 parásito (<i>Giardia intestinalis</i>)	2
(<i>Blastocystis hominis</i>)	20
2 parásitos coexistiendo en un paciente (<i>Entamoeba histolytica</i> y <i>Blastocystis hominis</i>)	1
(<i>Giardia duodenalis</i> y <i>Blastocystis hominis</i>)	1
Comensales	
1 comensal (<i>Chilomastix mesnili</i>)	1
(<i>Entamoeba coli</i>)	7
(<i>Endolimax nana</i>)	7
2 comensales en coexistiendo en un paciente (<i>Entamoeba coli</i> y <i>Endolimax nana</i>)	1
(<i>Chilomastix mesnili</i> y <i>Endolimax nana</i>)	1
Coexistencia de parásitos y comensales	
<i>Giardia intestinalis</i> y <i>Entamoeba coli</i>	1
<i>Blastocystis hominis</i> y <i>Endolimax nana</i>	2
<i>Blastocystis hominis</i> y <i>Entamoeba coli</i>	2

Fuente: Elaboración propia, 2018

- ☞ La prevalencia de parasitosis/comensalismo en el estudio es de 24.7%. Y en la población de menores de cinco años (2, 280) es de 2.02%.
- ☞ La prevalencia de parasitismo en el estudio es de 12.9% y en la población total es de 1.05%

- ☞ La prevalencia de comensalismo en el estudio es de 8% y en la población total es de sobre la población total de los menores de cinco años es de 0.6% en el período diciembre 2016-junio 2017 en el municipio de Tlaxcoapan.

Medidas antropométricas de los pacientes

Mientras tanto, las medidas de tendencia central de datos antropométricos que fueron obtenidos al momento de la entrega de la muestra de material fecal, se resumen en edad, talla y el peso.

- ☞ La edad promedio de los niños participantes fue de 4.3 años, una media de 4, mediana de 4 y moda de 5 años.
- ☞ La talla promedio correspondió a 105.7 centímetros, 102.7 cm. como media, mediana 107 cm. y moda 105 cm.
- ☞ Finalmente, en relación a estas medidas, el peso promedio fue de 18 kg, la media de 17.2 kg, mediana 17.5 kg y moda 18 kg (Tabla 16).

Tabla 13. Medidas de tendencia central en variables cuantitativas

Medidas de tendencia central	Variables cuantitativas		
	Edad (años)	Talla (cm)	Peso (kg)
Promedio	4.3	105.7	18.0
Media	4.0	102.7	17.2
Mediana	4	107	17.5
Moda	5	105	18

Fuente: Elaboración propia, 2017.

Análisis Bivariado

Tablas cruzadas 2x2

En las tablas de contingencia que se observan a continuación, se analiza la relación que tuvieron los síntomas de los niños y el diagnóstico obtenido del examen coproparasitológico a través del programa SPSS Statistics 24 (Tabla 14-31).

Tabla 14. Diarrea y diagnóstico CPS

Diarrea	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	12	22
Ausente	34	118

Tabla 15. Sangre en heces y diagnóstico CPS

Sangre en heces	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	3	6
Ausente	43	134

Tabla 16. Heces oscuras y diagnóstico CPS

Heces oscuras	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	22	51
Ausente	24	89

Tabla 17. Tenesmo y diagnóstico CPS

Tenesmo	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	11	40
Ausente	35	100

Tabla 18. Constipación y diagnóstico CPS

Constipación	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	18	59
Ausente	28	81

Tabla 19. Meteorismo y diagnóstico CPS

Meteorismo	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	28	70
Ausente	18	70

Tabla 20. Dolor abdominal y diagnóstico CPS

Dolor abdominal	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	11	39
Ausente	35	101

Tabla 21. Hiporexia y diagnóstico CPS

Hiporexia	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	15	60
Ausente	31	80

Tabla 22. Irritabilidad y diagnóstico CPS

Irritabilidad	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	15	42
Ausente	31	98

Tabla 23. Náuseas y diagnóstico CPS

Náuseas	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	4	19
Ausente	42	121

Fuente: Elaboración propia SPSS 24 Statistics-Encuesta estructurada IPN, 2017.

Tabla 24. Vómito y diagnóstico CPS

Vómito	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	2	19
Ausente	44	121

Tabla 26. Pérdida de peso y diagnóstico CPS

Pérdida peso	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	10	21
Ausente	36	119

Tabla 28. Astenia y diagnóstico CPS

Astenia	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	3	31
Ausente	43	109

Tabla 30. Eliminación de parásitos en heces y diagnóstico CPS

Eliminación parásitos	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	1	5
Ausente	45	135

Tabla 25. Fiebre y diagnóstico CPS

Fiebre	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	7	28
Ausente	39	112

Tabla 27. Malestar general y diagnóstico CPS

Malestar general	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	8	23
Ausente	38	117

Tabla 29. Palidez y diagnóstico CPS

Palidez	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	7	17
Ausente	39	123

Tabla 31. Tos y diagnóstico CPS

Tos	Final	
	Positivo	Negativo
Presente	21	74
Ausente	25	66

Fuente: Elaboración propia SPSS 24 Statistics-Encuesta estructurada IPN, 2017

Prueba de Chi²

Referente a la prueba de Chi², se compararon las frecuencias observadas y esperadas en cada categoría para contrastar si estas contenían la misma proporción de valores o si cada categoría contiene una proporción de valores especificada por el usuario. Los 186 registros fueron validos en la prueba y 0 datos no válidos. Por lo que se trabajó con el 100% de los datos.

El intervalo de confianza para la diferencia entre la media teórica y la media observada al nivel de confianza es del 95%. En estos datos, 0 quiere decir que no hay ninguna posibilidad

de que esa hipótesis sea aceptable. Por tanto, si el valor-p es menor o igual que el nivel de significancia deseado se rechazará la hipótesis nula.

Los síntomas que presentaron significancia estadística por su valor igual o menos a 0.05 fueron la sangre en heces, heces oscuras, constipación, meteorismo, hiporexia, náuseas, vómito, palidez, eliminación de parásitos, tos, insomnio, bruxismo y convulsiones (Tabla 32).

Tabla 32. Estadísticos de prueba Chi²

Síntomas	Registros (n)	Chi ²	Significancia
Diarrea y parasitosis	186	2.161	.142
Sangre en heces y parasitosis	186	26.449	.000
Heces oscuras y parasitosis	186	9.013	.003
Tenesmo y parasitosis	186	0.213	.644
Constipación y parasitosis	186	10.345	.001
Meteorismo y parasitosis	186	29.557	.000
Dolor abdominal y parasitosis	186	.122	.727
Hiporexia y parasitosis	186	8.615	.003
Irritabilidad y parasitosis	186	1.370	.242
Náuseas y parasitosis	186	7.934	.005
Vómito y parasitosis	186	9.143	.002
Fiebre y parasitosis	186	1.493	.222
Pérdida de peso y parasitosis	186	3.439	.064
Malestar general y parasitosis	186	3.213	.073
Astenia y parasitosis	186	1.635	.201
Palidez y parasitosis	186	7.875	.005
Eliminación de parásitos y parasitosis	186	30.420	.000
Tos y parasitosis	186	23.273	.000
Insomnio y parasitosis	186	13.754	.000
Cefalea y parasitosis	186	3.111	.078
Bruxismo y parasitosis	186	4.298	.038
Prurito anal y parasitosis	186	.831	.362
Prurito nasal y parasitosis	186	1.038	.308
Convulsiones y parasitosis	186	31.373	.000
Urticaria y parasitosis	186	1.500	.221
Mialgias y parasitosis	186	2.817	.093

En la tabla 33 se observan los estadísticos de la prueba Chi² respecto a las condiciones socioambientales de la encuesta estructurada del INP, que se aplicó a los padres de familia al momento de la entrega de coproparasitoscópicos. La significancia fue de 0 para todas las condiciones y de 0.001 para los que hierven el agua.

Tabla 33. Estadísticos de prueba Chi² condiciones socioambientales.

Relación con el parasitismo	Agua entubada	Suministro de agua	Consumo de agua	Hierve agua	Drenaje intradomiciliario	Piso en casa	Convivencia con animales
Registros (n)	186	186	186	186	186	186	186
Chi-cuadrado	135.007	136.007	138.007	11.021	134.007	127.182	70.723
Significancia. asintótica	.000	.000	.000	.001	.000	.000	.000

Para el cálculo de la Chi² respecto a la sintomatología y las condiciones ambientales se realizaron pruebas de homogeneidad marginal, la cual contrasta los cambios de respuesta, utilizando la distribución Chi², y es útil para detectar cambios de respuesta causados por intervención experimental en diseños antes-después.

Además de que se realizaron otras dos pruebas no paramétricas; prueba de Wilcoxon, la cual tiene en cuenta la información del signo de las diferencias y de la magnitud de las diferencias entre los pares. Así como la de Mc Nemar, que utiliza normalmente en una situación de medidas repetidas, en la que la respuesta de cada sujeto se obtiene dos veces, una antes y otra después de que ocurra un evento especificado. En las tres se tuvieron niveles de significancia similares en las distintas variables. Sin embargo, se reportan únicamente las de Chi², ya que es la más empleada para este tipo de estudios, de acuerdo a la bibliografía consultada.

Resultados moleculares

Genotipificación

Como ya se mencionó anteriormente, a las cuatro muestras positivas a *Giardia intestinalis*, se les extrajo el DNA como se indica en la imagen (Figura 24), se amplificaron y se restringieron.

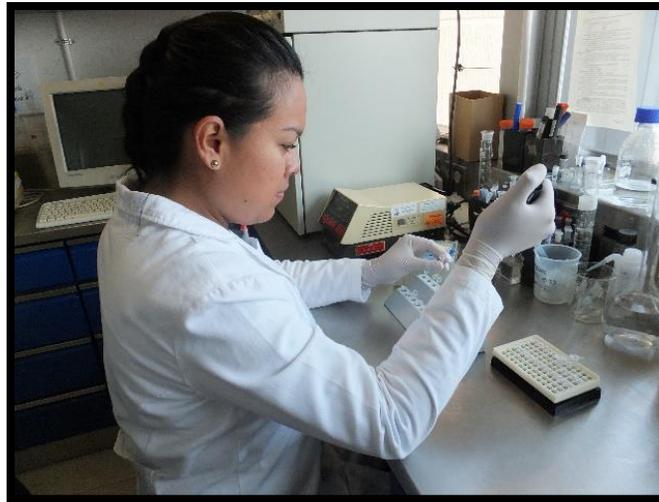


Figura 26. Preparación de material para realizar PCR.
Fuente: Elaboración propia, 2017.

Los productos amplificados se leyeron a partir de un gel de poliacrilamida (Figura 24) y se identificaron el genotipo AI (ubicado en la columna cuatro) y el AII (correspondiente a la columna uno, dos y tres). El marcador molecular empleado fue de 50 pares de bases, probablemente con mezcla del genotipo D, ya que se observan bandas de 120 y 250 pares de bases. La columna seis corresponde a un control negativo.

Respecto a *Blastocystis hominis* y *Entamoeba histolytica*, no se lograron genotipificar debido a la baja cantidad de quistes encontrados en las heces y por lo tanto de material genético para lograr una amplificación con buena cantidad de ADN.

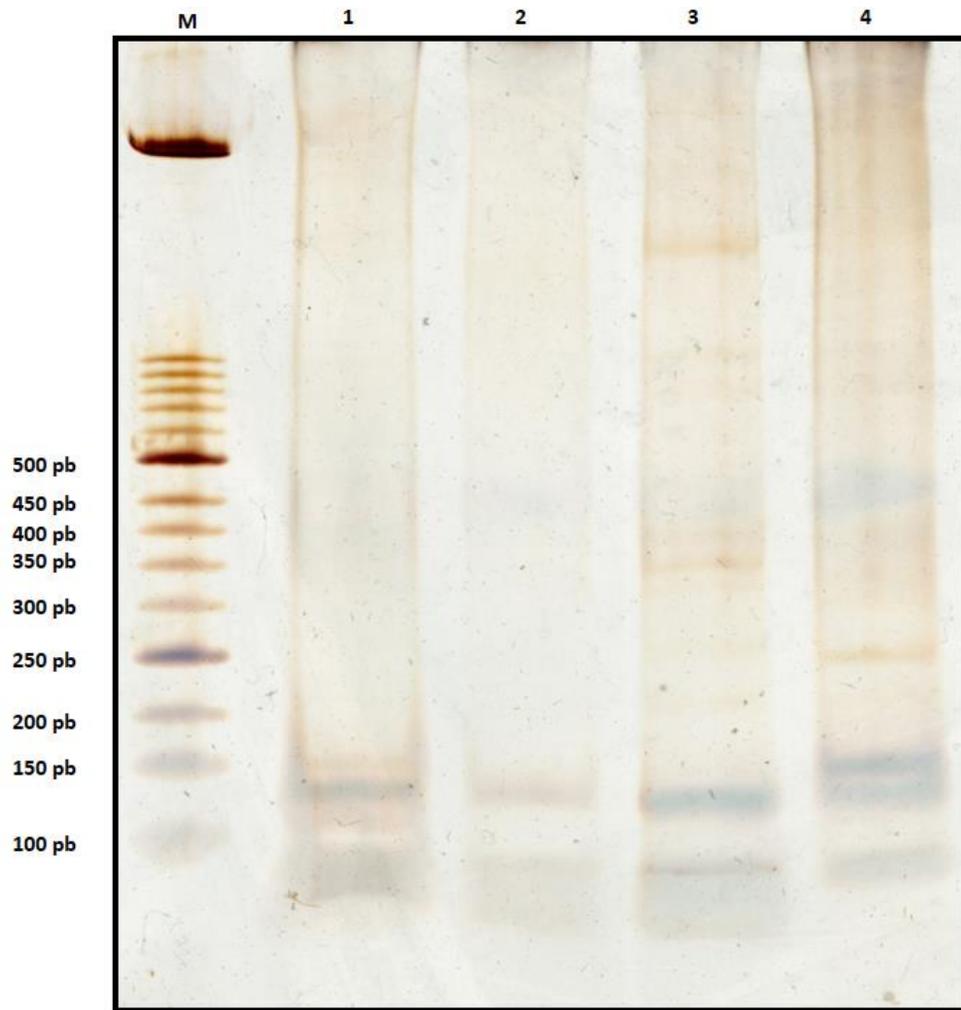


Figura 27. Gel de poliacrilamida al 5%, teñido con Plata, que muestra los fragmentos de restricción del producto de 432 pb del gen Glutamato deshidrogenasa con la enzima de restricción Nla IV.

M: Marcador de tamaño molecular de 50 pb; **1-4:** muestras de pacientes. De la columna 1-3 corresponde al genotipo AII y la columna 4 al genotipo AI.

CAPÍTULO V

Discusión

La bibliografía reporta que durante los últimos años *Blastocystis* sp., ha acumulado evidencias que favorecen la aceptación de su carácter patógeno. Sin embargo, esos argumentos no son aún del conocimiento de la inmensa mayoría de los profesionales de la salud relacionados con el diagnóstico, tratamiento y control de las parasitosis intestinales. En consecuencia, a nivel asistencial y en algunos círculos académicos, *Blastocystis* sp. sigue siendo considerado un comensal o, en otros casos, un parásito de "patogenicidad desconocida". Es decir, la blastocistosis, cuya prevalencia e incidencia a nivel global es cada vez mayor, continúa siendo un problema de salud subdimensionado (Fonte Galindo L., Fong González A., Méndez Sutil Y., & Moreira Perdomo Y., 2014). Sin embargo, para la presente investigación fue considerado como una especie parásita, debido a su cuadro clínico e inclusive resistente a los desparasitantes que otorga la Secretaria de Salud en sus campañas de desparasitación masiva.

Por otro lado, es importante considerar las crecientes cifras de prevalencia de infección por *Blastocystis* sp. Como una parasitosis emergente, ya que, en la mayoría de los estudios realizados en prácticamente todo el planeta y el mejor conocimiento sobre sus múltiples impactos sobre la salud humana.

Por lo que, acorde a los resultados obtenidos, es posible apoyar determinado criterio, en donde hubo una mayor incidencia respecto de *G. intestinalis*.

De manera general, *Blastocystis* sp. tiene cada vez mayores cifras de prevalencia, que en la mayoría de los estudios supera a las de la giardiasis, y el mayor conocimiento sobre sus

múltiples impactos sobre la salud humana ha conducido a que hoy se considere una parasitosis emergente (Tan KS. , 2008) (Basualdo J., Pezzani B., De Luca M., Cordoba A., & Apezteguia M., 2000). La incidencia de la infección ha sido determinada en varias investigaciones; sin embargo, los resultados deben ser evaluados cuidadosamente pues la mayoría de estudios se basan en muestras enviadas a laboratorios de parasitología y son asociadas mayoritariamente con pacientes sintomáticos.

La blastocistosis es una infección cosmopolita; sin embargo, su prevalencia es mayor en la franja tropical del planeta y, en ésta, en las áreas de más elevados índices de pobreza (prevalencias de hasta 60 % han sido documentadas en algunas de la poblaciones estudiadas) (Soupart L., Moussa H., Cian A., Sancier G., & Poirier P., 2010). En esas áreas concurren las condiciones climatológicas e higiénico-sanitarias, incluido el contacto estrecho con animales, que hacen posible la transmisión fecal-oral de la forma infectante del microorganismo. En la presente investigación está por debajo de esa prevalencia (46%), a pesar de la alta convivencia con animales que presenta la población de estudio, el cual pudiera tener el mismo patrón de transmisión que reporta la bibliografía. Actualmente, se observa una transición parasitaria y el primer lugar en frecuencia entre todas las especies que parasitan el tracto intestinal del hombre lo ocupa *B. hominis* (Rodríguez E., y otros, 2008). Apenas hace dos décadas, esa prevalencia que incluso comenzaba a reportarse, se ha incrementado rápidamente durante los últimos años. Además, la creciente certeza acerca de la patogenicidad de *Blastocystis* sp., que obviamente ha conducido a que se preste más atención a su detección, ha contribuido notablemente al incremento de la prevalencia de esta parasitosis.

En un estudio realizado en tres comunidades de Texas, se encontró una prevalencia de 13% para *Blastocystis hominis* y una de 4.8% para *Giardia intestinalis* (Escobedo L.G., Homedes N., Von Alt K., & Escobedo M.A., 2004), este patrón coincide con el presente estudio en que también se encontró una mayor prevalencia para *Blastocystis hominis* que para *Giardia*.

En las décadas anteriores a los 90's la presencia de *B. hominis* no era reportada, posteriormente se empieza a encontrar en publicaciones con baja prevalencia (Romero C.R., Robert G.L., Muñoz G., & Geyne C.A., 1997) (Flissera , Reynoso O., & Ambrosio J., 2002) (Bernal R. R., Hernández S.G., & Ramírez H. E., 1998) (Alvárez Ch. R. , Siqueiros D.L., & De la Cruz O.C., 1995). A partir del año 2000, se menciona *B. hominis* en numerosas investigaciones (Díaz E., Mondragon J., Ramírez E., & Bernal R.M., 2003) (Sánchez R.G.L., 2003) (Galván Ramírez M.L., Madriz Elisondo M.L., & Bernal Redondo R., 2007) (Velarde D.R.T. & Mendoza R.M.A., 2006) (Cruz L.V., Plancarte C.A., & Morán A.C., 2003); encontrando también en estos estudios el primer lugar dentro de las protozoosis intestinales, como se ha mencionado anteriormente.

En México la presencia de *B. hominis* no ha sido investigada de una manera sistemática y no existen aún suficientes datos disponibles de su frecuencia, de tal manera que la epidemiología está mal estudiada y la prevalencia subestimada. Los principales problemas son: la selección de técnicas CPS, la difícil identificación del parásito y el concepto arraigado de que se trata de un organismo no patógeno (Rodríguez E., y otros, 2008).

Las publicaciones del Sistema Único de Información del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud en México, que se rige por el Código Internacional de Enfermedades, informan semanalmente sobre los casos de parasitosis intestinales; en esta

publicación se ubica a *B. hominis* dentro de las “otras infecciones intestinales debidas a protozoarios”. El reporte en el país acumulado del 2016, notifica 59,491 casos de IIDP para ambos sexos (SINAVE, 2016). En niños mexicanos la mayor frecuencia de infección por protozoarios está encabezada por *B. hominis* especie cuya patología es controvertida lo mismo lo encontramos en niños sanos que en paciente con manifestaciones gastrointestinales como diarrea, dolor y distensión abdominal (Bernal R. R., Hernández S.G., & Ramírez H. E., 1998)

Clínicamente ha habido un gran número de aportaciones que apoyan el efecto patogénico de *Blastocystis* en la producción de enfermedad en el humano. En el hospital pediátrico de Iztacalco de la ciudad de México, se encontró una frecuencia del 2.19% en pacientes con síntomas gastrointestinales, sin diarrea y del 2.06 en pacientes con diarrea , con una frecuencia global del 2.17% (Vázquez T.O., Valdivia G.S., Vértiz Ch. E., 1994) y en un estudio realizado en Veracruz reportó una prevalencia del 80% en niños escolares de la Sierra (Martínez Barbosa I., y otros, 2010).

El primer lugar en frecuencia de parásitos en niños, siempre estuvo disputado por *G. intestinalis* (Rodríguez E., y otros, 2008), en la mayoría de los reportes no se investigaba la presencia de *Blastocystis hominis* o se mencionaba como comensal del tubo digestivo (Bernal R.R., Hernández S.G., & Ramírez H.E., 1998), no obstante esa transición epidemiológica se ve reflejada en este estudio de manera semejante.

G. intestinalis tiene una distribución mundial y es de gran importancia para la salud pública, ya que causa diarrea o gastroenteritis severa, conduciendo a un deterioro físico, desnutrición y consecuencias negativas en el crecimiento y el desarrollo intelectual de los niños. Se

observa un mayor grado de riesgo en la población pediátrica (Thompson R.C., 2008). El 15% de la población de Latinoamérica están infectadas con *Giardia*, con una elevada prevalencia en niños y en la población con menos recursos (Bracho M., Reyes P., Botero L., & Sarcos M., 2007). Los quistes de este organismo permanecen en el ambiente por largos periodos de tiempo bajo condiciones adversas, siendo resistentes a la mayoría de procesos de desinfección química y tratamiento convencional de agua.

Cerca de 200 millones de personas en Asia, África y América Latina presentan síntomas de giardiosis, con una incidencia de infección de 500.000 casos por año (WHO, The World Health Report, 1996).

En otro estudio previo la parasitosis intestinal, se encontró a *G. duodenalis* como el parásito más frecuente entre los niños parasitados sin embargo, no se encontró una relación precisa con algunos indicadores socioeconómicos como el ingreso familiar quincenal, número de habitantes en la vivienda y ausencia de artículos básicos para la familia (Rodríguez Guzmán L., Hernández Jerónimo E.J., & Rodríguez García R., 2000)

El periodo de crecimiento y desarrollo de los infantes, que normalmente ocurre durante los años de preescolar y la morbilidad, causada por las infecciones de parásitos intestinales tiene consecuencias irreversibles en el desarrollo físico y cognitivo de los niños en esta edad (OPS, 2011). Sin embargo, la población conoce la frecuencia en que debe desparasitar a sus hijos y, aun así, hay quienes dejan pasar el evento por no participar en campañas de salud cuando son convocados. Mientras que, en las localidades, aún persisten serias brechas de cobertura en niños de edad preescolar, así como la falta de información que permita participar de manera activa a los habitantes en las actividades sanitarias.

En otro estudio previo la parasitosis intestinal, se encontró a *G. duodenalis* como el parásito más frecuente entre los niños parasitados sin embargo, no se encontró una relación precisa con algunos indicadores socioeconómicos como el ingreso familiar quincenal, número de habitantes en la vivienda y ausencia de artículos básicos para la familia (Rodríguez Guzmán L., Hernández Jerónimo E.J., & Rodríguez García R., 2000)

Giardia intestinalis es más prevalente en los niños de las guarderías infantiles, sin embargo, su prevalencia no se relaciona con el estado nutricional de los niños. La mayoría de niños infectados por *Giardia* son asintomáticos (Giraldo G.J.M, Lora. F.H., Mejia L.H., & Gómez Marín J.E., 2005). En Venezuela, otro estudio realizado en 2003, muestra una prevalencia de parasitosis intestinales (95,7%) con un predominio de los protozoarios y un 29% de prevalencia (Devera R., Cermeño J., Blanco Y., & Bello M.C., 2003) para *Giardia*.

En México se ha encontrado una frecuencia de tres a 60 por ciento (Rodríguez García, R., Rodríguez Guzmán, L.M., & Cruz del Castillo A.H., 2016) e incluso hasta un 68.5% en lactantes, preescolares y escolares (Alvarado Gutiérrez M.L., y otros, 2016). Varios estudios han evaluado la asociación entre factores sociodemográficos e infección por *G. duodenalis*; sin embargo, los factores de riesgo que se encuentran consistentemente son la edad y suministros de agua (Oyerinde JP., Ogunbi O., & Alonge A.A. , 1977) (Miotti P.G., Gilman R.H., Santosham M., Ryder R.W., & Yolken R.H., 1986) (Novotny T.E., Hopkins R.S., Shillam P., & Janoff EN., 1990) (Renton J.I., Moorehead W., & Ross A., 1996.) (Stuart J.M., y otros, 2003). Otro estudio realizado en Coacalco, México en el año 2003, encontró un 44% de niños infectados por protozoos tales como *Giardia lamblia* (18%), *Entamoeba histolytica* (10%), *Blastocystis hominis* (7%), *Cryptosporidium*

parvum (4%) y *Cyclospora cayetanensis* (3%) (Díaz E., Mondragon J., Ramírez E., & Bernal R.M., 2003) y después de un primer tratamiento de nitazoxanida se volvieron a encontrar *Giardia* y *Blastocystis* (Romero C.R., Robert G.L., Muñoz G.M.R. , & Geyne C.A., 1997.) . En contraste se encontró la presencia de organismos protozoarios como *Endolimax nana*, que tiene un ciclo de vida semejante a *Giardia* (Hinojosa Sada L.E., 2016), por lo que pudiera ser un factor importante que condiciona la existencia del *G. intestinalis*.

En relación con la epidemiología de *Entamoeba histolytica*, la prevalencia de la infección difiere de un área a otra, así como la severidad de la enfermedad de paciente a paciente. Las diferencias en la prevalencia frecuentemente dependen de los métodos de detección usados y del número de análisis realizados (González Vázquez M.C.; Carabarin Lima A.; Baylon Pacheco L.; Rosales Encina J.L.;, 2012)

El periodo de crecimiento y desarrollo de los infantes, que normalmente ocurre durante los años de preescolar y la morbilidad, causada por las infecciones de parásitos intestinales tiene consecuencias irreversibles en el desarrollo físico y cognitivo de los niños en esta edad (OPS, 2011). Sin embargo, la población conoce la frecuencia en que debe desparasitar a sus hijos y, aun así, hay quienes dejan pasar el evento por no participar en campañas de salud cuando son convocados. Mientras que, en las localidades, aún persisten serias brechas de cobertura en niños de edad preescolar, así como la falta de información que permita participar de manera activa a los habitantes en las actividades sanitarias.

Respecto a la sintomatología, la blastocistosis es causante de diarrea y como se ha mencionado anteriormente se encuentra poco estudiada en nuestro medio, principalmente por el desconocimiento de este protozoario como agente causal de síndrome diarreico por parte del médico, además de que el personal técnico de laboratorio desconoce la morfología y los

métodos para la búsqueda y demostración del parásito. En algunas ocasiones, aunque se detecta el parásito no es informado por el personal de laboratorio, debido a que es considerado erróneamente como una levadura no patógena. Por lo que es necesario hacer énfasis en la búsqueda de este patógeno en casos de diarrea, sobre todo en pacientes con malos hábitos higiénicos y con antecedentes de haber viajado recientemente (Vázquez Tsuji O., Millares Estévez, Vértiz Chávez E., & Martínez Barbosa I., 1994). En el presente estudio la diarrea que reporta la bibliografía se adiciona con los síntomas comunes para *Blastocystis hominis* que fueron heces oscuras, diarrea, prurito, urticaria, mialgias, insomnio, constipación, bruxismo, cefalea, tenesmo, pérdida de peso, meteorismo e incluso casos asintomáticos. Y la urticaria se relaciona con otro hallazgo parasitológico de que *B. hominis* que asoció significativamente también a pacientes con sintomatología tal como dolor abdominal, balonamiento abdominal y que el consumo de agua sin hervir representó el único factor asociado estadísticamente a la infección (Barahona L., Maguiña C., Náquira C., Terashima A., & Tello R., 2002).

Los síntomas de *Giardia intestinalis* son: prurito, bruxismo, pérdida de peso, cefalea, palidez, pérdida de peso, meteorismo y diarrea, estos coinciden con lo reportado en las bibliografía que indica como manifestaciones de la enfermedad también a la diarrea acuosa o pastosa, anorexia, distensión abdominal, flatulencia y ocasionalmente, cefalea, febrícula, manifestaciones alérgicas (artralgias, mialgias, urticaria); actualmente, a nivel mundial, también es asintomática o en otros estudios se reporta la presencia del síndrome de intestino irritable, alergias alimentarias y urticaria (Einarsson E., Ma'ayeh S., Svärd S., 2016), así como con (Certad G, Viscogliosi E, Chabé M, Cacciò S.M., 2017) (Bartelt L.A. Platts-Mills J.A., 2016)(Bartelt & Platts-Mills. 2016) en diarrea recurrente, disminución de peso,

deficiencias en el crecimiento y cognitivas en la población infantil. Eckmann L. y Gillin F.D. en 2001 reportan la infección sintomática de *Giardia intestinalis* caracterizada por diarrea, dolor abdominal y malabsorción que conducen a la desnutrición y pérdida de peso, particularmente en niños (Eckmann L. & Gillin F.D., 2001).

Y para *Entamoeba histolytica*, alrededor del 10% de los pacientes infectados presentan sintomatología (Morán P., y otros, 2013). Sin embargo, en la presente investigación se presentó solo un caso de 189 (2%) con síntomas de mialgias, prurito y urticaria. Como se mencionó anteriormente los síntomas de parasitosis son variados e incluso asintomáticos, por lo que este último puede ser un factor que limite la atención necesaria ante este problema de salud pública en los infantes. Sin embargo, en la bibliografía se involucra un importante ataque al estado general, hepatomegalia dolorosa, con posible irradiación a hipocondrio derecho, a epigastrio, hombro derecho e incluso espalda, fiebre, tos, disnea, dolor durante la inspiración profunda e hipomovilidad diafragmática. La presencia de ictericia no es frecuente. Se contemplan como signos de alarma, la ausencia de ruidos intestinales, frote pleural o pericárdico.

Los casos con metástasis pericárdicas, cutáneas, cerebrales y en otras localizaciones son muy poco frecuentes, pero es importante mencionarlos, ya que pueden pasar desapercibidos. En México, los casos cutáneos reportados hasta finales de los años 80s correspondían a lesiones identificadas de localización anal, perineal, vulvar, vaginal, principalmente, así como abdomen (como consecuencia de absceso hepático) y en región del pañal en bebés. Ahora, algunos autores hacen hincapié en lesiones de transmisión sexual (Morán P., y otros, 2013). Sin embargo, no se tienen este tipo de datos en la presente investigación, ya que faltarían más estudios para corroborar esta información, por lo que esta relación no es posible de establecer.

A pesar del mejoramiento en los estándares de vida, la ocurrencia en condiciones normales de estos organismos o el generar pocas manifestaciones clínicas en el hospedador, favorecen la transmisión continua de los mismos. (Abrahams-Sandí, E., ME. Solano, B. Rodríguez., 2005) (Pardo, 1997.) (Cerdas, 2003.) (Hernández-Chavarría, F. & Matamoros-Madrigal MF., 2005.).

Respecto a los organismos comensales, estos mostraron frecuencias intermedias, éstos fueron *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* y *Chilomastix mesnili*. Por lo menos *E. nana* y *E. coli* han sido organismos frecuentemente observados en otros estudios, sin embargo, es importante que se identifiquen los factores de riesgo que favorecen la existencia de estos en el ambiente y en la infección hacia los niños.

La prevalencia de los casos de infecciones intestinales es mínima debido a la falta de métodos accesibles con alta sensibilidad para la identificación de los microorganismos causantes, dado que las técnicas empleadas en los laboratorios del municipio corresponden a microscopia la cual carece de especificidad para un correcto y oportuno diagnóstico, la naturaleza de los microorganismos parásitos hace que su prevalencia sea intermitente y por lo tanto cuando se realizan pruebas de laboratorio estas obtienen el diagnóstico negativo. A pesar de que la población consume agua purificada, no la hierve ni la clora para evitar una segunda contaminación en casa. Por lo que es necesario destinar más recurso económico al monitoreo y a la vigilancia sanitaria del agua y de los alimentos que se consumen en el municipio. Además de que se debe incluir a protozoarios como *G. intestinalis* en los sistemas de vigilancia, ya que es uno de muchos otros, que son resistentes a la cloración, método implementado en el lugar de estudio, dado que actualmente la giardiasis es una enfermedad

reemergente que debe ser considerada por su alta frecuencia en el mundo, que además es asintomática.

Por otro lado, en las técnicas que reportaron diagnósticos positivos, el método directo se representó en un 66% para *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Chilomastix mesnili*, *Giardia intestinalis*; respecto del método de Faust que solo reportó un 33% de casos positivos para *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* y organismos comensales como *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* y *Chilomastix mesnili*. Por lo que no se encontró una diferencia entre ambas técnicas empleadas a pesar de que el primero es el más antiguo que existe y que de acuerdo a la bibliografía, es un método rápido, pero poco seguro, ya que tiene posibilidad de falsos negativos, por lo que es necesario repetirse en algunos casos de sospecha en el diagnóstico.

De acuerdo a la bibliografía revisada se esperaba una alta incidencia de *Giardia intestinalis*, sin embargo, las observaciones realizadas apuntan a que el método de Faust (Urribarren Berrueta T., 2016), no tiene la especificidad esperada para la presente investigación; esto pudiera explicarse debido a las campañas de desparasitación masiva en las que participaron algunos de los participantes, previo a la colecta de sus muestras. El diagnóstico de este parásito, depende del hallazgo de quistes característicos en las heces formadas o de quistes y trofozoitos en las heces líquidas. No obstante, es importante considerar que también se requiere un examen del contenido duodenal para establecer el diagnóstico, puesto que la producción de quistes puede ser esporádica y estos no se encuentran en las heces cuando se practica un examen de frotis fecal en busca de huevecillos y parásitos. Por lo tanto, de acuerdo a la bibliografía y a los resultados de esta investigación, se recomienda una serie de tres o más exámenes en días alternos, ya que los trofozoitos (estado vegetativo) se adhieren a las

vellosidades por los discos succionadores (Brooks Geo F., Butel J.S., & Morse S.A., 2005). En la investigación realizada tres de los cuatro casos reportados como positivos, no entregaron sus muestras completas y en el caso de un paciente, con una sola muestra que entregó para su análisis, se logró establecer el diagnóstico para *G. intestinalis* con abundancia de quistes.

Respecto a las condiciones socioambientales es necesario mencionar el agua como elemento esencial para la vida y que determina la salud pública, ya que a su vez representa un riesgo, cuando se contamina por agentes químicos y biológicos infecciosos, presentes en aguas residuales y por consecuencia en estado natural. Estas impurezas, llegan a las fuentes de abastecimiento humano, ocasionando severos daños a la población, principalmente niños y ancianos, quienes resultan la parte poblacional más vulnerable, por ello esta investigación se enfocó en el grupo de edad menores de cinco años.

Además, la falta de cobertura impide que la población cubra necesidades básicas de higiene, debido a falta de infraestructura o a un mal saneamiento que hace que el agua que llega a sus hogares, aun tenga deficiencias en su pureza y ocasione infecciones gastrointestinales en la población. No obstante, la población de estudio afirmó tener acceso a los servicios de agua potable, sin que esto limitara un diagnóstico negativo a parasitosis.

Tlaxcoapan, desde hace más de 100 años comenzó a utilizar aguas residuales de la ciudad de México, en la región del Valle de Tula, distribuyéndolas en los distritos que forman parte del sistema de riego (Jiménez B. , Siebe C. , & Cifuentes E. , 2004), el cual es una fuente directa de exposición a heces fecales. No obstante, los estudios que se tienen al momento respecto en este municipio, son nulos ya que los estudios previos han sido enfocados a contaminantes biológicos y químicos presentes en el río Tula y suelos cercanos, dejando de lado la calidad biológica del agua potable y los riesgos que esto implica para la salud en el municipio de Tlaxcoapan, ya que al menos hasta ahora no se ha alcanzado la cobertura de un drenaje

establecido en el 100% de los hogares de la población de estudio, no obstante para este estudio, la falta de este servicio no es determinante para los casos positivos de parasitosis, sin embargo no se debe omitir este factor que representa la forma de transmisión de los parásitos de interés.

El 1% de la población de estudio reportó el suministro de agua a partir de una presa y el 99% del pozo municipal, por lo que es importante, que se realice una gestión integrada municipal y local que considere diversos factores como eficiencia, ordenamiento territorial, participación ciudadana, legislación, tecnología y desde luego el aspecto económico, en donde se destine el recurso suficiente para realizar pruebas de rutina respecto a la calidad microbiológica, pues solo a través del monitoreo constante, se puede evaluar el grado de contaminación biológica que está teniendo el agua antes y después del período de desinfección, ya que en realidad se desconoce la calidad del líquido cuando este llega a los hogares. El suministro de agua potable a través de sistemas centralizados es una tarea difícil en países en desarrollo, como el nuestro. Estos sistemas a gran escala implican grandes esfuerzos de operación y mantenimiento, por lo que el riesgo de una segunda contaminación del agua potable durante los procesos de distribución y manejo en el lugar de consumo está latente. Así que, se debe procurar siempre un tratamiento adicional del agua a nivel doméstico, por medio de acciones simples y efectivas; hervir, filtrar, clorar y la desinfección solar que reducen significativamente la incidencia de enfermedades transmitidas por el agua. De igual manera, se deben proteger los mantos freáticos que se encuentran expuestos a diversas fuentes de contaminación, a través del ordenamiento territorial, es decir, sitios que son para industria, pastoreo, vivienda, etc. Pues debido a la falta de este, los desastres ambientales son una de las primeras causas de polución y amenaza a la salud. Sin embargo, a pesar de las diferencias y el riesgo que esta variable representa bibliográficamente para la

presencia de parasitosis, el 99% que reportó el suministro de agua a partir del pozo municipal alberga los casos positivos, mientras que el 1% tuvo un diagnóstico positivo, por lo que no fue considerado un factor de riesgo determinante. Caso contrario a la ebullición del agua que el 97% afirmó no adicionar la ebullición como un sistema de desinfección adicional y en el que dentro de esta cifra se encuentran casos positivos de parasitismo de *Giardia* y *Blastocystis*, por lo que este factor podría ser considerado como un factor de riesgo, ya que los estudios de prevalencia de giardiasis en Colombia demuestran que las condiciones higiénicas están estrechamente relacionadas con la persistencia del protozoario (Rodríguez V., y otros, 2014).

Numerosos trabajos han demostrado que el consumo de aguas contaminadas es una importante fuente, sino la principal, de infección por *Blastocystis* sp. (Stensvold C.R., y otros, 2009). Uno de ellos sugiere que el 36.5% de los casos identificados consumieron agua sin hervir en comparación con un 81% de controles que consumieron agua hervida, resultando este factor asociado significativamente a la infección por *B. hominis* (Barahona L., Maguiña C., Náquira C., Terashima A., & Tello R., 2002). Este hallazgo se relaciona de manera semejante con el factor de riesgo encontrado en la presente investigación mediante las encuestas y la ebullición del agua.

En cuanto a las características del hogar, en el 2002 se reportó en Armenia una prevalencia de 60,4 % en niños (Lora Suárez F., y otros, 2002). Años más tarde, en esa misma ciudad se reportó que la prevalencia había descendido a 13 % en niños que tenían mejores condiciones de estudio y vivienda (Giraldo Gómez J.M., Lora F., Henao L.H., Mejía S., & Gómez Marín J.E., 2005).

A pesar de existir buenas condiciones socioeconómicas en el hogar, como el piso de cemento en un 96% de cobertura, el piso de tierra y el diagnóstico positivo a comensales como *Chilomastix mesnili*, *Endolimax nana* y *Blastocystis hominis*.

Además, la alta frecuencia de convivencia con animales como felinos, porcinos, equinos, ovinos, aves y principalmente perros, en un 88% de la población se relaciona estrechamente con los resultados moleculares de la genotipificación de *Giardia intestinalis*.

Es necesario mencionar que la información antes mencionada pudiera presentar algún sesgo debido a que el padre/madre de familia no respondió de manera honesta a la encuesta, por situaciones personales acerca de a las características de su hogar.

La caracterización directa de los quistes de *G. intestinalis* mediante la técnica de PCR se ha utilizado para esclarecer el papel zoonótico de los diferentes genotipos (Lalle M., Pozio E., Capelli G., Bruschi F., & Crotti D., 2005) y en el caso del presente estudio su caracterización de las muestras positivas para *G. intestinalis*, fue exitosa a pesar del bajo número de quistes o a la presencia de inhibidores de la PCR, esto último puede explicarse en función a las características de las muestras.

Los genotipos que ellos encontraron en su estudio se agruparon en el subgenotipo AII/AIII (subgrupos diferenciables solo por secuenciación) para el gen bg o AII para gdh, el cual es más frecuente que el subgrupo AI y está relacionado con aislamientos de muestras de seres humanos (Spron H., Cacciò SM., & Giessen J., 2009). Este subgrupo también se halló en todos los aislamientos del genotipo A en Nicaragua y Argentina (Lebbad M., y otros, 2008) (Minvielle M.C., Molina N.B., Polverino D., & Basualdo J.A., 2008), en contraste con lo reportado en Brasil, donde las muestras positivas para el genotipo A pertenecían al subgrupo

AI sanitarias disminuyen su aparición (Volotão A.C., y otros, 2007). En contraste con lo que se encontró en este estudio, los genotipos encontrados fueron AI y AII correspondiente a caninos y humanos respectivamente. No obstante, se ha demostrado que en la mayoría de los casos solamente los genotipos A y B están asociados con la infección en seres humano (Cacciò S.M., Giacomo M., & Pozio E., 2002), aunque se han reportado casos de personas infectadas con los genotipos específicos del perro, el ganado y el gato (Gelanew T., Lalle M., Hailu A., Pozio E., & Cacciò SM., 2007) (Foronda P., y otros, 2008).

Como se mencionó anteriormente *Giardia intestinalis* se considera un complejo grupo de especies cuyos miembros, aunque morfológicamente idénticos, presentan variaciones genéticas que han permitido dividirla en, al menos, ocho genotipos (del A al H) (Lebbad M., y otros, 2011). Por lo que la caracterización directa de los quistes de *G. intestinalis* mediante la técnica de PCR se ha utilizado para esclarecer el papel zoonótico de los diferentes genotipos (11). El genotipo A puede dividirse en, por lo menos, tres subgrupos: el primero (AI), detectado en seres humanos y en animales, presenta un mayor potencial zoonótico; el segundo (AII), observado principalmente en seres humanos, y el tercero (AIII), aparentemente específico de especie, ha sido aislado de ungulados silvestres. Considerando que los genotipos encontrados en las muestras de *Giardia intestinalis* corresponden al AI y el AII, se sugiere la posibilidad de una transmisión zoonótica.

Teniendo en cuenta que compartir infecciones por determinados subtipos entre el hombre y algunos animales no es condición suficiente para asegurar el carácter zoonótico de los mismos, estudios de modos y vías de transmisión deberán ser realizados durante los próximos años (Fonte Galindo L., Fong González A., Méndez Sutil Y., & Moreira Perdomo Y., 2014) (Waikagul J, 2002). Ya que hasta ahora son pocas las investigaciones, como la que fue

realizada en la provincia china de Yunnan, que trató de demostrar la asociación entre subtipos y vías de transmisión. Esa investigación reveló que, en aquella población, en la que 32,6 % de las personas sobre las que se realizó el estudio estaba infectada por *Blastocystis sp.*, el consumo de agua no hervida estaba asociado a infección por el subtipo 3 y la ingestión de plantas acuáticas crudas a la presencia del subtipo 1, por lo que es importante continuar con investigaciones con respecto a pruebas moleculares correspondientes a su diagnóstico para la detección de factores de riesgo. La tipificación de aislamientos provenientes de personas asintomáticas y de aquellos obtenidos de pacientes ha encontrado resultados contradictorios. Es importante que la técnica de genotipificación pueda implementarse de forma continua en el sector salud para que la evaluación de las técnicas sea más precisa (Farthing, 1997) (Monis P. T, 2009).

CAPÍTULO VI

Conclusiones

- ☞ La incidencia de parasitosis en niños menores de cinco años de Tlaxcoapan, Hidalgo., fue de 12.9% en la población de estudio y respecto a la población total 10.5%. La incidencia de comensalismo fue de 8% en el estudio y 6.5% en la población total.
- ☞ Los factores socioambientales de riesgo en las parasitosis de los niños menores de cinco años de Tlaxcoapan, Hidalgo fueron: no hervir el agua previa a su consumo, la convivencia con animales y el piso de tierra. Estos se muestran en orden de diagnósticos positivos.
- ☞ Se lograron identificar los parásitos *Blastocystis hominis*, *Giardia intestinalis* y *Entamoeba Histolytica* mediante las técnicas de examen coproparasitológico directo y de Faust, mientras que para la tinción de Ziehl Neelsen todos los casos resultaron negativos. No obstante, las diferencias entre los resultados de las técnicas de CPS directo y de Faust sugieren una especificidad mayor para los coproparasitológicos directos, respecto del de Faust. Por lo que es necesario complementar todo diagnóstico con más de una técnica que permita descartar casos negativos falsos.
- ☞ Respecto a la genotipificación de *Giardia intestinalis*, los genotipos AI y AII encontrados en los CPS indican un potencial zoonótico, sin embargo, es necesario que se realicen más estudios que permitan esclarecer la relación que mantienen estos subtipos con el contagio a través de ciertos animales domésticos, ya que este factor se encontró como predominante en la población de estudio a pesar de la baja incidencia que representa el parásito. En ese sentido, varias líneas de investigación son recomendables y realizables en el futuro inmediato: estudiar la significación clínica de los subtipos del protozoo

circulantes en la zona, investigar el posible comportamiento zoonótico de algunos de ellos. Referente a *Blastocystis hominis* es necesario continuar con la estandarización de métodos que permitan su amplificación de ADN, ya que no se logró amplificar su material genético.

CAPÍTULO VII

Propuestas de mejora

Estrategias para el control ambiental del agua potable y salud pública del municipio de Tlaxcoapan

El tema del agua es bastante complejo, ya que en el intervienen diversos factores que si se trabajan en conjunto podría lograrse una adecuada gestión del vital recurso. No obstante, en diversos países se ha logrado tener un saneamiento adecuado y una cobertura amplia de este servicio, a la población. Sin embargo, en nuestro país aún existen zonas donde no se ha cubierto y ello sigue ocasionando graves problemas de salud pública. Por lo que a continuación se mencionan algunas estrategias que han tomado otros países e instituciones de salud para beneficios de la población.

Tratamiento de aguas negras y cumplimiento de la legislación existente

El tratamiento de aguas negras representa una alternativa para disminuir los factores de riesgo de las enfermedades infecciosas parasitarias. Como ya se mencionó anteriormente, a través del Programa Conjunto de Monitoreo (PCM) de la OMS y UNICEF, se regula el agua potable salubre y el saneamiento básico a nivel mundial, ya que la provisión del vital líquido es un factor determinante en la salud de la población, evitando su exposición a diversos agentes patógenos. Por lo que el manejo adecuado de los servicios permitirá reducir la mortalidad y morbilidad de la población. En México las enfermedades diarreicas han podido reducirse gracias a diversas intervenciones en salud pública; como la distribución del suero oral, campañas de vacunación, programas diversos. Así como de inversión en infraestructura;

cobertura de agua potable, alcantarillado y saneamiento adecuado. Como promedio, solamente 10% de las aguas de alcantarillado recolectadas en Latinoamérica son sujetas a cualquier tipo de tratamiento. Además, continúan las dudas y controversias entre los científicos acerca del método apropiado de operar las plantas de tratamiento existentes. Una evaluación de las plantas de tratamiento de aguas de alcantarillado en México calcula que solamente 5% de las plantas existentes están siendo operadas de manera satisfactoria. El tratamiento de aguas residuales es necesario para la prevención de la contaminación ambiental y del agua, al igual que para la protección de la salud pública. Mientras que cada región tiene sus propias necesidades correspondientes a métodos de tratamiento particulares, cierto número de opciones tradicionales y modernas de tratamiento se encuentran disponibles al diseñar (Geeks, 2017).

El tratamiento de aguas residuales si se planifica y gestiona de una forma adecuada produce grandes beneficios para el medio ambiente, estos efectos positivos ayudan a incrementar el rendimiento en la agricultura y la acuicultura. La eliminación de contaminantes del agua puede resultarnos de gran utilidad en diversos casos de exposición a riesgos.

Las aguas residuales municipales y algunos residuos industriales y comerciales se procesan mediante sistemas que normalmente utilizan tratamientos primarios, secundarios y terciarios:

☞ Sistema de tratamiento primario: Tratamiento previo → Sedimentación

Primaria → Desinfección (cloración) → Efluente

☞ Sistema de tratamiento secundario: Tratamiento previo → Sedimentación

Primaria → Unidad biológica → Sedimentación secundaria → Desinfección

(cloración) → Vertido a un curso de agua

☞ Sistema de tratamiento terciario : Tratamiento previo → Sedimentación

Primaria → Unidad biológica → Sedimentación secundaria → Unidad

Terciaria → Desinfección (cloración) → Vertido a un curso de agua

En la tabla 34 se observa la clasificación general de las operaciones y procesos de tratamiento de aguas residuales.

Tabla 34. Clasificación general de las operaciones y los procesos de tratamiento de las aguas residuales

Operaciones físicas	Procesos químicos	Procesos biológicos
Determinación del flujo	Precipitación	Acción aeróbica
Tamizado y eliminación de partículas	Neutralización	Acción anaeróbica
Mezclado	Adsorción	Combinación aeróbica-anaeróbica
Floculación	Desinfección	
Sedimentación	Oxidación química	
Flotación	Reducción química	
Filtración	Incineración	
Secado	Intercambio iónico	
Destilación	Electrodialisis	
Centrifugado		
Congelación		
Osmosis inversa		

Fuente: (Preul H.C., 2017)

Por otro lado, es importante continuar con la erradicación de los vertidos de agua residual no tratadas o insuficientemente tratadas en los ríos y lagos (Martín Delgado & Pita Toledo, 2007).

Hidalgo es la entidad con menos plantas de tratamiento de aguas residuales, de acuerdo con un informe de la CONAGUA. En el estado existen únicamente 14 de estas infraestructuras, en contraste con las que tiene Sinaloa que son 202. Las plantas de tratamiento de aguas residuales de Hidalgo, de acuerdo con el informe del Banco Interamericano de Desarrollo, tiene una cobertura de tratamiento del 7.9% del agua desechada por la comunidad (Peña M.E., Ducci J., & Zamora Plascencia V., 2013).

La planta de tratamiento de aguas residuales más cercana al municipio es la del municipio de Atotonilco, por lo que se deben realizar las gestiones políticas necesarias para que los volúmenes de agua producidos en el municipio de Tlaxcoapan, sean tratados en dicha planta y posteriormente ser utilizados en el riego de cultivos del municipio. Ya que actualmente el agua negra es empleada en esta actividad, sin previo tratamiento, aumentando así el riesgo de transmisión de parásitos que viajan a través del agua.

a) Medidas de higiene en la población

Lavado de manos

Desde luego que es importante incluir a la población a través del empoderamiento en cuestión de su educación, fomento de la cultura y acciones básicas de higiene; como el lavado correcto de manos, preparación de alimentos y mejora de condiciones socioeconómicas.

El lavado de manos con jabón es una de las maneras más efectivas y económicas de prevenir enfermedades diarreicas y respiratorias, que son responsables de muchas muertes infantiles en todo el mundo (MSAL, 2016), una forma eficiente de realizar esta actividad se observa en la figura 28.



Figura 28. Técnica de lavado de manos

Fuente: (OMS, ¿Cómo lavarse las manos?, 2017)

Cuando una persona no se lava las manos con jabón pueden transmitir bacterias, virus y parásitos ya sea por contacto directo (tocando a otra persona) o indirectamente (mediante superficies). Por eso, es importante lavarse las manos:

- ☞ Antes y después de manipular alimentos y/o amamantar.
- ☞ Antes de comer o beber, y después de manipular basura o desperdicios.
- ☞ Después de tocar alimentos crudos y antes de tocar alimentos cocidos.
- ☞ Después de ir al baño, sonarse la nariz, toser o estornudar y luego de cambiarle los pañales al bebé.
- ☞ Luego de haber tocado objetos “sucios”, como dinero, llaves, pasamanos, etc.
- ☞ Cuando se llega a la casa de la calle, el trabajo, la escuela.
- ☞ Antes y después de atender a alguien que está enfermo o de curar heridas.
- ☞ Después de haber estado en contacto con animales.

Esta estrategia debe fomentarse en todos los lugares públicos a través de la promoción en expendios de comida, escuelas y en el interior de la unidad de salud, cada que acudan los pacientes a consulta para que sean orientados hacia como debe ser el proceso.

Actualmente en el municipio, los expendios de comida cuentan con medidas sanitarias como un lugar para que el cliente lave sus manos o use gel antibacterial antes de consumir los alimentos, sin embargo, la vía pública no está exenta de contaminación fecal debido a perros callejeros o a basura depositada en la calle por los peatones. Por lo que se sugiere en la medida de lo posible no consumir alimentos en la calle y en caso de ser necesario, lavarse las manos y usar gel antibacterial.

Desinfección del agua

En México el agua potable se desinfecta mediante la cloración, para inactivar agentes patógenos; sin embargo, la efectividad del procedimiento no siempre es la óptima, debido a la concentración del tratamiento, el volumen de agua a sanear, el desgaste de la tubería o la falta de capacitación en el personal. Este procedimiento generalmente se evalúa por la

determinación del cloro residual, cuya presencia en la toma domiciliaria indica la eficiencia de la desinfección. No obstante, es muy común ver que en realidad dicha evaluación se realiza directamente en las fuentes de abastecimiento y no en los domicilios. Además, de que debería complementarse el proceso de desinfección a través de otro método como el de la radiación UV, para garantizar la eliminación de ciertos parásitos como *Cryptosporidium* y *Giardia intestinalis*.

Por otro lado, en casa se debe hervir el agua potable por cinco minutos antes de usarse para tomar, lavarse los dientes, hacer hielo, lavarse las manos antes de comer, lavar trastes, limpiar superficies de cocina y alimentos crudos, preparar otros líquidos como leche de niños, aguas frescas, té, jugos congelados.

Es importante acudir a esta medida cuando las pruebas de calidad del agua, indiquen que el agua para uso público pudiera estar contaminada con desechos humanos, cañerías o animales y hervir agua para estar seguros que la población no se enfermará al beberla (Harold N., 2005).

Consumo de agua purificada y/o potable

El agua purificada es el agua usada generalmente para consumo humano, es lo más cercano al agua potable que se tomaba hace miles de años por el hombre. Como su nombre lo dice es agua potable que se somete a diferentes procesos de purificación, para poder lograr los estándares de calidad que le dan el nombre de agua purificada, que generalmente son más estrictos que los del agua potable normal.

La mayoría de las veces es sometida a los siguientes procesos de cloración, filtración por lecho profundo, filtración por carbón activado (Absorción), desmineralización por Intercambio Iónico, osmosis inversa, luz ultravioleta, pulido a 5 micras, ozonización, pulido

a 1 micra con absorción por cartucho de carbón activado y análisis de laboratorio certificado por SSA (Aquaker, 2017).

También se debe evitar beber agua no tratada de pozos poco profundos, lagos, ríos, manantiales, estanques y arroyos, a menos que esté filtrada o hervida. A través del Programa Conjunto de Monitoreo (PCM) de la OMS y UNICEF, regulan el agua potable salubre y el saneamiento básico a nivel mundial, ya que la provisión del vital líquido es un factor determinante en la salud de la población, evitando su exposición a diversos agentes patógenos. Por lo que el manejo adecuado de los servicios permitirá reducir la mortalidad y morbilidad de la población. El control del agua para que siempre sea potable, se debe hervir, y clorar en casa.

Actualmente en el municipio de Tlaxcoapan, el total de viviendas asciende a 4,555 en donde existe una cobertura de servicios básicos satisfactoria. En agua potable se cuenta con un total de 3,230 tomas domiciliarias instaladas; el nivel es considerablemente bueno para estos dos servicios básicos y en relación al drenaje, la cobertura del servicio alcanza a todas sus localidades (INEGI, 2010).

Estos datos nos indican que este factor está cubierto en su mayor parte, por lo que la única propuesta por realizar, sería brindar un mantenimiento oportuno a la infraestructura con la que se cuenta actualmente y por parte de la población que se mantengan limpios y cerrados los contenedores de agua para consumo en el hogar.

Aspectos económicos y sociales

En el contexto actual de la situación ambiental y ecológica mundial, así como la regional se manifiesta uno de los problemas de mayor trascendencia, no sólo por las fuertes desigualdades que impone su distribución geográfica, tanto en el tiempo como en el espacio, sino, sobre todo, por las decisiones políticas y económicas que determinan nuestra relación social con este vital líquido (Peña García A., 2007).

Su presencia abundante en nuestro planeta y su capacidad natural de renovación, con frecuencia nos han llevado a olvidar que la disponibilidad para el consumo humano no tiene relación alguna con su volumen, y que más bien, la primera depende principalmente de diversos factores económicos y políticos.

Nuestra dependencia de agua para satisfacer las necesidades fisiológicas y para otros usos como la higiene y todas las actividades económicas que a diario realizamos, así como el hecho de estar estrechamente ligada a factores sociales como la salud, la pobreza, la disponibilidad de alimentos, el bienestar y los derechos humanos, exige soluciones inmediatas (Peña García A., 2007).

En este sentido es esencial fomentar conciencia en la población para que cuide y proteja el vital líquido, ya que hasta ahora no se dispone de agua tratada para actividades distintas al consumo. No obstante, aún es difícil involucrar a la sociedad a que participe en el ahorro de la misma, ya que esta considera que, por pagar una cuota, existe el derecho a desperdiciarla.

Actualmente diversos programas escolares fomentan acciones en favor del cuidado del agua, sin embargo, es necesario destinar más recursos humanos, económicos y tiempo en las instituciones educativas, laborales, etc., y se tenga un mayor impacto en la población.

Educación

La educación es una pieza fundamental para lograr los objetivos de esta propuesta, ya que a partir de ella se logra concientizar a la población sobre la problemática de impacto ambiental que se tiene en la región y sobre las medidas que podemos llevar a cabo para disminuir los factores de riesgo y hacer un entorno seguro para la población. En la actualidad se han generado en muchos países nuevas formas de aprendizaje para acercar a cada persona la posibilidad de adquirir conocimientos específicos (Agüin V., Melendez R., & Cisneros L.E., 2011).

Por lo tanto, es de vital importancia que el individuo conozca las acciones que puede realizar casa como: hervir el agua de consumo, lavar las verduras con agua, cocinar muy bien los alimentos, lavarse las manos antes de manipular los alimentos y después de ir al baño, promocionar la lactancia materna, no caminar descalzo en tierra o arena húmedas y mantener una buena limpieza general del hogar (WHO, 1987).

A pesar de que muchas de estas acciones son difundidas por las instituciones de salud de países latinoamericanos, es necesario mantener las casas libres de bolsas de basura que atraen moscas, roedores e insectos, lo cual, si bien puede parecer difícil en comunidades rurales debido al deficiente servicio de aseo urbano, es sumamente necesario (WHO, 2006).

Es necesario que estas medidas sean consideradas en la promoción de la salud y que las amas de casa las conozcan a nivel de dominarlas en el interior de los hogares. Además de que se realicen más investigaciones en torno a intervenciones y trabajos comunitarios, pues la mayoría de las veces se considera que esta responsabilidad le corresponde solo a instituciones municipales y sanitarias, cuando en realidad quien tiene un mayor papel en esto son las jefas de familia.

Servicios básicos de saneamiento

Como parte del deber de las instituciones públicas que trabajan en función a la calidad ambiental del agua, se encuentra vigilar, mejorar, mantener y prevenir la contaminación de los cuerpos de agua, para lo cual se desarrollan e implementan diversas actividades dirigidas a cumplir con este propósito. Entre las actividades más relevantes están: desarrollar estrategias para el manejo y control de las fuentes de contaminación que pueden impactar nuestros cuerpos de agua implantar programas de control para aquellas actividades que generen contaminación; implantar acciones de restauración para los cuerpos de agua que no logren los estándares de calidad de agua establecidos; y establecer reglamentación para designar los usos de los cuerpos de agua y regular los contaminantes (JCA, 2017).

De acuerdo a lo anterior, es necesario mejorar la administración de los recursos hídricos para atender las necesidades de agua potable, saneamiento e higiene y con ello salvaguardar la salud de millones de personas, así como garantizar importantes beneficios económicos a largo plazo. El mejor escenario dentro del tema del agua, sería la creación de un enfoque integral de sanidad humana y la gestión de los recursos hídricos, incluyendo a los grupos más vulnerables no solo de los entornos urbanos, sino también de los rurales.

Por lo que el manejo adecuado de los servicios permitirá reducir la mortalidad y morbilidad de la población. En México las enfermedades diarreicas han podido reducirse gracias a diversas intervenciones en salud pública; como la distribución del suero oral, campañas de vacunación, programas diversos. Así como de inversión en infraestructura; cobertura de agua potable, alcantarillado y saneamiento adecuado.

Desde luego que es importante incluir a la población a través del empoderamiento en cuestión de su educación, fomento de la cultura, acciones básicas de higiene; como el lavado correcto de manos, preparación de alimentos y mejora de condiciones socioeconómicas.

El suministro de agua potable segura, el saneamiento y una adecuada gestión del agua son fundamentales para la salud pública. Casi una décima parte de las enfermedades en el mundo podrían prevenirse a través de:

- ☞ El aumento del acceso a agua potable segura
- ☞ La mejora en el saneamiento y la higiene
- ☞ Mejora de la gestión del agua para reducir los riesgos de enfermedades infecciosas transmitidas por el agua y ahogamiento accidental durante la recreación.

El agua segura podría prevenir anualmente: 1,4 millones de muertes infantiles por diarrea, 500, 000 muertes por malaria, 860, 000 muertes de niños por desnutrición y 280, 000 muertes por ahogamiento. Además, 5 millones de personas pueden ser protegidas de verse gravemente incapacitadas por filariasis linfática y otros 5 millones de tracoma (ONU, 2015). Por esta razón es importante que las medidas mencionadas anteriormente respecto a la desinfección del agua sean consideradas en las dependencias gubernamentales y en el interior de los hogares a través de saneamiento básico como hervir y radiación UV a partir de la energía solar en un contenedor limpio y desinfectado.

Acciones administrativas

La ejecución de acciones necesarias y mediante los medios más adecuados, para la armonización y coordinación en actuaciones de las distintas administraciones local, autonómica y nacional con competencias para la correcta adecuación de normas, leyes y técnicos de aplicación. Así también la realización de evaluaciones del riesgo, de sustancias y materiales en contacto con el agua de consumo humano, con el fin de proporcionar un alto grado de protección de la salud.

Además, es necesario la regulación administrativa y realización de evaluación del riesgo de los criterios sanitarios, no controlados hoy día. La consolidación de planes de vigilancia, de los sistemas y medios destinados a la información a la población, el establecimiento de la cartera de servicios de sanidad ambiental.

Es importante la creación de un grupo de trabajo multidisciplinar para la unificación de la terminología en los ámbitos sanitario y medio ambiental, de acuerdo con el contenido de la normativa de aplicación, con objeto de evitar confusiones y errores en la interpretación de la información, para que las dependencias establezcan una comunicación acertada y objetiva sobre los indicadores microbiológicos por medir.

El desarrollo de sistemas de información de consulta abierta al ciudadano sobre los efectos de los riesgos medioambientales asociados al agua sobre su salud, así como la inclusión de conceptos e información básica en los programas de educación y legislación actual.

Finalmente, la existencia de coordinación y potenciación de líneas de trabajo e investigación conjuntas, entre instituciones de Sanidad, Consumo, Medio Ambiente y las consejerías competentes, para dar seguimiento a los objetivos que se establezcan en el Plan Nacional de Salud y Medio Ambiente. A través de una evaluación del impacto en la salud de la ejecución

del informe Aguas y Salud Pública elaborado para el Plan Nacional de Salud y Medio Ambiente. (Martín Delgado & Pita Toledo, 2007) forman parte de las acciones que se estipulan para una correcta gestión del recurso hídrico, sin embargo, nuestro país y en particular nuestro estado no la logrado esa compatibilidad de labores y normas bajo las que operan instituciones como Comisión Nacional del Agua, Secretaría de Salud y Comisión de agua y Alcantarillado de Sistemas municipales de Hidalgo.

Capacitación de personal

Con objeto de conseguir los objetivos de prevención y control incluidos en la legislación nacional se propone la profesionalización del personal dedicado a la realización de las actividades de mantenimiento higiénico sanitario de las instalaciones públicas y particulares (Martín Delgado & Pita Toledo, 2007).

Las reformas del sector salud que comenzaron a principios de los noventa representaron una oportunidad importante para el desarrollo de la capacitación del personal de los servicios de salud y una puesta a prueba de los enfoques educacionales existentes. Cuando muchos países de la región iniciaron procesos de reforma de sus sistemas de salud apoyándose en proyectos de desarrollo institucional o de inversión, se presentaron también enormes desafíos para la capacitación; ya no se trataba de capacitar, desde las unidades centrales de los ministerios, a grupos acotados por su adscripción a programas verticales en aspectos normativos y técnicos de su quehacer específico, sino de capacitar a grandes contingentes de personal para descentralizar el sistema, para asegurar nuevas prácticas en nuevos modelos de atención, para resolver sobre la marcha por la vía de la capacitación problemas de gestión u organización claves para las reformas. Todo ello estaba enmarcado en proyectos con financiamiento considerable y modalidades de gestión que incluían mecanismos de mercado (Brito P., 2002).

Dicha capacitación debe ser implementada tanto en personal de salud, como en administrativa, con el fin de establecer una comunicación homogénea tal como se mencionó anteriormente. Además de implementar las mismas unidades de medición respecto a la calidad del agua, para todas las instituciones que dirigen el tema del agua.

Cobertura de necesidades básicas de alimentación y vivienda

Tlaxcoapan cuenta con un total de viviendas de 4,555, teniendo a 22,424 ocupantes con un promedio por vivienda de 4.92; concentrándose en la cabecera un gran porcentaje de ellas. La mayor parte de las viviendas están construidas de materiales como adobe, tabique, block, madera y barro; los techos son fabricados en su mayoría de concreto, lámina o madera. La cabecera municipal junto con estas comunidades, concentran a más del 95% de la población. Aquí cuentan con los mejores niveles en servicios básicos y la marginación en general es de baja a muy baja para el resto de las comunidades (INAFED, 2002).

Por lo que se considera fundamental que las necesidades básicas estén satisfechas: alimentación, vivienda, educación, vestimenta como factores importantes en la prevención de todas las parasitosis. Así como de inversión en infraestructura; cobertura de agua potable, alcantarillado y saneamiento adecuado, abastecimiento de agua salubre en cantidad suficiente, eliminación higiénica de excretas, eliminación de desechos sólidos, desagüe, higiene doméstica(OMS, 1990)

Además de la finalidad básica de albergar al ser humano contra factores ambientales y darle un espacio para la vida familiar, la vivienda debe protegerle contra los riesgos del entorno físico y social para la salud.

Lo ideal sería que la vivienda fomentara la salud física y mental y proporcionara a sus ocupantes seguridad psíquica, vínculos físicos con su comunidad y su cultura y un medio para expresar su individualidad.

Lamentablemente, la mayor parte de la población mundial vive en viviendas que no permiten gozar plenamente de esas ventajas. Un gran número de ellas, cada vez más considerable, no sólo no protege la salud de sus moradores, sino que los expone más a riesgos ambientales que a menudo podrían evitarse. Están particularmente expuestas las personas que se ven atrapadas en un rápido proceso de urbanización con recursos limitados y políticas públicas inadecuadas.

Las fuerzas subyacentes que condenan a la gente a condiciones de vivienda deficientes o inaceptables son la pobreza, el insuficiente desarrollo económico, el crecimiento de la población, la migración y la falta de acceso equitativo a tierra y alojamiento. Esas fuerzas pueden ser insuperables, sobre todo en los países en desarrollo, donde las condiciones de vivienda se están deteriorando en muchos lugares. Las viviendas deficientes y mal utilizadas no brindan defensa adecuada contra la muerte, las enfermedades y los accidentes e incluso aumentan la vulnerabilidad ante ellos. En cambio, las buenas condiciones de alojamiento no sólo protegen contra los riesgos sanitarios, sino que promueven la salud física, la productividad económica, el bienestar psíquico y la energía social (OMS, 1990).

Esta propuesta sin duda, depende de diversos factores sociales y económicos, ya que en la población siempre existirá algún grado de marginación, no obstante, puede ser modificado de manera gradual a través de la propuesta educativa que concientice a la población a obtener mejores condiciones de vida y la responsabilidad del gobierno se aminore, eliminando su

carácter paternalista y fomentando el apoyo al desarrollo social, que brinde resultados productivos y de mejora comunitaria. En Tlaxcoapan, se puede manifestar ese apoyo hacia actividades primarias y el comercio, como principales fuentes de ingreso que se han desarrollado en el municipio y de las cuales subsiste la mayor parte de la población.

Servicios de Salud

Atención médica oportuna

Cabe señalar que Tlaxcoapan tiene una oferta adecuada de los servicios médicos, para satisfacer la demanda requerida por sus habitantes, esto principalmente en lo que se refiere a la atención de carácter general. Así, cuenta para ello con tres centros de atención externa de los Servicios de Salud de Hidalgo; un centro de atención externa del IMSS y uno más del ISSSTE. A pesar de esto, cabe hacer notar la falta de infraestructura médica respecto a la prestación de servicios hospitalarios, tanto de forma general como especializada.

En México las enfermedades diarreicas han podido reducirse gracias a diversas intervenciones en salud pública; como la distribución del suero oral, campañas de vacunación, programas diversos. Sin embargo, en caso de sospecha y síntomas de enfermedades intestinales, es importante realizar pruebas clínicas para descartar su presencia que estén incluidas en los servicios de salud sin un costo adicional.

La secretaria de Salud ha promovido la generación y uso de tecnología apropiada para evaluar la calidad bacteriológica y, en su caso, desinfectar el agua que se consume en las comunidades suburbanas y rurales, como parte de una estrategia indispensable para alcanzar la meta de "Salud para todos en el año 2000". No obstante, es necesario que dichas evaluaciones se realicen de manera constante y en caso de notificación positiva a parásitos en agua se notifique a la población que tome medidas adicionales de desinfección en agua.

El desarrollo de tecnologías que permitan la evaluación bacteriológica y desinfección del agua, se justifica en los resultados que arroja el análisis de los índices sobre morbi-mortalidad referentes a las enfermedades gastrointestinales, hepatitis y cólera, tanto en la República Mexicana como en otras enfermedades que pueden relacionarse con la ingestión de agua contaminada por bacterias, no adecuada para el consumo del ser humano; sin olvidar otros factores que las determinan, como los económicos, sanitarios y culturales (Juárez Mendoza J., 1990)

El saneamiento puede reducir la mortalidad evitable de enfermedades infecciosas intestinales hasta de un 16%. (SVA, 2016). Para lograr una reducción en la morbilidad y mortalidad de enfermedades infecciosas intestinales, es necesario combinar varias intervenciones de salud pública, educación y los factores de riesgo ambiental.

Vigilancia y prevención de enfermedades

En México la secretaria de Salud (SSA) ha promovido la generación y uso de tecnología apropiada para evaluar la calidad bacteriológica y, en su caso, desinfectar el agua que se consume en las comunidades suburbanas y rurales, como parte de una estrategia indispensable para alcanzar la meta de "Salud para todos en el año 2000". El desarrollo de tecnologías que permitan la evaluación bacteriológica y desinfección del agua, se justifica en los resultados que arroja el análisis de los índices sobre morbi-mortalidad referentes a las enfermedades gastrointestinales, hepatitis y cólera, tanto en la República Mexicana como en otras enfermedades que pueden relacionarse con la ingestión de agua contaminada por bacterias, no adecuada para el consumo del ser humano; sin olvidar otros factores que las determinan, como los económicos, sanitarios y culturales (Juárez Mendoza J., 1990)

Para lograr una reducción en la morbilidad y mortalidad de enfermedades infecciosas intestinales, es necesario combinar varias intervenciones de salud pública, educación y los factores de riesgo ambiental.

El saneamiento puede reducir la mortalidad evitable de enfermedades infecciosas intestinales hasta de un 16%. (Fondo para la comunicación y educación ambiental, 2016). La CONAGUA clasifica las intervenciones para disminuir la mortalidad y morbilidad de enfermedades diarreicas como se observa en la tabla 35:

Tabla 35. Intervenciones para disminuir morbilidad-mortalidad por infecciones intestinales.

Salud Pública	Higiene	Factores de Riesgo Ambiental
<ul style="list-style-type: none"> •Lactancia materna de seis meses. •Vacunación universal •Nutrición apropiada •Reconocer signos vitales de la enfermedad y aprender terapia de hidratación oral. •Desparasitación 	<ul style="list-style-type: none"> •Lavado de manos •Manejo apropiado de alimentos, lavado y desinfección •Desinfección de agua •Limpieza constante del hogar •Baño diario 	<ul style="list-style-type: none"> •Cobertura Universal de Agua potable •Cobertura Universal de Saneamiento •Contaminación de mantos freáticos •Calentamiento global •Sequías •Cambios meteorológicos

Fuente: Elaboración propia a partir de (Collado J., 2008)

Los métodos convencionales para desinfectar el agua con cloro, aun en poblaciones urbanas, pierden su eficacia por múltiples causas. Por ello, la SSA en coordinación con la Organización Panamericana de la Salud (OPS) promueve la aplicación de la tecnología desarrollada para desinfectar el agua mediante la generación *in situ* de gases oxidantes, cloro, ozono (Juárez Mendoza J., 1990). Sin embargo, la difusión de métodos alternativos se ve limitada debido a los problemas asociados con la confiabilidad, operación, mantenimiento,

costos, sabor resultante y, particularmente en el caso de la ebullición, la disponibilidad de fuentes de abastecimiento de combustible, por lo que uno de los métodos más simples y menos costosos de proveer de agua segura para el consumo humano a las comunidades rurales es el uso de radiación ultravioleta para inactivar bacterias y otros patógenos.

La luz ultravioleta (UV) es una alternativa al tratamiento con cloro y el ozono, tanto en agua potable como en la residual. Brinda una desinfección efectiva sin generar subproductos de desinfección problemáticos, dañando foto químicamente los ácidos nucleicos de los agentes patógenos. De acuerdo a la longitud de onda, puede inactivar una amplia gama de bacterias, virus, protozoarios y levaduras (Cairns, 2016) por lo que resulta un método eficaz complementario o adicional a la cloración. Hasta ahora, ningún otro medio de desinfección es tan efectivo como la luz UV. Además, no cambia las propiedades del agua ni afecta a quien la usa o bebe.

Referencias

- Abrahams-Sandí, E., ME. Solano, B. Rodríguez. (2005). Prevalencia de parásitos intestinales en escolares de Limón Centro, Costa Rica. *Rev. Costarric. Cienc. Méd.*, 26:33-38.
- Agüin V., Melendez R., & Cisneros L.E. (2011). Prevención de parasitosis intestinal mediante técnicas de educación a distancia. *Revista cubana de salud pública*.
- Alarcón M.A., Beltrán M., Cardenas M.L., & Campos M.C. (2005). Recuento y determinación de viabilidad de *Giardia spp.* y *Cryptosporidium spp.* en aguas potables y residuales en la cuenca alta del río Bogotá. *Biomédica*, 25:353-65.
- Albrecht H., Stellbrink H.J., Koperski K., & Gret H. (1995). *Blastocystis hominis* in human immunodeficiency virus-related diarrhea. *Scand. J. Gastroenterol*, (30) 909-914.
- Ali I.K. . (2015). Intestinal amebae. *Clin Lab Med.*, 35(2):393-422.
- Alparo, I. H. (2015). Giardiasis y desnutrición. *Revista de la sociedad boliviana de pediatría*, 166-173.
- Alvarado Gutiérrez M.L., Contreras Triana M.L., Meléndez Molina Z., Rodríguez Espinoza B., Rodríguez L., & Acevedo González V.S., (22 de Noviembre de 2016). *Giardiasis*. Obtenido de Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Instituto de Ciencias Biomédicas.: <http://giardiasis2013.blogspot.mx/>
- Alvárez Ch. R. , Siqueiros D.L., & De la Cruz O.C. (1995). Frecuencia de *Blastocystis hominis* en niños atendidos en el Instituto Nacional de Pediatría. *Rev Mex Patol Clin*, 42:26;30.
- Andrade M.P. (03 de Marzo de 2016). Obtenido de Sintomatología: <https://www.definicionabc.com/salud/sintomatologia.php>
- Ankarklev J.; Jerlström-Hultqvist J.; Ringqvist E, T. (2010). Review. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nat Rev Microbiol*, doi:10.1038/nrmicro2317.
- Anuar TS., Ghani MK., Azreen SN., Salleh FM., & Moktar N. (2013). *Blastocystis* infection in Malaysia: Evidence of waterborne and human-to-human transmissions among the Proto-Malay, Negrito and Senoi tribes of Orang Asli. *Parasit Vectors.*, 6:40.
- Aquaker. (2017). Plantas purificadoras de agua, osmosis inversa, agua destilada y más. Obtenido de http://www.living-water.org/agua_purificada.html
- Arguello M. , & Gómez RD. . (2000). De la *Entamoeba histolytica* a la enfermedad amibiana. Bogotá: Laboratorios Syntesis, pp. 13-28.
- Arisue N., Hashimoto T., Yoshikawa H., Nakamura Y., & Nakamura F. (2002). Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* and of stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. *J Eukaryot Microbiol.*, 49:42–53.

- Arroyo Salgado B., Buelvas Montes Y., Villalba Vizcaíno V., & Salomón Arzuza O. (2012). Caracterización genética por reacción en cadena de la polimerasa de *Giardia intestinalis* en muestras de humanos y perros del Caribe colombiano. *Enf. Inf. Microbiol. Clínica*, 424-427.
- Barahona L., Maguiña C., Náquira C., Terashima A., & Tello R. (2002). Sintomatología y factores asociados al parasitismo por *Blastocystis hominis*. *Parasitol Latinoam*, 57: 96-102.
- Bartelt L.A. Platts-Mills J.A. (2016). Giardia: a pathogen or commensal for children in high-prevalence settings? . *Curr Opin Infect Dis.* , Oct;29(5):502-7. doi: 10.1097/QCO.0000000000000293.
- Basualdo J., Pezzani B., De Luca M., Cordoba A., & Apezteguia M. (2000). Screening of the municipal water system of La Plata, Argentina, for human intestinal parasites. *Int J Hyg Environ Health.*, 203:177-82.
- Basualdo J.P., Luca M.D. , Córdoba A., & Apezteguía M. (2000). Screening of the municipal water system of La Plata, Argentina, for human intestinal parasites. *Int J Hyg EnvironHealth*, 203: 177-182.
- Baxt L.A., & Singh U. . (2008). New insights into *Entamoeba histolytica* pathogenesis. *Curr Opin Infect Dis.*, Oct;21(5):489-94.
- Bazant J.S. (2010). *Hacia un desarrollo urbano sustentable* (1era. ed.). México: Limusa.
- Becerril M.A. (2014). *Parasitología Médica*. México: Mc Graw Hill Education.
- Bembibre C. (01 de Noviembre de 2010). Obtenido de Hacinamiento: <https://www.definicionabc.com/social/hacinamiento.php>
- Bembibre C. (14 de Febrero de 2011). Obtenido de Localidad: <https://www.definicionabc.com/?s=Localidad>
- Benavides R., & Chulde, A. (2007). Parasitosis intestinal en niños menores de cinco años que acuden al centro de salud No. 1 de la ciudad de Tulcan de enero a junio del 2007. Tulcán, Ecuador.
- Benetton M.L.F.N., Goncalves A.V., Meneghini M.E.F., Silva E.F., & Carneiro F. (2005). Risk factors for infection by the *Entamoebahistolytica/E. dispar* complex: An epidemiological studyconducted in outpatient clinics in the city of Manaus,Amazon Region, Brazil. *Trans R Soc Tro. Trans R Soc Trop Med Hyg* , 99: 532-540.
- Bernal R. R., Hernández S.G., & Ramírez H. E. (1998). Protozoos emergentes: comparación de tres métodos de identificación. *Rev Mex Patol Clin*, 45: 1939.
- Bernal R.R., Hernández S.G., & Ramírez H.E. (1998). Protozoos emergentes: comparación de tres métodos de identificación. *Rev Mex Patol Clin* , 45: 193-199.

- Biagi F. (2015). El papel de la persona en el control de la contaminación fecal del ambiente. *Revista de gastroenterología de México*, 463-66.
- Botero D. (1981). Persistencia de parasitosis intestinales endémicas en América Latina. *Bol Ofic Sanit Panam*, 90: 39-7.
- Bracho M., Reyes P., Botero L., & Sarcos M. (2007). Presencia de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia*. *Ciencia*, 164-171.
- Brito P. (Abril de 2002). *La Capacitación del Personal*. Obtenido de <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/2780.pdf>
- Brooks Geo F., Butel J.S., & Morse S.A. (2005). *Microbiología Médica de Jwetz, Melnick y Adelberg*. Mexico: Manual moderno.
- Bundy D. A. P. (1997). This wormy world- Then and now. *Parasitol Today*, 13: 407-8. .
- Cabrera Cruz, R.B.E., Gordillo Martínez A.J., & Cerón Beltrán A. . (6 de Octubre de 2003). *Inventario de contaminación emitida a suelo, agua y aire en 14 municipios del Estado de Hidalgo, México*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37019402>
- Cacciò S.M., Giacomo M., & Pozio E. (2002). Sequence analysis of the beta-giardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from humanfaecal samples. . *Int J Parasitol.* , 32:1023-30.
- Caccióa S.M, S. H. (2009). Cacciòda SM, Sprong H. *Giardia duodenalis*: Genetic recombination and its implications for taxonomy and molecular epidemiology. *Exp Parasitol*, Jan 2010;124(1):107-112 doi:10.1016/j.exppara.2009.02.007.
- Cairns, H. B. (2016). Recuperado el 12 de Noviembre de 2016, de Desinfección de Agua por medio de luz ultravioleta: http://usam.salud.gob.sv/archivos/pdf/agua/LUZ_ULTRAVIOLETA.pdf
- Cardona E., Castañeda S., Álvarez M.E., Pérez J.E., Rivera Paez F.A., & López Gartner G.A. (2013). Comparación de métodos convencionales y moleculares para la detección de *Giardia lamblia* en heces humanas. *Rev Luna Azul*, 159-170.
- Carrascosa M., Martinez J., & Perez Castrillon J.L. (1996). Hemorrhagic proctosigmoiditis and Blastocystis hominis infection. *Ann. Intern. Med.*, (124) 278–279.
- Casapía M.S.J., Núñez C., Rahme E., & Gyorkos T. (2006). Parasiterisk factors for stunting in grade 5 students in a commu-nity of extreme poverty in Peru. *Int J Parasitol*, 36:741-747.
- Cassidy MF., Stenzel DJ., & Boreham PF. . (1994). Electron microscopy of surface structures of Blastocystis sp. from different hosts. *Parasitol Res.*, 80:505–11.
- Cavalier-Smith T. . (1998). A revised six-kingdom system of life. *Biol Rev Camb Philos Soc.*, 73:203–66.

- CDC. (26 de Mayo de 2018). Obtenido de Center for Disease Control and Prevention. Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern: <https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html>
- CDC. (26 de Mayo de 2018). Obtenido de Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern: <https://www.cdc.gov/dpdx/intestinalamebae/index.html>
- CDC. (26 de Mayo de 2018). *Center for Disease Control and Prevention*. Obtenido de <https://www.cdc.gov/parasites/index.html>
- Cepis O. . (21 de Septiembre de 2001). *Evaluación y manejo del Riesgo*. Obtenido de Manual de Evaluación y Manejo de Sustancias Tóxicas en Aguas Superficiales: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaca/e/fulltext/manueval.html>
- Cerdas, C. E. (2003.). Parásitos intestinales en la escuela 15 de agosto, Tirrases de Curridabat, Costa Rica. Mayo-Junio de 2002. . *Rev. Costarric. Cienc. Méd.* , 24:127-133.
- Certad G, Viscogliosi E, Chabé M, Cacciò S.M. (2017). Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends Parasitol.*, Jul;33(7):561-576. doi: 10.1016/j.pt.2017.02.006.
- Chacín Bonilla L. (1990). El problema de las parasitosis intestinales en Venezuela. . *Invest Clin*, 31: 1-2.
- Chan M.S. (1997). The global burden of intestinal nematode infections-Fifty years on. *Parasitol Today*, 13: 438-43. .
- Chandra Parija S., & Jeremiah,S.S. (2013). *Blastocystis*: Taxonomy, biology and virulence. *Trop Parasitol*, v.3(1); Jan-Jun .
- Chin J. (2001). *El control de las enfermedades transmisibles*. Washington, D.C: OPS & PAHO Publications.
- Chin, J. (2001). El control de las enfermedades transmisibles. *PAHO Publications*. Washington, D.C: .
- CIOMS. (2015 de noviembre de 1991). Consejo de organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas. Pautas Internacionales para la evaluación ética de los estudios epidemiológicos.
- Claerebout E., & Vercruyse J. . (20 de Mayo de 2007). *Cryptosporidium and Giardia in calves in Belgium*. Obtenido de https://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/216/298/RUG01-001216298_2010_0001_AC.pdf
- CNA. (20 de mayo de 2018). Obtenido de <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/Libros/07/DesinfeccionParaSistemasDeAguaPotableySaneamiento.pdf>

- CNPE. (21 de Noviembre de 2016). *Consejo Nacional de Política Económica. Departamento Nacional de Planeación*. Obtenido de Documento Conpes 109 Social: Política pública nacional de primera infancia “Colombia por la primera infancia”: <https://www.dnp.gov.co/Paginas/PageNotFound.aspx?requestUrl=https://www.dnp.gov.co/Portal>
- Collado J. (2008). Recuperado el 7 de Noviembre de 2016, de Interrelaciones, agua y salud pública en México: [http://conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/OMM-PREMIA_064_Agua&salud\(p\).pdf](http://conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/OMM-PREMIA_064_Agua&salud(p).pdf)
- CONAGUA. (17 de Abril de 2017). *Normas Oficiales Mexicanas*. Obtenido de <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAA-15-13.pdf>
- COPRISEH. (2015). Recuperado el 7 de Noviembre de 2016, de Evaluación de riesgos del Proyecto de Agua de Calidad Bacteriológica, Hidalgo.: http://www.cofepris.gob.mx/transparencia/documents/3.7_resultados_relevantes_irc.pdf
- Cruz L.V., Plancarte C.A., & Morán A.C. (2003). *Blastocystis hominis* among food vendors in Xochimilco markets. *Rev Latinoam Microbiol* , 45:12-5.
- Devera R., Cermeño J., Blanco Y., & Bello M.C. (2003). Prevalencia de blastocistosis y otras parasitosis intestinales en una comunidad rural del Estado Anzoátegui, Venezuela. *Parasitol Latinoam*, 95-100.
- Díaz E., Mondragon J., Ramírez E., & Bernal R.M. (2003). Epidemiology and control of intestinal parasites with nitazoxanide in Children in México. *Am J Trop Med Hyg*, 68 (4) 384-385.
- Duerden B.I., Reid T.M.S., Jewsbury J.M., & Turk D.C. (1993). *Microbiología de las enfermedades infecciosas*. México: Limusa editores.
- Eckmann L., & Gillin F.D.: (2001). Pathophysiological aspects of enteric infections with the lumen-dwelling protozoan pathogen *Giardia lamblia*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 280: G1–G6.
- Einarsson E., Ma’ayeh S., Svärd S. (2016). An up-date on Giardia and giardiasis. *Current Opinion in Microbiology*. 34: 47–52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2016.07.019>.
- Enciclopedia Británica. (06 de Mayo de 2018). *Incidencia*. Obtenido de <https://www.britannica.com/search?query=INCIDENCIA>
- Enciclopedia Británica. (06 de Mayo de 2018). *Prevalencia*. Obtenido de <https://www.britannica.com/science/prevalence>
- Enciclopedia Británica. (06 de Mayo de 2018). *Prevalencia*. Obtenido de <https://www.britannica.com/science/prevalence>

- Environment Agency. (21 de Septiembre de 2003). *The microbiology of sewage sludge*. Obtenido de An overview of treatment.
- Escobedo L.G., Homedes N., Von Alt K., & Escobedo M.A. (2004). Intestinal Parasites in Children from Three West Texas Border Communities. *Journal of School Health*, 74 (10) 411-413.
- Escobedo L.G., Homes N., Von Alt K., & Escobedo M A. (2004). Intestinal parasites in children from three west Texas border communities. *J School Health*, 74: 411-3.
- Farthing, M. J. (1997). The molecular pathogenesis of Giardiasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutri*, 79-88.
- Faust E.C., Rusell P.F. , & Jung R.D. . (1974). *Parasitología Clínica*. México: Primera Edición: Salvat Editores.; 135-70.
- Feres J.C., & Mancero X. . (01 de Diciembre de 2017). *El Método de las Necesidades Básicas Insatisfechas (NBI) y sus aplicaciones en América Latina*. CEPAL. Obtenido de <http://msuntref.iespana.es/demo/metodo%20nbi.pdf>
- Flissera , Reynoso O., & Ambrosio J. (2002). Identificación y tratamiento de parasitosis intestinales en la población de Coapeche, Veracruz. *Rev Fac Med*, 45:14-6.
- Fondo para la comunicación y educación ambiental. (05 de mayo de 2016). Recuperado el 7 de Noviembre de 2016, de agua.org.mx: <http://www.agua.org.mx/biblioteca-tematica/geografia-del-agua/1320-agua-en-mexico/34645-prontuario-del-agua>
- Fonte Galindo L., Fong González A., Méndez Sutil Y., & Moreira Perdomo Y. (2014). Patogenicidad de *Blastocystis* sp. Evidencias y mecanismos. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 312-321.
- Foronda P., Bargues MD., Bargues M.D., Abreu Acosta N., Periago MV., Valero M.A., & Valladares B. (2008). Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* of human isolates in Egypt. . *Parasitol Res.* , 103:1177-81. .
- Galindo Escamilla E., & Palerm Viqueira J. (2007). Pequeños sistemas de agua potable: entre la autogestión y el manejo municipal en el Estado de Hidalgo, México. *Agricultura, sociedad y desarrollo* .
- Galván Ramírez M. L., Madriz Elisondo M.L., & Bernal R. (2007). Biodiversidad parasitaria entre indígenas y mestizos adultos de San Pedro Itzican, Jalisco, México. *Salud Pública Mex*, 49: 321-2.
- Galván Ramírez M.L., Madriz Elisondo M.L., & Bernal Redondo R. (2007). Diversidad parasitaria entre indígenas y mestizos adultos de San Pedro Itzican, Jalisco, México. *Salud Pública Mex*, 49:321-2.

- García Alonso M. (23 de Noviembre de 2016). *Evaluación Evaluación de riesgo ambiental ambiental (ERA): la importancia del contexto*. Obtenido de http://www.cera-gmc.org/files/cera/docs/colombia_2011/monica_garcia.pdf
- Gassman L., & Schwartzbrod J. (1991). Wastewater and *Giardia* cyst. *Water science technology*, 383-86.
- Geeks, C. (1 de Mayo de 2017). *Tratamiento de Aguas residuales y su impacto ambiental*. Obtenido de Ingeniería y construcción: <http://civilgeeks.com/2011/12/08/tratamiento-de-aguas-residuales-y-su-impacto-ambiental/>
- Gelanew T., Lalle M., Hailu A., Pozio E., & Cacciò SM. (2007). Molecular characterization of human isolates of *Giardia duodenalis* from Ethiopia. . *Acta Trop.*, 102:92-9.
- Giraldo Gómez J.M., Lora F., Henao L.H., Mejía S., & Gómez Marín J.E. (2005). Prevalencia de giardiasis y parásitos intestinales en preescolares de hogares atendidos en un programa estatal en Armenia, Colombia. *Rev Salud Pública.* , 7:327-38.
- Gomila Sarda B., Toledo Navarro R. , & Esteban Sanchis J.G. (2011). Amebas intestinales no patógenas: una visión clinicoanalítica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* , 29: 20-28.
- González González MI, & Chiroles Rubalcaba S. (12 de Mayo de 2010). Uso seguro y riesgos microbiológicos del agua residual para la agricultura. *Revistas Medicas Cubanas*, Vol. 37. Obtenido de http://www.bvs.sld.cu/revistas/spu/vol37_01_11/spu07111.htm
- González Vázquez M.C.; Carabarin Lima A.; Baylon Pacheco L.; Rosales Encina J.L.;. (05 de Noviembre de 2012). Obtenido de Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular: <http://www.elementos.buap.mx/num87/htm/13.htm>
- Guerra C. (1993). Ponderación de los Riesgos de origen Microbiano y Químico en la Desinfección del Agua Potable: La Perspectiva Panamericana. *Boletín de oficina sanitaria panamericana*. Vol. 115, 451-454. Obtenido de Boletín de Oficina Sanitaria Panamericana.
- Haney Carr J. (2018). *CDC*. Obtenido de Morfología de *Giardia intestinalis*.
- Harold N. (2 de Mayo de 2005). *New Mexico Environment Department*. Obtenido de https://www.env.nm.gov/dwb/Documents/Public%20Info/Boil%20Water_Spanish.pdf
- Hernández Cortéz C. , Aguilera Arreola M.G., & Castro Escarpulli G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 137-151.
- Hernández, D. C., Franco, J. A., & Camacho, P. (08 de Marzo de 2005). *SEDESOL. Desnutrición Infantil y Pobreza en México*. Obtenido de Cuadernos de Desarrollo Humano: <http://sedesol/2006,sedesol.gob.mx>

- Hernández-Chavarría, F., & Matamoros-Madrigal MF. . (2005.). Parásitos intestinales en una comunidad amerindia. *Parasitol Latinoam*, 60: 182-185.
- Hill Z, K. B. (21 de Noviembre de 2005). *OMS. Ginebra*. Obtenido de Prácticas familiares y comunitarias que promueven la supervivencia, el crecimiento y el desarrollo del niño. Serie OPS/FCH/CA/O5.05.E: <http://www1.paho.org/spanish/ad/fch/ca/si-evidencias.pdf>
- Hinojosa Sada L.E. (29 de Noviembre de 2016). Búsqueda de quistes y huevos de parásitos intestinales en aguas de pozo de San Gregorio Zacapechpan, Mpo. de Cholula, Puebla. Puebla, Cholula, México.
- Ho LC. , Armiugam A., Jeyaseelan K., Yap EH., & Singh M. (2000). *Blastocystis* elongation factor-1alpha: Genomic organization, taxonomy and phylogenetic relationships. *Parasitology*, 121:135–44.
- Hörman A., Korpela H. , Sutinen J., Wedel H., & Hänninen M.L. (2004). Metaanalysis in assessment of the prevalence and annual incidence of *Giardia* spp., and *Cryptosporidium* sp. Infections in humans in the nordic countries. *Int J Parasitol*, 34: 1337-1346.
- INAFED. (24 de 24 de mayo de 2017 de 2002). *Tlaxcoapan, Hidalgo*. Obtenido de <http://intranet.e-hidalgo.gob.mx/enciclomuni/municipios/13074a.htm>
- INAFED. (21 de Septiembre de 2015). *Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México*. Obtenido de Tlaxcoapan: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM13hidalgo/municipios/13074a.html>
- INEGI. (Mayo de 23 de 2010). *Censos y conteos de Población y vivienda*. Obtenido de http://www3.inegi.org.mx/sistemas/iter/consultar_info.aspx
- INEGI. (20 de Abril de 2018). Obtenido de <https://www.indeed.com.mx/cmp/Inegi/salaries?location=MX%2FHID>
- Instituto Nacional de Salud. (1 de Noviembre de 2003). *Manual de procedimientos de Laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre*. Obtenido de Serie de Normas Técnicas No. 31: http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/salud_publica/nor_tec/37.pdf
- Instituto Nacional de Salud Pública;. (15 de Noviembre de 2016). Obtenido de https://www.insp.mx/images/stories/comitesEvaluacion/comiteEtica/docs/Anexo%20A_Carta%20Escrito%20adultos.pdf
- ITIS. (26 de Mayo de 2018). *Integrated Taxonomic Information System*. Obtenido de Endolimax nana (Wenyon and O'connor, 1917): https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=43927#null

- Jawetz, Melnick , & Adelberg. (2005.). *Microbiología médica*. México.18° edición.: Editorial Manual Moderno.Pág. 243-250.
- JCA. (1 de Mayo de 2017). *Portal Oficial del Gobierno de Puerto Rico*. Obtenido de Informe ambiental. Control de Contaminación de las Aguas: <http://www2.pr.gov/AGENCIAS/jca/Documents/Publicaciones%20de%20Inter%20C3%A9s/Informes%20Ambientales/Informe%20Ambiental%202000/1.%20Agua.pdf>
- Jiménez B. , Siebe C. , & Cifuentes E. . (2004). *El reúso intencional y no intencional del agua en el Valle de Tula. En: El agua en México vista desde la Academia. . México, 33-35 pp.: Jiménez y Marin editores. Academia Mexicana de Ciencias.*
- Jiménez B., Siebe C. , & Cifuentes E. (2004). *El reúso intencional y no intencional del agua del Valle de Tula. En: el agua en México vista desde la Academia. México. 33-35 pp.: Jiménez y Marin editores. Academia mexicana de Ciencias.*
- Juárez Mendoza J., M. R. (1990). Evaluación del Ssitema Integral para el tratamiento de agua en un hospital general de la cd. de México. *Salud Pública de México, 32(5)*.
- Junod C. (1995). Blastocystis hominis: commensal habituel du colon. E ´tude de la pre´valence à Paris, dans diverses populations. *Presse Me´dicale, (24) 1684–1688.*
- Keas B.E. (26 de Mayo de 2018). *Parasitología*. Obtenido de <https://msu.edu/course/zol/316/ehistax.htm>
- Koehler AV, Jex AR, Haydon SR, Stevens MA, Gasser . (2014). *Giardia/giardiasis. A perspective on diagnostic and analytical tools. Biotechnology Advances., 32(2): 280-289. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.10.009.*
- Laboratorio Alfa. (29 de Noviembre de 2016). *Parasitología*. Obtenido de <https://alfalaboratorioclinico.wordpress.com/2016/07/13/endolimax-nana/>
- Lalle M., Pozio E. , Capelli G., Bruschi F., & Crotti D. (2005). Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. . *InterJ Parasitol. , 35:207-13. http://dx.doi.org/10.1016/j.*
- Lalonde M. (1974). A new perspective on the health of Canadians. A working document. Ottawa: Government of Canada.
- Lalonde M. (1974.). A new perspective on the health of Canadians. A working document. Ottawa: Government of Canada.
- Larrosa H.A. , Arrosa H.A., Ruiz P. M., & Aguilar B S. (2002). Utilidad del estudio de las heces para el diagnóstico y manejo de lactantes y preescolares con diarrea aguda. *Salud Pública Méx, 44: 328-34.*

- Lazcano Ponce E., Martínez Montañez O.G., & Charvel S.Y. . (2013.). *Funciones esenciales de la salud pública, salud pública teoría y práctica*. Editorial Manual Moderno; México.
- Lebbad M., Ankarklev J., Téllez A., Leiva B., Andersson J.O., & OSvärd S. . (2008). Dominance of *Giardia* assemblage B in León, Nicaragua. . *Acta Trop.* , 106:44-53.
- Lebbad M., Petersson I., Karlsson L., Botero K. S., Anderson J.O., & Svenungsson B. (2011). Multilocus genotyping of human *Giardia* isolates suggests limited zoonotic transmission and association between assemblage B and flatulence in children. . *PLOS Negl Trop Dis.* , 5:1-10. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001262>.
- Lee LI., Chye TT., Karmacharya BM., & Govind SK. . (2012). *Blastocystis* sp.: Waterborne zoonotic organism, a possibility? *Parasit Vectors.*, 5:130.
- Levy Y. , George J., & Shoenfeld Y. (1996). Severe *Blastocystis hominis* in an elderly man., *J. Infect.*, (33) 57–59.
- Logar J., Andlovic A., & Poljsak Prijatelj M. (1994). Incidence of *Blastocystis hominis* in patients with diarrhoea. *J. Infect.*, (28) 151–154.
- López L. (1993.). *Salud Publica*. México D.F.: Ed. Mc Graw Hill. 1ª Edición.
- Lora Suárez F., Marín Vásquez C., Loango N., Gallego M., Torres E. , & González M.M. (2002). Giardiasis in children living post-earthquake camps from Armenia (Colombia). *BMC Public Health* , 2:5.
- Makiuchia T., & Nozaki T. . (2014). Highly divergent mitochondrion-related organelles in anaerobic parasitic protozoa. *Biochimie.*, (100) 3–17.
- Marchand Pajares E.O. (21 de Septiembre de 2002). *Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana*. Obtenido de Universidad Nacional Mayor de San Marcos: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Basic/Marchand_P_E/tesis_completo.pdf
- Martín Delgado, M., & Pita Toledo, M. (2007). *Plan Nacional de Salud y Medio Ambiente. Informe agua y Salud Publica*. Obtenido de Resumen ejecutivo: <https://www.msssi.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/aguasSaludPublica.pdf>
- Martínez Barbosa I., Gutiérrez Quiróz M., Ruíz González L., Ruíz Hernández A.L., Gutiérrez Cardenas E.M., & Gaona E. (2010). *Blastocystis hominis* y su relación con el estado nutricional de escolares en una comunidad de la sierra de Huayacocotla, Veracruz, México. *Rev Biomed* , 21:77-84.
- Martínez Hernández J. . (2013). *Nociones de salud publica*. México: Ed. Díaz de Santos. 2ª Edición.

- Martínez Navarro F. . (1998). *Salud Publica*. Ed. Mc Graw Gill.1ª Edición: Madrid España.
- Medina Claros A.F., Mellado Peña M.J. , García M., Piñeiro Pérez R., & Martín Fontelos P. (2015). Parasitosis Intestinales. En AEP, *Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica* (págs. 77-88).
- Meyer, E. y Jarroly, E. . (2015). Giardiasis. *American Journal of epidemiology*, 15.
- Minvielle M.C., Molina N.B., Polverino D., & Basualdo J.A. (2008). First genotyping of *Giardia lamblia* from human and animal feces in Argentina, South America. . *Mem Inst Oswaldo Cruz.* , 103:98-103.
- Miotti P.G., Gilman R.H., Santosham M., Ryder R.W., & Yolken R.H. (1986). Age-related rate of seropositivity of antibody to *Giardia lamblia* in four diverse populations. *J Clin Microbiol* , 24:972-975.
- Moe KT., Singh M., Howe J., Ho LC., Tan SW., & Chen XQ. (1999). Development of *Blastocystis hominis* cysts into vacuolar forms in vitro. *Parasitol Res.*, 85:103–8.
- Moe KT.; Singh M.; Howe J.; Ho LC.; Tan SW.; Chen XQ. (1997). Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. *Parasitol Res.*, 83:319–25.
- Monis P. T, C. S. (2009). Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends Parasitol*, 93-100.
- Monis, P., Andrews, , R. H. , Mayrhofer G., & Ey P. L. . (2003.). Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infection, genetics and evolution*, 3: 29-38.
- Morán P., Rojas L., Cerritos L., Zermeño V., Valádez A., De Oca G.M., Ximénez C. (2013). Cutaneous amebiasis: the importance of molecular diagnosis of an emerging parasitic disease. *Am J Trop Med Hyg.* , 88(1):186-90. doi: 10.4269/ajtmh.
- MSAL. (26 de Abril de 2016). *Lavado de manos*. Obtenido de Ministerio de la salud: <http://www.msal.gob.ar/index.php/programas-y-planes/388-lavado-de-manos>
- Nascimento S.A., & Moitinho Ribeiro M.L. . (2005). *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in a community of Pitanga City, Paraná State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 47: 213-217.
- Navarra, U. d. (31 de Octubre de 2015). Obtenido de Clínica Universidad de Navarra: <http://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/talla>
- Navarro J. (31 de Noviembre de 2014). Obtenido de Definición ABC: <https://www.definicionabc.com/general/edad.php>
- Navone, G., Gamboa, M., Oyhenart E., & Orden A.B. (2006.). Parasitosis intestinales en poblaciones Mbyá-Guaraní de la Provincia de Misiones, Argentina: aspectos epidemiológicos y nutricionales. *Cuadernos de Salud Pública*, Vol. 22 (5): 10.

- Neghme A. (1994). *Parasitología Clínica*. Santiago de Chile: Mediterráneo Ltda.: 3ra. Ed. Publicaciones Técnicas. .
- Nematian J.N.E, Gholamrezanezhad A., & Asgari A.A. . (2004). Pre-valence of intestinal parasitic infections and their relation with socioeconomic factors and hygienic habits in Tehran primary school students. *Acta Tropica*, 92: 179-186.
- Nimri L. , & Batchoun R. (1994). Intestinal colonization of symptomatic and asymptomatic schoolchildren with *Blastocystis hominis*. *J. Clin. Microbiol.*, (32) 2865–2866.
- Noël C., Dufernez F., Gerbod D., Edgcomb VP., Delgado Viscogliosi P., & Ho LC. (2005). Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts: Implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *J Clin Microbiol.*, 43:348.
- Novotny T.E., Hopkins R.S., Shillam P., & Janoff EN., (1990). Prevalence of *Giardia lamblia* and risk factors for infection among children attending day-care facilities in Denver. . *Public Health Rep*, 105:72-75.
- Núñez Fernández F. . (2004). Estudio de factores asociados con la reinfección por *Giardia lamblia* en niños de círculos infantiles. *La Habana: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri., Cuba*.
- Núñez Fernández F. . (21 de Septiembre de 2004). Estudio de factores asociados con la reinfección por *Giardia lamblia* en niños de círculos infantiles [Doctoral]. La Habana, Cuba: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri.
- O’Gorman , Orestein S.R., Proujansky R., Wadowsky R.M., & Putnam P.E. (1993). Prevalence and characteristics of *Blastocystis hominis* infection in children. . *Clin Ped* , 1:91-96.
- OMS. (2 de Mayo de 1990). Obtenido de <http://www.bvsde.paho.org/eswww/fulltext/vivienda/principi/principi.html>
- OMS. (Septiembre de 21 de 2006). *Guías para la calidad del agua potable*. Obtenido de http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf
- OMS. (2016). Recuperado el 30 de Octubre de 2016, de Agua, saneamiento y salud (ASS): http://www.who.int/water_sanitation_health/mdg1/es/
- OMS. (07 de Septiembre de 2017). Obtenido de Departamento de Salud Pública, Medio Ambiente y Determinantes Sociales de la Salud: http://www.who.int/phe/about_us/es/
- ONU. (2015). *Agua y Salud*. Obtenido de Nota informativa: http://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/pdf/04_2014_water_and_health_info_brief_spa.pdf
- OPS. (2000). *Las condiciones de salud en América, vol. 1. Washington. Publicación Científica No 500*.

- OPS. (29 de Noviembre de 2011). Informe Taller sobre la integración de la desparasitación en los paquetes de desparasitación en salud para niños en edad preescolar en las Américas. Washington D.C.
- OPS. (16 de Abril de 2013). *Agua y Saneamiento*. Obtenido de Aumentando el acceso con calidad y reduciendo inequidades: <http://www.paho.org/blogs/etras/?p=1105>
- OPS. (02 de Noviembre de 2017). Obtenido de Guía de orientación y saneamiento básico para alcaldías de pequeñas comunidades y pequeñas alcaldías. Organización Panamericana de la Salud: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/guialcalde/2sas/2-2sas.htm>
- Oyerinde JP., Ogunbi O., & Alonge A.A. . (1977). Age and sex distribution of infections with *Entamoeba histolytica* and *Giardia intestinalis* in the Lagos population. . *Int J Epidemiol* , 6: 231–234.
- Pardo, V. F. (1997.). Prevalencia de parásitos intestinales en una población atendida en la clínica de Hatillo del Ministerio de Salud, 1995-1996. . *Rev. Costarric. Cienc. Méd.*, 18: 45-50. .
- Peña García A. (2007). Una perspectiva social de la problemática del agua. *Investigaciones geográficas*, (62), 125-137.
- Peña M.E., Ducci J., & Zamora Plascencia V. (23 de Mayo de 2013). Obtenido de Tratamiento de Aguas Residuales en México: <https://es.scribd.com/document/244008970/Plantas-de-tratamiento-pdf>
- Pérez Porto J. , & Gardey A. (01 de Noviembre de 2012). Obtenido de <https://definicion.de/mes/>
- Pérez Porto J., & Gardey A. . (02 de Noviembre de 2015). Obtenido de Definición de: <https://definicion.de/punto-de-ebullicion/>
- Pérez Porto J., & Gardey A. (02 de Noviembre de 2013). Obtenido de <https://definicion.de/vivienda/>
- Pérez Porto J., & Gardey A. (02 de Noviembre de 2014). Obtenido de Definición de: <https://definicion.de/piso/>
- Pinilla A. E., López M.C., & Viasus B.F. (2008). Historia del protozoo *Entamoeba histolytica*. *Rev. méd. Chile*, (136) 118-124.
- Plutzer, J., Ongerth J. , & Karanis P. (2010). *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213 (5): 321-333.
- Ponce Gordo F., & Martínez Díaz R.A. (26 de Mayo de 2010). Obtenido de Taxonomía y filogenia del género *Entamoeba*. Una revisión histórica: https://www.researchgate.net/publication/267451335_Taxonomia_y_filogenia_del_

genero_Enta%20moeba_Una_revision_historica%20[accessed%20May%2022%202018].

- Ponce Macotela M., & Martínez Gordillo M. (2014). Giardiasis. En B. F. M.A, *Parasitología Médica* (págs. 63-74). México: Mc Graw Hill Education.
- Preul H.C. (2017). Recuperado el 04 de Abril de 2017, de Control de la Contaminación Ambiental:
<http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo2/55.pdf>
- RAE. (08 de Noviembre de 2016). *Irrestringido*. Recuperado el 31 de Octubre de 2016, de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=M97o0ge>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Animal doméstico*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=2gzhuuF>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Convivir*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=AhWzQrv>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Ebullición*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=KGCyAKA>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Edad*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=EN8xffh>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Frecuencia*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=IQkf76l>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Hacinamiento*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=JxeYIIA>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Localidad*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=NXffXwJ>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Lugar*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=NgMEY5T>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Mes*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=P1koJRU>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Peso*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=Sndl9iL>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Piso*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=TD3BxDc>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Propia*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=UOGLw3j>

- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Salario mínimo*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=X1gL4YQ>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Sintomatología*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=Y04VD47>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Talla*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=YzzJBPM|Z00HtVa|Z00rdTM>
- RAE. (06 de Mayo de 2018). *Vivienda*. Obtenido de Real Academia Española: <http://dle.rae.es/?id=byF4Mc7>
- Renton J.I., Moorehead W., & Ross A. (1996.). Longitudinal studies of *Giardia* contamination in two community drinking water supplies: cyst levels, parasite viability, and health impact. . *Appl Environ Microbiol* , 62: 47–54.
- Reyes L., & León R. . (2002). Diferenciación de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la amibiasis intestinal. *Rev Costarric Cieñe Med*, 23:161-73.
- Reyes L., & León R. . (2002). Diferenciación de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la amibiasis intestinal. *Rev Costarric Cieñe Med*, 23:161-73.
- Reynol, D. C. (2011). *Desarrollo sustentable, una oportunidad para la vida*. (2da. ed.). México: Mc Graw Hill.
- Riisberg I., Orr RJ., Kluge R., & Shalchian-Tabrizi K. (2009). Seven gene phylogeny of heterokonts. *Protist.*, 160:191–204.
- Rodríguez E., Mateos B., González J.C., Aguilar Y.M., Alarcón E., Mendoza A.A., . . . Bernal R.R. (2008). Transición parasitaria a *Blastocystis hominis* en niños de la zona centro del estado de Guerrero, México. *Parasitol Latinoam*, 63: 20 - 28.
- Rodríguez García, R., Rodríguez Guzmán, L.M., & Cruz del Castillo A.H. (21 de Noviembre de 2016). Eficacia y seguridad de mebendazol contra nitazoxanida en el tratamiento de *Giardia lamblia* en niños. *Rev. gastroenterol. México.*, 122-6.
- Rodríguez Guzmán L., Hernández Jerónimo E.J., & Rodríguez García R. (2000). Parasitosis intestinal en niños seleccionados en una consulta ambulatoria de un hospital. *Rev mex pediatr*, 67:117-22.
- Rodríguez V., Espinosa O., Carranza J., Duque S., Árevalo A., Clavijo J.A., Vallejo G.A. (2014). Genotipos de *Giardia duodenalis* en muestras de niños de las guarderías del Instituto Colombiano de Bienestar Familiar y de perros en Ibagué, Colombia. *Biomédica*, 34 (2) 271-281.

- Rojas Hinostroza G.E. (20 de Noviembre de 2014). *Evaluación de tres primeros para la detección molecular de Giardia intestinalis en muestras fecales humanas*. Obtenido de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4286/3/Rojas_hg.pdf
- Romero C.R., Robert G.L., Muñoz G., & Geyne C.A. (1997). Nitazoxanide for the treatment of intestinal protozoan and helminthic infections in México. . *Trans R Trop Med Hyg*, 91:701-703.
- Romero C.R., Robert G.L., Muñoz G.M.R. , & Geyne C.A. (1997). Nitazoxanide for the treatment of intestinal protozoan and helminthic infections in Mexico. . *Trans R Soc Trop Med Hyg* , 91: 701–703.
- Romero Cabello Raúl. (2007). *Microbiología y parasitología humana*. México: Editorial Médica Panamericana.
- Romero R. (1993). *Microbiología y parasitología Humana*. México: Editorial Médica Panamericana.
- Ruíz Hernández A.L. (2014). Amibas comensales. En Becerril Flores M.A., *Parasitología clínica* (págs. 51-62). México: Mc Graw Hill Escolar.
- Rumhein F.A., Sánchez, J. I., & Requena, B. (2005.). Parasitosis intestinales en escolares: Relación entre su prevalencia en heces y en el lecho subungueal. Obtenido de www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb051642.pdf
- Ruvalcaba Ledezma J.C., Cortés Ascencio,S.Y. , & Jiménez Mora S.Y. (2013). Salud Pública en México Implicaciones para la enseñanza de la biología y las ciencias de la salud. *Biografía*, 6(10): 50-58.
- S.A. (23 de Noviembre de 2016). *Tratamiento de la Giardiasis*. Obtenido de <http://tratamiento.de/giardiasis>
- Sabogal, L. (2000). El riesgo sanitario y la eficiencia de los sistemas de tratamiento en la selección de tecnologías para la potabilización del agua, Cali. Universidad del Valle. *Scielo*.
- Sánchez R.G.L. (2003). Frecuencia de parasitosis en una población de la Huasteca Potosina. *Bioquímica*, 28:118-9.
- Sánchez Vega J.T., Tay Zavala J., Robert Guerrero L., Romero Cabello R., Ruíz Sánchez D., & Rivas García C. (2000). Frecuencia de parasitosis intestinales en asentamientos humanos irregulares. *Rev Fac Med UNAM*, Vol.43 No.3 Mayo-Junio,.
- Savioli L., Bundy D., Tomkins A. (1992). Intestinal infections: a soluble public health problem. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 353-354.
- Secretaría de Salud. (2014). Recuperado el 7 de Noviembre de 2016, de SUIVE: SUIVE/DGE/Secretaría de Salud/EstadosUnidosMexicanos2014

- SEDESOL. (21 de Septiembre de 2012). *Atlas de riesgos del municipio de Tlaxcoapan, Hidalgo*. Obtenido de http://www.normateca.sedesol.gob.mx/work/models/SEDESOL/Resource/2612/Atlas_Estados/13074_TLAXCOAPAN/0_ATLAS_TLAXCOAPAN.pdf
- SEMARNAT. (26 de Abril de 2010). *CONAGUA*. Obtenido de Manifestaciónproyectedenominado: “Proyecto para la construcción del túnel emisor oriente, para incrementar la capacidad de desalojo de las aguas residuales y pluviales del Valle de México, y disminuir los riesgos de inundación a la población: <http://sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/hgo/estudios/2010/13HI2010H0006.pdf>
- SEMARNAT. (9 de Enero de 2015). *LGEEPA*. Obtenido de <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/148.pdf>
- Sheehan D. J. , Raucher B.G., & Mckitrick J.C. (1986). Association of *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. *J Clin Microbiol* , 24: 548-50. .
- Shlim D.R., Hoge C.W., Rajah R., Rabold J.G. , & Echeverria P. (1995). Is *Blastocystis hominis* a cause of diarrhea in travelers? A prospective controlled study in Nepal. *Clin. Infect. Dis.*, (21) 97–101.
- Silberman JD., Sogin ML., Leipe DD., & Clark CG. (1996). Human parasite finds taxonomic home. *Nature.*, 380:398.
- Silva J, Torres P y Madera C. (2008). Reuso de aguas residuales domésticas en agricultura. Una revisión. *Agron. colomb. vol.26 no.2 Bogotá July/Dec. 2008*. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000200020
- SINAVE. (20 de Marzo de 2003). *Secretaría de Salud*. Obtenido de Epidemiología: <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/boletin/2003/sem20.pdf>
- SINAVE. (2016). Tlaxcoapan: Morbilidad Tlaxcoapan. Secretaria de Salud.
- SINAVE. (20 de mayo de 2018). *Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Boletín epidemiológico*. Obtenido de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/114611/sem27.pdf>
- Souppart L., Moussa H., Cian A., Sancier G., & Poirier P. (2010). Subtype analysis of *Blastocystis* isolates from symptomatic patients in Egypt. *Parasitol Res.*, 106:505-511.
- Spron H., Cacciò SM., & Giessen J. (2009). Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. *PLOS Negl Trop Dis.* , 3:1-12.
- Stensvold C.R., Lewis H.C., Hammerum A.M., Porsbo L.J., Nielsen S.S., & Olsen K.E. (2009). *Blastocystis*: unravelling potential risk factors and clinical significance of a common but neglected parasite. *Epidemiol Infect.*, 137:1655-63.

- Stensvold CR. . (2013). *Blastocystis*-genetic diversity and molecular methods for diagnosis and epidemiology. *Trop Parasitol.*, 3:26–34.
- Stensvold CR., Suresh GK., Tan KS., Thompson RC., Traub RJ., & Viscogliosi E. (2007). Terminology for *Blastocystis* subtypes: A consensus. *Trends Parasitol.*, 23:93–6.
- Stenzel D.J., & Boreham P.F.L. (1996). *Blastocystis hominis* revisited. *Clin. Microbiol. Rev.*, (9) 563–584.
- Stenzel DJ, B. P. (1991). A cyst-like stage of *Blastocystis hominis*. *Int J Parasitol.* , 21:613–5.
- Stenzel DJ., Boreham PF., & McDougall R. (1991). Ultrastructure of *Blastocystis hominis* in human stool samples. *Int J Parasitol.*, 21:807–12.
- Stenzel DJ., Lee MG., & Boreham PF. . (1997). Morphological differences in *Blastocystis* cysts-an indication of different species? *Parasitol Res.*, 83:452–7.
- Stoll N. R. . (1947). This wormy world. *J Parasitol* , 33: 1-18.
- Stuart J.M., Orr H.J., Warburton F.G., Jeyakanth S., Pugh C., Morris I., Nichols G. (2003). Risk factors for sporadic giardiasis: a case-control study in southwestern England. *Emerg Infect Dis*, 9: 229–233.
- SVA. (2016). Recuperado el 7 de Noviembre de 2016, de [agua.org.mx](http://www.agua.org.mx): <http://www.agua.org.mx/biblioteca-tematica/geografia-del-agua/1320-agua-en-mexico/34645-prontuario-del-agua>
- Tabares L.F., & González L. (2008). Prevalencia de parasitosis intestinales en niños menoresde 12 años, hábitos higiénicos, característicasde las viviendas y presencia de bacterias en el aguaen una vereda de Sabaneta, Antioquia, Colombia. *Iatreia* , 21(3).
- Tan KS. . (2008). New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev.*, 21:639-65.
- Tanyukselm M., & Petri WA Jr. (2003). Laboratory Diagnosis of Amebiasis. *Clin Microbiol Rev*, 16: 713-29.
- Tellez A.M.W., Rivera T., Meyer E., Leiva B., & Linder E. (1997). Pre-valence of intestinal parasites in the human populationof León, Nicaragua. *Acta Tropica*, 66: 119-125.
- Thompson R.C. (2008). Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *Int J Parasitol*, 1259-67.
- Ucha F. (02 de Noviembre de 2014). Obtenido de Ingreso Familiar: <https://www.definicionabc.com/economia/ingreso-familiar.php>
- UNICEF. (2016). Recuperado el 30 de Octubre de 2016, de UNICEF: <http://www.unicef.org/spanish/wash/>

- Universidad de Salamanca. (17 de Septiembre de 2016). *Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico del agua*. Obtenido de CIDTA: http://cidta.usal.es/cursos/ETAP/modulos/curso/uni_08/u8c5s4.htm
- UPME. (04 de Abril de 2017). *Guia Ambiental*. Obtenido de Sistemas de gestión ambiental: http://www.upme.gov.co/guia_ambiental/carbon/gestion/sistemas/sistemas.htm
- Urribarren Berrueta T. (26 de Mayo de 2016). Obtenido de Entamoebosis: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/amibiasis.html>
- Urribarren Berrueta T. (29 de Septiembre de 2016). *Giardiasis*. Obtenido de Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina. Departamento de Microbiología y parasitología.: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/p>
- Uywork. (01 de Noviembre de 2015). Obtenido de Concepto de convivencia: <http://concepto.de/convivencia/>
- Uywork. (01 de Noviembre de 2017). Obtenido de <https://www.definicionabc.com/social/animal-domestico.php>
- Vargas Marcos F. (2005). La contaminación ambiental como factor determinante de la Salud. *Rev. Esp. Salud Publica*, 117-127.
- Vázquez T.O., Valdivia G.S., & Vertiz Ch. E. . (2000). Frecuencia de infección por *Blastocystis hominis* en pacientes pediátricos. *Rev Sal D.F.*
- Vázquez T.O., Valdivia G.S., Vértiz Ch. E. (1994). Frecuencia de infección por *Blastocystis hominis* en pacientes pediátricos. *Rev Sal.*
- Vázquez Tsuji O., Millares Estévez, Vértiz Chávez E., & Martínez Barbosa I. (1994). Diarrea aguda por *Blastocystis hominis*. Informe de un caso pediátrico. *Acta pediátrica de México*, 146-149.
- Velarde D.R.T., & Mendoza R.M.A. (2006). Prevalencia de *Blastocystis hominis* en menores de 12 años de una población mexicana urbana. *Rev Cubana Pediatr*, 78:33-9.
- Villalba Vizcaíno B. (2012). El diagnóstico molecular en giardiasis, sus potencialidades. *Rev. Intropica*, 91-96.
- Volotão A.C., Costa Macedo L.M., Haddad F.S., Brandão A., Peralta J.M., & Fernandes O. . (2007). Genotyping of *Giardia duodenalis* from human and animal samples from Brazil using beta-giardin gene: A phylogenetic analysis. *Acta Trop.* , 102:10-9.
- Waikagul J, K. S. (2002). Waikagul J, Krudsood S, Radomyos P, Radomyos B, Chalemrut K, Jonsuksuntigul P. A cross-sectional study of intestinal parasitic infections among schoolchildren in Nan Province, Northern Thailand. . *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* , 33:218-23.
- Walsh J.A., & Warren K.S. . (1979). Selective primary health care: an interim strategy for disease control in developing countries. *NEngJMed*, 301: 967-74.

- Wang K.X., Li C.P , & Wang J. (2002). World J Gastroenterol. . *Epidemiological survey of Blastocystis hominis in Huainan City, Anhui Province, Chine.* , 8: 928-32.
- WHO. (23 de Mayo de 1987). *Prevention and control of intestinal parasitic infections.* Obtenido de Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series N° 749: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/41298>
- WHO. (1996). *The World Health Report.* Fighting disease, fostering development.
- WHO. (21 de Septiembre de 1997). *Conquering suffering Enriching humanity.* Obtenido de The World Health Report: http://www.who.int/entity/whr/1997/en/whr97_en.pdf?ua=1
- WHO. (23 de Mayo de 2006). Obtenido de Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers.: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43545/1/9241547103_eng.pdf
- WHO. (21 de Septiembre de 2006). *Guidelines for the safe use of wastewater.* Obtenido de Waste water use in agriculture: http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/wwuvol2intro.pdf
- Yoshikawa H., Yoshida K., Nakajima A., Yamanari K., Iwatani S., & Kimata I. (2004). Fecal-oral transmission of the cyst form of *Blastocystis hominis* in rats. *Parasitol Res.*, 94:391–6.
- Zhang X., Zhang S., Qiao J., Wu X., Zhao L., & Liu Y. (2012). Ultrastructural insights into morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.*, 110:1165–72.
- Zierdt C.H. (1991). *Blastocystis hominis*: Past and future. *Clin Microbiol Rev.*, 4:61–79.
- Zierdt CH. , Rude WS., & Bull BS. (1967). Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *Am J Clin Pathol.*, 48:495–501.

ANEXO I

El agua y su saneamiento.

El agua es un recurso natural de gran importancia para la vida y el desarrollo socioeconómico de los seres humanos, ya que permite abastecer las necesidades básicas de salud y bienestar. No obstante, nuestras actividades cotidianas causan efectos de contaminación en este compuesto, afectando de manera directa a la salud poblacional y la aparición de nuevos riesgos. El mayor impacto que se tiene es a través de las fuentes de abastecimiento a través del riesgo sanitario, el cual posibilita el transporte de agentes contaminantes que causan enfermedades de origen hídrico al hombre y los animales o altera el normal desempeño de las labores dentro del hogar o actividades cotidianas (Sabogal, L., 2000). Actualmente la OMS (OMS, 2016) y la UNICEF (UNICEF, 2016), monitorean en nombre del sistema de las Naciones Unidas los progresos para el cumplimiento de los objetivos del Milenio (ODM) y su relación con el agua. Existen diversos factores que inciden de manera directa o indirecta en el uso y administración del vital recurso, tales como: marco normativo e institucional, redes de agua, costo de agua, red sanitaria, entre otros.

Las enfermedades causadas por la contaminación de los cuerpos de agua, ya sea con material fecal u otros elementos biológicos, continúan siendo las principales causas de mortalidad y morbilidad de los países en desarrollo. Así mismo, la escasez del líquido, impide que la población pueda tener un adecuado higiene y saneamiento de sus hogares, pues hoy en día, 1 500 millones de personas (Reynol, 2011) dependen del agua subterránea como única fuente para beber, por lo que la sobreexplotación y contaminación de mantos freáticos son las principales amenazas de la salud pública.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el consumo de agua contaminada y la falta de acceso a servicios mejorados de saneamiento, está relacionada a más de 4.000 muertes prematuras al año en América Latina. Entre las enfermedades que provocan estos decesos figura en primer lugar la diarrea entre las cinco primeras causas de enfermedades por el consumo de agua contaminada. La presencia de estos contaminantes se atribuye a la mala agricultura, la minería, la deficiencia de los sistemas de saneamiento y otras prácticas industriales (OPS, 2013).

Las causas de contaminación del agua se originan por la entrada de agua contaminada (residual) procedente del subsuelo a las tuberías por la presión baja en el interior de ellas, errores humanos como conexiones no intencionadas de tuberías de aguas residuales, conexiones ilegales, deficiente desinfección de aguas, o simplemente malas condiciones higiénicas de los tanques de almacenaje y cisternas de distribuidores y/o consumidores (Marchand Pajares E.O., 2002).

El esfuerzo de los países en vías de desarrollo, para controlar la infección por parásitos se ha enfocado en primer lugar en el tratamiento antiparasitario periódico de la comunidad, luego en la mejoría de la calidad del agua y del saneamiento básico y finalmente en la educación en salud para modificar algunos comportamientos humanos (Tabares L.F. & González L., 2008).

En México, el agua potable se desinfecta mediante la cloración del agua, para inactivar agentes patógenos; sin embargo, la efectividad del procedimiento no siempre es la óptima, debido a la concentración del tratamiento, el volumen de agua a sanear, el desgaste de la tubería o la falta de capacitación en el personal. Este procedimiento generalmente se evalúa

por la determinación del cloro residual, cuya presencia en la toma domiciliaria indica la eficiencia de la desinfección (CNA, 2018).

No obstante, es muy común ver que en realidad dicha evaluación se realiza directamente en las fuentes de abastecimiento y no en los domicilios. La medición de la exposición a diversos factores ambientales es compleja porque no disponemos de sistemas adecuados de información y vigilancia sanitaria que permitan valorar la magnitud y gravedad de los riesgos. La información disponible sobre las enfermedades relacionadas con el medio ambiente en su mayor parte procede de la experimentación en animales, estudios de laboratorio, estudios epidemiológicos y toxicológicos, los cuales generan investigación que permite extrapolar y estimar posibles riesgos para la salud pública (Vargas Marcos F., 2005)

La secretaria de Salud (SSA) ha promovido la generación y uso de tecnología apropiada para evaluar la calidad bacteriológica y, en su caso, desinfectar el agua que se consume en las comunidades suburbanas y rurales, como parte de una estrategia indispensable para alcanzar la meta de "Salud para todos en el año 2000". El desarrollo de tecnologías que permitan la evaluación bacteriológica y desinfección del agua, se justifica en los resultados que arroja el análisis de los índices sobre morbi-mortalidad referentes a las enfermedades gastrointestinales, hepatitis y cólera, tanto en la República Mexicana como en otras enfermedades que pueden relacionarse con la ingestión de agua contaminada por bacterias, no adecuada para el consumo del ser humano; sin olvidar otros factores que las determinan, como los económicos, sanitarios y culturales (OPS, 2000).

Los métodos convencionales para desinfectar el agua con cloro, aun en poblaciones urbanas, pierden su eficacia por múltiples causas. Por ello, la SSA en coordinación con la Organización Panamericana de la Salud (OPS) promueve la aplicación de la tecnología desarrollada para desinfectar el agua mediante la generación *in situ* de gases oxidantes, cloro,

ozono (OPS, 2000). Sin embargo, la difusión de métodos alternativos se ve limitada debido a los problemas asociados con la confiabilidad, operación, mantenimiento, costos, sabor resultante y, particularmente en el caso de la ebullición, la disponibilidad de fuentes de abastecimiento de combustible, por lo que uno de los métodos más simples y menos costosos de proveer de agua segura para el consumo humano a las comunidades rurales es el uso de radiación ultravioleta para inactivar bacterias y otros patógenos. El uso de la luz ultravioleta es seguro y no presenta riesgos de manipulación, el agua tratada no se altera ni en olor ni sabor, la desinfección es rápida, aunque requiere de energía eléctrica para las lámparas. La radiación ultravioleta es efectiva contra un gran espectro de microorganismos y no genera subproductos en su utilización ni al agua ni al medio (OMS, Guías para la calidad del agua potable, 2006).

Marco legal del reúso del agua residual

En materia de agua, existen leyes federales y nacionales, como la Ley de Aguas Nacionales, Ley Federal de Derechos en Materia de Agua, Ley General de Salud, y La ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección del Ambiente (SEMARNAT, LGEEPA, 2015) la cual establece en los siguientes artículos;

Artículo 8. Fracción VII., que corresponde a los Municipios la aplicación de las disposiciones jurídicas en materia de prevención y control de la contaminación de las aguas que se descarguen a los sistemas de drenaje y alcantarillado de los centros de población, así como de las aguas nacionales que tengan asignadas. Esta disposición no se ha cumplido; respecto del recurso agua, las únicas normas que existen para descarga de aguas residuales son genéricas y, por tanto, no toman en cuenta las características del proceso productivo o de la actividad sujeta a regulación.

Artículo 93. La Secretaría del Medio Ambiente y recursos Naturales (SEMARNAT) realizarán las acciones necesarias para evitar, y en su caso controlar procesos de eutrofización, salinización y cualquier otro proceso de contaminación en las aguas nacionales.

Artículo 117. El aprovechamiento del agua en actividades productivas susceptibles de producir su contaminación, conlleva la responsabilidad del tratamiento de las descargas, para reintegrarla en condiciones adecuadas para su utilización en otras actividades y para mantener el equilibrio de los ecosistemas.

Artículo 119. La Secretaría expedirá las NOM's que se requieran para prevenir y controlar la contaminación de las aguas nacionales.

Los registros de legislación en materia de agua no fueron explícitos en la legislación mexicana hasta 1971, año en que entró en vigor la Ley Federal para Prevenir y Controlar la Contaminación Ambiental. En ella se señala que la Secretaría de Recursos Hidráulicos, en coordinación con la de Salubridad y Asistencia, dictará las medidas para el uso o el aprovechamiento de las aguas residuales y fijará las condiciones que éstas deban cumplir para ser descargadas en aguas nacionales, así como para infiltrarlas (Artículo 14). Asimismo, señala que “Las aguas residuales provenientes del alcantarillado urbano podrán utilizarse en la industria, si se someten al tratamiento que en cada caso determine la Secretaría de Recursos Hidráulicos...” (Artículo 18). Es decir, autoriza el reúso industrial –aunque sin la utilización del término del agua residual tratada. El reglamento para la prevención y control de la contaminación de aguas no hizo señalamiento alguno sobre el aprovechamiento de aguas residuales crudas ni del reúso industrial, sólo fija los límites máximos tolerables que tenían que cumplir las descargas de aguas residuales. El nivel de clasificación del agua para uso

industrial (excepto procesamiento de alimentos) fija tres condiciones: pH entre 5.0 y 9.5, un nivel mínimo de oxígeno disuelto de 3.2 mg/L, y que el agua no contenga sustancias tóxicas que solas o en combinación con otras hagan al cuerpo receptor inadecuado para el uso específico a que se destine. Por su parte, la Ley Federal de Aguas de 1972, en el artículo 17 inciso XIX, señala como una atribución de la Secretaría de Recursos Hidráulicos “Regular la explotación, uso o aprovechamiento de aguas residuales y las condiciones en que hayan de arrojarse en las redes colectoras, cuencas, cauces, vasos y demás depósitos y corrientes de agua, así como su infiltración, procurando evitar en todo caso, la contaminación que ponga en peligro la salud pública o degrade los sistemas ecológicos, en coordinación con las Secretarías de Salubridad y Asistencia, Agricultura y Ganadería e Industria y Comercio”. Tanto la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA, publicada en 1988), que sustituyó a la Ley Federal para Prevenir y Controlar la Contaminación Ambiental, como la Ley de Aguas Nacionales y su reglamento (LAN, publicada en 1992), que sustituyó a la Ley Federal de Aguas, hacen mención explícita del reúso de agua residual. La LGEEPA, en su artículo 92 del capítulo I, título tercero, establece que con el propósito de asegurar la disponibilidad del agua y abatir los niveles de desperdicio, las autoridades competentes promoverán el ahorro y uso eficiente del agua, el tratamiento de aguas residuales y su reúso. Por su parte la LAN establece las atribuciones y responsabilidades de los diferentes actores involucrados en el reúso del agua tratada: la CNA tiene la atribución de fomentar y apoyar los sistemas de tratamiento y reúso de agua residual (artículo 9° fracción IV), así como vigilar que el uso de las aguas residuales cumpla con las normas de calidad del agua emitidas para tal efecto (artículo 86° fracción V). Los concesionarios o asignatarios de agua están obligados a cumplir con los requisitos de uso eficiente del agua y realizar su reúso en los términos de las normas oficiales mexicanas

(NOM) y de las condiciones particulares que al efecto se emitan (artículo 29 fracción VII), y son responsables de la explotación, uso o aprovechamiento del agua de reúso desde el punto de su extracción o entrega por parte de la CNA, hasta el sitio de su descarga o aprovechamiento (Artículo 45). La competencia de la Secretaría de Salud, en materia de reúso de agua residual cruda o tratada tiene que ver con la protección de la salud de la población y es en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios, donde establece claramente la posibilidad de utilizar agua no potable para usos tales como: generación de vapor, refrigeración y otros propósitos similares no relacionados con productos destinados a uso o consumo humano.

Para ello el agua residual debe tratarse y mantenerse en condiciones tales que su uso no presente un riesgo para la salud. Así como distribuirse a través de un sistema de abastecimiento separado del sistema de distribución de agua potable y que pueda identificarse fácilmente.

El agua residual no debe tener contacto con el ser humano, ni con la materia prima o productos en cualquiera de las fases de su proceso que se elaboren o fabriquen en el establecimiento (artículo 69). Por su parte, la Ley Federal de Derechos contempla un estímulo fiscal para el aprovechamiento de aguas residuales.

NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-004-SEMARNAT-2002

Estas normas son de cumplimiento obligatorio, a excepción de las condiciones particulares de descarga, por lo que todas las descargas de agua residual de origen antrópogenico a

cuerpos de agua o al subsuelo de nuestro país, deberían dar cumplimiento a las restricciones de las normas (CONAGUA, 2017).

La NOM-001-SEMARNAT-1996 establece concentraciones máximas de coliformes fecales de 1,000 NMP/100 mL. Y de un huevo de helminto por litro para riego no restringido.

Por otra parte la NOM-001-SEMARNAT-1996, establece en los aspectos biológicos concentraciones máximas de coliformes fecales de 1,000 NMP/100ml y de un huevo de helminto por litro para riego no restringido, como se muestra en la tabla .

Tabla 36. Límites máximos permisibles para contaminantes básicos

PARÁMETROS	RÍOS						EMBALSES NATURALES Y ARTIFICIALES				AGUAS COSTERAS						SUELO		HUMEDALES NATURALES (B)		
	Uso en riego agrícola (A)		Uso público urbano (B)		Protección de vida acuática		Uso en riego agrícola (B)		Uso público urbano (C)		Explotación pesquera, navegación y otros usos (A)		Recreación (B)		ESTUARIOS (B)		Uso riego agrícola (A)				
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	
Temperatura a °C (1)	N.A.	N.A.	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	N.A.	N.A.	40	40
Grasas y aceites (2)	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	
Materia Flotante (3)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente

Fuente: (SEMARNAT, 2010).

Evaluación de Riesgos Ambientales

El tema de la disminución del agua seguirá siendo prioritario en la agenda política internacional, incluso, el acceso al agua es un punto importante de los acuerdos de paz entre países vecinos. Pero este aspecto no está confinado a una región en particular, puesto que el compartir ríos es un asunto de índole de seguridad nacional. Si bien es cierto que los ODM en lo que refiere a México, han ido aumentando positivamente en sus indicadores, no se debe bajar la guardia en tomar acciones de participación ciudadana y empoderamiento de la salud y cuidado del agua, pues su escasez obliga a insistir en la moderación de consumo por parte de la población a nivel mundial, pues sin colaboración de otros sectores, los esfuerzos técnicos que llevan a cabo las organizaciones que gestionan el agua resultarían insuficientes para salvaguardar su cantidad y pureza.

El riesgo es el resultado de comparar la vulnerabilidad de la población frente a una amenaza o factores de riesgo (Cepis O. , 2001), y se clasifica como agudo o crónico; el riesgo agudo se relacionado con la posibilidad de enfermarse a muy corto plazo con dosis infecciosas bajas del contaminante como la contaminación microbiológica, y el riesgo crónico está relacionado con la presencia de contaminantes de naturaleza química como compuestos orgánicos e inorgánicos que afectan la salud del ser humano después de largos períodos de exposición (Guerra C., 1993). El riesgo agudo es prioridad para su control, debido al impacto que causa sobre la salud; el riesgo crónico es segunda prioridad en sistemas de abastecimiento expuestos a contaminación microbiológica severa (WHO, 1997)

La evaluación de riesgos ambientales es una herramienta que nos permite realizar una recopilación de información para determinar el impacto ambiental de una actividad humana

determinada (García Alonso M., 2016) o un fenómeno ambiental, que nos permite tomar decisiones.

El concepto principal de cualquier evaluación de riesgo es la estimación objetiva de la incertidumbre sobre la ocurrencia de un evento indeseado. Por tal motivo es importante definir:

Riesgo: Es la probabilidad de que, bajo ciertas condiciones de exposición, un peligro intrínseco cause daño (a humanos, animales o al medio ambiente).

Peligro: Potencial intrínseco de un agente de causar daño.

Exposición: probabilidad, frecuencia, y nivel de contacto con el agente.

En el municipio de Tlaxcoapan el riesgo que existe es de tipo biológico principalmente por microorganismos que producen infecciones intestinales diversas a partir de contacto directo con heces fecales, cuando estas se secan, a través del viento llegan al agua y a los alimentos que venden en la calle o que no se desinfectan adecuadamente en casa (Figura 29).

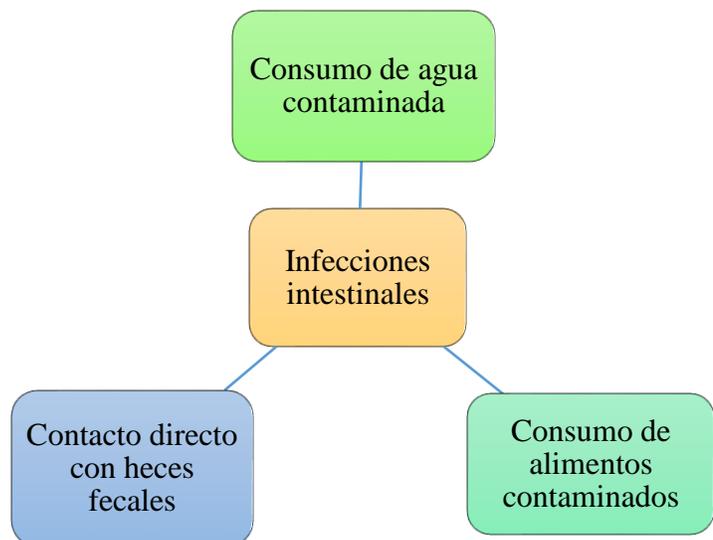


Figura 29. Fuentes de exposición.

Fuente: Elaboración propia, 2017.

Ruta de exposición y vía de ingreso al organismo

El mecanismo de infección es variable, puede llevarse a cabo por medio de materia fecal diseminada en el ambiente como consecuencia directa de defecación al ras del suelo. Esto es fundamental, ya que de manera ordinaria el número de quistes contenidos en una muestra de materia fecal de un paciente con infección moderada es de alrededor de 300 millones (Meyer, E. y Jarroly, E. , 2015).

Otro proceso involucrado en la transmisión es el consumo de alimentos mal lavados que son regados con aguas negras. Dado que la contaminación del agua por drenajes defectuosos o por fecalismo es también un mecanismo de gran importancia en la dinámica de transmisión (Biagi F., 2015).

También puede encontrarse fauna involucrada como los cánidos y félidos que funcionan como reservorios potenciales de la infección para el humano. La vía de exposición en la mayoría de las ocasiones es directa y oral. Los riegos de jardines y de cultivos por inundación y a cielo abierto, resultan ser fuentes de exposición directa, tal como se observan en la figura 28, 29 y 30.



Figura 30. Riego de áreas verdes con agua negra sin tratamiento en área deportiva.
Fuente: Elaboración propia, 2018.



Figura 31. Sistema de riego empleado en cultivos
Fuente: Elaboración propia, 2018.



Figura 32. Riego de cultivos en el municipio con agua negra.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Manejo de riesgos

1. Las medidas de higiene son muy importantes: el lavado de las manos al utilizar el baño o al cambiar pañales, y lógicamente antes de preparar los alimentos.
2. El control del agua para que siempre sea potable, hervir, clorar y buena desinfección de sanitarios y letrinas
3. Es fundamental que las necesidades básicas estén satisfechas: alimentación, vivienda, educación, vestimenta como factores importantes en la prevención de todas las parasitosis.
4. Hervir el agua elimina el quiste de *Giardia* y otros protozoarios.
5. Consultar el médico ante cualquier sospecha de giardiasis
6. Evitar beber agua no tratada de pozos poco profundos, lagos, ríos, manantiales, estanques y arroyos, a menos que esté filtrada o hervida.
7. No consumir agua en piscinas o lagos.
8. Si es necesario viajar no beber agua embotellada.
9. En caso de tener prácticas sexuales anales, lavarse las manos antes y después del evento.
10. En caso de sospecha y síntomas de giardiasis, realizar pruebas clínicas para descartar su presencia (S.A., 2016)

Componentes y funcionalidad de un Sistema de Gestión Ambiental

Un Sistema de Gestión Ambiental se estructura usualmente con base en los siguientes componentes: La definición de la política y los compromisos ambientales de la empresa, el análisis ambiental de la actividad por desarrollar, la identificación e implementación de las medidas de manejo ambiental, el seguimiento y monitoreo, y la evaluación de los resultados, como se indica de manera esquemática en la figura 31.

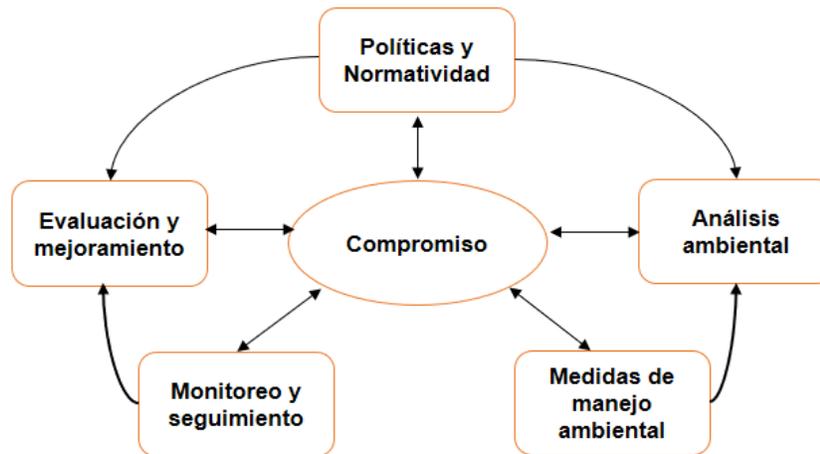


Figura 33. Estructura típica del sistema de gestión ambiental

Fuente: (UPME, 2017)

El sistema de gestión ambiental consta, como se ve, de cinco componentes cuyo eje central es el compromiso o entidad responsable del proyecto. Sin un compromiso formal y claro con respecto a la responsabilidad ambiental no podrá tener éxito ningún tipo de gestión que se pretenda adelantar para mejorar las condiciones ambientales en las cuales se desarrolla la actividad.

Políticas y normatividad en materia de agua

Como un primer paso en la estructuración del SGA se recomienda que se definan sus políticas y los objetivos ambientales. El establecimiento de una política ambiental es una manera de hacer explícito el compromiso de la empresa en relación no sólo con el cumplimiento de la normatividad, sino con la adopción de los mejores estándares de gestión ambiental concordantes con las posibilidades de viabilidad técnica y económica de la actividad. La política ambiental debe ser divulgada, conocida y aplicada por todos los niveles de la empresa y se ajustará en la medida en que las condiciones de desarrollo institucional, o cambios importantes en el entorno, así lo precisen.

1) Análisis Ambiental

La etapa de planificación y análisis ambiental como parte del SGA comprende las acciones relacionadas con los siguientes aspectos:

- ☞ El conocimiento del entorno: Descripción de las características ambientales del área a intervenir, identificación del estado actual de las componentes del medio biofísico (atmósfera, agua, suelo, vegetación, fauna, y paisaje), y del medio socioeconómico. Identificación de áreas ambientalmente sensibles, críticas, o protectoras.
- ☞ La descripción del proyecto: Sus componentes estructurales y funcionales, las fases de desarrollo y las opciones o alternativas para su ejecución incluyendo cada una de las etapas de desarrollo del proyecto.
- ☞ La evaluación ambiental: Identificación y calificación de los impactos que genera cada actividad del proyecto.

2) Medidas de manejo Ambiental

Corresponde al proceso mismo de ejecución de los planes, programas y proyectos, contenidos en un Plan de Manejo Ambiental – P.M.A. formulado específicamente para cada proyecto. Para la ejecución de las medidas de manejo ambiental será necesario:

- ☞ Disponer de una estructura orgánica y funcional articulada a la organización empresarial, con el fin de definir las instancias de dirección, de coordinación y de ejecución del SGA, así como la asignación de responsabilidades y el establecimiento de líneas de dirección e interacción.
- ☞ Una vez definida la estructura organizacional y, teniendo como referencia los objetivos del PMA, podrán asignarse recursos, establecerse procedimientos, flujos de comunicación, controles operativos, y definir sistemas de soporte para cada nivel de la organización del SGA.
- ☞ Dotar al SGA de los recursos humanos, físicos y financieros para el logro de los objetivos propuestos. El aprovisionamiento de recursos deberá estar soportado en presupuestos elaborados con base en las actividades a ejecutar y sus requerimientos de personal, materiales, equipos, insumos y otros.

3) Monitoreo y seguimiento

Comprende la evaluación sistemática de los componentes ambientales con el fin de conocer su evolución y revisar las medidas de manejo ambiental para anticipar el control de comportamientos anómalos, así como confrontar el cumplimiento de la normatividad ambiental.

Igualmente, se recomienda, como parte del proceso de seguimiento y de conformidad con su duración y la extensión del área a investigar, realizar periódicamente Auditorías Ambientales con el propósito de determinar si el Sistema de Gestión Ambiental ha sido correctamente implementado y mantenido de acuerdo a la planeado.

4) Evaluación y mejoramiento

Por último, la evaluación de la gestión ambiental corresponde a la revisión y al mejoramiento de los planes y programas ambientales que conforman el SGA. Se recomienda que la empresa, con una frecuencia acorde a la duración y tamaño del proyecto, proceda a:

- ☞ Revisar los objetivos y metas ambientales.
- ☞ Revisar el desempeño de sus planes y programas.
- ☞ Analizar y adoptar las recomendaciones generadas a raíz de las Auditorías Ambientales
- ☞ Hacer una evaluación de la efectividad y continuidad de sus planes y programas
- ☞ Con base en lo anterior se debe analizar la necesidad de ajustar los planes y programas ambientales para adaptarlos a probables cambios en:
 - a) La legislación ambiental.
 - b) Las expectativas y requerimientos socioeconómicos del sector carbonífero.
 - c) Avances en la ciencia y la tecnología.
 - d) Lecciones aprendidas de incidentes ambientales.
 - e) Recomendaciones contenidas en reportes y comunicaciones.

El mejoramiento se alcanza mediante la continua evaluación del desempeño de los planes y programas ambientales, comparándolos contra los objetivos y metas, con el propósito de identificar oportunidades de ajustes y determinar la raíz o causa de las deficiencias.

Los riesgos para la salud pública asociados al agua, se han dividido tradicionalmente, en riesgos microbiológicos y riesgos químicos. Hasta la fecha, por su extensión, frecuencia de producción y población afectada, se han considerado los riesgos microbiológicos como los de mayor necesidad de intervención por parte de las autoridades sanitarias. No obstante, esta consideración puede verse modificada, como consecuencia, de una cada vez mayor percepción por la población, de los riesgos químicos asociados al medio, así como por la importancia de los mismos para la comunidad científica (Martín Delgado & Pita Toledo, 2007)

Actualmente la CNA, es el organismo administrativo del agua, sin embargo, le anteceden la Dirección de Aguas, Tierras y Colonización creada en 1917; la Comisión Nacional de Irrigación, en 1926; la Secretaría de Recursos Hidráulicos en 1946 y la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos en 1976. Algunos de sus objetivos son los siguientes:

- a) Fortalecer el desarrollo técnico y la autosuficiencia financiera de los organismos operadores del país, a través de la aplicación de programas y acciones que impulsen el incremento en su eficiencia global y la prestación de mejores servicios.
- b) Tratar las aguas residuales generadas y fomentar su reúso e intercambio. Incrementar la cobertura de los servicios de agua potable y alcantarillado en el país, induciendo la sostenibilidad de los servicios.

- c) Incrementar la cobertura de los servicios de agua potable y alcantarillado en las comunidades rurales, induciendo la sostenibilidad de los servicios.
- d) Mejorar la calidad del agua suministrada a las poblaciones (CNA, 2016)

Saneamiento del agua

Con respecto al saneamiento del agua es necesario mencionar el Programa Conjunto de Monitoreo (PCM) de la OMS y UNICEF, los cuales definen el agua potable salubre y el saneamiento básico de la siguiente manera:

Tabla 37. Palabras clave y definiciones de la UNICEF y de la OMS en función del saneamiento del agua

Agua potable	Es el agua utilizada para los fines domésticos y la higiene personal, así como para beber y cocinar
Acceso al agua potable	Uno tiene acceso al agua, si la fuente de la misma se encuentra a menos de 1 kilómetro de distancia del lugar de utilización y si uno puede obtener de manera fiable al menos 20 litros diarios para cada miembro de la familia
Agua potable salubre	Es el agua cuyas características microbianas, químicas y físicas cumplen con las pautas de la OMS o los patrones nacionales sobre la calidad del agua potable.
Acceso de la población al agua potable salubre	Porcentaje de personas que utilizan las mejores fuentes de agua potable, a través de conexión domiciliaria; fuente pública; pozo de sondeo; pozo excavado protegido; surgente protegida; aguas pluviales.

ANEXO II

Tabla 38. Definición de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición
Parasitosis Intestinal	Es una infección intestinal que puede producirse por la ingestión de quistes de protozoos, huevos o larvas de gusanos o por la penetración de larvas por vía transcutánea desde el suelo. Cada uno de ellos va a realizar un recorrido específico en el huésped y afectará a uno o varios órganos, con lo que las podemos clasificar	<p>Resultado positivo:</p> <p>Informa la presencia de agentes observados y su estadio o forma evolutiva: quistes (q), ooquistes (o), trofozoítos (t), esporas (e), huevos (h) o larvas (l).</p> <p>La intensidad parasitaria puede expresarse cualitativa o semicuantitativamente:</p> <p>Semicuantitativamente:</p> <p>Contando las formas parasitarias</p> <p>Si se observan 1 ó 2 elementos en toda la lámina, escribir el nombre</p>	<p style="text-align: center;">Dependiente</p> <p>Cualitativa nominal y cuantitativa discreta.</p> <p>☞ Positivo +++</p> <p>☞ Positivo ++</p> <p>☞ Positivo +</p> <p>☞ Negativo -</p>

	<p>según el tipo de parásito y la afectación que provoquen en los distintos órganos y sistemas (Medina Claros A.F., Mellado Peña M.J. , García M., Piñeiro Pérez R., & Martín Fontelos P., 2015).</p>	<p>del agente y su estadio evolutivo.</p> <p>(+) Si se observan de 2 a 5 elementos por campo microscópico 10X ó 40X.</p> <p>(++) Si se observan de 6 a 10 elementos por campo microscópico 10X ó 40X.</p> <p>(+++) Si se observan >10 elementos por campo microscópico 10X ó 40X.</p> <p>Resultado negativo: Se informa que no se observan quistes, trofozoitos, ni huevos de parásitos.</p>	
<p>Incidencia</p>	<p>En epidemiología, aparición de nuevos casos de enfermedad, lesión u otras condiciones médicas durante un período</p>	<p>La incidencia se obtiene dividiendo el número de casos nuevos en un periodo de tiempo entre la población en riesgo.</p>	<p>Independiente:</p> <p>Cuantitativa continua</p>

	<p>de tiempo específico, generalmente calculado como una tasa o proporción (Enciclopedia Británica, Incidencia, 2018)</p>		
Prevalencia	<p>En epidemiología, es la proporción de una población con una enfermedad o una condición particular en un punto específico en el tiempo (prevalencia puntual) o durante un período de tiempo específico (prevalencia de período). (Enciclopedia Británica, 2018)</p>	<p>La prevalencia se obtiene dividiendo el número de casos existente en un punto en el tiempo entre la población en riesgo.</p>	<p>Independiente:</p> <p>Cuantitativa continua</p>

Frecuencia	Número de veces que se repite un proceso periódico por unidad de tiempo (RAE, 2018).	El número de veces que se haya presentado un parásito en un examen coproparasitológico o un síntoma en el paciente.	Independiente: Cuantitativa discreta
Edad	Cada uno de los períodos en que se considera dividida la vida humana (RAE, 2018).	Años cumplidos al momento de la encuesta del paciente.	Independiente Cuantitativa discreta ☞ 1 año ☞ 2 años ☞ 3 años ☞ 4 años ☞ 5 años
Talla	Estatura o altura de las personas (RAE, 2018).	Refiere a los centímetros del paciente que tiene de longitud corporal.	Independiente Cuantitativa continua
Peso corporal	El peso corporal es la masa del cuerpo en kilogramos. También se le llama masa corporal. En algunos países como se mide en libras en vez de en	Es el peso alcanzado por el paciente al día de la toma mediante una báscula.	Independiente Cuantitativa continua

	<p>kilogramos (una libra equivale aproximadamente a 0.45 kg) (RAE, 2018).</p>		
Sintomatología	<p>Conjunto de síntomas que presenta una persona en un momento dado y que obedecen a la presencia de un trastorno específico de la salud (RAE, 2018).</p>	<p>La sintomatología de las parasitosis, se puede manifestar a través de diarrea, vómito, dolor abdominal, prurito anal y nasal, sangrado intestinal, heces con sangre, eliminación de parásitos vivos, astenia, fatiga, irritabilidad, mialgias, diarrea, tenesmo, constipación, meteorismo, dolor abdominal, hiporexia, náuseas, fiebre, pérdida de peso, malestar general,</p>	<p>Independiente Cualitativa nominal En la encuesta se responde Ausente/Presente ante el listado de síntomas.</p>

		palidez, tos, insomnio, cefalea, bruxismo, convulsiones y urticaria.	
Hacinamiento	Amontonamiento o acumulación de individuos o de animales en un mismo lugar, el cual a propósito que no se haya físicamente preparado para albergarlos. Es decir, la cantidad de los seres humanos que habitan o que ocupan un determinado espacio es superior a la capacidad que tal espacio debería y puede contener, de acuerdo a los parámetros de	Si el paciente vive en hacinamiento y mencionar el número de personas con las que convive en su hogar. Se considera de ese modo a las viviendas con más de 2.5 ocupantes por dormitorio.	Independiente Cualitativa nominal Si/No Cuantitativa discreta: Número de integrantes en el hogar.

	comodidad, seguridad e higiene (RAE, 2018)		
Agua potable en domicilio	Es el agua utilizada para los fines domésticos y la higiene personal, así como para beber y cocinar (OMS, 2016) (UNICEF, 2016).	Conceptualización dicotómica servicio: SI/NO	Independiente Cualitativa nominal
Fuente de abastecimiento de agua	Las fuentes de abastecimiento de agua son aquellas que suministran a la población de este recurso natural, pueden ser subterráneas o superficiales (OPS, 2017).	La selección de la fuente de abastecimiento dentro de las Subterráneas son: manantiales, pozos, nacientes; superficiales: lagos, ríos, canales, etc.; y pluviales: aguas de lluvia.	Independiente Cualitativa Categorica ☞ Pozo ☞ Presa ☞ Otros
Consumo de agua potable	Ingesta de agua adecuada para las funciones básicas	Indicar si el agua de consumo humano es potable o no.	Independiente Cualitativa nominal

	<p>fisiológicas y cotidianas del ser humano (beber, cocinar, higiene personal, limpieza del hogar) (OPS, 2017)</p>		<p><input type="checkbox"/> Si</p> <p><input type="checkbox"/> No</p>
<p>Ebullición del agua</p>	<p>Es la temperatura en la cual un líquido hierve, la cual está vinculada a las propiedades específicas del líquido, y no a su cantidad. Es importante resaltar que, una vez que el líquido ha entrado en ebullición (y está hirviendo), la temperatura no sufre ninguna variación. El punto de ebullición</p>	<p>Si se realiza el proceso de ebullición del agua previa al consumo humano.</p>	<p>Independiente</p> <p>Cualitativa nominal</p> <p><input type="checkbox"/> Si</p> <p><input type="checkbox"/> No</p>

	del H ₂ O es 100 grados centígrados (RAE, 2018)		
Lugar para defecar	Espacio destinado a realizar las evacuaciones humanas (RAE, 2018).	El sitio que emplea el paciente, para defecar en su domicilio o cerca de él.	Independiente Cualitativa categórica ☞ Baño con drenaje ☞ Letrina ☞ Aire libre.
Tipo de piso	Pavimento natural o artificial de las habitaciones, calles, caminos, etc. (RAE, 2018)	Tipo/material del piso, que el paciente tiene en su domicilio	Independiente Cualitativa categórica ☞ Cemento ☞ Tierra
Convivencia con animales	Vivir en compañía de los animales, que comparten un espacio físico (RAE, 2018).	Si el individuo convive con algún tipo de animal doméstico y lo selecciona a partir de un listado.	Independiente Cualitativa nominal ☞ Si ☞ No
Animal doméstico	Animal que pertenece a especies acostumbradas a la	Se menciona el tipo de animal doméstico con el que se convive en el	Independiente Cualitativa nominal ☞ Perros

	convivencia con el hombre (RAE, 2018).	hogar. Perros/gatos/aves/otro..	<input type="checkbox"/> Gatos <input type="checkbox"/> Aves <input type="checkbox"/> Borregos <input type="checkbox"/> Caballos <input type="checkbox"/> Vacas
Salario mínimo	Salario que establece la ley como retribución mínima para cualquier trabajador (RAE, 2018).	Alto/medio/bajo	Independiente Cualitativa ordinal
Vivienda propia	Lugar cerrado y cubierto construido para ser habitado por personas (RAE, 2018). Además que pertenece de manera exclusiva a alguien (RAE, 2018).	Si la vivienda en donde habita el paciente es de sus padres o no.	Independiente Cualitativa nominal Si/No
Mes	Periodo específico o cada una de las doce partes en que se	El mes en el que se realizó la toma de muestra y el diagnóstico parasitario.	Independiente Cualitativa nominal <input type="checkbox"/> Diciembre <input type="checkbox"/> Enero

	divide el año (RAE, 2018).		<input type="checkbox"/> Febrero <input type="checkbox"/> Marzo <input type="checkbox"/> Abril <input type="checkbox"/> Mayo <input type="checkbox"/> Junio.
Localidad	Lugar o pueblo (RAE, 2018).	La localidad en la que reside el paciente.	Independiente Cualitativa nominal <input type="checkbox"/> Doxey <input type="checkbox"/> Teltipan <input type="checkbox"/> Teocalco <input type="checkbox"/> Tlaxcoapan

ANEXO III

Instrumentos de medición

Figura 34. Encuesta estructurada de diagnóstico y características socioambientales




Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Parasitología Experimental del Instituto Nacional de Pediatría

Nombre	Edad	Talla	Peso	
Escolaridad	Lugar de residencia			
Fecha				

	Si	No		Si	No		Si	No
Diarrea			Náuseas			Insomnio		
Heces/sangre fresca			Vómito			Cefalea		
Heces oscuras			Fiebre			Eructos		
Tenesmo			Pérdida de peso			Prurito anal		
Constipación			Malestar general			Prurito nasal		
Meteorismo			Astenia			Convulsiones		
Dolor abdominal			Falidez			Urticaria		
Hiporexia			Eliminación/parásitos			Malgas		
Irritabilidad			Tos					

¿Cuántos miembros integran su familia? ()

¿Cuenta con agua entubada en su vivienda? Si () No ()

El agua es de Pozo () Pesa () Otros ()

¿Hierve el agua de consumo? Si () No () Algunas veces ()

¿Su vivienda cuenta con? Drenaje () Letrina () Defeca al aire libre ()

¿Su vivienda cuenta con piso de? Tierra () Cemento ()

¿Convive con animales? Perros () Gatos () Otros ()

¿Cuánto es el ingreso mensual? ()

¿Su vivienda es propia? Si () No ()

Resumen

Fecha _____

Antes del tratamiento	Parásitos	
CPB Directo	1	
	2	
	3	
CPB Concentración	1	
	2	
	3	
Ziehl Neelsen	1	
	2	
	3	

Fuente: Laboratorio de Parasitología Experimental-INP, 2017.

Figura 35. Carta de consentimiento informado (hoja 1)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA
CARTA DE CONSENTIMIENTO A PADRES DE FAMILIA Y/O TUTORES DE LOS NIÑOS PARTICIPANTES EN EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.

TITULO DEL PROYECTO: Incidencia de parasitosis y su genotipificación dependientes de factores socio-ambientales como determinantes de la salud en niños de Tlaxcoapan Hidalgo.

Estimado (a) Señor (a): _____

Introducción / Objetivos: La Maestría en Salud Pública de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo está realizando un proyecto de investigación en colaboración con la Secretaría de Salud, cuyo objetivo es identificar los casos de giardiasis dentro de los diagnósticos de infecciones intestinales y mal definidas con el objetivo de establecer mecanismos de mejora en la detección y tratamiento del parasitismo. El estudio se está realizando en el centro de salud Tlaxcoapan a través de las unidades médicas de Tlaxcoapan, Doxey y Teltipan.

Procedimientos:
Si usted acepta participar en el estudio, ocurrirá lo siguiente:

1. Le haremos algunas preguntas acerca de hábitos de vida, giardiasis y cuestiones generales acerca de parasitosis como por ejemplo ¿Cuántas veces ha presentado diarrea/vomito en el último año?, ¿ha sido diagnosticado con algún tipo de parásito en los últimos dos meses?, etc. La entrevista/ el cuestionario tendrá una duración aproximada de 10 minutos. Lo entrevistaremos en el centro de Salud que acudió usted ubicado en la localidad de _____ en un horario de _____. En caso de no tener disponibilidad para escribir o leer la entrevista se procederá a grabarla, mediante un dispositivo electrónico.

Le aclaramos que tanto las ENTREVISTAS Y/O TOMA DE MUESTRAS serán realizadas por personal capacitado.

Beneficios: Usted recibirá el beneficio directo de que su examen coproparasitológico será gratuito y será notificado sobre su estado de salud por su participación en el estudio, además de estar colaborando con el proyecto de investigación en favor de la Salud Pública de Tlaxcoapan.

Confidencialidad: Toda la información que Usted nos proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por la investigadora del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted quedará identificado(a) con un número y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrá ser identificado(a).

Riesgos Potenciales/Compensación: Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son nulos. Si alguna de las preguntas le hicieran sentir un poco incómodo (a), tiene el derecho de no responderla. El material que se utilizará

Fuente: Laboratorio de Parasitología Experimental-INP, 2017.

Figura 36. Carta de consentimiento informado (hoja 2)

para el examen coproparasitoscópico será nuevo y esterilizado. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio, y tampoco implicará algún costo para usted.

Participación Voluntaria/Retiro: La participación en este estudio es absolutamente voluntaria.

Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento. Su decisión de participar o de no participar no afectará de ninguna manera la forma en cómo le tratan en el centro de Salud.

Números a Contactar: Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con el/la investigador/a) responsable del proyecto: Diana Verónica Sánchez Martínez al siguiente número de teléfono (773 125 9597) en un horario de 9:00 15:00 horas.

Si usted tiene preguntas generales relacionadas con sus derechos como participante de un estudio de investigación, puede comunicarse con la Presidente del Comité de Ética de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Con la Dra. Rebeca Guzmán Saldaña, al teléfono (771) 71 7 20 00 ext. 7424 de 8:00 am a 16:00 hrs. O si lo prefiere puede escribirle a la siguiente dirección de correo electrónico etica@redueah.edu.mx

Si usted acepta participar en el estudio, le entregaremos una copia de este documento que le pedimos sea tan amable de firmar.

Consentimiento para su participación en el estudio

Su firma indica su aceptación para participar voluntariamente en el presente estudio.

Nombre del participante: _____

Fecha: _____

Día / Mes / Año

Firma: _____

Nombre Completo del Testigo 1: _____

Dirección _____

Teléfono: _____

Firma: _____

Relación con el participante _____

Fecha: _____

Día / Mes / Año

Nombre Completo del Testigo 2: _____

Dirección _____

Firma: _____

Relación con el participante _____

Fecha: _____

Día / Mes / Año

Nombre de la persona que obtiene el consentimiento _____

Fecha: _____

Día / Mes / Año

Fuente: Laboratorio de Parasitología Experimental-INP, 2017.

ANEXO IV

Gestiones realizadas para el trabajo experimental

Figura 37. Estancia nacional en INP.



Instituto Nacional de Pediatría
Laboratorio de Parasitología Experimental
"Año del Centenario de la Promulgación de
los Estados Unidos Mexicanos"



SECRETARÍA
DE SALUD

SALUD

Cd. de México a 22 de febrero de 17
REF: LPE/MPM/7/2017

M en C. Juan Carlos Paz Bautista
Coordinador de Maestría en Salud Pública
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Distinguido M en C. Paz Bautista

Por este conducto me permito comunicarle que la **Biol. Diana Verónica Sánchez Martínez**, con número de cuenta **F04466**, alumna de la **Maestría en Salud Pública**, que usted tiene a su digno cargo, fue aceptada en el **Laboratorio de Parasitología Experimental del Instituto Nacional de Pediatría** para realizar la fase experimental de su proyecto de tesis intitulado: **Detección de *Giardia lamblia* como indicador microbiológico del estado de salud y su asociación con la ingesta de agua potable en Tlaxcoapan, Hidalgo**. Mucho le agradeceré que le brinde las facilidades para que pueda realizar su estancia en el Laboratorio el próximo mes de abril del año en curso.

Sin otro particular, agradezco de antemano sus atenciones y aprovecho la oportunidad para hacerle llegar un saludo cordial.

Atentamente


Dra. Martha Ponce Macotela
Responsable del Laboratorio
de Parasitología experimental



Figura 38. Solicitud de datos epidemiológicos a Jurisdicción Sanitaria

Tlaxcoapan, Hidalgo. 18 de abril de 2016.

Dra. Grisel Garrido Guerrero
Secretaría de Salud de Hidalgo
Subdirectora Jurisdiccional No. 14
Tepeji del Río.
PRESENTE

A través de este medio le saludo y me presento como estudiante de maestría en Salud Pública de la Universidad Autónoma de Hidalgo, con número de cuenta f04466.

El motivo del presente es solicitar información sobre las diez principales enfermedades que encabezan la mortalidad del año 2015 en niños y niñas menores de 12 años para establecer en mi proyecto de tesis datos epidemiológicos del municipio que sustenten la investigación y se pueda realizar una propuesta de intervención con base a las necesidades que tiene nuestra región.

Sin otro asunto por tratar al momento, me despido de usted agradeciéndole de antemano su apoyo.

Atentamente


Biol. Diana Verónica Sánchez Martínez



Figura 39. Autorización de Supervisión de preescolar para realizar investigación.

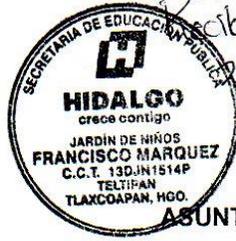


Secretaría de Educación Pública
Gobierno del Estado de Hidalgo

Dirección de Educación Básica
Dirección de Educación Preescolar
Jefatura de Sector 24 Tlaxcoapan
Supervisión escolar No. 66 Tlaxcoapan
Av. Hidalgo S/N Col. Centro Tlaxcoapan
Tel: 01 778 7378028
Correo electrónico sup66-tlaxcoapan@hotmail.com

SECCION : FEDERAL
MESA : CORRESPONDENCIA
EXPEDIENTE : 2016-2017
OFICIO No.: : 015

Recibi Información
J. de N. Néstor Rogelio Hdez S
Flora Perrault
24 Mayo - 2017

Recibi Información
24 Mayo 17
[Signature]

ASUNTO: Solicitud

Tlaxcoapan, Hgo., a 04 de Noviembre de 2016

DIRECTORAS Y ENCARGADAS
JARDINES DE NIÑOS ZONA 66 PREESCOLAR TLAXCOAPAN

La que suscribe Mtra. Verónica Guadalupe Pérez Tabuada supervisora de la zona escolar solicita su apoyo para que la Lic. En Biología Diana Verónica Sánchez Martínez estudiantes del 3er. Semestre de la Maestría en Salud Pública de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, pueda llevar a cabo un estudio de investigación con la población infantil a su cargo sobre "Giada Lamblia como indicador microbiológico del agua potable en Tlaxcoapan Hgo."

24/mayo/2017
Recibi Información
Prof. Alicia H. Martínez Ortiz
J.N. Capilo B. Serrano
[Signature]

Por tal motivo es necesario un conocimiento pleno de tal estudio tanto para el personal de la escuela como de los padres de familia, a fin de contar con la autorización correspondiente.

Concedora de su gran responsabilidad ante la dirección de la escuela, agradezco su atención.

Recibi Información
28-Abril-2017
[Signature]

Recibi Información
7/marzo/2017
Ins Dancuda Hdez
Omana
[Signature]
Jardín de Niños
Josefina Rabling






MTRA. VERÓNICA GUADALUPE PÉREZ TABUADA
SUPERVISORA ZONA 66 PREESCOLAR TLAXCOAPAN

Recibi Información
Abril-2017
[Signature]

Recibi Información
Maya Olgun

ANEXO V
Protocolos para genotipificación
PROTOCOLO PCR V6

Propósito: Amplificar GDH con primers IF-IR de <i>Giardia intestinalis</i>.						
H ₂ O	Buffer	DNTPs	Oligos IF-IR	Amplitag Gold	MgCl ₂	DNA
132 ⁺ -2	20	2	1/1	1	32	150 ng (3 µL)

2da. Amplificación: Se preparó la master mix en un tubo de rosca, posteriormente en cada tubo para PCR se agregaron 47 µL y 3 µL de DNA (Amplificación 1). Se homogeneizaron y se metieron al termociclador con las siguientes características:

Método: gdhmar

Inicio: 10.16

Fin: 13.09

Reaction Vol: 50 µL

Ramp Speed: 9600 95°C

95.0:10:00/95.0:0:20/50.0:0:20/72.0:3:00/72.0:7:00/4.0:∞

Los tubos se enumeraron PCR 2 v5 1,2,3,4 (Control RCB)

Resultados de la electroforesis: Se empleó como marcador de 500 pb (1µL marcador+2 µL stopmix+7 µL de TE). TBE 0.5% y .8 µL de EBr. A 90 minutos, 70 volts, 30 miniamperes y 10 watts.

El documento se guardó como PCR2V5-22-06-17 ☺

PROTOCOLO PCR V7

Propósito: Amplificar GDH con primers 578-579 de *Giardia intestinalis*.

H ₂ O	Buffer	DMSO	DNTPs	Oligos IF-IR	Amplitag Gold	MgCl ₂	DNA
112 ⁺ -2	20	20	2	1/1	1	32	150 ng (3 µL)

1era. Amplificación: Se preparó la master mix en un tubo de rosca, posteriormente en cada tubo para PCR se agregaron 47 µL y 3 µL de DNA (Amplificación 1). Se homogeneizaron y se metieron al termociclador con las siguientes características:

Método: gdhmar

Inicio: 12.28

Fin: 15.21

Reaction Vol: 50 µL

Ramp Speed: 9600 95°C

95.0:10:00/95.0:0:20/50.0:0:20/72.0:3:00/72.0:7:00/4.0:∞

Resultados de la electroforesis: Se empleó como marcador de 500 pb (1µL marcador+2 µL stopmix+7 µL de TE). TBE 0.5% y .8 µL de EBr. A 90 minutos, 70 volts, 30 miniamperes y 10 watts.

El documento se guardó como v8-28-06-17 (80 milisegundos)

PROTOCOLO PCR V8

Propósito: **Amplificar GDH con primers IF-IR de *Giardia intestinalis* a partir del experimento v7.**

H ₂ O	Buffer	DMSO	DNTPs	Oligos IF-IR	Amplitag Gold	MgCl ₂	DNA
112 ⁺ -2	20	20	2	1/1	1	32	150 ng

(3 µL)

2da. Amplificación: Se preparó la master mix en un tubo de rosca, posteriormente en cada tubo para PCR se agregaron 47 µL y 3 µL de DNA (Amplificación 1). Se homogeneizaron y se metieron al termociclador con las siguientes características:

Método: gdhmar

Inicio: 16:27

Fin: 20:36

Reaction Vol: 50 µL 45 ciclos

Ramp Speed: 9600 95°C

95.0:10:00/95.0:0:20/50.0:0:20/72.0:3:00/72.0:7:00/4.0:∞

Los tubos se enumeraron V817 (1, 2....7) Diego(1), Adamaris (5), Enrique (19) y Rene (25,26,27,28)

Resultados de la electroforesis: Se empleó como marcador de 500 pb (1µL marcador+2 µL stopmix+7 µL de TE). TBE 0.5% y .8 µL de EBr. A 90 minutos, 70 volts, 30 miniamperes y 10 watts. El documento se guardó como v8-PCR2-17 y v8 PCRA-17 (80 milisegundos). Se marcó la muestra 1 y la 5, pozo 2 y 7.

PROTOCOLO PCR V9

Propósito: **Amplificar GDH con primers 578-579 de *Giardia intestinalis* y DMSO.**

H ₂ O	Buffer	DMSO	DNTPs	Oligos 578-579	Amplitag Gold	MgCl ₂	DNA
224 ⁺ -2	40	40	4	2/2	2	64	150 ng (3 µL)

1era. Amplificación: Se preparó la master mix (400 µL) en un tubo de rosca, posteriormente en cada tubo para PCR se agregaron 47 µL y 3 µL de DNA. Se homogeneizaron y se metieron al termociclador con las siguientes características:

Método: gdhmar

Inicio: 13:16

Fin: 16:09

Reaction Vol: 50 µL 45 ciclos

Ramp Speed: 9600 95°C

95.0:10:00/95.0:0:20/50.0:0:20/72.0:3:00/72.0:7:00/4.0:∞

Los tubos se enumeraron V917 (1, 2....7) Diego(1), Adamaris (5), Enrique (19) y Rene (25,26,27,28) y un control negativo como v9.

Resultados de la electroforesis: Se empleó como marcador de 50 pb (1µL marcador+2 µL stopmix+7 µL de TE). TBE 0.5% y .8 µL de EBr. A 90 minutos, 70 volts, 30 miniamperes y 10 watts. El documento se guardó como v9/17 y v917a.

PROTOCOLO PCR V10/17

Propósito: Amplificar GDH con primers IF/IR de *Giardia intestinalis*.

H ₂ O	Buffer	DNTPs	Oligos IF-IR	Amplitag Gold	MgCl ₂	DNA
264 ⁺ -2	40	4	2/2	2	64	150 ng (3 µL)

2da. Amplificación: Se preparó la master mix (376) en un tubo de rosca, posteriormente en cada tubo para PCR se agregaron 47 µL y 3 µL de DNA (Amplificación 1). Se homogeneizaron y se metieron al termociclador con las siguientes características:

Método: gdhmar

Inicio: 10:55

Fin: 15:04

Reaction Vol: 50 μ L 45 ciclos 55?

Ramp Speed: 9600 95°C

95.0:10:00/95.0:0:20/50.0:0:20/72.0:3:00/72.0:7:00/4.0: ∞

Los tubos se enumeraron V10/17 (1, 2...7) Diego (1), Adamaris (5), Enrique (19) y Rene (25,26,27,28) y un control negativo como v10/8.

Resultados de la electroforesis: Se empleó como marcador de 50 pb (1 μ L marcador+2 μ L stopmix+7 μ L de TE). TBE 0.5% y .8 μ L de EBr. A 90 minutos, 70 volts, 30 milliamperes y 10 watts. El documento se guardó como v10. Los pozos que marcaron bandas y que se eligieron para la electroforesis fue el No. 2, 3,4,6 y 8. Que corresponden al ADN 1,5,19,26 Y 28.

Fuente: INP-Elaboración propia, 2017.

ANEXO VI

Reactivos empleados para genotipificación

1.- Duodecil Sufato de Sodio (SDS) 10%

SDS 10 mg

H₂O desionizada

El SDS se disolvió con agua desionizada, previamente esterilizada, evitando la inhalación del reactivo.

2.- Acetato de sodio 3 M

Acetato de sodio 3 H₂O 40.8 g

Agua desionizada 100 mL

El acetato d sodio se colocó en un vaso de 250 mL, se agregó 80 mL de agua, se ajustó el Ph a 7.0 con ácido acético, se aforó a 100 mL y se esterilizó por filtración.

3.- Amortiguador de tris Boratos con sal Disódica del ácido acético etilendiamina tetraacético (TBE 20x) 1000 mL

	20 x	1 x
Tris base (1.0 M)	121 g	6.05 g
Ácido Bórico (1.0 M)	61.7 g	3.085 g
EDTA-Na ₂ *2H ₂ O (20.0 mM)	7.44 g	0.372 g
Agua desionizada	1000 mL	

Los reactivos se disolvieron en 800 mL de agua previamente esterilizada con auto clave, se aforó a 1000 mL y se almacenó a temperatura ambiente.

Para preparar 1000 mL De TBE 10x, se midieron 50 mL y se depositaron en un matraz aforado, se complementó el volumen de un litro con agua desionizada.

4.- Fenol Saturado

Fenol	500 mL A 68 °C
H ₂ O	130 mL
Tris HCl 1.0 M. Ph 8.0	200 mL
Na OH 10.0 M.	488.0 µL
8-hidroxiquinoleína	500.0 mg

El agua, tris e hidróxido se vaciaron al frasco de fenol, se dejó que se disolviera, después se agregó la hidroxiquinoleína, se mezcló y se almacenó a temperatura ambiente.

5.- Proteínasa K

Proteínasa K 10.0 mg

TE 1.0 mL

La proteínasa K se disolvió en 1 mL de TE, se dividió en 10 partes (100 μ) y se almacenó a -20°C, hasta su uso.

6.- Solución de lisis 5.0 mL

Reactivo	Concentrada	Necesaria	Tomar	20 mL
Tris pH 7.4	2.0 M	10.0 mM	25.0 μ L	100 μ L
EDTA	0.5 M	10.0 mM	100 μ L	400 μ L
NaCl	5.0 M	50.0 mM	50 μ L	200 μ L
SDS	10.0%	0.4%	200 μ L	800 μ L
H ₂ O			4450.0 μ L	
Proteínasa K	10.0 mg/mL	200.0 μ g/mL	20.0 μ L	80 μ L

En este orden se disolvieron los primeros cuatro reactivos, se aforo a 5.0 mL con agua desionizada y esterilizada. La proteinasa K se agregó al tubo que tiene las células con la solución de lisis.

7.- RNAsa A

RNAsa A 10 mg

TE 1.0 mL

La RNAsa A se disolvió en 1.0 mL de TE, se dividió en 10 partes iguales (100 µL) y se almacenó a -20 °C) hasta su uso.

8.- Minigel de Agarosa al 0.8% en 30 mL. De amortiguador TBE (Tris Boratos EDTA).

Agarosa	240.0 mg
---------	----------

TBE	30.0 mL
-----	---------

Br E	0.5 µL
------	--------

La agarosa se fundió en amortiguador TBE, se dejó a que enfriará a 60 °C, se agregó el BrE, se mezcló evitando la formación de burbujas, se vació al molde de minigel y se dejó a 4°C para que refrigerara.

9.- Mezcla de ficol (Stop mix) 35 mL.

Ficol	12.25 g 35%
SDS	0.175 g 0.5%
Azul de bromofenol	0.35 g 0.1% 50 pares de bases (pb)
Xilencianol	0.035 g 0.1% 400 pb

La mezcla se calentó a 45 °C hasta disolver el ficol y se almacenó a temperatura ambiente.

Esta mezcla sirvió para cargar las muestras con DNA en el gel submarino.

10.- Solución de Bromuro de etidio (Br E) 10 mg/ml.

Este reactivo se usó para visualizar ácidos nucleicos (DNA, RNA) ya que emite fluorescencia cuando se excita a una longitud de onda de 250 a 310 nm.

Bromuro de etidio 50.0 mg

Agua desionizada esterilizada 5.0 mL

Se manejó con guantes y se evitó la inhalación, ya que este reactivo es altamente mutagénico y produce daño irreversible. Se colocó en un frasco color ámbar, se mezcló y se almacenó a 4°C hasta su uso.

11.- Tris 2.0 M, 1000 ml. A Ph7.4

H2O	850 mL
Tris base	242.2 g
HCl (concentrado)	5.0 mL

El tris se vació en un vaso de 1000 mL, se agregó el agua, se fue adicionando el ácido clorhídrico, lenta y cuidadosamente, se mezcló con ayuda de un agitador magnético, se ajustó el pH y se aforo a 1000 ml.

12.- EDTA 0.5 M (Sal disódica del ácido etilendiamina tetraacético)

EDTA-Na ₂ :2H ₂ O	93.05 g
H ₂ O Desionizada	Aforar a 500 mL

El EDTA se vació en un vaso de 600 mL, se agregó 300 mL De agua, se ajustó el pH a 8.0 con NaOH 10 M, se aforó y se esterilizó por autoclave.

13.- Amortiguador TE (Tris/EDTA) 100 mL

Tris 10.0 Mm pH 7.4	50 mL	100 µL. Del concentrado de 2.0 M
	250 mL	500 µL. del concentrado de 2.0 M
EDTA 0.1 Mm pH 8.0	-10+10 µL	20 µL. del concentrado de 0.5 M
	0.25 M	
H ₂ O	49.73	99.48 mL.

Se esterilizó por autoclave y se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso.

14.- Cloruro de sodio (NaCl) 5.0 M

Na Cl	292.2 g
-------	---------

H ₂ O desionizada	1000 mL
------------------------------	---------

Se disolvió la sal en 700 mL De agua, posteriormente se aforó a 1000 mL y se esterilizó por autoclave

15.- Hidróxido de sodio (Na-OH) 10.0 M

Na-OH	200 g
-------	-------

H ₂ O desionizada	500.0 mL
------------------------------	----------

Se disolvió la sal con la ayuda de un agitador magnético en 450 mL de agua, se aforó a 500 mL y se esterilizó con autoclave.