

Detección de parásitos intestinales en niños preescolares y animales domésticos del municipio de Ibagué (Tolima)

Detection of intestinal parasites in preschool children and domestic animals of Ibagué (Tolima)

Victoria E. Rodríguez Gutiérrez, MVZ^{1,2}; Oneida Espinosa Álvarez, Bióloga³; Julio C. Carranza Martínez, PhD³; Sofía Duque MSc⁴ Adriana Arévalo MSc⁴ y Gustavo A. Vallejo, PhD³.

Resumen

Los parásitos intestinales de tipo zoonótico causan enfermedades en animales domésticos y en el hombre, sin embargo, el impacto en la salud pública no ha sido estimado. En el presente estudio se estableció la prevalencia de parásitos intestinales en niños en edad preescolar y en animales domésticos y silvestres, mediante examen coprológico. *Giardia duodenalis* fue el parásito más frecuente en animales domésticos, seguido por *Ancylostoma* spp. y especies de los géneros *Toxocara* y *Cystoisospora*, en grandes animales. *Eimeria* spp. (16%) y *Tricostrogylus* spp. (8%) fueron frecuentes en bovinos y *Strongylus* spp. (40%) en equinos. *G. duodenalis* fue observada en 39 (39/331) muestras de niños y 17 (17/119) de caninos. En el 58,97% (23/39) de las muestras de niños y el 17,64% (3/17) de las muestras de caninos positivas para *Giardia duodenalis* se amplificaron fragmentos de 753 pb y de 384 pb del gen de la β -giardina, a través de un PCR semianidado. Se concluye que *Giardia duodenalis* estuvo presente en niños y caninos, sin embargo, la posible relación en el ciclo de transmisión entre las dos especies es desconocido. Se hace necesario implementar una técnica complementaria que permita distinguir los genotipos infectantes en los diferentes hospederos.

Palabras clave: Zoonosis, *Giardia duodenalis*, patógeno, PCR, β -giardina.

Abstract

Intestinal parasites cause zoonotic diseases in domestic animals and man; however, the impact on public health has not been estimated. The present study established the prevalence of intestinal parasites in preschoolers and domestic and wild animals by stool examination. *Giardia duodenalis* was the most frequent parasite in domestic animals, followed by *Ancylostoma* spp. and species of the genus *Toxocara* and *Cystoisospora* in large animals, *Eimeria* spp. (16%) and *Tricostrogylus* spp. (8%) in cattle and *Strongylus* spp. (40%) in horses. *G. duodenalis* was found in 39 (39/331) and 17 samples from children (17/119) of canines, respectively. A 753 bp and 384 bp DNA fragment of the β -Giardina gene was amplified by semi-nested PCR in 58.97% (23/39) and 17.64% (3/17) samples from children and canines, respectively. It is concluded that *Giardia duodenalis* was present in children and dogs; though, the relationship in the transmission cycle between human and animals is unknown. Implementation of complementary diagnostic techniques to distinguish the infecting genotypes in different hosts is needed urgently.

Key Words: Zoonosis, *Giardia duodenalis*, pathogen, PCR, β -giardina

¹ Grupo de Investigación en Inmunobiología y Patogénesis. ² Grupo de Investigación en Avicultura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima. ³ Laboratorio de investigaciones en Parasitología Tropical (LIPT). Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima. ⁴ Laboratorio de Parasitología. Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C.

Recibido para publicación: Junio 04, 2014; Aceptado para publicación: Noviembre 06, 2014. Este trabajo fue financiado por el Comité Central de Investigaciones de la Universidad del Tolima.

Cómo citar este artículo: Rodríguez V, Espinosa O, Carranza J, Duque S, Arévalo A y Vallejo G. Detección de parásitos intestinales en niños preescolares y animales domésticos del municipio de Ibagué (Tolima). Revista Colombiana de Ciencia Animal 2014, 7: 35-42

Autor de correspondencia: Victoria E. Rodríguez, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Santa Helena Parte Alta, Ibagué, Tolima, Colombia. A.A. 546. Tel. 57 (8) 277 20 42. Correo electrónico: verodriguez@ut.edu.co. Copyright © 2014 por Revista Colombiana de Ciencia Animal, Universidad del Tolima

Las infecciones parasitarias tienen distribución mundial y son más prevalentes en países en vía de desarrollo, estas afecciones suelen

complicarse de forma frecuente y presentar un índice de alta mortalidad, siendo responsables de por lo menos el 10% de las diarreas, las cuales requieren, en la mayoría de los casos cuidado hospitalario (Mc Donald, 2003). En países latinoamericanos, los animales de compañía son particularmente infectados con especies con potencial zoonótico, tales como *Ancylostoma* spp., *Toxocara canis*, *Taenia* spp, *Blastocystis* spp., *Giardia duodenalis* y *Dipylidium caninum*, cuya prevalencia oscila entre el 15% y 30% (Trillo *et al.*, 2003; López *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2007). En Colombia, los felinos son infectados principalmente por *Toxocara cati* (37,2 %)

y *Ancylostoma* spp., (7,43%) (Echeverry et al., 2012), mientras que en caninos el *Ancylostoma caninum* (52,9%), *Toxocora canis* (7,1%) (Solarte et al., 2013) y *Giardia duodenalis* (14,28%) son los más frecuentes (Rodríguez et al., 2014). En el departamento de Santander especies de *Trichostrongylus* (90%) son las más prevalentes (Bedoya et al., 2011).

Giardia duodenalis, es un flagelado intestinal y agente causal de la giardiosis, una enfermedad parasitaria de amplia distribución geográfica, caracterizada por lesiones entéricas, diarrea y síndrome de mala absorción (Adam, 2001). *Giardia duodenalis* (sin *G. lamblia*, *G. intestinalis*) es la única especie que infecta a humanos, así como a otros mamíferos domésticos (Thompson et al., 2000). Este protozoo produce numerosos quistes, altamente resistentes a las condiciones ambientales, los cuales son evacuados por el hospedero infectado a través de las heces y transmitidos por contacto fecal-oral, o por ingestión de aguas y alimentos contaminados (Bertrand y Schwartzbrod, 2007, Plutzer et al., 2008). *Giardia duodenalis* es altamente frecuente en Asia, África y América Latina, donde alrededor de 200 millones de personas presentan giardiosis sintomática y de estos únicamente 500.000 casos son reportados cada año (WHO, 1996). En Colombia la prevalencia reportada corresponde en promedio al 13% (Rodríguez et al., 2014, Londoño et al., 2009, Giraldo et al., 2005).

G. duodenalis se divide en ocho genotipos (de la A a la H) (Lasek et al., 2010, Foronda et al., 2008, Gelanew et al., 2007, Volotao et al., 2007, Lalle et al., 2005). Los aislados de *G. duodenalis*, recuperados de humanos conforman dos grupos genéticos que se distribuyen por todo el mundo, estos han sido descritos en Europa como "Polish" y "Belgian" (Homan et al., 1992); en Norte América como grupos 1/2 y 3 (Thompson et al., 2000), y en Australia como genotipos A y B (Monis et al., 1996, Mayrhofer et al., 1995), siendo esta última denominación la más aceptada. Otros genotipos (C - H) parecen estar restringidos a una sola especie de hospedero o grupo de hospederos (Monis et al., 1999 y 2003, Lasek et al., 2010). Los genotipos C y D han sido identificados en perros, gatos, coyotes y lobos, el genotipo E en el ganado bovino, ovejas, cabras, cerdos, búfalos de agua y ovejas salvajes (*Ovis musimon*), y los genotipos F y G en gatos y ratas respectivamente (Caccio et al., 2005 y 2008; Fayer et al., 2006). El genotipo H fue identificado en focas y otros mamíferos acuáticos (Lasek et al., 2010). Los genotipos A, B, E y F son frecuentes en muestras de origen humano y animal (Geurden

et al., 2010). El presente estudio busca identificar parásitos intestinales en niños y mascotas en la ciudad de Ibagué, como un primer acercamiento a la epidemiología de las enfermedades parasitarias de la región.

Materiales y Métodos

Recolección de muestras

Niños: se determinó un tamaño de la muestra de 327, con un nivel de confianza del 95% ($Z=1,96$), un valor p de 0,5 y un margen de error del 10% (0,05). La población de niños en edades preescolares en los hogares del ICBF de Ibagué fue 2,157. Se aplicó un muestreo probabilístico aleatorio simple y las muestras fueron tomadas por los padres de familia en cajas coprológicas y refrigeradas hasta su análisis en el laboratorio.

Animales: se recolectaron muestras de caninos y felinos en refugios, guarderías y clínicas veterinarias, fueron recolectadas heces frescas con hisopos de madera en cajas coprológicas; para los animales de granja se recolectaron muestras de bovinos y equinos directamente del recto con guantes de plástico y almacenadas en las mismas, debidamente marcadas. Los animales se encontraban ubicados en fincas situadas en zonas urbanas y periurbanas; igualmente se recolectaron muestras de seis especies de fauna silvestre: el mono de noche o marteja (*Aotus lemurinus*), la ardilla roja (*Sciurus vulgaris*), el titi gris (*Saguinus leucopus*), el mono ardilla (*Saimiri sciureus*), mono araña (*Ateles geoffroyi*) y la rata (*Rattus* spp.). Las heces fueron recolectadas con hisopos de madera en cajas coprológicas. Los ejemplares muestreados se encontraban en el Bioparque, ubicado en el Parque Deportivo de la ciudad de Ibagué, a excepción de las ratas, las cuales fueron capturadas en zonas urbanas. Las muestras fueron rotuladas con el origen, nombre (o especie) y edad del donante, almacenándolas a 4°C para su posterior análisis.

Análisis coproparasitológico

El diagnóstico copro-parasitológico se realizó mediante extendido en portaobjeto, tinción con lugol y observación directa al microscopio, con el fin de identificar huevos, quistes y/o ooquistes. Las imágenes fueron registradas con un microscopio Olympus CX31 y una cámara Moticam 580 en objetivos de 10X y 40X.

Concentración y ruptura de quistes

Se utilizó el método de concentración denominado flotación con Sulfato de Zinc (Faust *et al.*, 1938) para obtener un mayor número de quistes y menor cantidad de impurezas. Los quistes fueron fragmentados a través de cinco ciclos (15 min cada uno), de congelamiento en nitrógeno líquido y descongelamiento en baño maría a 65°C. El material fue digerido con proteinasa K a una concentración final de 20 mg/μl en baño maría a 37 °C durante toda la noche.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La extracción de ácidos nucleicos, se realizó utilizando el kit comercial QIAamp minikit® de QIAGEN. Se llevó a cabo la amplificación del gen de la β-giardina mediante PCR semianidado. En la primera reacción se amplificó un fragmento de 753 pb del gen de la β-giardina utilizando el iniciador G7 (5'-AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGTGC-3') (forward) y el iniciador G759 (5'-GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC-3') (reverse). En la segunda reacción de PCR se amplifica un fragmento de 384 pb del mismo gen, utilizando el iniciador G376 (5'-AACGACGCCGCGGCTCTCAGGAA-3') (forward) y el iniciador G759 (Caccio *et al.*, 2002). La mezcla de reacción se realizó con los siguientes componentes: Buffer 1X, MgCl₂ 1,5mM, 200 μM de la mezcla de dNTPs, 20 pmol de cada primer, 1U de Taq DNA Polimerasa, y 2 μl de DNA en un volumen final de 20 μl; empleando el siguiente perfil térmico: Un ciclo de denaturación inicial de 5 minutos a 94°C, 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 65°C por 30 segundos y 72°C por 60 segundos y un ciclo de extensión final de 7 minutos a 72°C (Caccio *et al.*, 2002). Se utilizó como control positivo ADN extraído de trofozoitos (cepa MHOM/CO/04/G40) cultivado en medio TYIS-33, donado por el Instituto Nacional de Salud (INS).

Condiciones de electroforesis

Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1%, sometidos a 80 voltios durante 90 minutos en TBE 0.5X (Tris-Borato-EDTA) y teñidos posteriormente con bromuro de etidio y visualizados bajo la luz ultravioleta en un analizador de geles Enduro GDS.

Resultados

Muestras: Se obtuvieron un total de 331 muestras fecales de niños del ICBF con edades entre 1 y 5 años. De origen animal se obtuvieron 119 muestras fecales de caninos, 20 de felinos, 100 de bovinos, 35 de equinos y 11 de animales silvestres.

Proporción de Parasitosis en niños preescolares: Los niños residentes en hogares del ICBF de la ciudad de Ibagué presentaron 23,86% de infección con algún parásito (79/331), mientras que la prevalencia de *Giardia duodenalis* fue del 11,78% (39/331), observándose trofozoitos y quistes del parásito (Figura 1A y 1B).

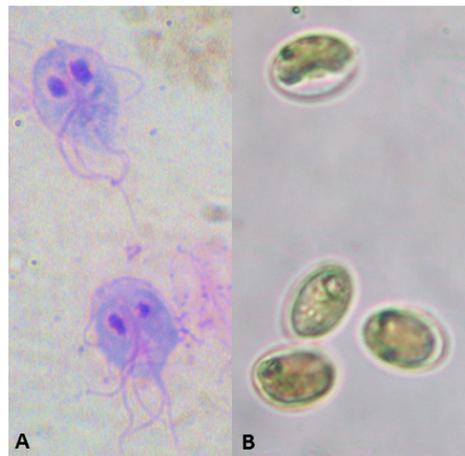


Figura 1. Análisis coprológico de muestras fecales de niños. A. Trofozoitos de *Giardia* spp. teñidos con Giemsa. B. Quistes de *Giardia* spp. teñidos con lugol.

Otras especies de parásitos intestinales como *Blastocystis hominis* y *Ascaris lumbricoides* estuvieron presente en 7,25% (24/331) de los niños y 0,3% (1/331), respectivamente. Los parásitos comensales detectados en las muestras coprológicas fueron *Iodamoeba butschlii* en el 1,20% (4/331), *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* en el 0,90% (3/331).

Proporción de parasitosis en animales domésticos y silvestres:

Se detectó *Giardia duodenalis* en el 14,28% (17/119) de los caninos, en el 10% (2/20) de los felinos, en el 1% (1/100) de los bovinos y en el 2,85% (1/35) de los equinos.

El análisis coprológico reveló que un 36,13% (43/119) de las muestras de origen canino presentaron otras especies de parásitos intestinales patógenos, el 26% (31/119) de estas presentaron *Ancylostoma* spp., el 6,72% (8/119) tuvieron *Toxocara canis*, el

5,88% (7/119) presentaron Coccidios, 2/119 (1,68%) *Cystoisospora canis*, 1 (0,84%) *Trichuris vulpis* y 1 (0,84%) *Dipilidyum caninum*. De la totalidad de las muestras de origen felino, 7 (35%) fueron positivas para parásitos patógenos, 1 (5%) presentó *Toxocara cati*, y 1 (5%) *Cystoisospora felis*.

El 24% de los bovinos mostró parásitos patógenos (24/100), 16% lo fueron para *Eimeria* spp. y un 8% para *Trycostrongylus* spp., *Strongylus* spp., se observó en el 40% (14/35) de las muestras equinas. Los animales silvestres también presentaron algún tipo de parasitismo intestinal (4, 36,36%), sin embargo, ninguna de ellas fue positiva para *Giardia duodenalis*. Se observaron coccidias en 3 (27,27%) y co-infección por organismos del phylum Acanthocephala al menos en una (9,09%) muestra.

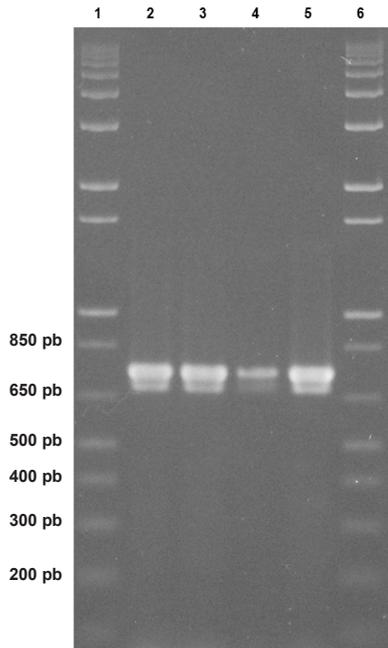


Figura 2. Amplificación del fragmento de 753 pb del gen de la β -giardina mediante PCR a partir de ADN de quistes de *Giardia duodenalis* obtenidos por examen coproparasitológico realizado a los niños del ICBF. Gel de Agarosa al 2% teñido con Bromuro de Etidio. Línea 1: Marcador de peso molecular (MPM) 1kb plus. Línea 2: Control positivo cultivo INS. Línea 3: muestra niño. Dilución 1/50. Línea 4: muestra niño. Dilución 1/100. Línea 5: muestra niño. Dilución 1/200. Línea 6: MPM 1kb plus.

Detección de *G. duodenalis* mediante amplificación del gen β -giardina: En la figura 2 se observan los productos de la amplificación del fragmento de 753 pb del gen β -giardina, obtenidos en la primera fase del PCR anidado: La amplificación del fragmento de 384 pb en la segunda fase del PCR anidado se presenta en la figura 3. Se obtuvo el mismo grado de sensibilidad en ambas rondas, detectando el parásito en 23 de 39 muestras de origen humano positivas (58,97%) y en 3 de 119 muestras positivas de origen canino (2,52%). β -giardina también se amplificó a partir del control positivo (ADN extraído de trofozoitos (cepa MHOM/CO/04/G40), mientras que el control negativo no mostró producto alguno.

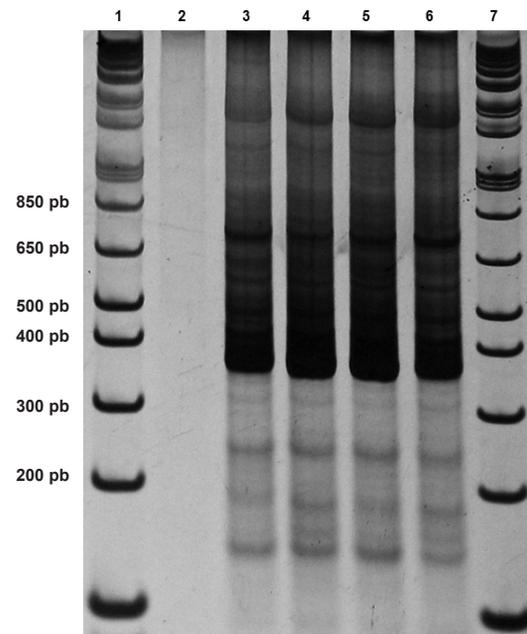


Figura 3. Amplificación del fragmento de 384 pb del gen de la β -giardina mediante PCR semianidado a partir de ADN de quistes de *Giardia duodenalis*, obtenidos mediante examen coproparasitológico realizado a los niños del ICBF. Gel de Poliacrilamida al 6% teñido con Nitrato de plata. Líneas 1 y 7: Marcador de peso molecular 1kb plus. Línea 2: Control de reacción. Línea 3: Control positivo cultivo INS. Línea 4: muestra niño. Dilución 1/50. Línea 5: muestra niño. Dilución 1/100. Línea 6: muestra niño. Dilución 1/200.

Discusión

El presente estudio estableció una prevalencia de *G. duodenalis* del 11,78% en niños del ICBF, una frecuencia menor a la reportada en otros países de América Latina como Brasil (Volotao *et al.*, 2007) y Venezuela (Rivero *et al.*, 2009), donde se han documentado prevalencias de 27.7% y 26.73%, respectivamente. En Colombia, los estudios de prevalencia de giardiosis demuestran que las condiciones higiénicas están altamente relacionadas con la persistencia de este parásito; en la ciudad de Armenia se desarrolló un estudio en niños afectados por el terremoto que habitaban albergues temporales y reportaron un 60.4% de prevalencia (Lora *et al.*, 2002). Años más tarde, para la misma ciudad, se reportó que la prevalencia descendió al 13% al ubicar los niños en condiciones de estudio y vivienda más adecuadas (Giraldo *et al.*, 2005). En la ciudad de Ibagué un reporte de parasitismo intestinal en niños preescolares realizado en el año 1990 mostró una prevalencia del 41.4% para *G. duodenalis* (Trujillo *et al.*, 1990), incidencia que dista de la reportada en el presente estudio, se presume que se dio, debido al mejoramiento de las instalaciones de las escuelas comunitarias y al manejo inocuo de los alimentos.

G. duodenalis se observó en el 14.28% (17/119) de los caninos. En Italia, se reportó un 20.5% de infección en perros de criaderos (Scaramozzino *et al.*, 2009) y en Bélgica con 43.9% de infección en perros de perreras (Claerebout *et al.*, 2009). En América Latina, México informa una prevalencia del 42% (Ponce *et al.*, 2005), Perú del 9.3% (Araujo *et al.*, 2004) y en Colombia se reportó una prevalencia del 0.9% en caninos del departamento del Huila (Abril y Penagos, 2004), lo que sugiere que la densidad de la población, incide en la prevalencia del parásito, siendo las más altas aquellas tomadas en criaderos o perreras. En el grupo de muestras fecales obtenidas de felinos, se observó que el 10% (2/20) estaban infectadas con *G. duodenalis*, prevalencia que difiere de la que se reporta en la ciudad de Bogotá (6.5%) (Santin *et al.*, 2006), posiblemente debido a que las condiciones y normas de salubridad manejadas en los centros de refugio animal de donde se obtuvieron las muestras son diferentes, siendo más estrictas en el Centro de Zoonosis de la Alcaldía de Bogotá.

En las especies bovinas *Bos indicus* y *Bos taurus* se obtuvo una frecuencia del 1% (1/100), lo que difiere de los porcentajes de giardiosis bovina reportados en Estados Unidos (36% al 52%) (Trout *et al.*, 2005;

Trout *et al.*, 2006) y Bélgica (22%) (Geurden *et al.*, 2008). Esto puede deberse a mejores condiciones sanitarias de las explotaciones europeas. No obstante, en este estudio ni el tamaño de la muestra ni el tipo de muestreo aplicado permite establecer una prevalencia de parásitos en esta especie animal y por lo tanto estas comparaciones pueden no ser válidas.

G. duodenalis, se observó en el 2.85% (1/35) de los equinos. En países como Brasil también se reportan prevalencias bajas (0.5%) (Souza *et al.*, 2009), sugiriendo que entre las especies animales evaluadas, los equinos son menos susceptibles a la infección.

Otros parásitos como *Ancylostoma* spp. se presentaron en el 26,05% (31/119) de caninos. Este nematodo es de gran importancia en caninos de nuestro país, dada la capacidad de infectar al hombre. En los caninos del departamento del Huila se reportó una prevalencia del 86.8% (Abril y Penagos, 2004), en la ciudad de Medellín del 30.48% y en el departamento del Quindío se reportó la más baja con un 13.9% (Giraldo *et al.*, 2005b). *Toxocara canis* ocupa el segundo lugar de prevalencia con un 6.72% (8/119), sin diferenciarse mucho de las prevalencias encontradas en años anteriores para Medellín (Caraballo *et al.*, 2007), Popayán (Vásquez *et al.*, 2004) y Armenia (Giraldo *et al.*, 2005b), donde se reportan prevalencias del 7.48%, 4.3% y 2.5% respectivamente. Algunas de las muestras de origen bovino presentaron otros parásitos intestinales de importancia médica en los cuadros de diarrea aguda del ternero, como *Eimeria* spp., que se presentó en este estudio con un 16% (16/100) y *Trichostrongylus* spp con 8% (8/100). Los roedores del género *Rattus* spp se encontraron parasitados con especímenes del phylum Acanthocephala. Estos animales fueron capturados en una zona urbana de alta concentración poblacional, lo que sugiere un riesgo para la salud pública.

El gen de la β -giardina se amplificó en el 58,97% (23/39) de las muestras humanas positivas para *G. duodenalis* por el método coprológico y en 3 de 119 muestras positivas de origen canino (2.52%); esta reducción en el número de muestras positivas por PCR semianidado con respecto al método parasitológico pudo originarse debido a que el gen que codifica para la β -giardina es de copia única (Bonhomme *et al.*, 2011) o a inhibidores que pueden estar presentes en las heces como sales biliares y polisacáridos complejos, los cuales interfieren con las

ADN polimerasas termoestables y pueden bloquear su actividad catalítica o, mediante la disminución del Mg disponible para la reacción. Se recomienda para estudios posteriores utilizar métodos de purificación de la muestra, tales como extracción bioquímica de ADN, captura inmunomagnética, gradiente de centrifugación, densidad de flotación o kits comerciales de purificación, de la misma manera se recomienda evaluar distintas polimerasas, de las cuales algunas son más resistentes a los inhibidores (Radstrom *et al.*, 2004). Adicionalmente esta disminución puede estar relacionada con la recuperación de un bajo número de quistes, o con trazas de sustancias que fueron utilizadas durante el proceso inicial de estandarización y que podrían actuar igualmente como inhibidores de la PCR, por lo cual se hace necesario someter las muestras a columnas de purificación de ADN.

La amplificación del gen de la β -giardina mediante PCR convencional, semianidado y anidado ha sido ampliamente utilizado como herramienta diagnóstica para la identificación de *Giardia duodenalis*, a partir de muestras fecales de diferentes hospederos (Caccio *et al.*, 2008), sin embargo la alta variabilidad genética de esta especie requiere de pruebas complementarias para esclarecer el potencial zoonótico de la misma, el cual está ligado al genotipo infectante. La técnica de genotipificación de *G. duodenalis* más utilizada es el PCR-RFLP del gen de la β -giardina (Torres *et al.*, 2011), esta técnica nos permite discriminar los diferentes genotipos circulantes del protozoario (Rodríguez *et al.*, 2014), estableciendo infecciones zoonóticas al ser hallados los genotipos A y B en muestras de diversas especies, incluyendo al hombre y los animales de compañía (Lebbad *et al.*, 2011), los demás genotipos parecen ser específicos de especie (Feng *et al.*, 2011), aunque se ha reportado el genotipo C (específico de cánidos) en infecciones humanas (Soliman *et al.*, 2011).

Conclusiones

Se evidencia la presencia de parásitos patógenos con potencial zoonótico en animales domésticos y silvestres de Ibagué. Las bajas condiciones de salubridad en los refugios animales y las explotaciones pecuarias de las áreas urbanas y periurbanas de la misma ciudad parecen predisponer a esta situación. *Giardia duodenalis* se observó en niños de los hogares de bienestar familiar de Ibagué, así como en las muestras de origen canino, no obstante

las posibles relaciones entre las dos especies son actualmente desconocidas. La amplificación del gen β -giardina por PCR semianidado constituye una prueba diagnóstica, rápida y eficaz, no obstante el proceso de extracción de material genético a partir de quistes no se ha estandarizado y no se puede excluir la presencia de inhibidores en este tipo de muestras. Se recomienda realizar estudios de prevalencia y de genotipificación de *G. duodenalis* en niños y animales domésticos que estén en contacto para determinar si existe transmisión directa de los genotipos zoonóticos entre estos, lo cual ampliaría el conocimiento del ciclo epidemiológico de la enfermedad y el papel que juegan los animales.

Agradecimientos

Los autores expresan agradecimientos al Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) seccional Ibagué, al Instituto Nacional de Salud, al Fondo de Investigaciones de la Universidad del Tolima, a la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad del Tolima y a los donantes, madres comunitarias, veterinarios, vaqueros y propietarios de fincas.

Referencias

- Abril, A., Penagos, J.A., 2004. Determinación de parásitos gastrointestinales potencialmente zoonóticos en caninos de cinco municipios del departamento del Huila y riesgos para la salud pública. Trabajo de grado para obtener el título de Médico Veterinario. Universidad de la Salle. Facultad de Medicina Veterinaria, Bogotá D.C. 2004.
- Adam, D., 2001. Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews*. 14, 447 - 475.
- Araujo, W., Chávez, A., Casas, E., Falcon, N., 2004. Prevalencia de *Giardia* sp. en *Canis familiaris* de los distritos de la provincia constitucional del Callao. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 15, 45 - 150.
- Bedoya M.A., Arcila V.H., Díaz D.A., Reyes E.A., 2011. Prevalencia de parásitos gastrointestinales en équidos del municipio de Oiba (Santander). *Revista de investigaciones en ciencias animales Spei Domus* 7:15.
- Bertrand, I., Schwartzbrod, J., 2007. Detection and genotyping of *Giardia duodenalis* in wastewater: Relation between assemblages and faecal contamination origin. *Journal Water research* 41, 3675-3682.
- Bonhomme J., Le Goff L., Lemee V., Gargala G., Ballet JJ., Favennec L., 2011. Limitations of tpi and bg genes sub-genotyping for characterization of human *Giardia duodenalis* isolates. *Parasitology International* 60, 327-330
- Caccio S.M., Ryan U., 2008. Molecular epidemiology of *Giardiasis*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 160, 2. 75 - 80.

- Cacciò, S.M., De 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 human faecal samples. *International Journal for Parasitology* 32, 1023 - 1030.
- Caccio, S.M., Thompson, R.C., Mc Lauchlin, J., Smith, H.V., 2005. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitology* 21, 430 - 437.
- Caraballo, A.J., Jaramillo, T. A., Loaiza, E. J., 2007. Prevalencia de parásitos intestinales en caninos atendidos en el Centro de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad CES, 2007. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 2.
- Claerebout, E., Casaert, S., Dalemans, A.C., De Wilde, N., Levecke, V., Vercruysee, J., Geurden, T., 2009. *Giardia* and other intestinal parasites in different populations in Northern Belgium. *Veterinary Parasitology* 161, 41-46.
- Echeverry D.M., Giraldo M.I., Castaño J.C. 2012. Prevalencia de helmintos intestinales en gatos domésticos del departamento del Quindío, Colombia. *Biomédica* 32, 430 - 436.
- Faust, E.C., D'Antoni, J.S., Odom, V., Miller, M., Peres, C., Sawitz W., Thomen, L.F., Tobie, J., Walker, J.H., 1938. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cyst and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 18, 169 - 183.
- Fayer, R., Santin, M., Trout, J.M., Dubey, J.P., 2006. Detection of *Cryptosporidium felis* and *Giardia duodenalis* Assemblage F in a cat colony. *Veterinary Parasitology* 140, 44 - 53.
- Feng Y., Xiao L., 2011. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and *Giardiasis*. *Clinical Microbiology Reviews* 2011, 24(1):110 - 140.
- Foronda, P., Bargues, M.D., Abreu - Acosta, N., Periago, M.V., Valero, M.A., Valladares, B., Mas - Coma, S., 2008. Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* of human isolates in Egypt. *Parasitology Research* 103, 1177-1181.
- Gelanew, T., Lalle, M., Hailu, A., Pozio, E., Cacciò, S.M., 2007. Molecular characterization of human isolates of *Giardia duodenalis* from Ethiopia. *Acta Tropica* 102, 92 - 99.
- Geurden, T., Geldhof, P., Levecke, B., Martens, C., Berkvens, D., Casaert, S., Vercruysee, J., Claerebout, E., 2008. Mixed *Giardia duodenalis* assemblage A and E infections in calves. *International Journal for Parasitology* 38, 259 - 264.
- Geurden, T., Vercruysee, J., Claerebout, E., 2010. *Giardia* a significant pathogen in production animals? *Experimental Parasitology* 124, 98-106.
- Giraldo, J.M., Lora, F., Henao, L.H., Mejía, S., Gómez, J.E. 2005. Prevalencia de giardiasis y parásitos intestinales en preescolares de hogares atendidos en un programa estatal en Armenia, Colombia. *Revista de Salud Pública* 7, 327-338.
- Giraldo, M.I. García, N.L & Castaño, J.C., 2005b. Prevalencia de helmintos intestinales en caninos del departamento del Quindío. *Biomédica* 25, 346-352.
- Gómez, L.F., Atehortua, C. G., Orozco, S. C., 2007. La Influencia de las mascotas en la vida humana. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 20, 377-386.
- Hernández Merlo R., Núñez F.A., Pelayo Duran L., 2007. Potencial zoonótico de las infecciones por helmintos intestinales en perros callejeros de Ciudad de La Habana. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 2007; 59(3):234-40.
- Homan, W.L., van Enckever, F.H., Limper, L., van Eys, G.J., Schoone, G.J., Kasprzak, W., Majewska, A.C., van Knapen, F., 1992. Comparison of *Giardia* isolates from different laboratories by isoenzyme analysis and recombinant DNA probes. *Parasitology Research* 78, 316-323.
- Lalle, M., Pozio, E., Capelli, G., Bruschi, F., Crotti, D., Cacciò, S.M., 2005. Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *International Journal for Parasitology* 35, 207-213.
- Lasek - Nesselquist, E., Welch, D.M., Sogin, M.L., 2010. The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. *International Journal for Parasitology* 40, 1063-1074.
- Lebbad M., Petterson I., Karlsson L., Botero S., Anderson J.O., Svenungson B., Svard S.G., 2011. Multilocus genotyping of human *Giardia* isolates suggests limited zoonotic transmission and association between assemblage B and Flatulence in Children. *Neglected tropical diseases* 5, 1-10.
- Londoño, A., Mejía, S. & Gómez, J., 2009. Prevalencia y Factores de Riesgo Asociados a Parasitismo Intestinal en Preescolares de Zona Urbana en Calarcá, Colombia. *Revista de Salud Pública* 11, 72 - 81.
- López J., Abarca K., Paredes P., Inzunza E., 2006. Parásitos intestinales en caninos y felinos con cuadros digestivos en Santiago, Chile. Consideraciones en Salud Pública. *Revista Médica de Chile* 134, 193-200.
- Lora Suarez, F., Marín Vásquez, C., Loango, N., Gallego, M., Torres, E., González M.M., Castaño, J.C., Gómez, J.E., 2002. *Giardiasis* in children living in post-earthquake camps from Armenia (Colombia). *BioMed Central Public Health* 2, 1-6.
- Mayrhofer, G., Andrews, R.H., Ey, P.L., Chilton, N.B., 1995. Division of *Giardia* isolates from humans into two genetically distinct assemblages by electrophoretic analysis of enzymes encoded at 27 loci and comparison with *Giardia muris*. *Parasitology* 111, 11-17.
- McDonald, V., 2003. Parasites in the gastrointestinal tract. *Parasite Immunology*, 25: 231-234.
- Monis, P.T, Andrews, R., Mayrhofer, G., Ey P.L., Caccio, S.M., 2003. Genetic diversity within the morphological species. *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Genetics and Evolution* 3, 29 - 38.
- Monis, P.T, Andrews, R., Mayrhofer, G., Ey, P.L., 1999. Molecular Systematics of the Parasitic Protozoan *Giardia intestinalis*. *Molecular Biology Evolution* 16, 1135-1144.
- Monis, P.T., Mayrhofer, G., Andrews, R.H, Homan, W.L., Limper, L., Ey, P.L., 1996. Molecular genetic analysis of *Giardia intestinalis* isolates at the glutamate dehydrogenase locus. *Parasitology* 112, 1-12.
- Plutzer, J., Karanis, P., Domokos, K., Tokorne, A., Marialigeti, K., 2008. Detection and characterisation of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Hungarian raw, surface and sewage water samples by IFT, PCR and sequence analysis of the SSUrRNA and GDH genes. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 211, 524 - 533.

- Ponce, M., Peralta, G.E., Martínez, M.N., 2005. *Giardia intestinalis* and other zoonotic parasites: Prevalence in adults from the southern part of Mexico City. *Veterinary Parasitology* 131, 1 – 4.
- Radstrom P., Knutsson R., Wolffs P., Lovenklev M., Lofstrom C., 2004. Pre-PCR processing: strategies to generate PCR-compatible samples. *Molecular Biotechnology* 26(2), 133–146.
- Rivero, R.Z., Maldonado, A., Bracho A., Castellanos, M., Torres, Y., Costa-león, L., Méndez, A., Márquez, L., 2009. Prevalencia de enteroparásitos, rotavirus y adenovirus en niños aparentemente sanos. *Kasmera* 37, 62 – 73.
- Rodríguez, V., Espinosa, O., Carranza, J.C., Duque, S., Arévalo, A., Clavijo, J.A., Urrea, D.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, 271 - 281.
- Santin, M., Trout, J.M., Cortes, Vecino J.A., Dubey, J.P., Fayer, R., 2006. *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon bienersi* in cats from Bogotá (Colombia) and genotyping of isolates. *Veterinary Parasitology* 141, 334 – 339.
- Scaramozzino, P., Di Cave, D., Berrilli, F., D'orazi, C., Spaziani, A., Mazzanti, S., Scholl, F., De Liberato, C., 2009. A study of the prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* infecting kennelled dogs. *The Veterinary Journal* 182, 231–234.
- Schar F., Inpankaew T., Traub R.J., Khieu V., Dalsgaard A., Chimnoi W., Chhoun C., Sok D., Marti H., Muth S., Odermatt P., 2014. The prevalence and diversity of intestinal parasitic infections in humans and domestic animals in a rural Cambodian village. *Parasitology International* 63, 597–603.
- Solarte - Paredes L.D., Castañeda - Salazar R., Pulido - Villa Marín A.P., 2013. Parásitos gastrointestinales en perros callejeros del centro de zoonosis de Bogotá D.C., Colombia. *Neotropical Helminthology* 7:1.
- Soliman R.H., Fuentes I., Rubio J.M., 2011. *Parasitology International* 60, 507–11
- Souza de, P.N.B., Bomfimb, T.C.B., Huber, F., Abboud, L.C.S., Gomes, R.S., 2009. Natural infection by *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. and *Eimeria leuckarti* in three groups of equines with different handlings in Rio de Janeiro, Brazil P.N.B. *Veterinary Parasitology* 160, 327 – 333.
- Thompson, R.C.A., Hopkins, R.M., Homan, W.L., 2000. Nomenclature and Genetic Groupings of *Giardia* Infecting Mammals. *Parasitology Today* 16, 210 – 213.
- Torres G., Zapata M., Restrepo M., Rios L., 2011. *Revista Científica Salud Uninorte. Barranquilla (Col.)* 27 (1), 49-62
- Trillo - Altamirano M.P., Carrasco A.J., Cabrera R., 2003. Prevalencia de helmintos enteroparásitos zoonóticos y factores asociados en Canis familiaris en una zona urbana de la ciudad de Ica, Perú. *Parasitología Latinoamericana* 58, 136-141
- Trout, J.M., Santin, M., Greiner, E., Fayer, R., 2005. Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in post-weaned dairy calves. *Veterinary Parasitology* 130, 177–183.
- Trout, J.M., Santin, M., Greiner, E., Fayer, R., 2006. Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in 1–2 year old dairy cattle. *Veterinary Parasitology* 140, 217 – 222.
- Trujillo de Vallejo, F., Vargas Bonilla, N., Vallejo, G.A., 1990. Parasitismo intestinal y desnutrición en lactantes y preescolares de estrato social bajo en Ibagué-Tolima. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas* 5, 64 - 75.
- Vásquez, L., Campo, V., Vergara, D., Rivera, O., Cordero, H., & Dueñas, J., 2004. Prevalencia de *Toxocara canis* y otros parásitos intestinales en caninos en la ciudad de Popayán, 2004. Centro de Estudios en Microbiología y Parasitología-CEMPA. Departamento de Medicina Interna, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca, Colombia.
- Volotão, A.C., Costa Macedo, L.M., Haddad, F.S.M., Brandão, A., Peralta, J.M., Fernandes, O., 2007. Genotyping of *Giardia duodenalis* from human and animal samples from Brazil using β -giardin gene: A phylogenetic analysis. *Acta Tropica* 102, 10 – 19.
- World Health Organisation, 1996. *The World Health Report, 1996*, World Health Organisation, Geneva.